

Подано експериментальні дані про особливості будови, розвитку і функціонування рослинних і тваринних організмів, флору і 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.

Розраховано на викладачів, наукових співробітників, аспірантів і 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	Є.О. Торгалю (відп. секр.); І.В. Якубцова (техн. секр.); С.В. Демідов, д-р біол. наук, проф.; М.Е. Держинський, д-р біол. наук, проф.; М.С. Мірошніченко, д-р біол. наук, проф.; Т.В. Паршикова, д-р біол. наук, проф.; 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. Макаруч, 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) 522 17 95
Затверджено	Вченою радою біологічного факультету 23.12.08 (протокол № 9)
Атестовано	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/7 від 09.06.99
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, 6-р Т.Шевченка, 14, кімн. 43 ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28

Гавриленко В., Ноздренко Д., Мірошніченко М. Зміна довжини і сили м'язового волокна залежно від температури і частоти електростимуляції.....	6
Данькевич Л., Токарчук Л. Антигенний і жирнокислотний склад клітин "Pseudomonas Xanthochlora" – збудника мокрого водянистого гниття люпину	7
Литвиненко О., Степанова Л., Грищенко В., Бабич Л. Дослідження дії фосфоліпідвмісної добавки на мембрани гепатоцитів	10
Латишенко Л., Решетнік Є., Весельський С., Макачук М. Механізми впливу мет-енкефаліну на жовчосекреторну функцію печінки щурів	12
Лапшина К., Маслова О., Скрипник Н., Держинський Н. Загальнобіологічні особливості стовбурових клітин, як основного джерела фізіологічного розвитку та регенерації.....	15
Сінгаєвський Є. Павуки-дендробіонти (Arachnida, Aranei) урочища зміїні острови Канівського природного заповідника	18
Антонюк Т., Зарубенко А., Таран Н. Фізіологічні та еколого-біохімічні характеристики представників роду рододендрон (Rhododendron) при формуванні екологічної пластичності інтродуцентів	21
Богуцька К., Мінченко П., Мінченко О. Вплив іонів стронцію на конформаційні зміни актоміозину серцевого та скелетних м'язів.....	24
Лукашов Д. Вплив деяких екологічних факторів на рівні накопичення важких металів молюсками <i>Lymnaea stagnalis</i>	27
Григор'єва О. Особливості розвитку деяких гідробіонтів під впливом мікрохвильового опромінення.....	29
Савко У., Дворченко К. Ферментативна активність сукцинатдегідрогенази в мітохондріях клітин слизової оболонки шлунка та гепатоцитів щурів за умов експериментальної виразки	30
Карпенко Н. Морфологія насінин представників родів <i>Coronilla L.</i> , <i>Hippocrepis L.</i> , <i>Securigera DC.</i>	32
Войцехівська О., Ситар О., Косян А. Формування адаптивних реакцій рослин на ранніх етапах онтогенезу за умов свинцевої інтоксикації.....	35
Драницина А., Телегєєв Г. Визначення статі пінгвінів дженту методом ПЛР зі специфічними праймерами.....	37
Садыхова Н. Современные орнитологические изменения расселения гнездящихся птиц в Азербайджане	40
Сергійчук А., Ковальова В., Моргаєнко О. Екзогенні та ендогенні фактори виразкоутворення.....	42
Куценко Т., Філімонова Н. Аналіз підсистем обробки інформації при дослідженні функції креативності	47
Ситник Ю., Шевченко П., Подобайло А., Салій С. Склад іхтіофауни київської ділянки канівського водосховища та гирла Десни	50
Кравченко В., Демченко Ю., Максимович К., Макачук Н. Варіативність серцевого ритму у жінок в різні фази менструального циклу	52
Ноздренко Д., Бардадим І., Заводовський Д. Залежність встановлення рівноважного стаціонарного стану скорочення камбалоподібного м'язу щура від зміни частоти модульованої електростимуляції.....	56
Лукаш О. Географічна структура флори судинних рослин Східного Полісся.....	58

CONTENTS

ISSUE 52

Gavrylenko V., Nozdrenko D., Miroshnichenko M. Change of muscle length and force depending on temperature and electric stimulation frequency	6
Dankevich L., Tokarchuk L. Cell's antigenic And fatty acids composition of <i>pseudomonas xanthochlora</i> – agent of lupin's bacterial wet rot	7
Litvinenko O., Stepanova L., Grischenko V., Babych L. The investigation hepatocytes membranes under the phospholipids addition influence	10
Latyshenko L., Reshetnik E., Veselsky S., Makarchuk M. Mechanisms of met-enkephalin influence on rat's liver secretion function	12
Lapshina K., Muslova O., Skripnik N., Dzerzhinskiy N. Stem cells as a main source for physiological development and regeneration and their general biological features.....	15
Singaevskiy E. Dendrobiont spiders (Arachnida, Aranei) of Zmiini ostrovi land of the Kaniv natural reserve	18
Antonuyk T., Zarubenko A., Taran N. Physiology and ekologo-biochemical descriptions of representatives of family rhododendron at forming ecological plasticity of introduced	21
Bogutska K., Minchenko P., Minchenko O. The influence of strontium ions on conformational changes of cardiac and skeletal muscles actomyosin	24
Lukashov D. Effects of some ecological factors on heavy metal accumulation by mollusc <i>Lymnaea stagnalis</i>	27
Grigorieva O. The features of development of some water organisms under the microwave radiation influence.....	29
Savko U., Dvorschenko K. Enzymatic activity of succinate dehydrogenase in mitochondria of gastric mucosa cells and hepatocytes of rats at experimental models of ulcer.....	30
Karpenko N. The seeds morphology of representatives of genera <i>Coronilla</i> L., <i>Hippocrepis</i> L., <i>Securigera</i> DC.	32
Voytsekhivska O., Sytar O., Kosyan A. Adaptive reactions of plants on the early phases of ontogenesis in conditions leaden intoxication.....	35
Dranitsina A., Telegeev G. Determination of sex in Gentoo penguins by PCR with specific primers	37
Sadichova N. Modern ornithogeographic changes of sheltering of fertile birds in Azerbaijan.....	40
Serhiychuk A., Kovalyova V., Morgaienko O. Exogenous and endogenous factors of ulceration.....	42
Kutsenko T., Filimonova N. Analysis of subsystems of information processing under investigation of function of creativity.....	47
Sytnik J., Shevchenko P., Podobaylo A., Salij S. Ichthyofauna composition of the Kaniv reservoir's headstream and the Desna river mouth.....	50
Kravchenko V., Demchenko Yu., Maksimovich K., Makarchuk M. Heart rate variability in women during different phases of menstrual cycle	52
Nozdrenko D., Bardadim I., Zavodovskiy D. Dependence of equilibrium state establishing of rat salens muscle contraction on changes of frequency modulated electrostimulation	56
Lukash O. Geographical structure of flora vascular plants of East Polissia	58

Ноздренко Д. Температурно – залежні зміни швидкості вкорочення скелетного волокна жаби	62
Макарчук М., Філімонова Н., Кравець Т. Основні фактори психофізіологічного стану людини	63
Майданюк А. Участь аденилових нуклеотидів в індукції апоптозу	66
Маслова О., Лапшина К., Скрипник Н., Держинський Н. Основні механізми та хіміко-біологічні особливості виникнення окисних пошкоджень ДНК та білків	67
Бєлінська І., Рибальченко Т., Козозей В., Нестерова О. Визначення параметрів гострої токсичності хлоридного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном при одноразовому введенні per os	70
Бучацький Л., Щербик В. Виродженість генетичного коду в чотиривимірному рімановому просторі матричної РНК	71
Любченко Г., Гриценко О., Олешко Г., Холодна Л. Вплив білку-адгезину р 70 стафілококу на поглинальну здатність циркулюючих нейтрофілоцитів	73
Чікіна Л., Горго Ю., Федорчук С., Тернова А. Статеві відмінності електрофізіологічних реакцій обстежених за умов різної відповідальності за результати діяльності	74
Власенко В., Новікова І., Паршикова Т., Березовська М. Зміни швидкості та енерговитрат руху різних видів водоростей з родини <i>Chlamydomonas</i> в присутності біхромату калію	76
Демидов С., Дергай Н., Шкляр С., Скрипка К. Вплив тимагену, тималіну, вилосену на систему вторинних посередників при розвитку алергічних реакцій	79
Дворченко К., Савко У., Бервен О., Вакал С. Неспецифічна проникність мітохондріальних мембран клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки	81
Юмина Ю., Козлова І., Коптєва Ж. Особливості архітекtonіки біоплівки бактерій-деструкторів, що сформована на поверхні захисного покриття	83
Гребіник С., Гринюк І., Матишевська О. Екто-АТФаза активність ізольованих тимоцитів щура	84
Драницина А., Телегєєв Г., Чумаченко І., Малюта С. Мікросателітний аналіз у популяціях пінгвінів дженту (<i>Pygoscelis papua</i>) та пінгвінів Аделі (<i>P. adeliae</i>)	87
Рудь Ю., Бучацький Л. Біологічні властивості іридовірусів риб	91
Козерецька І., Костогриз В. Пошук генів-кандидатів нової мутації curld-like у <i>Drosophila virilis</i>	95
Ноздренко Д., Макарчук М., Шеремет Л. Реакція камбалоподібного м'язу щура на ступінчасту модульовану стимуляцію	97
Пазюк Л., Держинський М., Олексієнко Н., Бузинська Н. Реакція тимуса та гіпоталамо-тиреоїдної системи на холодний стрес за участю адренергічних систем головного мозку	99
Ситар О., Войцехівська О., Косян А. Формування адаптивних реакцій рослин на ранніх етапах онтогенезу за умов свинцевої інтоксикації	102
Гаркуша О., Багацька Г., Радченко О., Махно С. Особливості впливу низької інтенсивного електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону на дріжджові клітини	104
Рахметов А., Короткий О., Кот Л., Богданова О. Активність ферментів антиоксидантного захисту в лімфоїдних клітинах селезінки та тимусу щурів за умов експериментальної виразки шлунка	106
Абдулоєва О., Карпенко Н., Сенчило О. Обґрунтування "чорного списку" загрозливих для біорізноманіття інвазійних видів рослин України	108
Косенко А., Остапченко Л., Колбун М. Ефективність застосування інформаційно-хвильової терапії з метою діагностики і лікування деяких хвороб студентів	110
Хілько Т., Тищенко О., Якубцова І., Преображенська Т. Виділення яДНК з клітин слизової оболонки шлунка щурів	112

CONTENTS

ISSUE 53

Nozdrenko D. Temperature-dependent changes of velocity of frog skeletal muscle fibre shortening	62
Makarchuk M., Filimonova N., Kravets T. The basic factors of the psychophysiological state of human	59
Maidanyuk A. Participation of adenine nucleotides in the induction of apoptosis	62
Muslova O., Lapshina K., Skripnik N., Dzerzhinskiy N. Basic mechanisms and chemical and biological characteristics of DNA and protein oxidative damage formation	63
Byelinska I., Rybalchenko T., Kokozay V., Nesterova O. Acute toxicity parameters after per os single dose injection of chloride complex Cu/Zn with ethylenediamine	66
Buchatsky L., Stcherbic V. Degeneration of the genetic code in four-dimensional riemann space of matrix RNA	67
Kholoda L., Grytsenko O., Lybchenko A., Oleshko A. Influence of staphylococcal protein-adhesive p 70 on absorptive capacity of circulatory neutrophils	69
Chikina L., Gorgo Yu., Fedorchuk S., Ternova A. Sexual distinctions of electrophysiological responses of examinees under condition of the different responsibility for outcomes of activity	70
Vlasenko V., Novikova I., Parshikova T., Berezovska M. Changes of movement that energy movements of different kinds of seaweed from a algae <i>Chlamydomonas</i> at presence of bichromate potassium	72
Demidov S., Dergay N., Shklayr S., Skrupka K. Effect of tymogene, tymaline and vilosen on secondary messengers' system upon allergic reaction development	75
Dvorshchenko K., Savko U., Berven O., Vakal S. Nonspecific permeability transition of mitochondria membranes of rat gastric mucosa cells at experimental models of ulcer	77
Yumyna J., Kozlova I., Kopteva Zh. Features of architectonics of biofilm bacteria-destructors which is formed on the surface of the protective coating	79
Grebinyk S., Grynyuk I., Matyshevska O. The ecto-ATPase activity of isolated rat thymocytes	80
Dranitsina A., Telegeev G., Chumachenko I., Maliuta S. Analysis of microsatellites in Gentoo penguin's (<i>Pygoscelis papua</i>) and Adelie penguin's (<i>P. adeliae</i>) populations	83
Rud Y., Buchatsky L. Biological properties of fish iridiviruses	87
Kozeretskaja I., Kostogryz V. Screening of genes-candidates for a new mutation <i>curld-like</i> of <i>Drosophila virilis</i>	91
Nozdrenko D., Makarchuk M., Sheremet L. Effect of step modulating stimulation on rat salens muscle	93
Pazyuk L., Dzerzhinsky M., Oleksiyenko N., Buzinska N. Reaction of thymus, and hypothalamic-thyroid system on cooling stress at participation brain adrenergic system	95
Sytar O., Voytsekhivska O., Kosyan A. Adaptive reactions of plants on the early phases of ontogenesis in conditions leaden intoxication	98
Garkusha O., Bagatska A., Radchenko O., Makhno S. Peculiarities of the low-intensive electromagnetic emanation influence in millimeter range on yeast cells	100
Rakhmetov A., Korotkiy O., Kot L., Bogdanova O. Activities of antioxidant enzymes in spleen and thymus cells of rats with experimental stomach ulcer	102
Abduloyeva O., Karpenko N., Senchylo O. Substantiation of the "black list" of invasive plant species threatening biodiversity of Ukraine	105
Kosenko A., Ostaphenko L., Kolbun M. Efficiency of use of the information-wave therapy for diagnosis and treatment of several diseases of students	107
Khilko T., Tischenko O., Yakubtsova I., Preobrazenska T. The isolation of nDNA out of rat gastric mucosa cells	109

ЗМІНА ДОВЖИНИ І СИЛИ М'ЯЗОВОГО ВОЛОКНА ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕМПЕРАТУРИ І ЧАСТОТИ ЕЛЕКТРОСТИМУЛЯЦІЇ

Встановлено, що динамічні властивості м'язового волокна значно змінюються при переході від укорочення до подовження та практично не залежать від конкретного виду вхідного впливу – зміни температури або частоти еферентної стимуляції. Показано, що нелінійні ефекти м'язового скорочення, пов'язані з гістерезисом, проявляються у динаміці зміни м'язової довжини однаково чиним як при зміні температури, так і частоти електростимуляції.

It is established that dynamic properties of muscular fiber considerably change upon transfer from shortening to lengthening and practically do not depend of changes of temperature or frequency of efferent stimulation. It is shown that nonlinear effects of muscle contraction, connected with hysteresis, in identical way appear in dynamics of muscular length change both with change of temperature and frequency of electrical stimulation.

Вступ. Вивчення динаміки м'язового скорочення можна проводити, визначаючи три взаємозалежні змінні: p – сила, яку розвиває м'яз; L – довжина м'язу; f – частота еферентної стимуляції. Отже, м'яз розглядається як динамічна система з одним входом (f) і двома виходами (p і L) [1]. Не виключено, що динаміка м'язового скорочення обумовлена швидкістю утворення та розриву поперечних містків між актиновими і міозиновими філаментами та швидкістю переходу регуляторного тропоніну – тропоміозинового комплексу з виключеного у включений стан і навпаки і що ці процеси залежать від температури. Ці положення лягли в основу дослідження нелінійних ефектів м'язового скорочення, викликаних модульованою електростимуляцією при різних температурах розчину. Дослідження нелінійних явищ безумовно є важливою проблемою, оскільки такі дані дозволять значно поглибити уявлення про принципи м'язового скорочення та сприятимуть формуванню єдиної концепції загального механізму скорочення поперечносмугастого м'язу [2, 3].

Робота присвячена дослідженню впливу модульованого стимулюючого сигналу на характер протікання скоротливих процесів у м'язовому волокні. Очевидно, що зміна характеристик стимулюючого сигналу може вагомо впливати на загальний процес скорочення [4]. Дане питання є малодослідженим на сьогодні.

Методика. Досліди проводили на поодиноких волокнах *m. tibialis* жаби *Rana temporaria*. Препарат стимулювали електричними імпульсами прямокутної форми тривалістю 2 мс з частотою від 0 до 30 Гц. Стимуляцію м'язового препарату здійснювали за допомогою генератора синхронних імпульсів, здатного видавати електричні сигнали фіксованої форми з заданими амплітудою та частотою. Характеристики стимулюючого сигналу задавали програмно і передавали з комплексу АЦП-ЦАП на генератор. Для підтримання постійних температурних умов у камері використовували охолоджуючий пристрій, змонтований на основі охолоджуючого кристалу та зворотної термопари. Для реєстрації зміни сили використовували тензодатчик з підсилювачем. Для реєстрації зміни довжини препарату, використовували прецизійний потенціометр, створений на основі електромагнітного двигуна, до складу якого входили механостимулятор та фотоелектронний помножувач. Датчик сили та механостимулятор були з'єднані зворотнім зв'язком. Така сервосистема дозволяла здійснювати дискретний контроль сили та довжини в будь-який момент скорочення об'єкту. Кожна з представлених на рисунках кривих є результатом усереднення серії з 10-ти аналогічних експериментів.

Результати та обговорення. На Рис. 1 показані криві зміни сили та довжини м'язового волокна отримані при дії модульованої стимуляції з частотою від 3 до 30 Гц і різних температурах омиваючого розчину. Особливістю цього дослідження було те, що перед дією саме модульованого сигналу м'язовий препарат піддавали впливу подразнюючого сигналу частотою 5 Гц протягом 100 мс (ділянка Δt_1). Цим ми усували появу флуктуацій динамічних параметрів (сила, довжина) при початкових стадіях силової відповіді. Модульована стимуляція волокна, яке знаходиться в стадії незначного (5–7% від максимального) скорочення (ділянка Δt_2), дала можливість проаналізувати динаміку скоротливих процесів на початкових стадіях дотетанічної ділянки скорочення. Як видно з рис. 1, вплив модулюючого стимуляційного сигналу з наростаючою частотою суттєво змінювало характер приросту сили скорочення тільки на ділянці, яка відповідала зменшенню довжини скорочення (ділянка Δt_5). Скоріше за все, це пов'язано зі значною часовою різницею нарастаючих фаз стимуляції в трикутних формах модулюючого сигналу.

Амплітуда скоротливих процесів залежала не тільки від величини зміни подразнюючої частоти стимуляції, але також і від температури омиваючого розчину, що значно ускладнювало аналіз та порівняння динамічних характеристик окремих реалізацій викликаних скорочень (ділянка Δt_5). Слід відмітити, що з підвищенням температури амплітуда динамічних реакцій скорочення при вкороченні м'яза була значно більшою, порівняно з її подовженням (ділянки Δt_3 і Δt_4). Це явище було спільним, як для довготривалого так і для короткодійного стимуляційного сигналу.

Цікава деталь вище описаної "особливості" активного м'язу, тобто зміна довжини при зменшенні частоти модульованої стимуляції, дозволяє припустити, що ця нелінійна поведінка м'язу може бути головною причиною збільшення й наступного зниження відцентрової активності щораз, коли м'яз скорочується в ізотонічному режимі. Очевидно, що таке "динамічне розвантаження" повинно з'явитися навіть при повільному русі.

Якщо оптимальна модульована стимуляція не була ще досягнута в динамічному компоненті, залишковий рух відновлював напрямок скорочення. Зростання динамічних складових модульованої стимуляції дозволяло викликати ріст як швидкості скорочення м'язу, так і амплітуди руху.

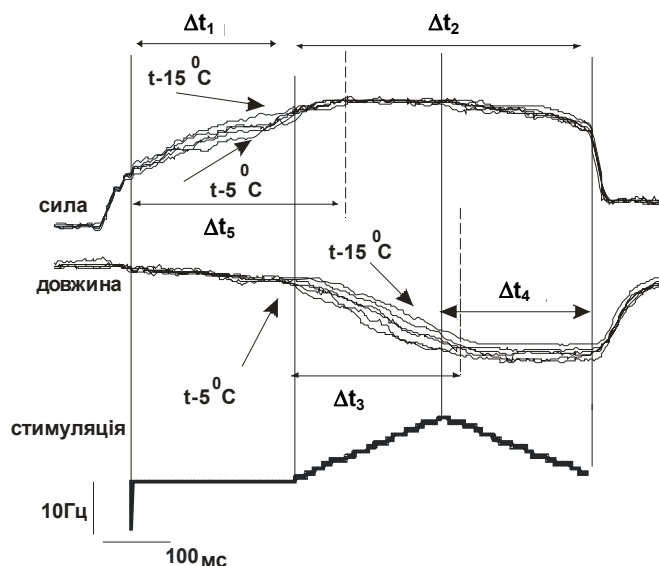


Рис. 1. Зміни сили та довжини скорочення м'язового волокна при застосуванні модульованого стимулюючого сигналу з частотою, що змінювалась від 0 до 30 Гц, і різних температурах омиваючого розчину від 5°C до 15°C

Δt_1 – час впливу стимулюючих імпульсів постійної частоти. Δt_2 – час модуляції стимулюючого сигналу з початковою частотою, рівною за значенням кінцевій частоті в періоді Δt_1 ; Δt_3 – усереднений час досягнення максимального значення в періоді модульованої стимуляції; Δt_4 – усереднений час зменшення довжини скорочення, яке пов'язано зі зменшенням частоти стимуляції; Δt_5 – усереднений час досягнення силою максимального значення. Вертикальними лініями показано межі описаних періодів скорочення. Стрілками показані криві зміни силових параметрів волокна при найбільшій (15°C) і найменшій (5°C) температурі омиваючого розчину.

Висновки. Таким чином, можна стверджувати, що при застосуванні ступінчатої стимуляції спостерігаються кількісні та якісні розбіжності у скороченні поодинокого волокна перед та після проходження стимуляцією максимального плато. Після отримання препаратом максимального частотного рівня, що відповідає максимальному скороченню спостерігалась відсутність швидкого компонента і зростання монотонності при наростанні сили. Дані невідповідності не знаходять пояснення в теорії ковзання. Дійсно, згідно з її положеннями, сила що розвивається саркомером при постійній довжині, є пропорційною перекриттю товстих і тонких прототібрів [5]. Очевидно, що розвиток цієї сили повинен бути прямо пропорційним еферентній активності, яка надходить до волокна. Наявність розходжень у часових протіканнях наростаючої та спадаючої фаз стимульованого скорочення м'язового волокна свідчить про на-

явність нелінійних ефектів в ізометричному скороченні м'язового волокна за даних умов. На підставі отриманих в роботі даних можна зробити висновок про те, що при скороченні м'язових волокон з стану спокою, відрізняються за механізмом скорочення, початим зі стану попередньої напруги волокна.

На наш погляд існують суттєві структурні відмінності між саркомерами які знаходяться в наведених вище станах. Згідно з моделлю скорочення за рахунок вкручування міозинових філаментів в трубкоподібній структурі, утворені актиновими філаментами, запропонованій в роботі [6], параметри скорочення залежать від стану в якому перебуває міозиновий філамент.

При розвитку напруги відбувається часткове закручування міозинових філаментів, тобто він переходить в інший функціональний стан. А це, відповідно обумовлює відмінності в параметрах скорочення зі стану спокою і зі стану попередньої напруги волокна.

*Під амплітудою мається на увазі абсолютна зміна довжини скорочення.

1. Костюков А.И. // Динамические свойства двигательной системы млекопитающих. – К.: ФАДА, ЛТД, 2007 – 199 с. 2. Мірошніченко М.С., Залоїло І.А., Ноздренко Д.М., Прилуцький Ю.І. // Фізика живого. – 2001. – 9, №2. – С. 71–78. 3. Yaniv Y, Sivan R, Landesberg A. // Ann Biomed Eng. 2006 May; 34(5):778–89. Epub 2006 Apr 26. 4. Brezina V., Orekhova I.V., Weiss K.R. // J Neurophysiol. 2000 Jan; 83(1):207–31. 5. Huxley A.F., Simmons R.M. // Nature. – 1971. – 233, N 5321. – P. 533–538 6. Мірошніченко Н.С., Шуба М. Ф. // Успехи физиол. наук. – 1990 – Т. 21, №3. – С. 3–18.

Надійшла до редколегії 03.01.08

579.841.1:616-097:577.115.3

Л. Данькевич, канд. біол. наук,
Л. Токарчук, канд. біол. наук

АНТИГЕННИЙ І ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КЛІТИН "PSEUDOMONAS XANTHOCHLORA" – ЗБУДНИКА МОКРОГО ВОДЯНИСТОГО ГНИТТЯ ЛЮПИНУ

Проведено порівняльний аналіз антигенного і жирнокислотного складу клітин колекційних штамів "Pseudomonas xanthochlora" з колекційними і типовими штамами патогенних для бобових бактерій роду Pseudomonas.

The cell's antigenic and fatty acids composition comparative analysis of collection strains "Pseudomonas xanthochlora" with collection and typical bacterial strains of Pseudomonas genus, which pathogenic for legumes, has been done.

Вступ. Збудник мокрого водянистого гниття люпину – "Pseudomonas xanthochlora" здатен уражувати на різних стадіях розвитку, особливо ранніх, усі органи рослини-господаря [1]. Як показано І.Б. Корольовою цей

збудник патогенний для широкого кола бобових культур, зокрема люпину [1, 4]. Крім того він має заплутане систематичне положення [8, 10]. Так, у 1979 році Young здійснив рекласифікацію цього фітопатогену і відніс

© Данькевич Л., Токарчук Л., 2008

його до виду *Pseudomonas marginalis*, який об'єднує у своєму складі три фенотипово різні патовари – *pv. alfalfae*, *pv. marginalis*, *pv. pastinacae*, що, в свою чергу, здатні уражувати багато видів рослин, в тому числі і деякі бобові культури [8]. Але, в надрукованих пізніше, узгоджених списках [10], що передують черговому виданню визначника бактерій Берджі, згадка про подібну рекласифікацію відсутня.

На думку багатьох дослідників антигенний і жирнокислотний склад клітин є важливими ознаками на між- та внутрішньовидовому рівнях [2, 3, 7]. Часто набір антигенів та жирних кислот клітин бактерій корелює з їх генотиповими властивостями [2, 3].

Тому, метою наших досліджень був порівняльний аналіз антигенного і жирнокислотного спектру клітин колекційних штамів "*Pseudomonas xanthochlora*" з колекційними і типовими штамами патогенних для бобових бактерій роду *Pseudomonas* для уточнення їх систематичного положення.

Об'єкти та методи досліджень. Об'єктами досліджень були 5 колекційних штамів "*P. xanthochlora*", виділених І.Б. Корольовою у 1963 році на території України з уражених рослин люпину [4]. У роботі також використали типові штами *P. savastanoi* *pv. phaseolicola* B1123, *P. marginalis* *pv. marginalis* 9175, *P. syringae* *pv. syringae* B1027, *P. syringae* *pv. pisi* 9177 та колекційні *P. savastanoi* *pv. glycinea* 8541, *P. marginalis* 8572 штами, патогенні для бобових культур, а також умовно патогенний для рослин типовий штам *P. fluorescens* B-17^T. Непатогенний для бобових культур типовий штам *P. savastanoi* *pv. savastanoi* 9174 включений у дослідження, оскільки, до нього за даними сучасної таксономії віднесені два патогенні для бобових культур патовари – *pv. phaseolicola*, *pv. glycinea*. Серед типових штамів не вивчені серологічні властивості мають *P. savastanoi* *pv. savastanoi* 9174 та *P. syringae* *pv. pisi* 9177.

Бактерії для вивчення антигенного та жирнокислотного складу клітин культивували на картопляному агарі протягом 24 годин за температури 28 °С.

При вивченні серологічних властивостей вищезгаданих штамів користувалися антисироватками до типо-

вих представників 9 серогруп, одержаних за стандартною методикою [5]. О- і ОН-антигени одержували за методом Грасе у модифікації Л.Т. Пастушенко і І.Д. Симонович [6].

Антигени властивості бактерій досліджували за допомогою мікроаглютинації на склі та макроаглютинації в пробірках за методом Грубер-Відаля а також преципітації в агарі за Оухтерлоні [2].

Гідроліз клітин для отримання метилових ефірів жирних кислот проводили в 1,5% розчині сірчаної кислоти у метанолі протягом години за 80°C, з наступною екстракцією сумішшю ефір-гексан (1:1). Ідентифікацію метилових ефірів жирних кислот проводили за допомогою хромато-масс-спектрометричної системи Agilent 6800N/5973 inert. Метилові ефіри ідентифікували автоматично за часом їх утримання в порівнянні зі стандартами. Вміст жирних кислот визначали за допомогою програмного забезпечення Agilent ChemStation і відображали у % від загальної площі піків.

Результати та їх обговорення. Відомо, що серогрупувати патогенні для широкого кола рослин, в тому числі бобових культур види "*Pseudomonas xanthochlora*", *Pseudomonas marginalis* та умовно патогенний для рослин вид *P. fluorescens* Пастушенко і Симонович не вдалося [5]. Серологічна уособленість збудника мокрого водянистого гниття, що викликається "*P. xanthochlora*" показана і І.Б. Корольовою [4]. Згідно схеми Пастушенко і Симонович збудник бактеріального опіку гороху *Pseudomonas syringae* *pv. pisi* серологічно гомогенний і представлений штамами віднесеними до IV серогрупи. Дослідження антигенних властивостей *Pseudomonas savastanoi* *pv. savastanoi* цими дослідниками взагалі не проводилось [5]. Тому, для встановлення антигенної спорідненості досліджуваних штамів з типовими представниками 9 серогруп за схемою Пастушенко, Симонович [5] проведено реакцію мікроаглютинації на склі. За результатами цієї реакції тільки штами *P. savastanoi* *pv. savastanoi* 9174 та *P. syringae* *pv. pisi* 9177 виявили спорідненість з представниками I та IV серогруп.

Таблиця 1. Результати реакції аглютинації і преципітації антигенів патогенних для бобових колекційних штамів *P. syringae* та *P. savastanoi* з сироватками до штамів типових представників I, IV серогрупи

О-антигени штамів	Титр реакції аглютинації		Кількість ліній преципітації	
	Сироватки до колекційних штамів <i>P. syringae</i> , типових представників I, IV серогруп			
	I – 8651, B1027*	IV – 8254	I – 8651, B1027	IV – 8254
<i>P. syringae</i> <i>pv. pisi</i> 9177	-	12800		2
<i>P. savastanoi</i> <i>pv. glycinea</i> 9170	6400-12800	-	1	-
<i>P. savastanoi</i> <i>pv. savastanoi</i> 9174	12800-25600	-	1	-
Гомологічні реакції	12800-51200	12800	1	1-2

Примітка: "-" – реакція аглютинації або преципітації відсутня.

Ці штами за даними мікро і макроаглютинації а також преципітації в агарі за Оухтерлоні були відповідно віднесені до: *P. savastanoi* *pv. savastanoi* 9174 – I серогрупи, а *P. syringae* *pv. pisi* 9177 – IV серогрупи (таблиця 1).

Результати реакції мікроаглютинації підтвердилися і відсутністю у колекційних штамів "*P. xanthochlora*", *P. marginalis* 8572 та типових штамів *P. marginalis* *pv. marginalis* 9175, *P. fluorescens* B-17^T спільних аглютинів та преципітаногенів з представниками усіх дев'яти серогруп. Не можливість серогрупування даних штамів наштовхує на думку про їх серологічну дистантність від бактерій видів *P. savastanoi* та *P. syringae* та певну спорідненість з представниками видів *P. marginalis* та *P. fluorescens*.

Тобто, встановлення систематичного положення "*P. xanthochlora*" можливо лише при застосуванні більш широкого спектру ознак фенотипу, зокрема вивчення жирнокислотного складу їх клітинних ліпідів.

З цією метою, в клітинах колекційних та типових штамів виявлені жирні кислоти з довжиною вуглецевого ланцюгу від C₁₀ до C₁₉, а саме: ненасичені – гекса (C_{16:1}) та оксадецену (C_{18:1}); насичені – декану (C_{10:0}) додекану (C_{12:0}), тетрадекану (C_{14:0}), гексадекану (C_{16:0}) та октадекану (C_{18:0}) кислоти; оксикислоти – 3-оксидекану (3-ОН–C_{10:0}), 2-оксидодекану (2-ОН–C_{12:0}), 3-оксидодекану (3-ОН–C_{12:0}) та циклопропанові кислоти з 17 та 19 атомами вуглецю (таблиця 2).

За даними багатьох дослідників [2, 3, 7, 9] у жирнокислотних профілях більшості флуоресцентних псевдомонасів домінуючими є гексадеканова, гексадецену та октадецену кислоти, що підтверджується і результатами наших досліджень. Так, для колекційних штамів "*P. xanthochlora*" *P. marginalis* 8572 та типових штамів *P. marginalis* *pv. marginalis* 9175, *P. fluorescens* B-17^T вміст гексадеканової кислоти коливається у межах від 33,88 до 35,60, гексадецену – від 22,48 до

27,17, а октадецеенової – 18,47 до 22,86 % від загальної площі піків (таблиця 2). Загалом сума цих кислот для даних штамів складає від 79,22 до 85,47 % від загальної площі піків. Аналогічна закономірність спостерігається і для решти штамів використаних у дослідженнях. Дана закономірність відома в літературі і пояснюється тим, що гексадеканова, гексадецеенова та октадецеенова кислоти є невід'ємною частиною ліпиду А ліпополіцикурдної молекули більшості Г бактерій [2, 3, 7, 9].

Як відомо, ще одна важлива хемотаксономічна ознака бактерій роду *Pseudomonas* – наявність в складі клітинних ліпідів оксикислот, а саме: 3-оксидеканової (3-ОН–C_{10:0}), 2-оксидодеканової (2-ОН–C_{12:0}) та 3-оксидодеканової (3-ОН–C_{12:0}) [2, 3, 7, 9]. Такий набір оксикислот виявлений нами і у жирнокислотних профілях усіх досліджених штамів. Зокрема, для всіх штамів, середній вміст 3-оксидеканової кислоти становить 0,43, 2-оксидодеканової – 2,37, а 3-оксидодеканової – 0,34%

від загальної площі піків (таблиця 2). Тобто, загалом, в середньому сума усіх оксикислот досліджених штамів складає 3,14% від загальної площі піків. За даними D.E. Stead загальний вміст оксикислот для представників 1 підгрупи, до якої віднесені практично всі фітопатогенні псевдомонаси, становить 4-5% від усіх жирних кислот [9]. Одержаний в результаті наших досліджень де-що занижений вміст цих кислот, ймовірно, пов'язаний з вибором методу екстракції ефірів жирних кислот. Зокрема, як показано нами раніше, використання на етапі гідролізу сірчаної кислоти знижує вміст оксикислот у жирнокислотних спектрах штамів [2].

Слід відмітити, що аналізуючи жирнокислотний склад клітинних ліпідів більшості представників бактерій роду *Pseudomonas* D.E. Stead виділив три окремих групи бактеріальних видів – *P. aeruginosa*, *P. syringae*, *P. fluorescens*, які чітко диференціюються за вмістом певних кислот [9].

Таблиця 2. Жирно кислотний склад клітинних ліпідів патогенних для бобових культур бактерій роду *Pseudomonas*

Жирні кислоти*	<i>P. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i> 9175	<i>P. marginalis</i> 8572	<i>P. fluorescens</i> B-17 ^T	5 коллекционных штаммов "P. xanthochlora"	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> B1123	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i> 8541	<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> 9174	<i>P. syringae</i> pv. <i>pisi</i> 9177	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> B1027
C _{10:0}	0,1	0,1	0,22	0,3	0,18	0,2	0,2	0,1	0,1
3-ОН – C _{10:0}	0,14	0,15	0,22	0,21	0,8	1,0	1,0	0,19	0,12
C _{12:0}	1,98	1,93	1,01	2,52	2,73	4,02	2,88	3,07	3,71
2-ОН – C _{12:0}	3,27	2,98	3,71	3	1,62	1,95	1,35	1,56	1,90
3-ОН – C _{12:0}	0,15	0,28	0,28	0,34	0,78	0,48	0,18	0,15	0,49
C _{14:0}	0,2	0,21	0,1	0,2	0,35	0,25	0,3	0,1	0,42
C _{16:1}	22,48	27,17	28,54	26,29	32,50	34,84	37,91	38,24	37,44
C _{16:0}	33,88	35,01	35,60	34,42	33,50	28,79	34,83	29,95	29,70
C _{17:0}	0,2	0,37	0,8	0,87	1,23	1,3	1,1	1,4	0,1
C _{17:0 cyclo}	15,29	13,47	11,05	11,97	2,00	0,78	0,41	0,91	0,55
C _{18:1}	22,86	18,47	21,33	19,53	23,27	25,55	21,68	23,30	23,68
C _{18:0}	0,95	0,63	0,63	0,61	1,68	2,2	0,93	1,35	1,93
C _{19:0 cyclo}	0,72	0,4	0,18	0,55	0,3	0,41	0,4	0,90	0,1

Примітка: у таблиці 1 та 2 вміст жирних кислот вказаний у % від загальної площі піків; статистична похибка методу складає від 0,1 до 0,5 % від загальної площі піків.

Ці кількісні, для більшості фітопатогенних псевдомонасів, особливості були сформовані у відомому закономірності: вміст 2-ОН–C_{12:0} менше 3%, кількість C_{16:1} + C_{18:1} більше 52% від загальної площі піків, відношення C_{16:0} до C_{16:1} менше або дорівнює 0,9 [9]. І дійсно, жирнокислотні профілі *P. syringae* pv. *pisi* 9177, *P. syringae* pv. *syringae* B1027, *P. savastanoi* pv. *savastanoi* 9174, *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* B1123 та *P. savastanoi* pv. *glycinea* 8541 відповідають даній закономірності (таблиця 3). Щодо жирнокислотного складу клітин колекційних штамів "*P. xanthochlora*", *P. marginalis* 8572 а також

типових штамів *P. marginalis* pv. *marginalis* 9175 та *P. fluorescens* B-17^T то для них ця закономірність виглядає навпаки. Так, вміст 2-ОН–C_{12:0} дорівнює або більше 3%, сума ненасичених жирних кислот C_{16:1} + C_{18:1} менше 52% від загальної площі піків, відношення гексадеканової до гексадецеенової (C_{16:0} до C_{16:1}) більше 0,9. Зокрема вміст 2-оксидодеканової кислоти становить від 2,98 до 3,71, сума ненасичених жирних кислот складає від 45,8 до 49,87, а співвідношення гексадеканової до гексадецеенової кислот коливається у межах від 1,24 до 1,50 (таблиця 3).

Таблиця 3. Характерні особливості жирнокислотних спектрів ліпідів клітин фітопатогенних бактерій роду *Pseudomonas*, які здатні уражувати бобові культури

Штами	Вміст 2-ОН–C _{12:0}	Сума ненасичених жирних кислот (C _{16:1} + C _{18:1})	Співвідношення C _{16:0} до C _{16:1}
<i>P. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i> 9175	3,27±0,1	45,34±0,25	1,50±0,3
<i>P. marginalis</i> 8572	2,98±0,20	45,64±0,1	1,28±0,1
<i>P. fluorescens</i> B-17 ^T	3,71±0,13	49,87±0,17	1,24±0,4
Колекційні штами <i>P. xanthochlora</i> "	3,0±0,4	45,8±2,30	1,33±0,2
<i>P. savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i> 8541	1,95±0,1	60,39±0,1	0,83±0,01
<i>P. savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> 9174	1,35±0,15	59,59±0,23	0,9±0
<i>P. syringae</i> pv. <i>pisi</i> 9177	1,56±0,01	61,54±0,1	0,78±0,03
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> B1027	1,90±0	61,12±0	0,79±0
<i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> B1123	1,62±0	60,27±0	0,9±0

Ще однією характерною особливістю колекційних штамів *"P. xanthochlora"*, *P. marginalis* 8572 та типових штамів *P. marginalis* pv. *marginalis* 9175 та *P. fluorescens* B-17^T є високий вміст, порівняно з іншими штамми, циклопропанової кислоти з 17 атомами вуглецю [9]. Так для перерахованих вище штамів середній вміст C_{17:0} cyclo становить 12,93, а для решти штамів лише 0,93% від загальної площі піків (таблиця 2).

Висновки. Так, аналізуючи жирнокислотний та антигенний склад клітин досліджуваних нами штамів, необхідно відмітити спорідненість колекційних штамів *"P. xanthochlora"* з типовими штамми *P. marginalis* pv. *marginalis* 9175 та *P. fluorescens* B-17^T та колекційним штамом *P. marginalis* 8572 за даними ознаками. Тобто, у випадку збудник мокрого водянистого гниття люпину вивчення його серологічних і біохімічних властивостей не дало остаточної відповіді не тільки щодо патогенового, а й навіть видового статусу даного патогену. Отже, для коректної ідентифікації збудника мокрого водянистого гниття люпину – *"P. xanthochlora"* необхідно детально проаналізувати як його фенотипові так і генотипові властивості.

УДК 577.115:616.36

1. Бельтюкова К.И., Королева И.Б. Мурас В.А. Бактериальные болезни зерно-бобовых культур. – К.: Наук. думка, 1974. – 339 с. 2. Данкевич Л.А. Фенотипові і генотипові властивості бактерій роду *Pseudomonas* – збудників бурой бактеріальної плямистості люпину: Автореф. дис...канд.біол.наук: – 03.00.07/ Ін-т. мікробіолог. і вірусолог. – К., 2006. – 21 с. 3. Данкевич Л.А., Житкевич Н.В., Токарчук Л.В. Жирнокислотний склад клітин штамів *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* та *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* // Збірник статей учасників Міжнародної наукової конференції "Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія." 4-6 жовтня 2005., м. Київ. – С. 113–117. 4. Королева И.Б. Биология возбудителей бактериальных болезней люпина в УССР: Автореф. дис...канд.біол.наук: – 03.00.07 / Ін-т. мікробіолог. і вірусолог. – К., 1963. – 16 с. 5. Пастушенко Л.Т., Симонович И.Д. Серологические группы фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas* // Микробиол. журн. – 1979. – Т.41, №3. – С. 222–228. 6. Пастушенко Л.Т., Симонович И.Д. Вивчення методів одержання антигенів фітопатогенних бактерій роду *Pseudomonas* // Микробиол. журн. – 1971. – Т.33, №3. – С. 289–295. 7. Патица В.П., Геоцзяк Р.І., Данкевич Л.А., Житкевич Н.В. Діагностика бактерій роду *Pseudomonas* – збудників бактеріальних хвороб бобових рослин // Методичні рекомендації – Київ 2007: Гарнітура Таймс., 2007. – 26 с. 8. Bradbury J.F. Guide to plant pathogenic bacteria. – Aberystwyth: The Cambrian News Ltd., 1986. – 332 p. 9. Stead D.E. Grouping of plant-pathogenic and some other *Pseudomonas* spp. by using cellular fatty acid profiles// Intr.J.Syst. Bacteriol. – 1992. – Vol.42, N. 2. – P. 281–295. 10. Young J. M., Saddler G.S., Takikawa Y., De Boer S. H., Vauterin L., Gardan L., Gvozdyak R.I., Stead D.E. Names of plant pathogenic bacteria 1864–1995 // Review of Plant Pathology. – 1996. – Vol.75, N.9. – P. 721–763.

Надійшла до редколегії 28.05.08

О. Литвиненко, асп.
Л. Степанова, канд. біол. наук,
В. Грищенко, д-р вет. наук,
Л. Бабиш, канд. біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ФОСФОЛІПІДВІСНОЇ ДОБАВКИ НА МЕМБРАНИ ГЕПАТОЦИТІВ

Вивчено вміст загальної фракції ліпідів та індивідуальних фосфоліпідів внутрішньої мітохондріальної та мікросомальної мембран гепатоцитів за терапевтичної дії ліпосомальної форми біологічно активної добавки (БАД) FLP-MD на основі фосфоліпідів молока, у порівнянні з препаратом "Есенціал-форте", за використання експериментальної моделі ентеропатології з виразково-ерозійним процесом, ускладненим гепатитом у щурів. Мембрана мітохондрії більш чутлива до дії цих лікувальних засобів, на що вказують зміни кількості індивідуальних фосфоліпідів за всіх умов експерименту. Встановлено зростання відносно контролю рівня як загальної фракції ліпідів, так і індивідуальних фосфоліпідів при застосуванні БАД FLP-MD на відміну від терапії за використання препарату "Есенціал-форте", що можливо пов'язане з мобілізацією процесу синтезу ліпідів за цих умов.

The content of main lipids and individual phospholipids fractions from the inner mitochondrial and the microsomal membranes of hepatocytes after the therapeutic impact of biological active addition liposomic form on the milk phospholipids (FLP-MD) base in compare with "Essentially-Forte" in using the experimental model of the hepatitis with the venomous-erosion processes in rats was investigated. The changes of the individual phospholipids quantities by the all experimental conditions confirm that the mitochondrial membrane is more sensitive to the influence of this drug. The estimated increase as main lipids as and individual phospholipids in using of "Essentially-Forte" drug is probably linked with the mobilization of lipids synthesis processes by these conditions.

Вступ. Склад ліпідів більшості мембран тваринних клітин є достатньо стабільним, тому представляє інтерес вивчення порушення балансу кількості індивідуальних та загальних фосфоліпідів при різних видах патологій. Підтримання необхідного рівня ліпідів має важливе значення як у забезпеченні життєдіяльності організму в цілому, так і варіабельності мембранних функцій клітин [6]. У зв'язку з тим, що ліпіди складають від 20 до 80% маси біомембран, є актуальним вивчення різноманітних аспектів їх змін, які можуть призводити як до структурно-функціональних порушень, так і до загибелі клітин [8]. Центральним органом обміну ліпідів є печінка, де відбувається як синтез, так і катаболізм більшості з них. Виконання основних функцій печінки в значній мірі реалізовується мембранними системами гепатоцитів. На сьогоднішнє доведено суттєву роль порушень ліпідного компонента мембран у розвитку тяжких захворювань печінки, серцево-судинної та інших систем організму, що обумовлює застосування фосфоліпідовмісних препаратів репаративної дії. Створена біологічно-активна добавка (БАД) FLP-MD на основі фосфоліпідів молока, яка містить фосфоліпіди молока, ненасичені жирні кис-

лоти, ретинолу ацетат та α-токоферол, показала свою ефективність при застосуванні у комплексному лікуванні телят, що перехворіли на неонатальну диспепсію [1]. Принциповим, для виявлення біохімічних шляхів дії БАД FLP-MD є дослідження впливу цієї БАД на різноманітні мембранні системи, в тому числі гепатоцитів.

Метою роботи було порівняльне дослідження дії ліпосомальної форми БАД FLP-MD та препарату "Есенціал-форте" на ліпідний склад мікросомальної та внутрішньої мітохондріальної мембран гепатоцитів за використання експериментальної моделі ентеропатології з виразково-ерозійним процесом, ускладненим гепатитом у щурів.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведено на лабораторних одностатевих щурах лінії Вістар, масою 180–200 г, з яких формували 4 групи: 1 – контрольні тварини; 2 – відтворення моделі ентеропатології з виразково-ерозійним процесом, ускладненим гепатитом (модель); 3 – відтворення моделі ентеропатології та лікування препаратом "Есенціал-форте"; 4 – відтворення моделі ентеропатології та корекція патологічних змін шляхом застосування ліпосомальної форми БАД FLP-MD. Для відтворення моделі захворювання щурам

2, 3, 4 груп упродовж 14 діб вводили препарат "диклофенак" у дозі 12,5 мг/кг маси тіла, що становить 3 мг на одну тварину один раз на добу. Далі тварини групи 2 залишалися без лікування; тваринам групи 3 перорально вводили препарат БАД FLP-MD (2,7 мг на одну тварину) протягом 30 діб; 4 група – перорально вводили препарат "Ессенціале-форте" (10–12 мг на одну тварину протягом 30 діб). Після закінчення експерименту щурів декапітували.

Препарати мікросом (МК) гепатоцитів отримували згідно [3], а внутрішньої мембрани мітохондрій – субмітохондріальних частин (СМЧ), згідно [5], із незначними модифікаціями. Ліпідну фракцію отримували за методом Фолча [9], розділення індивідуальних фосфоліпідів за використання двовимірної тонкошарової хроматографії та визначення їх кількості у зразках проводили, згідно [7]. Експериментальні дані оброблялись методами варіаційної статистики [2].

Результати та їх обговорення. Функціональний стан клітин печінки, який обумовлений структурно-функціональними властивостями клітинних мембран, значно

впливає на процеси адаптації організму до екстремальних умов, на детоксикацію ендогенних токсичних сполук. Біологічна мембрана є збалансованою динамічною структурою і порушення її фізико-хімічного стану, а саме ліпідної компоненти, може призвести до ряду функціональних змін, у тому числі йонної проникності та каталітичної функції, що, в кінцевому випадку, може вплинути на функціонування як клітин, так і організму в цілому.

Результати проведених досліджень по визначенню загальної кількості ліпідів та фосфоліпідів у мембранах МК та СМЧ гепатоцитів печінки наведено у табл. 1. Слід відмітити, що в обох досліджуваних мембранах спостерігається недостовірне зменшення кількості загальної фракції ліпідів та фосфоліпідів у тварин групи 2 (модель). Причому, ці величини досліджуваних показників залишаються незмінні і за умов введення препарату "Ессенціале-форте". За використання БАД FLP-MD вміст ЗЛ та ФЛ в препаратах МК повертається до контрольних значень, а в препаратах СМЧ вміст ЗЛ та ФЛ достовірно збільшується на 31% відносно контролю.

Таблиця 1. Вміст загальних ліпідів (ЗЛ) та фосфоліпідів (ФЛ) у препаратах мікросом та субмітохондріальних частин (СМЧ) гепатоцитів (мкг/мг білка) в контролі та за умов експерименту, ($M \pm m$, $n = 6$)

	Мікросомальна мембрана				Препарати СМЧ			
	контроль	модель	"Ессенціале-форте"	БАД FLP-MD	контроль	модель	"Ессенціале-форте"	БАД FLP-MD
ЗЛ	1137,1 $\pm$ 85,4	1033,1 $\pm$ 76,3	1062,6 $\pm$ 75,2	1169,0 $\pm$ 88,4	730,4 $\pm$ 58,0	627,2 $\pm$ 68,7	841,2 $\pm$ 57,8	957,2 $\pm$ 52,3*
ФЛ	681,2 $\pm$ 48,1	630,7 $\pm$ 35,8	616,3 $\pm$ 45,1	693,5 $\pm$ 34,8	474,8 $\pm$ 33,8	413,9 $\pm$ 35,3	539,4 $\pm$ 35,0	622,2 $\pm$ 50,8*

Примітка: тут і далі в таблицях * – $P \leq 0,05$ відносно контролю.

Фосфоліпіди є незамінною складовою усіх біологічних мембран. Поряд із участю у формуванні структури мембран та транспортних процесах, вони також необхідні для забезпечення синтезу амінокислот і білків тощо. Дуже важливим є збереження співвідношень між окремими фракціями фосфоліпідів і зміна цього показника може призвести до порушення балансу в процесах життєдіяльності клітин.

Аналізуючи отримані результати вмісту окремих фракцій фосфоліпідів у препаратах МК гепатоцитів, можна відмітити, що основні з них – фосфатидилхолін (ФХ) та фосфатидилетаноламін (ФЕА), які складають

50 та 35% від їх загальної суми, відповідно, вірогідно не змінюються за умов досліджень (табл. 2). Незначне зменшення величини показників, які характеризують кількість цих ліпідів в умовах моделі, при введенні БАД FLP-MD повертається до контрольних значень. Однак у тварин в умовах моделі спостерігаються зміни вмісту мінорного компонента мембран МК: збільшується вміст фосфатидиніозитолу (ФІ) на 55% та фосфотидилсерину (ФС) на 36%. За використання БАД FLP-MD та препарату "Ессенціале-форте" відмічено наближення рівня цих фосфоліпідів до контрольних значень.

Таблиця 2. Вміст індивідуальних фосфоліпідів (мкг/мг білка) у мембранних препаратах мікросом (МК) та субмітохондріальних частин (СМЧ) гепатоцитів в контролі та за умов експерименту, ($M \pm m$, $n=6$)

Мембрани	Умови досліджу	Індивідуальні фосфоліпіди							
		ФХ	ФЕА	СФМ	ФС	ФІ	КЛ	ЛФХ	ЛФЕА
МК	контроль	343,0 $\pm$ 19,3	243,7 $\pm$ 7,8	43,6 $\pm$ 6,8	28,7 $\pm$ 2,8	14,8 $\pm$ 1,8	7,3 $\pm$ 0,8	-	-
	модель	312,9 $\pm$ 19,8	210,8 $\pm$ 7,4	42,3 $\pm$ 6,3	34,7 $\pm$ 3,8	22,9 $\pm$ 2,0*	5,5 $\pm$ 0,6*	сліди	сліди
	препарат "Ессенціале-форте"	297,7 $\pm$ 17,4	209,7 $\pm$ 8,8	46,9 $\pm$ 5,1	39,1 $\pm$ 4,0*	17,6 $\pm$ 1,8	4,9 $\pm$ 0,3	-	-
	БАД FLP-MD	340,2 $\pm$ 18,8	241,3 $\pm$ 7,8	47,0 $\pm$ 5,8	34,4 $\pm$ 3,4	21,9 $\pm$ 6,2*	8,7 $\pm$ 0,8	-	-
СМЧ	контроль	226,4 $\pm$ 19,7	138,8 $\pm$ 9,9	31,8 $\pm$ 3,8	26,5 $\pm$ 2,8	12,6 $\pm$ 1,1	37,9 $\pm$ 2,8	-	-
	модель	197,8 $\pm$ 19,5	120,5 $\pm$ 8,1	26,8 $\pm$ 3,7	21,0 $\pm$ 2,2*	15,5 $\pm$ 1,4*	29,4 $\pm$ 2,8*	сліди	-
	препарат "Ессенціале-форте"	242,9 $\pm$ 18,3	157,8 $\pm$ 12,8	36,6 $\pm$ 4,3	42,8 $\pm$ 3,2*	20,6 $\pm$ 2,3*	38,7 $\pm$ 4,8	-	-
	БАД FLP-MD	287,5 $\pm$ 19,8*	188 $\pm$ 14,2*	46,8 $\pm$ 4,8*	41,4 $\pm$ 3,8*	18,7 $\pm$ 1,8*	39,0 $\pm$ 2,2	-	-

Дослідження вмісту індивідуальних ФЛ в мембранах СМЧ показало, що в умовах моделі характерним є зниження вмісту ФЛ, особливо ФС та кардіоліпіну (КЛ), відповідно на 21 та 22%, а також зростання вмісту ФІ на 23% (табл. 2). Терапія за використання БАД FLP-MD призводить до вірогідного зростання вмісту всіх досліджених фосфоліпідів у мембрані вище контрольного рівня. При застосуванні "Ессенціале-форте" спостерігається відновлення показників основних фосфоліпідів до

рівня контролю, в той же час залишається значно підвищеним вміст ФС – на 57% та ФІ – на 63%, відносно контрольних значень. Слід відмітити, що у препаратах МК та СМЧ виявляються сліди вмісту лізоформ фосфоліпідів – лізофосфатидилхоліну (ЛФХ) та лізофосфатидилетаноламіну (ЛФЕА) лише в умовах моделі. Різноманітність змін вмісту окремих фосфоліпідів пояснює незначні зміни їх сумарної кількості в умовах експерименту. В той же час, це може вказувати на різну

чутливість метаболічних шляхів, які відповідають за синтез та розпад окремих фосфоліпідів.

Таким чином, отримані дані свідчать про кількісні зміни вмісту фосфоліпідів та величин їх співвідношень, які визначають фізико-хімічні властивості мембран. В групі 2 (модель) спостерігається найбільш виражений перерозподіл вмісту мінорної компоненти ФЛ у мембранах мітохондрій та мікросом гепатоцитів, кількість ФХ та ФЕА вірогідно не змінюється. В умовах дослідів за використання "Ессенціале-форте" для препаратів печінки характерним є тенденція до повернення показників до контрольних значень. Терапія за використання БАД FLP-MD призводить до зростання вмісту всіх досліджених фосфоліпідів у мембранах вище контрольного рівня, що може свідчити про прискорення інтенсивності процесу синтезу ліпідів у печінці та відновлення їх кількості в досліджуваних мембранах. Крім того, опираючись на отримані нами дані по дослідженню ліпідного складу апікальної та мітохондріальної мембран ентероцитів тонкої кишки [4] можна відмітити, що БАД FLP-MD має односпрямовану дію на ліпідний стан мембран різних органів. Якщо вміст ліпідів зменшується за умов 2 (модель), то введення БАД FLP-MD призводить до зростання їх вмісту у мембранах.

Висновки. 1. Результати експерименту показали, що ліпідна компонента внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів у порівнянні з мікросомальною мембраною піддається більш суттєвим змінам в умовах експерименту. 2. Використання препарату "Ессенціале-

форте" в якості лікувального засобу за умов ентеропатології призводить до відновлення вмісту індивідуальних фосфоліпідів та їх сумарної кількості в обох мембранах. 3. Використання ліпосомальної форми біологічно активної добавки FLP-MD не тільки відновлює ліпідну та фосфоліпідну компоненту мембран, але за цих умов зростає кількісний вміст досліджуваних ліпідів у мембранах, що можливо пов'язане з мобілізацією процесу синтезу ліпідів.

1. Грищенко В.А. Біохімічне та клінічне обґрунтування застосування засобів репаративної терапії на основі фосфоліпідів молока при ентеропатології телят: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – К., 2006.
2. Плохинский В.М. Математические методы в биологии. – М., 1981.
3. Практикум по биохимии: учебное пособие / Под редакцией С.Е. Северина. – М., 1989. – 509 с. 4. Степанова Л., Грищенко В., Реброва З., Хижняк С. Фосфоліпідний склад мембран ентероцитів за дії добавки FLP-MD // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2007. – Вип. 49–50. 5. Цвилюховський Н.И., Усатюк Г.В., Мельничук Д.А. Выделение, очистка и характеристика щеточной каймы и базолатеральной мембран из клеток кишечного эпителия крупного рогатого скота // Укр. биохим. журнал. – 1988. – Т. 60, № 6. – С. 91–94. 6. Эйдус Л.Х., Эйдус В.Л. Проблемы механизма радиационного и химического гормонализма // Радиационная биология. 7. Brockhuysse R.M. Phospholipids in tissues of the eel 1. Isolation characterization and quantitative analysis by dimensional thin-layer chromatography of diacyl and vinyl ether phospholipids // Biochim. Biophys. Acta. – 1968. – Vol. 152, № 2. – P. 307–315. 8. Cristea I.M., Esposti M.D. Membrane lipids and cell death: an overview // Chemistry and Physics of Lipids. – 2004. – Vol. 129. – P. 133–160. 9. Folch J., Lees M., Stanley G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, № 2. – P. 497–501.

Надійшла до редколегії 08.10.07

УДК 612.36 +591.132.5

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

МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ МЕТ-ЕНКЕФАЛІНУ НА ЖОВЧОСЕКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

В гострих спробах на щурах вивчали зовнішньосекреторну функцію печінки під впливом мет-енкефаліну (1мкг/100г маси тіла), антагоніста опіоїдних рецепторів налоксону (10 мкг/100 г) та під впливом блокаторів α і β -адренорецепторів фентоламіну (25 мкг/100г) та обзидану (5 мкг/100г) і блокатору М-холінорецепторів атропіну (2 мкг/100г). Спостерігали значніші зміни жовчоутворення при сумісному послідовному введенні блокаторів опіоїдних рецепторів, α – і β -адренорецепторів та М-холінорецепторів з мет-енкефаліном, аніж при болюсному внутрішньопортальному введенні самого пептиду.

We studied the influence of Met-enkephalin (1mkg/100g), opioid receptors antagonist naloxon (10mkg/100g), α - and β adrenoreceptors (fentolamine (25mkg/100g), obzidane (5mkg/100g)) and M- holinoreceptors (atropine(2mkg/100g)) antagonists on the liver bile secretion function in acute experiment on the rats. We observed more change of bile secretion on influence of Met-enkephalin under the opioid receptors, α - and β adrenoreceptors and M- holinoreceptors blockades by using once of Met-enkephalin.

Вступ. Відомо, що значна кількість пептидів, які, виконують нейромедіаторну функцію і виступають у ролі гуморальних регуляторних факторів, впливають на жовчосекреторні процеси. Зокрема дослідженнями проведеними у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка, встановлено, що ендогенні опіоїдні пентапептиди (енкефаліни) істотно змінюють жовчосекреторну функцію печінки щурів при введенні їх у ворітну вену [5]. Виявлено також, що синтетичні аналоги енкефалінів, розроблені, зокрема, як лікарські препарати, або як високо селективні агоністи опіоїдних рецепторів, незалежно від способів введення, виявляють гіпохOLERETICНІ ефекти [5, 6, 10].

Припускають, що ефекти опіоїдних пептидів реалізуються через їх зв'язування з опіоїдними рецепторами. Виділяють 5 типів опіоїдних рецепторів: δ , μ , κ , σ і ϵ . Було також запропоновано існування підтипів опіоїдних рецепторів [10]. Показано, що регуляторний вплив енкефалінів опосередкований мембранними рецепторами гепатоцитів [6]. Однак, дослідження проведені Bergasa et al (1997) вказують на можливу участь парасимпатичних нервів у реалізації ефектів енкефалінів при їх внутрішньомозковому введенні, так як атропін частково (на 40–47%) усуває холестатичні ефекти введення опіоїдних пептидів.

Вагоме значення у реалізації ефектів регуляторних пептидів має швидкість їх руйнування в крові і тканинах різних органів. Молекули енкефалінів руйнуються в організмі під дією енкефалінази – аміноенкефалінази (руйнує зв'язок Tyr-Gly), карбоксиенкефалінази (гідролізує зв'язок Gly-Phe), ендоенкефалінази (гідролізує зв'язок Gly-Gly) і псевдоенкефалінази (мають широку субстратну специфічність). Енкефаліни є короткоживучими пептидами: час їх "напівжиття" у плазмі крові щурів складає лічені хвилини [10].

Беручи до уваги, що зміни інтенсивності секреції жовчі після внутрішньопортальної інфузії мет-енкефаліну спостерігаються впродовж трьох годин дослідів можна припустити, що довготривалість ефектів може бути наслідком опосередкованої дії опіоїдного пептиду, в тому числі, за участю нервових механізмів регуляції жовчоутворення. Зауважимо також, що енкефаліни впливають на здійснення нервової регуляції функціонування вісцеральних органів. Так, саме впливом на механізми нервової регуляції пояснюються їх кардіопротекторні ефекти на серцевосудинну систему [3].

Мет-енкефалін знаходиться в тісному функціональному контакті як з адренергічною, так і з серотонінергіч-

ною системами. Він має модуляторну дію, обмежує ефекти активації адренергічної системи і потенціює дію серотонінергічної. Крім того мет-енкефалін міститься в нейронах нейрогіпофіза разом з окситоцином і безпосередньо впливає на секрецію нейрогіпофізарних гормонів, гальмуючи виділення окситоцину [7]. Загалом відомо, що взаємодія між адренергічною та опіоїдною системами здійснюється на пре- і постсинаптичному рівнях. Катехоламіни і опіоїдні пептиди спільно локалізовані в нервових закінченнях, а на адренергічних терміналях наявні опіоїдні рецептори [2, 3].

Отже, враховуючи вищесказане доцільно було дослідити впливи опіоїдного агоністу – мет-енкефаліну на жовчоутворювальну функцію печінки за умов різної активності адрено- та холінорецепторів.

Об'єкт і методи досліджень. Експерименти проведено на білих щурах-самцях масою 180–220г. У ворітну вену інфузували у вигляді розчину ендogenousний опіоїдний пентапептид мет-енкефалін (Sigma, США) в розрахунку 1,0 мкг на 100 г маси тіла тварини.

Блокатор опіоїдних рецепторів налоксон вводили у дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини.

Блокатори α і β -адренорецепторів фентоламін у дозі 25 мкг на 100 г маси тіла тварини та обзидан у дозі 5 мкг на 100 г маси тіла тварини вводили внутрішньопортально.

Блокатор М-холінорецепторів атропін вводили внутрішньом'язово у дозі 2 мкг на 100 г маси тіла тварини.

Для дослідження секреторної функції печінки тваринам, що перебували під тіопенталовим наркозом (5мг на 100г маси тіла тварини, внутрішньочеревно), проводили лапаротомію з наступним канюлюванням загальної жовчної протоки. Статистична обробка отриманих даних проводилась із використанням методів варіаційної статистики з врахуванням t-критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення. Внутрішньопортальне введення мет-енкефаліну викликало незначне знижен-

ня швидкості секреції жовчі до 14% протягом 2,5 годин після введення опіоїдного пептиду порівняно з вихідним рівнем (Рис. 1). Кількість продукрованої жовчі у контрольних тварин в середньому за весь період досліду була $1,71 \pm 0,62$ мкл/г, а під впливом опіоїдного пептиду складала $1,34 \pm 0,2$ мкл/г, що на 21,6% нижче і свідчить про гальмування жовчосекреторного процесу цілому.

Зауважимо, що статистично значимих змін порівняно з контролем немає, хоча за даними інших авторів [5] спостерігалось значне зниження швидкості секреції жовчі (до 30%), що можливо пов'язано з різними способами введення пептиду. Так, зокрема в наших дослідженнях ми використовували болюсне внутрішньопортальне введення мет-енкефаліну, в той час як в дослідженнях вищезазначених авторів застосовували інфузію опіоїдного пептиду протягом 30 хвилин 2-х мл розчину.

Внутрішньопортальне введення налоксону викликало незначне підвищення рівня об'ємної швидкості секреції жовчі порівняно з контролем. Рівень жовчоутворення коливався в межах $1,83$ – $1,94$ мкл/г маси тіла. Слід відзначити, що за даними літератури [9] антагоністичний вплив налоксону на опіоїдні рецептори всіх типів унеможливує гіпохолеретичну дію ендogenousних енкефалінів, присутніх в організмі піддослідних тварин, що не збігається з отриманими нами результатами досліджень. Сумісне введення налоксону з мет-енкефаліном за динамікою нагадувало пригнічуючий ефект окремо введенного пептиду, що може бути свідченням опосередкованого впливу опіоїдного пептиду на жовчосекреторну функцію печінки. Цікаво, що встановлена здатність налоксону змінювати частоту серцевих скорочень, активність дихального центру і такі його ефекти нагадують дію морфіну в схожих умовах експерименту. Вплив налоксону був слабший в порівнянні з дією "класичних" опіоїдних агоністів, але сама його присутність дозволила авторам говорити про часткову антагоністичну активність налоксону [1].

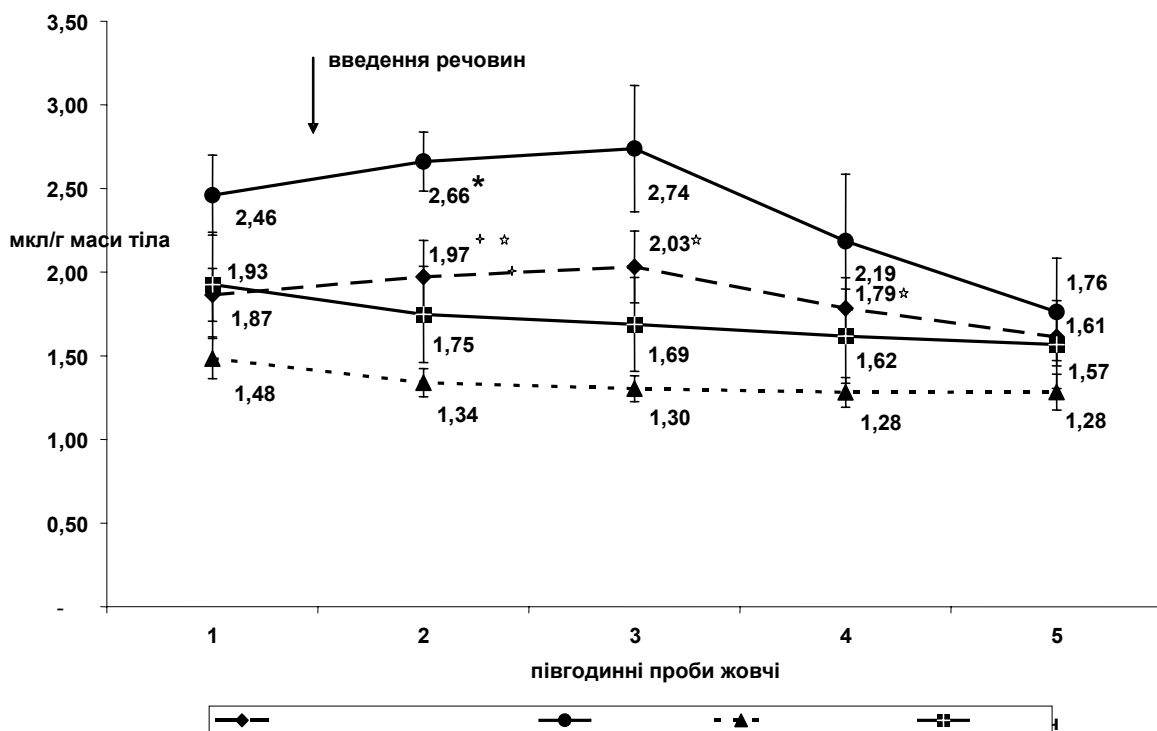


Рис. 1. Динаміка секреції жовчі під впливом фентоламіну в дозі 25 мкг/100 г маси тіла тварин та сумісного введення фентоламіну з мет-енкефаліном щодо мет-енкефаліну

Примітка: * – $p < 0,05$ – введення фентоламіну порівняно з контролем;
 – $p < 0,05$ – введення фентоламіну порівняно із сумісним введенням фентоламіну та мет-енкефаліну;
 – $p < 0,05$ – сумісне введення фентоламіну з мет-енкефаліном та окремо введенням мет-енкефаліном.

Оскільки, нервові шляхи, якими до печінки потрапляють стимулюючі та гальмівні імпульси представлені холінергічними волокнами блукаючих і діафрагмальних нервів та адренергічними волокнами симпатичних нервів, для з'ясування опосередкованого впливу опіоїдного пептиду на секрецію жовчі через симпатичну нервову систему, використовували блокатор α -адренорецепторів фентоламін.

Секреція жовчі при внутрішньопортальному введенні фентоламіну посилюється в середньому вдвічі в другій півгодинній пробі дослідження ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Отже, можна припустити, що при блокаді адренорецепторів фентоламіном за умов нашого дослідження усувається пригнічуючий вплив адренергічної системи на жовчосекреторну функцію.

При введенні мет-енкефаліну на фоні блокади адренорецепторів фентоламіном швидкість секреції жовчі в першій пробі знижується на 26% ($P < 0,05$) порівняно із введенням самого фентоламіну. Однак, рівень секреції жовчі при сумісному введенні опіоїдного пептиду з фентоламіном 56% ($P < 0,05$) вищий ніж при введенні самого мет-енкефаліну (Рис. 1).

Отже отримані зміни секреції жовчі при дії мет-енкефаліну за умов блокади α -адренорецепторів фентоламіном і відсутність змін при введенні самого мет-енкефаліну вказують на істотну роль відповідних адренорецепторів у реалізації фізіологічної ролі мет-енкефаліну, як регулятора секреторних процесів.

Для з'ясування можливої опосередкованої дії мет-енкефаліну через β -адренорецептори гепатоцитів застосовували неселективний їх блокатор обзидан.

Обзидан викликає незначне підвищення швидкості секреції жовчі відносно контролю.

Однак, послідовна внутрішньопортальна інфузія обзидану і мет-енкефаліну пригнічує швидкість секреції жовчі на 58% ($P < 0,01$) порівняно з введенням самого обзидану, так і порівняно із введенням окремо мет-енкефаліну на 44% ($P < 0,001$) в кінці дослідження (Рис. 2). Ймовірно, такі зміни є результатом сумарної дії обзидану і мет-енкефаліну та можуть свідчити про вплив β -адренорецепторів на процеси регуляції жовчосекреторної функції печінки.

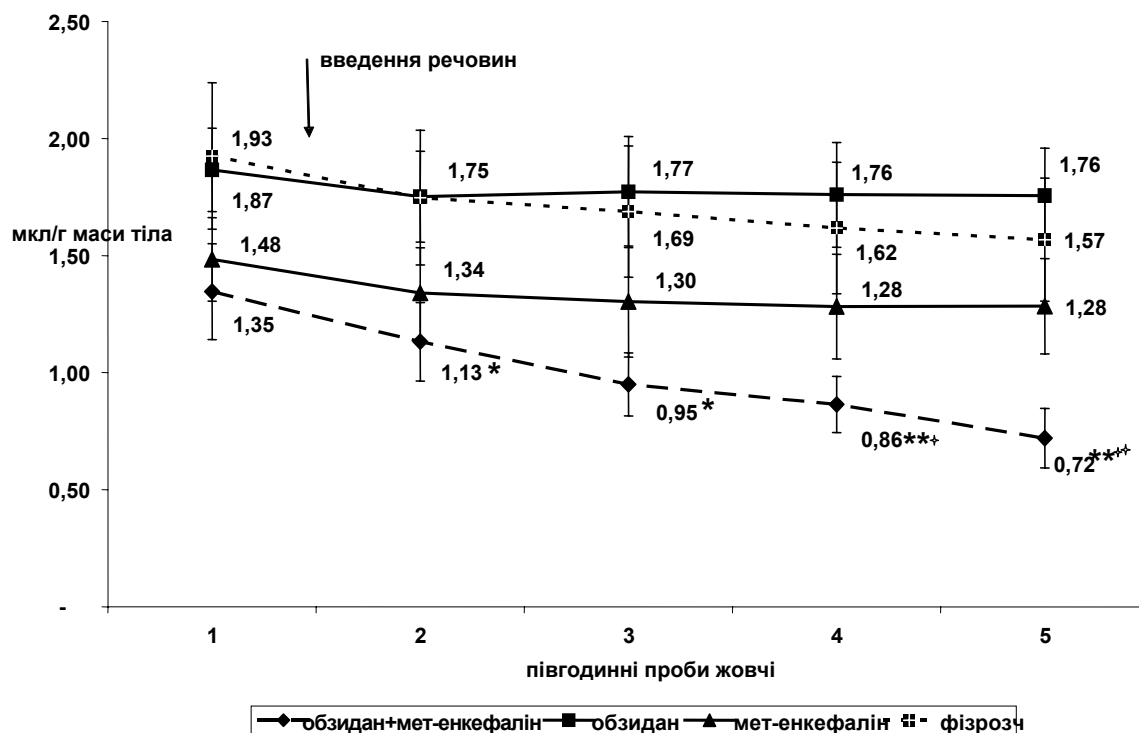


Рис. 2. Динаміка секреції жовчі під впливом обзидану в дозі 5 мкг/100 г маси тіла тварин та сумісного введення обзидану з мет-енкефаліном щодо мет-енкефаліну

Примітка:

- $p < 0,05^*$ та – $p < 0,01^{**}$ сумісне введення обзидану з мет-енкефаліном та окремо введенням мет-енкефаліном;
- $p < 0,05^*$ та – $p < 0,01^{**}$ введення обзидану порівняно із сумісним введенням фентоламіну та мет-енкефаліну.

Згідно даних літератури регуляторний вплив опіоїдних пептидів на жовчосекреторну функцію може бути пов'язаний з парасимпатичними механізмами регуляції секреції жовчі. Виявлене зниження швидкості секреції жовчі при внутрішньомозковому введенні опіоїдів пов'язується, зокрема, з парасимпатичними механізмами регуляції жовчотоку, оскільки атропін частково (на 40–47%) усуває холестатичні ефекти опіоїдних пептидів [9]. Взаємодія опіоїдної і холінергічної систем почала розглядатися науковцями при дослідженні ноцицептивних реакцій організму [2]. Так, було продемонстровано, що (-)-N-аллїлнорметазоцин (синтетичний ліганд опіоїдних

рецепторів непептидної природи) зв'язується з холіно-рецепторами, а морфін усуває дію ацетилхоліну на різні популяції кіркових нейронів кори головного мозку кролика. Слід відмітити, що лей-енкефалін пригнічує скорочення прямої кишки, викликане ацетилхоліном. Взаємодія опіоїдної й холінергічної систем здійснюється і на пресинаптичному рівні: опіоїдні пептиди блокують вивільнення ацетилхоліну з пресинаптичних депо. Разом з тим, ацетилхолін викликає вивільнення мет-енкефаліну в середовище у первинній культурі хромафінних клітин наднирників [2]. Враховуючи вище сказане, для з'ясування можливих механізмів дії мет-енкефаліну із залучен-

ням парасимпатичної нервової системи було використано блокатор М-холінорецепторів – атропін.

Атропін – це алкалоїд, який є екзогенним лігандом холінорецепторів, що обумовлено деякою подібністю його хімічної структури з молекулою ацетилхоліну. Фармакологічна дія атропіну – блокада М-холінорецепторів, хоча він виявляє і слабкий вплив на Н-холінорецепто. Блокатор М-холінорецепторів атропін при внутрішньом'язевому введенні в дозі 2 мкг/100 г знижує секрецію жовчі на 14% порівняно з вихідним рівнем, але практично не змінює рівень жовчоутворення порівняно з контролем. Таким чином, зниження інтенсивності секреції жовчі при дії атропіну викликане пригніченням стимулюючої дії парасимпатичної нервової системи на жовчосекреторну функцію печінки. За умов внутрішньопортального введення мет-енкефаліну при блокаді М-холінорецепторів атропіном рівень секреції жовчі практично не змінюється порівняно із введенням самого атропіну. Рівень секреції жовчі при сумісному введенні атропіну з мет-енкефаліном є вищим (до 18%) ніж при введенні окремо мет-енкефаліну (однак ці зміни не є достовірними).

Односпрямованість дії, а саме збільшення об'єму виділеної жовчі під впливом самого атропіну та атропіну з мет-енкефаліном вказує на можливість залучення парасимпатичної нервової системи до реалізації регуляторного впливу мет-енкефаліну на жовчосекреторну функцію печінки щурів.

З даних літератури відомо, що зниження рівня жовчоту при внутрішньошлунковій ін'єкції DAME може відбуватися лише за умов цілісності зв'язку між мозком і печінкою [9]. У регуляції жовчосекреторної функції печінки безміхурових тварин, якими є щури, основна роль належить адренергічним механізмам [4, 8]. Однак, виявилось, що хімічна симпатектомія не усуває гіпохолеретичної дії DAME [9]. Не зважаючи на розбіжності у постановці досліду, зокрема, у способі введення опіоїдного пептиду, отримані нами результати повністю узгоджуються з даними Bergassa et al (1999). Так, попере-

дне введення фентоламіну частково усувало гіпохолеретичні ефекти мет-енкефаліну. Цікаво відзначити, що сам фентоламін викликав підвищення об'ємної швидкості секреції жовчі, що, ймовірно, пов'язано з унеможливленням пригнічуючої дії ендогенних агоністів α -адренорецепторів на жовчосекреторні процеси. При сумісному введенні блокатора β -адренорецепторів обзидану і мет-енкефаліну спостерігалась сумація холестатичної дії обох препаратів.

Висновки. Отже, ми спостерігали значніші зміни жовчоутворення при сумісному послідовному введенні блокаторів опіоїдних рецепторів, α - і β -адренорецепторів та М-холінорецепторів з мет-енкефаліном, аніж при болюсному внутрішньопортальному введенні самого пептиду. Можливо, ефекти енкефалінів, зокрема, мет-енкефаліну на жовчосекреторну функцію істотніше проявляються за умов зміни функціонального стану нервової системи, а саме, при блокаді певних ланок нервової регуляції жовчоутворення.

1. 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.
2. Громов Л.А. Нейропептиды. – К., 1992. – 248 с.
3. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Эндогенная опиоидная система и устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям // Экспериментальная кардиология. – 2002. – №3. – С. 51–56.
4. Лященко П.С., Весельский С.П. Роль адренергических нервов в передаче влияния гипоталамуса на секреторную деятельность печени // Проблемы физиологии гипоталамуса. – 1991. – Вып. 25. – С. 44–48.
5. Масюк Т.В., Весельский С.П., Масюк А.И. // Физиологический журнал. – 1995. – Т. 41, №3–4. – С. 3–8.
6. Решетник Е.М., Філінська О.М., Рибальченко Т.В. Физиологические та молекулярные механизмы эффектов енкефалинов // Проблемы экологической та медицинской генетики і клінічної імунології. – 2004. – Выпуск 9 (62).
7. Смятний В.П., Чернуха Г.Е., Морозова О.М. Эндогенные опиоидные пептиды и эндокринная функция репродуктивной системы // Акуш. и гинеко. – 1990. – № 4. – С. 50–52.
8. Тукаев С.В. Участие адренергических механизмов в регуляции жовчовиділення: Автореф. дис.... канд. біол. наук. – К., 1999. – 17 с.
9. 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.
10. MacKinnon K.L., Zuzel K.A., Billington D. Hepatic inactivation of Leu-enkephalin // Regulatory Peptides. – 1996. – V.67. – P. 85–92.

Надійшла до редколегії 02.03.08

УДК 576.3

К. Лапшина, студ.,
О. Маслова, студ.,
Н. Скрипник, канд. біол. наук,
М. Дзержинський, д-р біол. наук

ЗАГАЛЬНОБІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН, ЯК ОСНОВНОГО ДЖЕРЕЛА ФІЗІОЛОГІЧНОГО РОЗВИТКУ ТА РЕГЕНЕРАЦІЇ

Проаналізовано основні положення теорії стовбурових клітин, подана їх загальна характеристика, а також аналіз початкових етапів ембріогенезу, механізмів диференціації стовбурових клітин та морфо-функціональних особливостей різних ліній стовбурових клітин.

Main assertions of the stem cell theory are analyzed, their general characteristics are presented in addition to the analysis of the initial phases of the embryogenesis, mechanisms of the stem cell differentiation and morpho-functional peculiarities of different lines of stem cells.

Вступ. В останні роки все більше уваги приділяють дослідженням стовбурових клітин (СК) із врахуванням можливості їхнього клінічного використання. Практичне застосування СК пов'язано з цілим рядом проблем, зумовлених як складністю їх отримання, так і з проблемами направленої диференціації, культивування та трансплантації культивованих тканин. Зазначимо, що культивування СК значно ускладнюється їх високою чутливістю до стресових факторів, в тому числі окисників.

Згідно сучасним поглядам виділяють ембріональні стовбурові клітини (ЕСК) та ССК. З етичних міркувань клітини, отримані з раннього зародка людини, не можуть бути використані з терапевтичною метою, не дивлячись на високий потенціал диференціювання. ССК,

що присутні практично у всіх тканинах дорослої людини мають значно більший потенціал диференціації, ніж вважалося раніше. У зв'язку з цим, вони знаходять все більше застосування в аутологічній клітинній та тканинній терапії, яка має ряд переваг перед пересадкою цілих органів [1]. Нині можливим є лікування та відновлення органів, введенням в них суспензії клітин, вирощених з СК.

Загальна характеристика СК. Останні роки характеризуються справжньою революцією у дослідженні СК. Саме поняття "стовбурові клітини" існує давно, проте раніше воно використовувалося, в основному, щодо кровотворних клітин [1]. Сучасне визначення виглядає наступним чином: СК – це унікальні клітини, які мають

здатність до самовідновлення та можуть формувати один або більше типів спеціалізованих клітин.

СК характеризуються наявністю трьох головних властивостей. По-перше, СК діляться симетрично або асиметрично. Тобто при проліферації СК замість утворення 2-х однакових дочірніх клітин одна дочірня клітина стає комітованою, здатною стати більш спеціалізованою, а інша – залишається неспеціалізованою СК. По-друге, СК здатні до самовідновлення, тобто репопулюють (проліферують без диференціювання) протягом невиразно тривалого періоду часу або навіть протягом всього життя організму. І нарешті, третє – СК можуть диференціюватися в спеціалізовані типи клітин (принаймні в клітини 2-х різних фенотипів), проходячи стадію прогеніторних клітин з так званого короткочасно існуючого пулу неспеціалізованих комітованих СК [2].

ЕСК поділяють на три основні типи: клітини тератоканціном, клітини, виділені з внутрішньої порожнини бластоцисти та гермінальні (примордіальні) клітини [3]. Вперше, як окремий тип СК, ембріональні стовбурові клітини були виділені з пухлин тератоканціном мишей. Пізніше отримали СК з преімплантаційних зародків на стадії 90-120 клітин. Наступним етапом було виділення ЕСК зі статевого зачатка – аутопсійної тканини ембріону 5-9 тижня – гермінальні ембріональні стовбурові клітини. Усі три типи ЕСК були ізольовані з організму людини та мишей. Спільними для всіх ЕСК властивостями є: наявність ендогенної лужної фосфатази, експресія транскрипційного фактору Oct-4, висока теломеразна активність, присутність ембріонального антигену SSEA-1, коротка тривалість G-1 фази клітинного циклу, гіпометильована ДНК. Потенціал розвитку ЕСК вивчали декількома шляхами: диференціюванням у чашках Петрі, диференціюванням у тератомах і тератоканціномах гістосумісних або імунопригнічених мишей та диференціюванням у порожнину бластоцисти преімплантаційного ембріона [3].

Ембріональні СК – виникають на ранніх стадіях розвитку зародка і являють собою клітини з тотипотентними або плюрипотентними властивостями. Саме ці клітини є істинно стовбуровими клітинами в організмі. На 2–4 добу розвитку зародка (стадія морули) формуються тотипотентні СК, які в умовах *in situ* здатні розвиватися до стадії дорослого організму [2].

Звичайно ЕСК виділяють з ембріобласта на 5–7 добу розвитку людського зародка (стадія бластоцисти). Ці клітини плюрипотентні і являють собою групу зародкових клітин (близько 80–100 клітин), що є зачатком всіх майбутніх клітин. Клітини ембріобласта здатні диференціюватися в усі типи клітин, що походять від всіх трьох ембріональних зародкових листків, утворювати будь-які тканини організму, але не цілий організм, оскільки ці клітини не беруть участь в утворенні екстра ембріональних структур (плаценти, пуповини та ін.) [2, 3].

Регіональні або дорослі СК (РСК) – є найбільш зрілим типом СК, які виявляються у вигляді включень у багатьох тканинах й органах плода, що сформувався, і дорослого організму (кістковий мозок, мезенхіма, плацента, кровоносні судини, жирова тканина, підшлункова залоза, печінка, м'язи, шкіра тощо). Походження регіональних СК, а також властивості цих клітин залишаються поки недостатньо дослідженими і тому дані про них не завжди точні й розрізняються у різних авторів.

Як і ЕСК, РСК відносять до числа недиференційованих клітин, які однак репопулюють циклічно протягом тривалого періоду часу, довжина якого визначається строками збереження здатності до самовідновлення клітин в органах і тканинах [2].

Прийнято вважати, що при диференціюванні *in vivo* РСК проявляють лише уніпотентні властивості, за рахунок яких заповнюють пул спеціалізованих клітин і підтримується стабільність процесу самовідновлення тканини (фізіологічна регенерація). Вважається, що при ушкодженні тканини РСК можуть здобувати властивості мультипотентних СК і диференціюватися в інші типи клітин, що мають спільність ембріонального походження. Мультипотентні властивості РСК у цей час показані лише при культивуванні в умовах *in vitro* і не для всіх типів РСК [2].

Під час старіння організму кількість РСК в органах прогресивно зменшується. Так, якщо в зародку ссавців на стадії органогенезу половина всіх клітин є некомітованими клонами СК, то вже у фетальній печінці 1 стовбурова гемопоетична клітина зустрічається на 100 000 гематогенних клітин. У кровотвірній тканині дорослої людини 1 СК трапляється на 2–10 млн. комітованих гемопоетичних клітин [4].

Початкові етапи ембріогенезу. Поняття бластоцисти. Розвиток нового організму починається із запліднення – злиття двох гамет. Це злиття спонукає яйцеклітину до розвитку. Сукупність стадій, що виникають після запліднення носить назву ембріогенезу [5].

Безпосередньо після запліднення проходить дроблення – ряд швидких мітотичних поділів. В результаті таких поділів величезний об'єм цитоплазми зиготи розділяється на численні менші за розміром клітини – бластомери, які до кінця дроблення зазвичай утворюють шар – бластулу. Після зменшення швидкості мітотичних поділів бластомери здійснюють енергійні переміщення, в результаті яких їхнє положення відносно один одного змінюється. Цю серію клітинних переміщень називають гастрюляцією. У результаті гастрюляції у типового зародка зазвичай утворюються три клітинні шари: ектодерма, ентодерма та мезодерма, що називаються зародковими листками [5].

Період дроблення у ссавців належить до ряду найбільш повільних у всьому тваринному світі. Кожне з них триває від 12 до 24 годин. Ще одна особливість дроблення у ссавців полягає у своєрідному розташуванні бластомерів відносно один одного. Перший поділ є меридіональним, але під час другого один з бластомерів поділяється екваторіально. Також особливою є виражена асинхронність раннього дроблення. Бластомери у ссавців не поділяються усі одночасно, тому у зародків немає рівномірного наростання числа бластомерів від 2-клітинної до 4- і 8-клітинним стадіям; зародки часто містять непарну кількість клітин [5, 6].

Надзвичайно важливою відмінністю дроблення у ссавців від всіх інших типів дроблення є явище компактизації. Бластомери на 8-клітинній стадії розташовуються пухко, між ними залишається великий простір. Однак після третього поділу вони зближуються, площа їх контакту максимально збільшується і утворюється компактна клітинна куля. Така форма стабілізується щільними контактами, що утворюються між клітинами, які розташовані на поверхні кулі, й ізолюють клітини, що лежать усередині. Між клітинами всередині кулі утворюються щільні контакти, що дозволяють малим молекулам та йонам переходити з клітини у клітину.

Клітини компактизованого зародка поділяються з утворенням 16-клітинної морули. Морула складається з невеликої кількості внутрішніх клітин, що оточені більш численними зовнішніми клітинами. Більша частина нащадків зовнішніх клітин стає клітинами трофобласту (або трофоектодерми). Ця група клітин не утворює ембріональних структур, а перетворюється на хоріон, що бере участь у формуванні плаценти. Клітини трофобласту не

здатні утворити жодної клітини самого зародка, вони необхідні для імплантації зародка у стінку матки.

Зародок формується нащадками внутрішніх клітин 16-клітинного зародка, до яких інколи додається клітина, що відділилась від трофобласту під час переходу до 32-клітинної стадії. Ці клітини створюють внутрішню клітинну масу (ВКМ), що і дає початок власне зародку. Клітини ВКМ відрізняються від клітин трофобласту не лише морфологічно, а й біохімічно. До стадії 64 клітин ВКМ і клітини трофобласту перетворюються у повністю сформовані клітинні шари, що не постачають клітинами один одного. Таким чином, поява відмінностей між бластомерами трофобласту та ВКМ є першим процесом диференціювання у розвитку ссавців.

ВКМ – це пул плюрипотентних клітин, що дають початок усім диференційованим типам клітин, які формують як сам ембріон, і, як наслідок, дорослий організм, так і ряд екстраембріональних тканин [6]. Вона з'являється у бластоцисті мишей на 3,5 день *post coitum*, у людини – на 5 день. У миші до 4,5 дня *post coitum* плюрипотентні клітини ВКМ, що вистеляють бластоцист, формують примітивну ентодерму та екстраембріональну лінію клітин, з яких розвивається вісцеральна і парієтальна ентодерма. Починаючи з 4,5 по 6,5 день *post coitum*, плюрипотентні клітини, що залишилися (їх об'єднують під назвою епібласт) підлягають проліферації, вибірково апоптозу та мігрують, з формуванням моно шару циліндричних епітеліальних плюрипотентних клітин – примітивної ектодерми. Примітивна ектодерма у процесі гастрულзації перетворюється на мезодерму, ектодерму, ентодерму власне ембріону, дає початок гермінальним клітинам та деяким екстраембріональним тканинам [1–9].

Відомо, що ранній ембріогенез миші володіє високою пластичністю, за рахунок якої забезпечується повноцінний розвиток ембріона навіть після руйнування 85% його клітин до настання стадії органогенезу.

Вважається, що більша частина бластоцисти не бере участь у формуванні дорослого організму. Власне зародку дають початок усього близько трьох клітин ВКМ, що підтверджено експериментально дослідями з алофенними мишами [5, 6].

У якості матеріалу для отримання ЕСК мишей найчастіше використовуються дисоційовані морули, інтактні бластоцисти та ізольована ВКМ.

Диференціація СК. Для одержання лабораторних ліній диференційованих соматичних клітин звичайно використовують 3 природних джерела ЕСК: бластоцисти людини (4–6 днів гестації), статевий зачаток фетусів 4–5 тижнів розвитку, а також клітини зародка на стадії гаструлзації (8–12 днів гестації), які ще піддаються репрограмуванню в лінії ЕСК [2].

Однак основним джерелом сировини для одержання клонів ЕСК залишаються бластоцисти ссавців після штучного запліднення яйцеклітини в умовах *in vitro*. Прийнято вважати, що зародок на стадії бластоцисти являє собою "стовбурову нішу", у якій чітко розділені ембріобласт і клітини трофобласта, що його підтримують, виконують роль своєрідного фідера. Клітини трофобласта виробляють кофактори виживання й захисту, які необхідні для збереження і проліферації плюрипотентних клітин внутрішнього зародкового шару. Одночасно ці клітини блокують неконтрольовану проліферацію ембріобласта *in situ*. Тільки мала частка клітин ембріобласта на етапі бластоцисти зберігає тотипотентність, тому що тільки 1–2% клітин вдається переводити в безсмертну лінію, що самооновлюється [4].

Диференціація ембріональних стовбурових клітин може бути викликана переміщенням культури клітин з фідерного шару у рідке середовище і культивуванням їх

у вигляді суспензії [8], видаленням фактору LIF, а також додаванням сироватки, що веде до прикріплення клітин до підкладки, утворення моношару й формування їх цитоскелету [2].

Переведення у рідку культуру призводять до утворення ембріодних тілець, що є обов'язковим кроком на шляху диференціювання [8]. Утворення ембріодних тілець починається з агрегації однорідних СК, які проліферують і в міру наростання клітинної маси змінюють склад внутрішнього локального мікросередовища, що призводить до зміни експресії генів і розвитку процесів диференціації клітин ембріодних тілець [2].

Ембріодні тільца – це сферичні конгломерати клітин, що знаходяться на початкових стадіях диференціювання. Структура їх нагадує структуру ембріонів ссавців на ранній постімплантаційній стадії. Вони утворюються у разі культивування клітин на малоадгезивному середовищі або у суспензії. Такі клітинні агрегати формують через 2–4 дні зовнішній шар з ектодермальних клітин. Ентодермальні клітини формують базальну мембрану. У центрі простих ембріодних тілець залишається популяція плюрипотентних ЕСК, що продовжують проліферувати. Якщо культивування в даних умовах триває більше ніж 2–4 дні, то прості ембріодні тільца диференціюються далі та утворюють цистичні ембріодні тільца, що містять у середині порожнину з рідиною; їх внутрішня поверхня вистелена ектодермальними циліндричними клітинами [9].

Всі СК мають спільні критерії, за допомогою яких їх відрізняють від інших (диференційованих) клітин при відборі та культивуванні. Такими критеріями є: розмір клітин, наявність або відсутність та характеристики органел, форма та щільність колоній, наявність або відсутність поверхневих антигенів та специфічних продуктів експресії геному, чутливість до різних факторів, вимоги до поживного середовища, потентність [2, 3, 7–9].

Морфо-функціональні особливості різних ліній стовбурових клітин. Лінії ЕСК відрізняються між собою у різних тварин. Так ЕСК людини та приматів мають подібну морфологію і відрізняються від ЕСК людини та ЕСК мишей. ЕСК людини формують відносно пласкі та компактні колонії [10] округлої або еліпсоїдної форми з рівним краєм [7], що легко дисоціюють при обробці трипсином або на вільному від Ca^{2+} та Mg^{2+} середовищі. ЕСК людини формують щільні, більш сферичні колонії, що є стійкими до стандартних методів дисоціації. Вони є дуже подібними до колоній, утворених ЕСК мишей. Окрім того, ЕСК людини ростуть повільніше за ЕСК мишей, що зумовлено довгим клітинним циклом. Час подвоєння популяції людських ЕСК складає близько 36 годин, а ЕСК мишей – 12 годин [10]. ЕСК людини також відрізняються фенотипом поверхневих антигенів. Клітини людей, приматів та тератокарцином експресують SSEA-3 та SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81, лужну фосфатазу. ЕСК мишей не експресують SSEA-3 та SSEA-4, але мають SSEA-1 [10]. ЕСК людини експресують OCT-4, та hTERT [11]. ЕСК різняться за вимогами до поживного середовища. Якщо клітинам мишей для підтримання у недиференційованому стані *in vitro* достатньо фактору LIF, то людські клітини потребують фідерного шару або сироватки. При культивуванні на середовищах, вільних від сироватки використовують bFGF. За умов невисокої щільності ЕСК людини повільно проліферують у середовищах з сироваткою. Для підвищення рівня проліферації краще використовувати середовища з bFGF [10].

Важливою властивістю плюрипотентних СК є здатність до симетричного поділу в культурі. Ця властивість дозволяє їм розвиватися у культурі до індукції диференціювання. Відомо декілька факторів, що регулюють

самовідновлення плюрипотентних СК [2]. Зазвичай, лінії таких клітин ізолюються та підтримуються на мітично неактивному фідерному шарі фібробластів. Фідерні клітини мають продукувати фактор, що пригнічує диференціацію або стимулює самовідновлення СК. Така їхня здатність була названа активністю, що інгібує диференціацію (DIA). Виявилось, що DIA є фактором інгібування лейкемії (LIF), який належить до родини цитокінів, споріднених з інтерлейкіном-6. Культивування людських ЕСК з преімплантаційних ембріонів вимагає наявності фідерного шару та 20% сироватки теляти, але не потребує наявності LIF. Однак такі клітини ростуть на фідерному шарі, що, вірогідно, продукує безліч важливих ростових факторів. Виділення гермінальних ЕСК з примордіальних клітин постімплантованого ембріона вимагає наявності LIF, а також двох додаткових ростових факторів: Kit-ліганду (працює через c-Kit-рецептор) та основного фактору росту фібробластів (bFGF або bFGF2) [12, 13]. Отримавши раз при вирощуванні, гермінальні ЕСК більше не потребують bFGF для подальшого росту. Гермінальні ЕСК як людини, так і мишей, можуть бути підтриманими у культурі в однакових умовах, з однаковою комбінацією факторів росту, адже механізми регуляції розвитку гермінальної лінії є консервативними для ссавців [2].

Незгасаюча цікавість до СК зумовлена їхніми унікальними властивостями та перспективами подальшого застосування у регенеративній медицині та фундаментальній науці. На сьогоднішній день експериментально підтверджена можливість лікування та віднов-

лення органів, шляхом введення в них суспензії клітин, вирощених з СК.

Крім того, вивчення особливостей СК дозволить нам глибше проникнути у перебіг процесів диференціації та спеціалізації, а також проліферативного та постмітотичного старіння клітини. Однак, вирішення цих питань є справою, хоч і недалекою, на що ми сподіваємося, але все-таки, майбутнього.

1. Кордюм В. А., Дерябина Е. Г. Стволовые клетки и их терапевтический потенциал // Мистецтво лікування. – 2003. – №4. – С. 25–28.
2. Запорожан В. Н., Бажора Ю. І., Стовбурові клітини // Одеса: Одес. держ. мед. ун-т. – 2004. – 228 с. 3. Donovan P. J., Gearheart J. The end of the beginning for pluripotent stem cells // Nature. – 2001. – Vol. 414. – P. 92–97. 4. Репин В.С., Ржанинова А.А., Шеменков Д.А. Эмбриональные стволовые клетки: Фундаментальная биология и медицина // Реп. Метекс. – 2002. – 220 с. 5. Гилберт С. Биология развития в 3х томах. Т.1: Пер с англ. – М.: Мир, 1993. – 228 с. 6. O'Shea K.S. Embryonic Stem Cell Models of Development // Anat.Rec. – 1999. – Vol. 257. – P. 32–41. 7. Hwang W.S., Ryu Y.J., Park J.H., et al. Evidence of a Pluripotent Human Embryonic Stem Cell Line Derived from a Cloned Blastocyst // Science. – 2004. – Vol. 303. – №5664. – P. 1669–1674. 8. Segev H., Fishman B., Ziskind A., et al. Differentiation of human embryonic stem cells into insulin-producing clusters // Stem Cells. – 2004. – № 22. – P. 265–274. 9. Gerlach J. C., Zeilinger K. Adult stem cell technology – prospects for cell based therapy in regenerative medicine // The Int. J. of Artificial Organs. – 2002. – Vol. 25. – №2. – P. 83–90. 10. Odorico J. S., Kaufman D. S., Thomson J. A. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines // Stem Cells. – 2001. – Vol. 19. – №3. – P. 193–204. 11. Xu C., Jiang J., Sottile V. et al. Immortalized Fibroblast-Like Cells Derived from Human Embryonic Stem Cells Support Undifferentiated Cell Growth // Stem Cells. – 2004. – №22. – P. 972–980. 12. Thomson, J. A. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // Science. – 1998. – Vol. 282. – P. 1145–1147. 13. Xu C. Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells // Nature Biotechnol. – 2001. – Vol. 19. – P. 971–974.

Надійшла до редколегії 27.12.07

УДК 595.44(477.75)

Є. Сінгаєвський, асп.

ПАВУКИ-ДЕНДРОБІОНТИ (ARACHNIDA, ARANEI) УРОЧИЩА ЗМІІНИ ОСТРОВИ КАНІВСЬКОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВІДНИКА

Досліджено видовий склад та екологічні особливості павуків-дендробіонтів урочища Зміїні острови. Виявлено 26 видів павуків з 14 родів та 7 родин. Встановлено приуроченість окремих видів павуків до певних видів рослинності. Подано список видів павуків та їх розподіл по фітоценозам. Вид *Aphantaulex seminigra* Simon, 1878 відмічено вперше на території лісостепової зони України.

*The list of species of dendrobiont spiders of Zmiini ostrovi land (Central Ukraine, vicinities of Kaniv Natural Reserve) was compiled for the first time. It contains 26 spider species, which represented 14 genera from 7 families. Several ecological characteristics of all studied spider species, with special emphasis made on their associations with plant aggregations, were investigated. One species *Aphantaulex seminigra* Simon, 1878 was mentioned at first time for the forest-steppe zone of Ukraine.*

Вступ. Павуки, одна з найчисельніших та найпоширеніших груп павукоподібних, яка нині нараховує понад 39 тис. видів [10]. За останніми даними в Україні налічується біля 870 видів павуків [5], і цей список постійно поповнюється новими знахідками. Висока щільність павуків, на 1 га лук може припадати до 5 млн. особин (а на 1 га вологого тропічного лісу – до 25 млн. особин) різних видів, свідчить про їхню важливу роль в екосистемах. Зокрема вони здійснюють ефективний контроль за щільністю популяцій шкідливих і кровосисних комах. На думку Брістоу [8] птахи та інші хижаки-ентомофаги разом узяті, знищують комах менше, порівняно з павуками. На прикладі *Linyphia triangularis* (Clerck, 1757), В.П. Тищенко [6], підрахував, що в лісах Східної Європи з квітня по жовтень, на 1 га павуки знищують не менш ніж 180–200 кг комах, з яких 40–55% – шкідники лісових насаджень. Павуки прибережних зон, зокрема представники родини Tetragnathidae, харчуються переважно комахами-кровососами з ряду Diptera, які потрапляють до розташованих особливим чином їхніх ловильних сіток [6]. Павуки-дендробіонти, мешкаючи в кроні та інших частинах дерева, справляють позитивний вплив, знищуючи шкідників у садових та лісових господарствах.

Незважаючи на те що, вивчення видового складу павуків України розпочато ще в середині XIX сторіччя працями К.Ф. Кеслера [3] та інших дослідників, ця група павукоподібних вивчена ще недостатньо. Насамперед це стосується лісостепової зони України: відомі лише фрагментарні дані про видовий склад павуків цієї чи іншої частини Лісостепу. До того ж дослідниками майже не наводяться дані щодо екологічних особливостей виявлених видів. Єдині на сьогодні комплексні фауністичні дослідження видового складу павуків Канівського природного заповідника та його околиць проведені понад 30 років тому В.Є. Пічкою [4], яка виявила 124 види павуків. Окрему родину – Linyphiidae, на території заповідника вивчав В.А. Гнелиця [1]. При цьому видовий склад павуків урочища Зміїні острови, якому відносно нещодавно був наданий заповідний статус, взагалі ніким не вивчався. Згідно Національній програмі збереження біологічного різноманіття України на період 1998–2015 рр., має здійснюватись інвентаризація всіх груп організмів, насамперед на еталонних природоохоронних ділянках, якими є заповідники.

Різноманітність рослинних угруповань на території урочища Зміїні острови має забезпечувати і високе ви-

дове різноманіття павуків, багато видів яких пов'язані не лише з окремими рослинними угрупованнями, а й з певними ярусами рослинності. Проте в Україні, як до недавня і в інших країнах, дослідження зв'язків окремих екологічних груп павуків з тими чи іншими ярусами рослинності, зокрема павуків-дендробіонтів, спеціально не проводились. Саме це і зумовило вибір території та об'єктів досліджень.

Метою нашої роботи було встановити видовий склад павуків-дендробіонтів в трьох рослинних асоціаціях урочища: хвойно-широколистяний ліс (змішаний ліс), хвойний зрілий ліс та прибережні зарості верби (прибережна зона). Для цього ми вирішували такі завдання:

– визначення видового складу павуків-дендробіонтів досліджуваних фітоценозів;

– порівняння ступеня фауністичної подібності видових комплексів павуків-дендробіонтів досліджених фітоценозів.

Об'єкт і методи досліджень. Матеріал зібраний протягом травня та червня 2003 року. Обстежені: сосновий та змішаний ліси, зарості верби в прибережній зоні. Збирання матеріалу здійснювали методом струшування павуків з крон дерев на білу матерію розміром 150 x 200 см, розстелену безпосередньо під деревом [7]. У дерев віком 35–50 років обстежували окремі гілки, молоді рослини, віком 5–10 років, обтрушували повністю. Павуків зі стовбурів збирали за допомогою екстаустера, при цьому стовбур обстежували від поверхні землі і до висоти приблизно 210 см. Усього було зібрано понад 140 особин павуків різного віку. Павуків фіксували і зберігали у 70% розчині етилового спирту.

В деревній рослинності урочища переважають соснові та сосново-дубові ліси, незначні ділянки зайняті широколистяними лісами [3]. Нами обстежені такі фітоценози: сосновий ліс (сосна – *Pinus silvestris*), мішаний ліс (дуб – *Quercus robur*) та щільні зарості верби ламкої (*Salix fragilis*) прибережної зони Канівського водосховища. Для визначення коефіцієнта фауністичної подібності використовувалася формула Сьоренсена-

Чекановського [9]: $K=2c/a+b$; де a – число видів у пробі "А", b – число видів у пробі "В", c – число видів спільних у обох вибірках. Якщо $S > 0,5$ – видовий склад подібний, якщо $S < 0,5$ – відмінний.

Згідно зі схемою фізико-географічного районування України [3], заповідні території належать до фізико-географічної області Київського плато Західно-Української провінції лісостепової зони. Урочище Зміїні острови – перша надзаплавна (борова) тераса заповідника. Знаходиться вище греблі канівської ГЕС на відстані близько 25 км від садиби заповідника. В його складі два острови Великий і Малий. Абсолютні відмітки – 100–200 м н.р.м. Поверхня складена древньоалювіальними піщаними відкладами, що підстилаються суглинками, на яких формуються дерново-підзолисті ґрунти. В місцях понижень, у північно-східній частині о-ва Малий, значні площі зайняті торфово-болотними ґрунтами. На найвищих ділянках профілю тут панують соснові та сосново-дубові ліси. Незначні ділянки зайняті широколистяними лісами. На місці зведених лісів панує трав'яниста рослинність та дерево-чагарникові угруповання перших етапів демуатації лісової рослинності. Найнижчі ділянки зайняті болотами та заростями прибережно-водної рослинності.

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті проведених досліджень знайдено 26 видів павуків-дендробіонтів, які належать до 14 родів з 7 родин (Табл. 1). Всі види вперше відзначені для досліджуваного урочища, 9 видів вказуються вперше для території Канівського природного заповідника, а вид *Aphantaulax seminigra* – для території лісостепової зони України. На сосні переважають представники родини Salticidae – 6 видів, це втричі більше ніж для решти фітоценозів. Жоден з цих видів не зустрічається у мішаному лісі і заростях верби прибережної зони. Два інші види з цієї родини (*Heliophanus auratus* та *H. patagiatus*) відмічені нами лише на вербі. У сосновому лісі відзначені два види роду *Dendryphantas*, які є типовими мешканцями сосен [6]. Представники родини Cludionidae на сосні відсутні.

Таблиця 1. Розподіл павуків-дендробіонтів по досліджених фітоценозах

Вид	Сосна	Дуб	Верба
Araneidae			
<i>Araneus angulatus</i> Clerck, 1757	♀-1	--	--
<i>Araneus</i> sp.	--	9 juv.	8 juv.
<i>Larinioides patagiatus</i> Clerck, 1757	♀-7; ♂-4	♀-1; ♂-1	♀-8; ♂-5
<i>L. folium</i> Schranck, 1803*	--	--	♂-1
<i>Mangora acalypha</i> (Walckenaer, 1802)	--	♀-1	--
<i>Singa nitidula</i> (C. L. Koch, 1845)*	--	--	♀-3
Clubionidae			
<i>Clubiona pallidula</i> (Clerck, 1757)	--	♀-2	♀-1
<i>C. neglecta</i> Pickard.-Cambredge, 1862*	--	--	♀-2
<i>Clubiona</i> sp.	--	3 juv.	2 juv.
Salticidae			
<i>Dendryphantas hastatus</i> (Clerck, 1757)	♀-7	--	--
<i>D. rudis</i> (Sundevall, 1832)	♀-3	--	--
<i>Dendryphantas</i> sp.	3 juv.	--	--
<i>Carrhotus xanthogramma</i> (Latreille, 1819)	♀-1	--	--
<i>Evarcha arcuata</i> (Clerck, 1758)	--	♀-1	--
<i>E. falcata</i> (Clerck, 1758)	--	♀-1	--
<i>Heliophanus auratus</i> C. L. Koch, 1835	--	--	♀-1
<i>H. patagiatus</i> Thorell, 1875	--	--	♀-3
<i>Marpissa muscosa</i> (Clerck, 1757)	♀-1	--	--
<i>M. radiata</i> (Grube, 1859)	♀-1	--	--
<i>Marpissa</i> sp.	--	1 juv.	--
<i>Salticus zebraneus</i> (C. L. Koch, 1802)*	♀-1	--	--
Gnaphosidae			
<i>Aphantaulax seminigra</i> Simon, 1878**	--	--	♀-1

Вид	Сосна	Дуб	Верб
Philodromidae			
<i>Philodromus. cespitum</i> (Walckenaer, 1802)	♀-2	♀-2	♀-1; ♂-1
<i>Ph. fuscomarginatus</i> (De Geer, 1778)	♀-3	--	--
<i>Philodromus</i> sp.	7 juv.	3 juv.	3 juv.
Theridiidae			
<i>Diplocephalus</i> sp. (Thorell, 1875)*	♀-1	--	--
Tetragnathidae			
<i>Tetragnatha obtusa</i> C. L. Koch, 1837	♀-1	♀-2	♀-3; ♂-2
<i>T. extensa</i> (Linnaeus, 1758)	--	♀-1	♀-1
<i>T. montana</i> Simon, 1874*	--	♀-3	--
<i>T. dearmata</i> Thorell, 1873*	♀-1	--	♀-6; ♂-1
<i>T. nigrita</i> Lendl, 1886*	--	--	♀-1
<i>Tetragnatha</i> sp.	--	2 juv.	1 juv.
Загальна кількість видів / особин	13/48	9/38	13/55

Примітки: *новий вид для Канівського природного заповідника; **новий вид для лісостепу України

При порівнянні ступеню фауністичної подібності (за Сьоренсен-Чекановським) видових комплексів павуків-дендробіонтів соснового та змішаного лісу і прибережних заростей верби, значення коефіцієнту фауністичної подібності між ними коливалися від 0,27 до 0,45. Це вказує на своєрідність видових комплексів павуків досліджених фітоценозів. Найбільша кількість видів (по 13 видів) відзначена нами на сосні і вербі, найменша, 9 видів – на дубі. Коефіцієнт подібності видових комплексів для змішаного лісу та прибережної зони становить 0,45. Кількість спільних видів – 5. Для фітоценозів соснового та змішаного лісу значення коефіцієнта фауністичної схожості складає 0,27, спільних видів – 3. Для соснового лісу та прибережної зони відзначено 4 спільних види. Значення коефіцієнту фауністичної подібності – 0,30. На вербі знайдено 2 види родини Salticidae, тоді як на сосні – 6. Жоден вид цієї родини не є спільним. *Araneus ocellatus* домінує в обох фітоценозах. На сосні домінує *Dendryphantus hastatus*, на вербі – *Tetragnatha dearmata*. Лише на вербі знайдено *Aph. seminigra*. Тут же, знайдено 4 види роду *Tetragnatha*. Лише на дубі (змішаний ліс) також відмічені *M. acalypha*, *T. montana*, *E. arcuata* та *E. falcata*. Можливо для цих видів тут поєднуються сприятливі екологічні чинники.

В обстежених нами фітоценозах домінує вид *A. ocellatus*. Вид особливо поширений в прибережній зоні та сосновому лісі. На другому місці за кількістю особин є види *D. hastatus* та *Ph. fuscomarginatus*. В змішаному лісі на дубі, чисельність *A. ocellatus* значно нижча. В прибережному верболозі домінує *T. dearmata*. Спільними для всіх пунктів збору виявилися лише *A. ocellatus*, *Ph. cespitum* та *T. obtusa*.

Висновки. У трьох рослинних асоціаціях урочища Зміїні острови нами виявлено 26 видів павуків-дендробіонтів, які відносяться до 7 родин та 14 родів. 8 видів павуків вперше відзначаються для Канівського

природного заповідника, а один вид *Aphantaulex seminigra* – відмічається вперше для території лісостепової зони України. Найбільше видове різноманіття – по 13 видів – зареєстровано на сосні і вербі, найменше – 9 видів – на дубі. Значення коефіцієнту фауністичної подібності коливалися від 0,27 до 0,45, що вказує на своєрідність видових комплексів павуків досліджених фітоценозів. Для фітоценозів соснового та змішаного лісу значення коефіцієнта фауністичної схожості складає 0,27. спільних видів – 3. Для соснового лісу та прибережної зони спільними є 4 види. Коефіцієнт фауністичної подібності – 0,30.

Виходячи з отриманих нами результатів, територія урочища Зміїні острови, є перспективною в плані подальших аранеологічних досліджень.

1. Гнелица В.А. Фауна и экология пауков Каневского заповедника // Підсумки 70-річної діяльності Канів. заповідника та перспективи розвитку заповідної діяльності на Україні: Матер. конф., Канів, вересень, 1993. – Канів, 1993. – С. 42–43. 2. Ештушенко К.В. Пауки (Araneae) фауны Украинского Полесья: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Киев, 1991. – 17 с. 3. Маринич О.М., Шищенко П.Г. Фізична географія України: Підручник – 3-тє вид., стер. – К.: Т-во "Знання", КОО, 2006. – 511 с. 4. Пичка В.Е. О фауне и экологии пауков окрестностей Канева (лесостепь СССР) // Вестн. зоологии. – 1974. – № 6. – С. 71–77. 5. Прокопенко О.В. Пауки (Aranei) природных та трансформированных территорий південного сходу України (фауна та екологія): Автореф. дис... канд. биол. наук. – Київ. – 2001. – 21с. 6. Тыщенко В.П. Определитель пауков Европейской части СССР. – Л.: Наука, 1971. – 280 с. 7. Уточкин А.С. Пауки Сараловского лесничества Волжско-Камского заповедника // Вопросы арахноэнтомологии: Фауна и экология насекомых и других кровососущих членистоногих. – Пермь, 1977. – С. 69–80. 8. Bristowe W.S. The world of spiders. – London: Collins, 1958. – 304 p. 9. Heimer S., Nentwig W. Spinnen Mitteleuropas: ein Bestimmungsbuch. – Berlin, Hamburg: Verlag Paul Parey. – 1991. – 543 s. 10. Platnick N.I. 2000 – 2007. The World Spider Catalog, version 7.5. American Museum of Natural History. On line at: <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/INTRO> 3. html. (Access in 22.03.2007).

Надійшла до редколегії 18.02.08

УДК 582.912.42.631.525

Т. Антонюк, асп.,
А. Зарубенко, канд. с.-г. наук,
Н. Таран, д-р біол. наук

ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА ЕКОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ РОДОДЕНДРОН (*RHODODENDRON*) ПРИ ФОРМУВАННІ ЕКОЛОГІЧНОЇ ПЛАСТИЧНОСТІ ІНТРОДУЦЕНТІВ

Представлено огляд літературних джерел щодо біохімічного складу представників родини Рододендронів. Висвітлені окремі фізіологічні реакції адаптивного потенціалу даних інтродуцентів та розглянута можливість участі вторинних метаболітів у процесах росту, розвитку, стійкості рослин та в процесах адаптації рододендронів при культивуванні в несприятливих умовах урбанізованих ландшафтів.

The review of literary sources is presented the biochemical composition of representatives of *Rhododendron* family. Separate physiology reactions of adaptive potential of introduced species are considered. The possibility of participation of second metabolites at growth, development, plant resistance and adaptation of rhododendrons while cultivation in the unfavorable terms of the urbanized landscapes is considered.

Рододендрони, як високодекоративні представники світової флори, характеризуються різноманітністю форм, розміром й забарвленням квіток і листків, габітусом крони та розмірами рослин. В умовах інтродукції вони можуть бути листопадними, вічнозеленими та напіввічнозеленими. Така фізіологічна властивість сприяє популяризації та використанню цих рослин у паркобудівництві, озелененні міст, селищ та промислових підприємств країн Європи, Азії та Північної Америки [1, 2]. Інтерес до рододендронів обумовлений декоративністю листя і різноманітністю форм кущів, але понад усе – пишністю білих, рожевих, фіолетових, червоних квіток, зібраних в зонтикоподібних, таких, що нагадують букет, суцвіття [3].

Рід рододендрон (*Rhododendron*), – найбільшаний в родині вересових (*Ericaceae*), свою назву отримав від грецьких слів *rhodon* – троянда і *dendron* – дерево. Він включає близько 1300 видів і приблизно 30000 сортів.

В Давній Греції Пліній та Діоскорід словом "рододендрон" називали олеандр. В літературі це слово, в сучасному його значенні, вперше знаходимо в роботі Цезальпіно (1583 р.), де поняття "рододендрон" пов'язують з конкретним видом *Rh. ferrugineum* L. [3]. Першу спробу систематизувати рододендрони зробив К. Лінней в 1753 р. В роботі "Species Plantarum" він описав 9 видів рододендронів: три вічнозелених і шість листопадних, причому вічнозелені види він відніс до роду *Rhododendron* L., а листопадні – *Azalea* L. Але вже в другій половині XVIII- на початку XIV століття багато вчених не могли знайти суттєвих відмінностей між *Rhododendron* L. та *Azalea* L., та за даними Х. Слеймера та І. Гмеліна, роди *Rhododendron* L. та *Azalea* L. об'єднали в один – *Rhododendron* L. [4]. Отже з часів К. Лінея залишились обидві назви: азаліями називають листопадні види, а рододендронами – лише вічнозелені.

Рід *Rhododendron* L. цікавий не лише кількістю та різноманітністю видів, але і тим, що до цих пір існує два систематичних поділи. Одна із систем, яка основана на практичній точці зору, пропонує поділ усіх рододендронів на 44 серії. Поділ видів рододендронів на серії та підсерії запропоновано англійським вченим А. Бальфуром в 1920–1930 рр. [3]. В садівничій практиці ця система класифікації відома як "англійська система класифікації рододендронів". Відомий ботанік А. Редер, висунув іншу, з точки зору систематики, більш точну, систему роду [6], пізніше перероблену та доповнену вченими Х. Слеймером та І. Коуеном [5]. Відповідно цієї системи рід *Rhododendron* L. розділяється на підроди, секції, підсекції та серії, при чому серії цієї системи, відповідають серіям системи Дж. Стівенсона. В системі А. Редера використані морфологічні ознаки, вона була доповнена та вдосконалена Х. Слеймером та І. Коуе-

ном, та отримала широке визнання ботаніків і використовується до цього часу. В сучасній систематиці для доповнення існуючих та розробки нових систем використовують не лише морфологічні ознаки видів, а й біохімічні та анатомічні дослідження. Для роду *Rhododendron* L. однією з нових є система, розроблена А. Хофф [7], яка основана на матеріалах анатомічних досліджень роду та даним по опушенні листя, гілок та бутонів. Не дивлячись на широку увагу до цього виду, єдиної системи класифікації досі не розроблено, але найбільш прийнятною вважається "англійська система класифікації рододендронів", якої ми притримуємось в своїй роботі.

Морфологічні особливості поширення та розмноження представників роду *Rhododendron*

Природний ареал поширення рододендронів – це області з холодним та помірним кліматом, дуже рідко вони зустрічаються в районах тропіків. У природі рододендрони зустрічаються в прибережній зоні океанів і морів, поблизу великих річок, у напівтінливих місцях, в підліску або на відкритих північних схилах гір. Ці райони характеризуються високою вологістю повітря і добре дренованим, багатим гумусом, та вологою ґрунтом. Більшість видів вважають за краще кислу реакцію середовища (рН 4,5–5,5), вологий, ґрунт [1, 2]. Деякі види можуть рости на вапняках і доломіті, проте і тут верхній шар ґрунту повинен мати кислу реакцію. На лужних і нейтральних субстратах рододендрони ростуть погано або взагалі не виживають.

Ростуть рододендрони дуже повільно, особливо в перші роки. У природі вони часто зростають з насіння, а в культурі їх розмножують і живцями, відводками, діленням кущів, і щепленням. Звичайно, для створення колекцій інтродуцентів і селекційної роботи краще всього отримувати рододендрони з насіння, але для озеленення і вирощування посадочного матеріалу в розплідниках годиться і вегетативний спосіб розмноження. Річ у тому, що рослини, отримані з насіння, зацвітають лише на четвертому-десятому році життя, в той час як вкорінені живці рододендрона можуть зацвісти вже на наступного року. Краще за все укорінюються фрагменти верхівкової (апикальної) частини пагонів. При цьому в теплиці живці листопадних рододендронів, дають коріння через півтора місяці, а вічнозелених – через тричотири з половиною місяці. Результати залежать і від виду рослини, у рододендрона даурського (*R. dauricum* L.) укорінюються практично всі живці, причому потрібний для цього всього півтора місяці, а ось для рододендрона Ледебур (*Rh. ledebourii*) і три чверті укорінені живців – дуже хороший показник. До того ж з ним доводиться набратися терпіння і чекати результатів три з половиною місяці. Дорожувати вкорінені живці слід в розплі-

днику, у жодному випадку не допускаючи пересихання ґрунту. Лише через два-три роки рослину можна висадити у відкритий ґрунт, і лише за умови, що вони почуватимуть себе добре [1, 2].

Фізіолого-біохімічні параметри, що визначають особливості стійкості представників роду *Rhododendron*

Кожному виду рослин відповідає чіткий ареал природного поширення. Це значить, що для кожного виду потрібні відомі екологічні умови, які й визначають ритми росту та розвитку. Географічне походження, спадкові біологічні особливості, діапазони адаптаційних можливостей, які виробилися в процесі історичного розвитку, та кліматичні умови місця інтродукції є важливими чинниками, які визначають стійкість рослин [9]. Оскільки процес адаптації рододендронів залежить від реакції рослин на культивування в нових умовах, за цих обставин можлива зміна метаболічних процесів та структурних перебудов на дію нових чинників. Рослини характеризуються адаптивними змінами пігментного комплексу та вторинного метаболізму.

Несприятливі умови сприяють розширенню пластичності функцій та властивостей всіх головних метаболічних систем рослин. Посухостійкість має за природою загальні спільні риси з морозостійкістю, що пов'язано з властивостями протоплазми [9]. Однак, на відміну від явища зледеніння, у випадку висихання зневоднюється не лише протоплазма і клітина, а й рослина в цілому. Посухостійкість рослин залежить також від механічного та хімічного складу ґрунту, а також характеру й глибини залягання кореневої системи [8].

Критичним у річному циклі росту і розвитку рододендронів (особливо вічнозелених) є зимовий період з безсніжними зимами, різкими перепадами температур, постійними вітрами. Зимостійкість рослин можна оцінити за визначенням ступеня пошкодження різних органів рослин низькою температурою взимку, а також наприкінці осені та на початку весни, коли рослини перебувають у стані спокою. Має значення тривалість впливу морозів, різкі перепади температур. Щоб рослини могли витримати тяжкі зими вони мають своєчасно закінчити ріст, загартуватись та мати довгий та глибокий період спокою, змінити хід всіх фізіологічних та біохімічних процесів так, щоб максимально збільшити морозо- та зимостійкість. Особливу увагу потрібно приділяти водному режиму, який є один з важливих факторів, який визначає зимостійкість рододендронів [10].

Кількісні та якісні зміни спостерігаються і в листі вічнозелених видів, в наслідок старіння та протягом року. До кінця вегетаційного періоду листя містить, як розчинний цукор так і крохмаль. Зі зниженням температури нижче нуля крохмаль зникає, а вміст розчинних цукрів зростає, та навпаки, при чому різке зниження температури протягом зими не викликає помітного коливання в складі цукрів, як перший мороз. В зимовий період розчинні вуглеводи мають велике значення як захисна речовина клітини. З приходом тепла рослина знову починає продукувати крохмаль, а кількість розчинних вуглеводів при цьому зменшується. Зазвичай низька температура по суті не індукує пошкодження, але пряме пошкодження, що приводить до смерті клітини відбувається завдяки внутріклітинному заморожуванню, швидкій температурній зміні або сушці клітини [11].

Холодова акліматизація рослин відбувається в три стадії [13]. Першу стадію індукує фотоперіод [13]. В цей період збільшується кількість крохмалю та ліпідів, та зменшується кількість води. Другу стадію адаптації індукують низькі температури, 0 до 5°C [13]. Відбуваються значні зміни в метаболізмі, а також структурні зміни та синтез протеїнів та мембранних ліпідів. Холодну

акліматизацію може також індукувати абсцизова кислота (АБК) [12]. Дуже низькі температури -30 к -50°C індукують третю стадію адаптації [13]. Разом з факторами зовнішнього середовища велике значення має вік, молоді рослини зазвичай менш зимостійкі, ніж старі.

В стресових умовах відбуваються зміни метаболічних процесів рослин, що веде до збільшення синтезу деяких речовин, серед яких фенольні сполуки, та деякі амінокислоти. Існує позитивна кореляція між високими рівнями глікозидів флавоноїда та збільшенням опору листків до холоду, а при зменшенні вмісту флавоноїдів збільшується пошкодження рослин, оскільки флавоноїди збільшують концентрацію хімічних сумішей в клітині, так як вони мають гідроксильні групи, які здатні до формування водневих зв'язків з водневими молекулами.

Ще одним показником, що змінюється протягом стресових умов, є вміст пігментів в рослині. Відомо, що вміст хлорофілів та каротиноїдів змінюється в залежності від пори року та віку листя. Протягом зими кількість пігментів в порівнянні з осінню зменшується на 30-40%; мінімум припадає на самі холодні місяці (грудень – лютий). Весною в вічнозелених рододендронів знову починається накопичення пігментів і цей процес синтезу продовжується до кінця вегетаційного періоду. Цікаві данні отримано і в відношенні хлорофілів а та b. В листі вічнозелених рододендронів, вміст хлорофілу а зимою вище в 1,2–1,3 рази ніж у літній період. Але на початку вегетаційного періоду (в травні) він різко падає [2]. Вивчення асиміляційних структур рослин і, перш за все, пігментів – хлорофілів та каротиноїдів (головних фоторецепторів рослинних клітин) – має важливе значення для аналізу взаємодії рослин з умовами середовища та дослідження адаптації їх до різних чинників. У літературі зібрані вагомі відомості про хлорофіли, як носії адаптивних властивостей фотосинтезувальних структур рослин за несприятливих умов довкілля [15]. Концентрація пігментів листка залежить також від особливостей водного і температурного режиму, вмісту в повітрі газоподібних промислових викидів, іонізуючого опромінення та інших чинників.

Отже, можна сказати, що вивчення біохімічного вмісту рослин може бути корисним для оцінки екологічного стану місця зростання рослин, аналізу взаємодії рослини з умовами навколишнього середовища, аналізу реакції рослин на зміну умов культивування, дослідження передумов потенційної продуктивності різних видів рослин.

Біохімічний склад та фармакологічні властивості представників роду *Rhododendron*

Рододендрони, як декоративні рослини широко використовуються вже біля 200 років. За цей час в багатьох країнах світу створенні чудові сади та парки, де широко представлені багаточисельні види та сорти рододендронів. Окрім високих декоративних якостей рододендрони володіють ще і цілими рядом біологічно активних речовин завдяки яким використовуються в народній і офіційній медицині, як лікарські рослини.

Багато видів рододендронів містять такі сильнодіючі глікозиди, як андромедотоксин, рододендрин, еріколін, арбутин [17], дослідники, які вивчають лікарські рослини природної флори, вказують на, цілющі властивості рододендронів. Кора, листки, квіти та нектар квіток містять андромедотоксин, з якого виготовляють препарати для лікування серцевої та ниркової недостатності [18]. Андромедотоксин, отруйний для людей, свійських тварин, бджіл, мишей. Рододендром отруюються кози, вівці і навіть велика рогата худоба. Квітки виділяють велику кількість нектару і їх охоче відвідують бджоли. Вказівки про загибель бджіл при зборі меду перебільшені, проте під час збирання нектару гинуть дорослі

бджоли, матки і личинки. Мед азалії, навіть очищений від пилку, також містить андромедотоксин і отруйний для людини [18].

При вивченні біохімічного складу різних видів рододендронів встановлено [19, 20], що їх листя містить значну частину (% на суху вагу) аскорбінової кислоти (вітаміну С); рододендрон даурський 0,20–0,44; Смирнова 0,16; жовтий 0,12–0,15; Унгерна 0,10; понтійський 0,07–0,26; кавказький 0,04–0,07; Ледебюра 0,08–0,14; Шліппенбахпа 0,05–0,11; гострокінцевий 0,07–0,15. Потрібно відмітити, що вміст вітаміну С протягом вегетаційного періоду не постійний, за даними М. С. Александрової [21], максимальна її кількість в листі спостерігається в літні місяці. Препарати з листя деяких рододендронів успішно використовуються для лікування різних захворювань. Так, для лікування серцево-судинних хвороб використовують препарати рододендронів жовтого, понтійського, даурського, золотистого, кавказького, Адамса, Унгерна [20].

Особливу увагу привертають фітонцидні, бактерицидні та інсектицидні властивості рододендронів. Наприклад, виявлено, що спиртові витяжки з листя рододендронів даурського, дрібнолистого та Адамса мають бактерицидну дію на ряд патогенів кишкової флори, на деякі гнійні мікроби, на вібріон холери, дифтерійну паличку, стрептококи [19]. Препарати отримані з рододендронів золотого, жовтого та понтійського, мають бактерицидну дію на кишкову флору, стафілококи та стрептококи [20].

Завдяки своїм цілющим властивостям рододендрони давно здобули увагу народної медицини [19]. Так, настій з листя рододендрона золотистого (*Rh. aureum Georgi*) містить ефірне масло, до складу якого входять сесквітерпенові спирти, глікозиди, токсин, що володіє п'яною і паралізуючою дією, рододендрин, володіє сечогінною і антисептичною дією, містить велику кількість дубильних речовин (від 10 до 22%), фітонциди, андромедотоксин, глікозид рододендрин, ериколін, арбутин, гідрохінон, ефірне масло, тритерпенові з'єднання, урсолову кислоту, мікроелементи (марганець, алюміній, мідь, срібло, барій і свинець), флавоноїди (кемпферол, кверцетин, мирицетин та їх глікозиди) сумарний флавоноїдний препарат показав Р-вітамінну активність, а також жовчогінну, спазмолітичну і мембраностабілізуючу дії. Рододендрон жовтий (*Rh. luteum Sweet*) містить в своєму складі ериколін та андромедотоксин, який діє на тварин, як паралізуючий засіб подібно до наркотиків, а мед з квіток отруйний. Рослина містить ефірне масло, дитерпеноїд андромедотоксин, тритерпеноїди, карденоліди, вітаміни, феноли, кумарини, дубильні речовини, альдегіди, ситостерин, фенолкарбонові кислоти, флавоноїди, ароматичні кислоти. У листі р. Унгерна (*Rh. ungerii* L.) містяться речовини, що понижують артеріальний тиск. Препарат з листя цієї рослини рекомендований в гомеопатії для використання при гіпертонії. Р. японський (*Rh. japonicum* (Gray) Suring.) містить андромедотоксин, метиловий ефір орселінової кислоти. У листі р. катевбинського (*Rh. catawbiense Michx*) виявлений андромедотоксин та рододендрин. Аналогічні речовини містяться в листі р. найбільшого (*Rh. maximum* L.). У р. Форі (*Rh. fauriei* Franch.) виявлені, окрім рододендрона, ще кверцетин і урсолову кислоту [16]. Корінь р. даурського (*Rh. dauricum* L.) застосовують при гострій бактерійній дизентерії. Застосовується як відхаркувальний засіб. У гомеопатії використовується для лікування ревматизму, артриту, астми, кашлюку. Листя рододендрона даурського містять флавоноїди (кверцетин, гіперозид, авикулярин, азалеатин, мирицитрин, рутин), тритерпеноїди (бетулін, урсолову і олеанолову кислоти), кумарини (умбеліферон, скополетин); п-гідрохінон;

гетероциклічні кисневмісні з'єднання (фаррерол, даурихромонову кислоту); 3–12% арбутину, 5,5–14% дубильних речовин, ефірне масло (що укладає Е-пінен, Е-пінен, лімонен, камфрен, п-цимол, каріофілен, Е-гумулен, Е-селінен, бетуленол, бісаболон, гермакрон, ментол, юніпер-камфору, Е-евдесмол), карбонові кислоти (анісову, 4-гідроксibenзойну, ванілінову, 3-О-метилгаллову, в гідролізаті -протокатекову кислоти), вміст флавоноїдів (у перерахунок на рутин (C₂₇H₃₀O₁₆) в сухому листі рододендрона даурського не менше 2,0% [21, 22]. Препарати з листя р. Адамса (*Rh. adamsovii Michx.*) вживають при отруєннях ртуттю, захворюваннях слизових оболонок і головних болях. Рослина містить ефірне масло, дитерпеноїд андромедотоксин, тритерпеноїди, ситостерин, дубильні речовини, карденоліди, феноли. У листі р. кавказького (*Rh. caucasicum* Pall.) міститься 0,88% глікозидів, що сприяє лікуванню ревматизму. У гомеопатії препарати з листя цього вигляду застосовують також, як і два попередні види. Також, рододендрон кавказький, містить таксофолін і його глікозид астилбін, що є перспективними природними антиоксидантами, вони володіють найвищою антиокиснювальною дією серед всіх відомих антиоксидантів. Р. дрібноквітковий (*Rh. micranthum Turcz.*) містить в листі сапоніни, дубильні речовини, полісахариди, кетони, ефірні масла, 4 види фенольних кислот. Лікувальними властивостями володіють листя і пагони р. гострокінцевий (*Rh. mucronulatum Turcz.*), у них містяться сапоніни, дубильні речовини, полісахариди, кетони, смоли і ефірні масла. Застосовують при застуді, головних болях, кашлі, бронхіті. Рододендрон Ледебюра – (*Rh. ledebouri* Pojark.) містить дитерпеноїд андромедотоксин, тритерпеноїди, ситостерин. Надземна частина рослини володіє тонізуючою і бактерицидною дією, містить ефірне масло, андромедотоксин, ериколін, рододендрин, велику кількість дубильних речовин, галову і аскорбінову кислоти, арбутин, мікроелементи: марганець, алюміній, свинець, барій, мідь, срібло. У народній медицині рододендрон Ледебюра застосовують в тих же випадках, як і рододендрон золотистий і Адамса. Рододендрон дрібнолистий – (*Rhododendron parvifolium Adams.*) містить тритерпеноїди, ситостерин, феноли, дубильні речовини. Водні витяжки і водно-спиртові витягання з листя мають антибактеріальну дію проти черевнотифозної палички, золотисто-жовтого стафілокока, стрептокока, дифтерійної палички. Рододендрон гострокінцевий – (*Rhododendron mucronulatum Turcz.*) містить ефірне масло, дитерпеноїд андромедотоксин, тритерпеноїди, вітаміни С, кумарини, дубильні речовини, флавоноїди. Настій, відвар квіток в народній медицині застосовують у вигляді чаю при простудних захворюваннях і головному болю. Листя рододендрона понтійського (*Rh. ponticum* L.) містить рододендрин, ериколін, глікозид андромедотоксин, траниди, галову кислоту, арбутин, рутин, урсолову кислоту, ефірне масло. Ефективний при серцево-судинній недостатності, спостерігається зменшення, серцебиття, зникнення набряків, зниження венозного тиску, збільшення швидкості потоку крові, підвищення діурезу. Настій листя рододендрона володіє бактерицидними властивостями по відношенню до патогенних мікробів кишкової флори (кишкова паличка, збудники дизентерії, черевного тифу), а також до стрептокока, стафілокока, відносно збудників захворювань із сприятливим дією (протизапальним і т.д.) на організм хворого [21, 22].

Рододендрони використовуються не лише як декоративні та лікарські рослини, але й як технічні. Майже всі частини рододендрона містять дубильні речовини, які належать до групи пірокатехінів [24]. В листі родо-

дендрона Адамса міститься (% на суху вагу) 6,9% танінів, в гілках 2,3% [20]. В листі рододендрона даурського 5,5% дубильних речовин. Золотистого-14,5%, кавказького-14–17%, понтійського-8–12%, жовтого-4,7–18,5% [19, 23]. Шкіра при обробці дубильними речовинами отриманими з листя рододендронів набуває світлого тону.

Про біостатичні властивості р. канадського (*Rh. canadense* (L.) Torr.) стало відоме в кінці 70-х років ХХ сторіччя. Внесення його пелюсток до бродячого вина протягом 20 хвилин повністю припиняє процес бродіння. Біостатична дія зберігається не менше двох місяців. Водні витяжки з квіток припиняють діяльність дріжджів і бактерій. Основною біостатичною речовиною виявився гідрохінон, вміст якого в пелюстках р. канадського складає 0,15% від сухої речовини. Аналогічними властивостями володіють і квітки інших видів рододендрона.

Рододендрони є також і ефіроносними рослинами. Ефірне масло рододендронів включає сесквітерпенові вуглеводні і спирти. Висушені рослини зберігають стійкий запах протягом тривалого часу. Фахівцями встановлено, що в листі і молодих пагонах цієї рослини міститься від 0,05 до 1,1% ефірного масла. В даний час найважливішою ефірно-олійною сировиною є квітки р. жовтого. Вихід масла залежно від часу і місця збору, а також способу екстракції, складає від 0,15 до 0,30%. В листі та молодих гілках рододендрона даурського міститься 0,05-0,1% ефірного масла, золотистого-0,15% [19]. Рододендрон Адамса має приємний запах який нагадує запах суниці, який зберігається і в висушених рослинах. Ефірна олія отримана з рододендрона жовтого, використовується в парфумерній промисловості при виробництві кращих парфумів [17].

Практично всі вересові очищають повітря і виділяють в навколишнє середовище ефірні масла та фітонциди, тим самим очищають повітря від хвороботворних мікроорганізмів і сприяють оздоровленню навколишнього середовища. Це має важливе значення для озеленення міст і промислових об'єктів і, безумовно, не є зайвим при вирощуванні рододендронів в саду біля будинків.

Збагачення асортименту декоративних рослин новими стійкими видами і формами є необхідною умовою створення культурних фітоценозів. Значне погіршення екологічного стану внаслідок техногенного забруднення середовища зумовлюють пошук та мобілізацію рослин з підвищеною стійкістю та життєздатністю. Отже, першочергова увага приділяється рідкісним та мало поширеним видам рослин, що мають високий біологічний потенціал. Серед декоративних деревних рослин особливо цінними є представники роду *Rhododendron* L., що ви-

користовуються в основному як декоративні рослини відкритого і закритого ґрунту [14].

Представлена вище інформація свідчить, що представники роду *Rhododendron* L. містять велику кількість речовин вторинного походження, зокрема, ефірних масел, фенольних сполук, алкалоїдів, стероїдів, терпеноїдів тощо, які широко використовуються у фармакології, косметології, парфумерії і інших сферах діяльності людини. На жаль, роль цих речовин в процесах адаптації рослин при інтродукції в нові умови існування досліджена недостатньо. Враховуючи той факт, що в світі активно ведеться пошук біологічно активних речовин природного походження задіяних в адаптаційних механізмах, дослідження роду *Rhododendron* є перспективним з огляду на можливість отримання цінної інформації щодо ролі вторинних метаболітів в процесах росту, розвитку та стійкості рослин та більш повного розкриття еколого-біохімічного потенціалу даних видів, при формуванні екологічної пластичності інтродуцентів.

1. Nelson S., *Rhododendrons in the landscape*. Portland. 2000.
2. Reiley H. E., *Success with Rhododendrons and Azaleas*. Portland. 1992.
3. Berg J., Heft L., *Rhododendron und immergrüne Laubgehölze*. – Stuttgart, 1979. – 303 S.
4. Sleumer H. Ein., *System der Gattung Rododendron L.* – Bot. Jahrduch, 1949, Bd. 74. – S. 511–553.
2. Sleumer H., Cowan J.M., *Die systematische Gliederung der Gattung Rhododendron*. – DRG Jahrduch. – Bremen, 1952. – S. 74–80.
3. Rehder A., *Manual of cultivated trees and shrubs*. – New York, 1956. – 996 p.
4. Hoff A. Zur. *Stammesentwicklung der Gattung Rododendron*. – DRG Jahrduch. – Bremen, 1954. – S. 42–55.
5. Борзаківська І. В., Підвищення зимостійкості деревних рослин при інтродукції їх на Україні. – К.: Наук. думка, 1973. – 200 с.
6. Кондратович Р.Я., Рододендрони в Латвійській ССР. Біологічні особливості культури. – Рига: Зинатне, 1981. – 332 с.
7. Кондратович Р.Я., Якобсон Л.Я., Некоторые вопросы водного режима вечнозеленых рододендронов. – Уч. Зап. ЛГУ им. П. Стучки. Биол. Науки, 1965, т. 71. – с. 157–170.
8. Hush up, M.J., Gusta, L.V., Quamme, H.A., Weiser, C.J. and Lithium, P.H. 1976. Freezing a damage factories. *Annual Reviews in Physiology of Factory* 27:507–528.
9. Grem, D. and Patterson, B.D. 1982. Answer of factories to low, to the nonfreezing temperatures: proteins, metabolism and acclimatization. *Annual Reviews in Physiology of Factory* 33:347–372.
10. Weiser, C.J. 1970. Cold resistance and damage is in the wooded factories. *Science* 169:1269–1278.
11. Kondratovic R. J., *Rhododendrony v Latviskoj SSR*. Ryga. 1981. 330.
12. Чернядьев И. И. Фотосинтез растений в условиях водного стресса и протекторное влияние цитокининов // Прикл. Биохимия и микробиология. 1997. Т. 33. №1. – С. 5–17.
13. Александрова М.С. Рододендроны. – М.: ЗАО "Фитон+", 2001. – 192 с.
14. Энциклопедический словарь лекарственных, эфиромасличных растений и ядовитых растений. – М., 1951. – 488 с.
15. Ордов Б.Н. и др. Ядовитые животные и растения СССР. – М., 1990 г.
16. Медведева Р. Г., Клец Э. И. О фитонцидных свойствах сибирских рододендронов. – Изв. Иркутского научно-исслед. Противочумного ин-та Сибири и Дальнего Востока, 1957, т. 14. – с. 232–248.
17. Александрова М. С. Рододендроны природной флоры СССР. – М., 1975. – 112с.
18. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений: Новосибирск, Наука, Сиб. отд., 1990, 336 с.).
19. Турова А. Д. Лекарственные растения СРСР і їх застосування. – М., Медицина, 1974. – 424 с.
20. Губанов И.А. и др. *Дикорастущие полезные растения*. – М., 1993.

Надійшло до редколегії 20.01.08

УДК 577.32(34)

К. Богуцька, канд. біол. наук,
П. Мінченко, канд. біол. наук,
О. Мінченко, спец.

ВПЛИВ ІОНІВ СТРОНЦІЮ НА КОНФОРМАЦІЙНІ ЗМІНИ АКТОМІОЗИНУ СЕРЦЕВОГО ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ

У представленій роботі досліджено вплив іонів стронцію на реакцію суперпреципітації актоміозину скелетних м'язів кроля та серцевого м'яза бика. Результати проведених досліджень свідчать, що іони стронцію за своєю дією на актоміозин скелетних або серцевого м'язів подібні до іонів кальцію і певною мірою можуть їх замінювати.

In the represented work the influence of strontium ions on the reaction of the superprecipitation of the both rabbit skeletal and bull cardiac muscles actomyosin has been investigated. The results of the conducted investigations testify that strontium ions on their action on the skeletal or cardiac muscles actomyosin are similar to calcium ions and to the certain degree can replace them.

Вступ. У механізмі м'язового скорочення важлива роль належить двовалентним катіонам. На молекулярному рівні це проявляється як в АТФазній реакції скоро-

тливих білків – міозину та актоміозину, так і в їх конформаційних змінах, що супроводжують процес гідролізу АТФ, причому іони кальцію і магнію не є абсолютно

необхідними для протікання цих процесів і їх роль, певною мірою, можуть відігравати і інші катіони, такі як стронцій, барій, марганець та ін. У зв'язку з тим, що певні катіони можуть накопичуватись в міоцитах при патології, закономірно постає питання про їх можливий вплив на скоротливі процеси в м'язах.

Нерівномірний розподіл іонів, їх активне чи пасивне переміщення між клітиною та середовищем, а також між різними клітинними компонентами, є важливим ланцюгом у регуляції функціонального стану клітини, зокрема і м'язової [1–3]. Накопичення стронцію пов'язане з його здатністю мігрувати з зовнішнього середовища по трофічних ланцюгах до організму: "стронцифікація" клітин може детермінуватись як еволюційно, так і особливостями мінерального складу їжі, що має місце за сучасних умов забруднення середовища [4]. Крім того, в токсикологічних експериментах стронцій проявив себе як один з найбільш активних серед відомих канцерогенів. Показано, що Sr^{2+} може заміщати Ca^{2+} та бути його конкурентноздатним аналогом при акумуляції в мітохондріях, саркоплазматичному ретикулумі, при транспорті через біологічні мембрани та ін. [5, 6]. У залежності від цих, а також ряду інших факторів, акумуляція стронцію в тваринних клітинах може розглядатись в одних випадках як явище фізіологічне, а в інших – як небажане, що потребує контролю.

Метою наших досліджень було вивчення впливу іонів стронцію на актоміозин скелетних м'язів кроля та серцевого м'яза бика. Про характер такого впливу судили за функціональною активністю скоротливих білків та за конформаційними змінами актоміозину, які реєстрували в присутності АТФ та іонів стронцію.

Об'єкт і матеріали досліджень. Актomioзин скелетних м'язів кроля та серцевого м'яза бика виділяли за загальноприйнятими методиками [7, 8].

Кінетику суперпреципітації (СПП) актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини актоміозину на спектрофотометрі СФ–26, використовуючи електронний потенціометр КСП–4, та на спектрофотометрі "Spekord M–40". Реакційна суміш для реакції СПП актоміозину містила 20 мМ трис- HCl (рН 7.5) та відповідні концентрації катіонів, наведені нижче. СПП ініціювали додаванням до середовища АТФ. Про швидкість реакції суперпреципітації судили за величиною часу $t_{1/2}$, протягом якого оптична густина актоміозину зростала до величини $D/2$, де D – оптична густина актоміозину після завершення реакції СПП. Ступінь СПП визначали за величиною $D-D_0$, де D_0 – оптична густина актоміозину до початку реакції СПП, або за величиною максимального зростання оптичної густини актоміозину.

Результати та їх обговорення. При дослідженні впливу двовалентних іонів на реакцію СПП актоміозину скелетних м'язів було встановлено, що додавання до розчину актоміозину АТФ та іонів Ca^{2+} супроводжується швидким зростанням оптичної густини актоміозинового комплексу (рис. 1, крива 3). Реакція СПП завершується в цьому випадку утворенням значних за розміром преципітуючих структур ("грубий преципітат"). Такі ж зміни оптичної густини спостерігаються і при додаванні до актоміозину АТФ та іонів Sr^{2+} (рис. 1, крива 4). На відміну від іонів Ca^{2+} або Sr^{2+} , іони Mg^{2+} значною мірою сповільнюють реакцію СПП актоміозину (рис. 1, крива 5). Ступінь реакції СПП зростає при цьому більше, ніж у 2 рази, а сама реакція завершується утворенням "тонкого преципітату", що має форму дрібнодисперсної системи. Таким чином, за наявності в реакційній суміші залишкових концентрацій двовалентних катіонів, іони Sr^{2+} проявляють властивості, подібні до іонів Ca^{2+} .

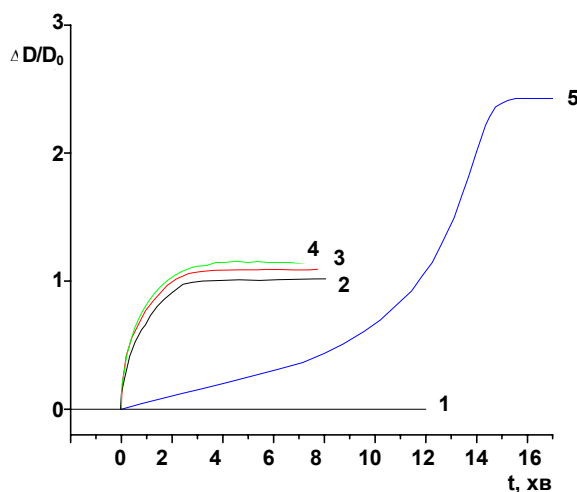


Рис. 1. Кінетичні криві реакції суперпреципітації актоміозину скелетних м'язів при додаванні АДФ (1), АТФ (2), АТФ і іонів Ca^{2+} (3), АТФ і іонів Sr^{2+} (4), АТФ і іонів Mg^{2+} (5). Концентрація актоміозину в розчині – 0,2 мг/мл, АДФ і АТФ – 0,1 мМ, іонів Ca^{2+} та Sr^{2+} – 1 мМ, іонів Mg^{2+} – 0,3 мМ, хлориду калію – 0,1 М.

Кінетику СПП актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини при довжині хвилі 400 нм, температура 20 °С

При дослідженні впливу двовалентних іонів на реакцію СПП актоміозину серцевого м'яза було показано, що при додаванні до розчину актоміозину АТФ (0,05 мМ) відбувається швидка СПП (рис. 2, крива 1 – контроль). При додаванні 0,1 мМ SrCl_2 спостерігалась майже така ж СПП (рис. 2, крива 2), як і в контролі. Подальше підвищення концентрації іонів Sr^{2+} до 0,5–1 мМ (рис. 2, криві 3, 4) супроводжувалось зростанням

швидкості та ступеню реакції СПП, про що свідчить зменшення величини $t_{1/2}$ та збільшення оптичної густини актоміозинового комплексу. Коли у вихідний розчин не додається 1 мМ CaCl_2 , а лише 1 мМ MgCl_2 і 1 мМ SrCl_2 (рис. 2, крива 5), також відбувається швидка СПП актоміозину (подібно до СПП на кривій 1). Отже, іони Sr^{2+} активують процес СПП, наближаючись за своїм ефектом до іонів Ca^{2+} .

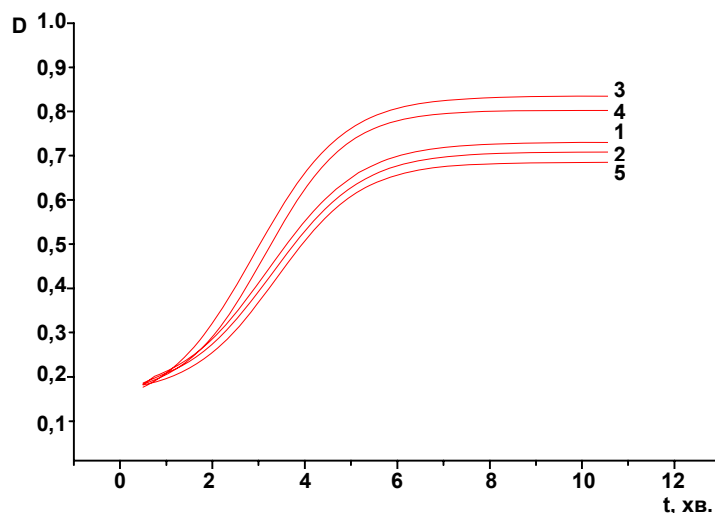


Рис. 2. Кінетичні криві реакції суперпреципітації актоміозину серцевого м'яза при додаванні різних концентрацій SrCl_2 (в мМ): 1 – за відсутності Sr^{2+} (контроль); 2 – 0,1; 3 – 0,5; 4 – 1; 5 – 1 за відсутності CaCl_2 . Кінетику СПП актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини при довжині хвилі 450 нм при температурі 25 °С протягом 20 хв.
Реакційна суміш для СПП містила 20 мМ трис- HCl , рН 7,5, 0,15 М KCl , 1 мМ MgCl_2 , 0,1 мМ CaCl_2 (контроль) або 0,1-1 мМ хлориду стронцію. Концентрація актоміозину в сумарному об'ємі проби 2 мл становила 0,1 мг/мл

Здатність іонів Sr^{2+} частково замінювати іони Ca^{2+} спостерігалась і при дослідженні функціональної активності актоміозинового комплексу. Так, АТФазна активність актоміозину скелетних м'язів в присутності іонів Ca^{2+} складала $0,620 \pm 0,003$, а в присутності іонів Sr^{2+} – $0,320 \pm 0,003$, для актоміозину серцевого м'яза – $0,118 \pm 0,003$ та $0,045 \pm 0,002$ мкмоль F_n / хв. на мг білка, відповідно.

Про вплив певних катіонів на фізіологічний стан людини і тварин відомо із літературних даних. Так, у літературі описана хвороба [4], причинами якої може бути порушення надходження до організму мінеральних речовин, зокрема, надлишок стронцію, барію, нестача кальцію; на початку хвороба проявляється м'язовою слабкістю, з розвитком – атрофією м'язів та ознаками міокардиту.

Проводилось також дослідження впливу іонів стронцію на модельних скоротливих системах [9–12]. Для м'язових волокон людини були виміряні Ca^{2+} – та Sr^{2+} –індуковані співвідношення напруження і максимумів швидкостей скорочення [9, 10]. Повільні волокна розвивали напруження за меншої концентрації кальцію та стронцію, ніж швидкі волокна. Різниця між швидкими та повільними волокнами проявлялась найбільше при активуванні стронцієм. Так, у присутності Ca^{2+} та Sr^{2+} була досліджена АТФазна активність міофібрилярних препаратів з повільних скелетних, швидких скелетних та серцевого м'язів свині [11]. Показано, що для активування АТФази повільних скелетних чи серцевих міофібрил потрібний був Sr^{2+} в концентрації в 6 разів більше порівняно з Ca^{2+} , у той час, як для активування швидких скелетних міофібрил необхідна концентрація Sr^{2+} , що значно перевищувала б концентрацію Ca^{2+} . Кооперативний ефект активації повільних скелетних міофібрил цими іонами був майже таким самим, як для серцевих міофібрил, але нижче порівняно зі швидкими скелетними міофібрилами. Встановлено, що ефект активування

та відношення $\text{Sr}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ –чутливості залежали від тропонін–тропоміозинового комплексу та типу м'язових волокон [12]. Також окремо для міофібрилярної АТФази кардіоміоцитів було встановлено, що вона однаково активувалась як іонами кальцію, так і іонами стронцію. Для однакової активації актин–активованої АТФази важкого мероміозину скелетних м'язів в присутності Ca^{2+} або Sr^{2+} концентрація іонів стронцію повинна була перевищувати таку для іонів кальцію. Спостерігалась кореляція між величиною максимальної $\text{Ca}^{2+}/\text{Sr}^{2+}$ –активації міофібрилярної АТФази та напруженням скінчених м'язових волокон [11, 12].

Висновки. Результати проведених досліджень свідчать про те, що іони стронцію певною мірою можуть замінювати іони кальцію за своїм впливом на реакцію суперпреципітації актоміозину. Ймовірно, вони здатні замінювати фізіологічно важливі іони магнію і кальцію на ділянках, що є суттєвими для реалізації АТФазної реакції та процесу суперпреципітації, тобто здатні змінювати функціональні характеристики скоротливих білків м'язів, модулюючи актин–міозинову взаємодію.

1. Holtriagl V., Werner E., Roth P. et al // Radiat. Environ. Biophys. – 2002. – Vol. 41, № 3. – P. 179–183.
2. Holtriagl V., Louvat P., Werner E. et al // Radiat. Environ. Biophys. – 2002. – Vol. 41, № 4. – P. 281–287.
3. Кліх Л.В. // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 4. – С. 62–65.
4. Метаболизм стронция / Под ред. Ленихена Дж. М., Лаутита Д.Ф., Мартина Дж.Х.: Пер. с англ. – М.: Атомиздат, 1971. – 344 с.
5. Yamazaki J., Ohara F., Harada Y., Nagao T. // J. Pharmacol. – 1995. – Vol. 68, № 1. – P. 25–32.
6. Orłowski S., Champeil P. // FEBS Lett. – 1993. – Vol. 328, № 3. – P. 296–300.
7. Зима В.Л., Минченко П.Г. // Мол. ген. и биоф. – 1983. – № 8. – С. 10–13.
8. Бозуцька К.І., Данилова В.М., Мінченко П.Г. // Биополимеры и клетка. – 2003. – Т. 19, № 4. – С. 362–366.
9. Ruff R.L., Whittlesey D. // Muscle Nerve. – 1991. – Vol. 14, № 12. – P. 1219–1226.
10. Galler S. // Acta Physiol. – 1999. – Vol. 167, № 2. – P. 131–141.
11. Kambara M. // Fukuoka Igaku Zasshi. – 1994. – Vol. 85, № 1. – P. 5–13.
12. Bortolotto S.K., Cellini M., Stephenson D.G., Stephenson G.M. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2000. – Vol. 279, № 5. – P. 1564–1577.

Надійшла до редколегії 16.01.08

УДК 504.064:594.141

Д. Лукашов, канд. біол. наук

ВПЛИВ ДЕЯКИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ НА РІВНІ НАКОПИЧЕННЯ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ МОЛЮСКАМИ *LYMNAEA STAGNALIS*

Проведено оцінку впливу гідрологічних особливостей 56 водойм, інвазії паразитів та вмісту кишечника на рівні накопичення важких металів червоногим моллюском *Lymnaea stagnalis*, який є перспективним об'єктом екологічного моніторингу. Встановлено, що незважаючи на статистично значимий вплив на вміст важких металів у м'яких тканинах ставковиків, внесок цих факторів у загальну мінливість не перевищує 3–8%.

Effects of hydrological features, parasite invasion and gut contents on the metal uptake by gastropod molluscs Lymnaea stagnalis was researched from 56 pond and rivers of 18 regions of Ukraine. These factors has significant impact on metal content in soft tissue. But their contribution to metal accumulation do not exceed 3–8% of common variability.

Вступ. Забруднення важкими металами водних екосистем характеризується своєю незворотною у зв'язку з тим, що метали, які надійшли до водойми, не піддаються процесам розпаду чи перетворення і тому залишаються в екосистемі на довгий час. Моніторинг поліметалічного забруднення є важливим завданням заходів щодо охорони довкілля. Методи біоіндикації дозволяють використовувати властивості живих організмів акумулювати високі концентрації важких металів для визначення джерела та ступеню забруднення таких екосистем. Зручним об'єктом біоіндикації є моллюски, хімічний склад тканин яких відображає коливання концентрації важких металів у зовнішньому середовищі [4].

Проте, останнім часом у провідних наукових часописах з'являються критичні роботи, автори яких відмічають значну мінливість хімічного складу моллюсків, не пов'язану з явищами забруднення. Встановлено вплив на накопичення важких металів моллюсками їх спектру живлення, сезону року, темпів росту [8, 9, 11]. Для з'ясування можливості застосування цих гідробіонтів з метою біоіндикації необхідно не лише ідентифікувати такі екологічні фактори, а й визначити долю їх впливу на мінливість вмісту важких металів в організмі моллюсків. Завдання дослідження полягало у оцінці впливу гідрологічних особливостей водойм, інвазії паразитів та наявності мінеральних часток у кишечнику на рівні накопичення важких металів червоногими моллюсками *Lymnaea stagnalis* – перспективного об'єкту екологічного моніторингу.

Об'єкти та методи досліджень. Матеріал було зібрано в липні-серпні 2007 р. з 56 умовно чистих водойм без явних ознак забруднення, які розташовані у 18 областях України. З кожної водойми було відібрано по 6–12 особин довжиною 4–5 см. М'які тканини вилучали з черепашки, промивали проточною водою та фіксували 90° етиловим спиртом. Після доставки проб до лабораторії, тканини висушували протягом доби при 95°C та мінералізували за допомогою 56% HNO₃ (хч) з додаванням 35% H₂O₂. Визначення концентрації (мг/кг маси

сухої речовини) кадмію, хрому, цинку, міді та марганцю проводили за допомогою атомно-адсорбційного спектрофотометру С115-М1 відповідно стандартним методам. Під час пробопідготовки проводили візуальну оцінку наявності пареніти трематод. Вміст мінеральних фракцій у шлунково-кишковому тракті визначали за твердим залишком після розчинення м'яких тканин.

Нормальність варіаційного розподілу вибірових значень оцінювали за допомогою Shpиро-Wilk-критерію. Нормалізацію даних проводили застосуваннями Q-критерію. Достовірність відмінностей окремих груп вибірок проводили за допомогою одно факторного дисперсійного аналізу (ANOVA, p<0,05) [2].

Результати та їх обговорення. Аналіз накопичення важких металів ставковиками показав, що в межах дослідженої території України спостерігається значна мінливість вмісту окремих хімічних елементів. Так, концентрація кадмію в тканинах моллюсків коливалася у межах 0,16–1,55 мг/кг, цинку – 40–140 мг/кг, хрому – 0,12–12,77 мг/кг, міді – 1,7–57,6 мг/кг, марганцю – 58–2151 мг/кг. Причому варіаційний розподіл значень концентрації металів у вибірках був наближений до нормального (Shpиро-Wilk, p<0,05). Коефіцієнт варіації вмісту важких металів у м'яких тканинах ставковиків з дослідженої території склав відповідно для кадмію – 45%, цинку – 22%, хрому – 64%, міді – 72%, марганцю – 87%. Високі показники варіації вмісту більшості досліджених металів свідчать про вплив численних факторів, що визначають їх процеси накопичення. Серед зазначених хімічних елементів своєю низькою мінливістю відзначається накопичення цинку, що можна пояснити здатністю даного виду моллюсків регулювати обмін цього металу в організмі [3].

Для з'ясування причин такої мінливості було проведено дослідження впливу на дисперсію вмісту важких металів у тканинах *L. stagnalis* таких факторів, як гідрологічні особливості водойм, наявність у кишечнику мінеральних фракцій, паразитарна інвазія (табл. 1).

Таблиця 1. Результати однофакторного дисперсійного аналізу впливу гідрологічних особливостей водойм, інвазії паразитів та вмісту кишечника на рівні накопичення важких металів у тканинах *Lymnaea stagnalis*

Метал/Фактор	Критерій Фішера, F	Рівень значимості, p	Доля впливу фактору, η%	Концентрація мг/кг	Коефіцієнт варіації
Гідрологія					
Mn Ставок Річка	5,07	0,03	3,7%	510±66 362±47	60% 90%
Інвазія паразитів					
Cd Наявність паразитів Відсутність паразитів	6,03	0,02	4,2%	0,62±0,03 0,41±0,07	44% 35%
Наявність у кишечнику важких мінеральних фракцій (пісок)					
Zn Наявність піску Відсутність піску	11,47	<0,01	7,6%	68±2,2 73±2,3	19% 21%

Закінчення табл. 1

Метал/Фактор	Критерій Фішера, F	Рівень значимості, p	Доля впливу фактору, η%	Концентрація мг/кг	Коефіцієнт варіації
Наявність у кишковокишковій легкій мінеральній фракції (мул)					
Cr					
Наявність мулу	4,23	0,04	3,0%	4,7±0,7	49%
Відсутність мулу				3,0±0,2	58%
Cu					
Наявність мулу	8,11	0,01	5,5%	15,5±2,8	59%
Відсутність мулу				11,3±1,0	67%
Mn					
Наявність мулу	4,34	0,04	3,0%	534±120	71%
Відсутність мулу				378±37	78%

Гідрологічні особливості водойм, з яких були відібрані молюски, статистично значимо впливали на акумуляцію марганцю ($p < 0,05$). Вміст цього металу в м'яких тканинах молюсків зі ставків був вищим у 1,4 рази. Причому найбільше варіювання його концентрації було характерне для особин, які мешкали у річкових екосистемах. Гідрологічні умови місця мешкання визначали 3,7% дисперсії концентрації Mn у ставковиків з досліджених водойм. Подібні відмінності було відмічено при вивченні річкових та озерних популяцій молюсків родини Viviparidae. Згідно теорії проточності, під час проходження води через проточне озеро, макрофіти та фітопланктон вилучають з води важкі метали, що призводить до збагачення ними донних відкладів [7]. Ставковики за способом живлення є збирачами, і тому здатні захоплювати значну кількість донних відкладів [1].

Зараження парентитами трематоди *Echinoparyphium asoniatum* призводило до суттєвих змін у рівнях накопичення кадмію ставковиками. В результаті інвазовані особини характеризувалися у 1,5 рази вищою концентрацією цього металу. Паразитарна інвазія визначала до 4,2% всієї мінливості вмісту кадмію. Відомо, що інтенсивна паразитна інвазія призводить до гальмування синтезу металотіонеїнів, які є основною ланкою детоксикації кадмію [6]. Як наслідок, у інвазованих особин порушуються процеси виведення металу з організму, що спричинює зростання його вмісту у тканинах [5].

За наявності піску у шлунково-кишковому тракту молюсків спостерігалася незначна, але статистично значима зниження вмісту цинку ($p < 0,01$). Причому вміст піску у травній системі визначав понад 7% всієї мінливості накопичення цинку тканинами молюсків. У той же час, помітний вміст мулистих часток у кишковокишковій фракції призводив до суттєвого зростання концентрації хрому, міді та марганцю, вміст яких підвищувався відповідно у 1,6 та 1,4 рази. Внесок мулу у мінливість накопичення цих металів ставковиками становив 3,0–5,5%. Зниження концентрації цинку в особинах, кишковокишковий тракт яких було заповнено піском, можна пояснити тим, що наявність важких мінеральних часток призводила до збільшення маси зразків у той час, як вміст металу у тканинах не змінювався. Відомо, що чистий пісок характеризується слабкою сорбційною здатністю [4], тому його наявність у кишковокишковій фракції не збагачує організм молюсків важкими металами. Проте, мулисті частки, характеризуються значною площею поверхні та відрізняються високим

вмістом органічних сполук, що зумовлює інтенсивну адсорбцію ними важких металів з води. В результаті організм особин, кишковокишковий тракт яких заповнено мулистими фракціями, збагачується важкими металами [10]. Слід зазначити, що у 74% випадків значна кількість піску у кишковокишковій фракції була характерна для молюсків, які мешкали у ставках. Наявність мулистого вмісту не була пов'язана з гідрологічними особливостями водойми, де були відібрані молюски.

Висновки. Аналіз досліджених факторів показав, що незважаючи на статистично значимий вплив на накопичення важких металів ставковиками, їх внесок у загальну мінливість не перевищує 3–8%. Тому, при проведенні моніторингу забруднення важкими металами водних екосистем із застосуванням гідробіонтів, необхідно враховувати локальні умови їх мешкання та оцінювати ступінь їх впливу на накопичення токсикантів.

1. Киричук Г.Е., Стадниченко А.П., Перешко І.А. Влияние трематодной инвазии на накопление тяжелых металлов прудовиком озерным // Паразитология. – 2002. – Т. 36, №4. – С. 295–303. 2. Терентьев П.В., Ростова Н.С. Практикум по биометрии. – Л.: ЛГУ, 1977. – 152 с. 3. Bebianno M.J., Serafim M.A. Variation of metal and metallothionein concentrations in a natural population of *Ruditapes decussatus* // Arch. Environ. Contamination. Toxicol. – 2003. – V. 44. – P. 53–66. 4. Boening D.W. An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters // Env. monit. ass. – 1999. – V. 55. – P. 459–470. 5. Boudrimont M., Montaudouin X. Evidence of an altered protective effects of metallothioneins after cadmium exposure in the digenean parasite-infected cockle (*Cerastoderma edule*) // Parasitology. – 2007. – V. 134, №2. – P. 237–245. 6. Boudrimont M., Montaudouin X., Palvadeau A. Impact of digenean parasite infection on metallothionein synthesis by the cockle (*Cerastoderma edule*): a multivariate field monitoring // Mar. Pollut. Bull. – 2006. – V. 52, №5. – P. 494–502. 7. Gupta A. Metal accumulation by riverine and lacustrine populations of *Anguilla oxytropis* (Benson) (Gastropoda: Viviparidae) // Env. Monitor. Assess. – 1998. – Vol. 50. – P. 249–254. 8. Leung K.M., Morgan I.S., Wu R.S., Lau T.C., Svavarsson J., Furness R.W. Growth rate as a factor confounding the use of the dogwhelk *Nucella lapillus* as biomonitors of heavy metal contamination // Mar. Ecol. Progr. Ser. – 2001. – 221. – P. 145–159. 9. Metcalfe-Smith J.R., Green R.N., Grapentine L.C. Influence of biological factors on concentrations of metal in the tissues of freshwater mussels (*Elliptio complanata* and *Lampsilis radiata*) from the St. Lawrence river // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1996. – 53. – P. 205–219. 10. Robinson W.E., Ryan D.K., Wallace G.T. Gut contents: A significant contaminant of *Mytilus edulis* whole body metal concentration // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1993. – 25. – P. 415–421. 11. Wiesner L., Gunter B., Fenske C. Temporal and spatial variability in the heavy-metal content of *Dreissena polymorpha* (Pallas) (Mollusca: Bivalvia) from the Kleines Haff (Northeastern Germany) // Hydrobiologia. – 2001. – 443. – P. 137–145.

Надійшла до редколегії 03.02.08

УДК 577.4:538.56

О. Григор'єва, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ДЕЯКИХ ГІДРОБІОНТІВ ПІД ВПЛИВОМ МІКРОХВИЛЬОВОГО ОПРОМІНЕННЯ

У статті досліджено вплив мікрохвильового опромінення на кладки комарів *C. p. molestus* та на пуголовків *R. temporaria*. Вивчено особливості розвитку гідробіонтів під впливом радіації різноманітної інтенсивності та тривалості, залежність життєздатності від дози опромінення, показано пороговий характер впливу високоінтенсивного опромінення на організми. Представлено можливий механізм впливу мікрохвильового опромінення на живі системи.

This article deals with the effect of microwave irradiation on egg layings of *C. p. molestus* gnats and *R. temporaria* tadpoles. The features of water organism development under the influence of radiation at difference intensity and duration were investigated. The dependence of vitality from radiated dose was shown as well as threshold effect of influence of high-level radiation on organisms. Possible mechanism of microwave irradiation effect on living systems is produced.

Вступ. Мікрохвильове опромінення, як сучасний невід'ємний антропогенний чинник, справляє беззаперечний вплив на довкілля. Причому в залежності від інтенсивності, частоти, тривалості дії радіації та багатьох інших факторів результат може бути різним. Тому для об'єктивної оцінки впливу мікрохвиль на живі організми, необхідно вивчити їхні реакції на дію опромінення з різними характеристиками.

Завдання роботи полягали в тому, щоб дослідити життєздатність комарів *C. p. molestus* та пуголовків *R. temporaria* під впливом разового інтенсивного та тривалого неінтенсивного впливу мікрохвильового опромінення.

Об'єкт та методи досліджень. У першій серії дослідів були задіяні одноразові кладки комарів *Culex pipiens molestus* Forskal. Кількість яєць у кожній кладці підраховували під мікроскопом.

Опромінювали об'єкти у чашках Петрі з об'ємом води 50 мл. Як джерело мікрохвильового випромінювання була використана стандартна побутова мікрохвильова піч, яка працює на магнетроні з частотою генерації $\nu = 2450$ МГц, що відповідає діапазону частот деяких антропогенних джерел (довжина хвилі випромінювання $\lambda \approx 12$ см). Час опромінення становив 20, 40 та 50 секунд при потужності 750 Вт.

Температуру води вимірювали до та після опромінення. При опроміненні протягом 20 с температура піднялася до 27°C, при 40 с – до 40°C, а при 50 с – до 47°C. Відразу після опромінення кладки пересаджували у посудини з водою кімнатної температури, щоб звести власне тепловий ефект до мінімуму.

Оскільки живі біологічні системи містять у собі великий відсоток води, і досліджувані об'єкти, крім того, були невеликі за розміром, їх температуру, а також поглинальну здатність електромагнітної радіації, приблизно оцінювали за відповідними показниками води, у якій вони перебували. Таким чином, дозу поглиненої радіації D визначали за формулою $D = c (t_2 - t_1)$, де $c = 4,2$ Дж/г°C – питома теплоємність води, а $t_2 - t_1$ – різниця кінцевої та початкової температур (тобто, після та до опромінення). Таким чином, дози становили 42 Дж/г при опроміненні протягом 20 с, 97 Дж/г при 40 с та 126 Дж/г при 50 с.

У другій серії експериментів вивчався вплив тривалих слабких доз радіації від бічних стінок дисплея комп'ютера DTK Computer, різні комплектуючі якого працюють у діапазоні частот від 50 Гц до 1000 МГц. Об'єктами дослідження були кладки того ж виду комарів *C. p. molestus*, а також пуголовки жаби трав'яної *Rana temporaria* L. 41 стадії розвитку [1]. Комп'ютер був увімкнений у середньому 6 годин щоденно. Посудини з кладками та ікрою були встановлені обабіч дисплея і знаходилися там аж доки личинки не перетворилися на імаго, а пуголовки не пройшли стадію метаморфозу.

Результати та їх обговорення. Дослідження разового інтенсивного впливу радіації показало, що як із дослідних, так і з контрольних кладок личинки виклюнулися в один день. Найвища доля викльову личинок із яєць – 100% – відмічена у контролі та при опроміненні в дозі 42 Дж/г (20 с), нижча – 83% – при 97 Дж/г (40 с), а при 126 Дж/г (50 с) личинки не виклюнулися – спостерігалася 100% смертність. Оскільки, при опроміненні кладок в дозах > 100 Дж/г викльову практично не спостерігається, дозу в 100 Дж/г слід вважати критичною, а сам ефект впливу високоінтенсивної радіації на кладки комарів – пороговим: вище певної дози смертність різко зростає.

Щодо розвитку комарів після викльову можна сказати нагупне (рис.1). Найперші лялечки та імаго з'явилися при опроміненні в дозі 42 Дж/г (20 с), а у контролі та при опроміненні в дозі 97 Дж/г (40 с) ці процеси відбулися на кілька днів пізніше. Проте комарі, опромінені в дозі 97 Дж/г розвивалися тим інтенсивніше, чим ближче наближалися до завершення циклу. У результаті ці особини найпершими дійшли до стадії імаго, хоча їх виклюнулося лише 83%. Загалом, кількість імаго зі збільшенням дози радіації зменшується: так, у контролі це становить 89%, а в опроміненних групах фактично однаково – 70 та 67% відповідно до доз 42 Дж/г та 97 Дж/г.

Пролонговане малоінтенсивне опромінення від бічних стінок комп'ютера не впливало на термін викльову личинок із яєць: і контрольні, і опромінені об'єкти виклюнулися одночасно, кількість особин, що виклюнулися, між цими двома групами також суттєво не відрізнялася. Деякі відмінності спостерігалися лише при подальшому розвитку. Так, за умов високої температури навколишнього середовища (+29°C) кількість особин, що дійшли до стадії імаго серед опромінених груп, становила лише 66%, у той час як у контролі – 86%.

Оскільки температура води у посудинах, що знаходилися біля комп'ютера, відрізнялася від температури води у контрольних ємностях у середньому на 2°C (контроль – +29°C, дослідні – +31°C), то, очевидно, така відмінність виявилася вирішальною для розвитку комарів. Крім того, дециметрове мікрохвильове випромінювання є більш дієвим, кількісно більш вираженим порівняно з еквівалентним по енергії тепловим впливом, і характеризується не лише температурним, але й радіаційним ефектом [2]. Воно може виявляти локальний тепловий вплив на клітини та тканини, який переважає середні величини підвищення температури в усьому об'ємі і, у результаті, реально виміряна температура значно нижча за локальну [3], [5]. Такого типу локальні перегріву можуть бути зумовлені електромеханічними мікрорезонансами, коли частота переполяризації мікросистеми (клітини) збігається з її власною механічною частотою [4].

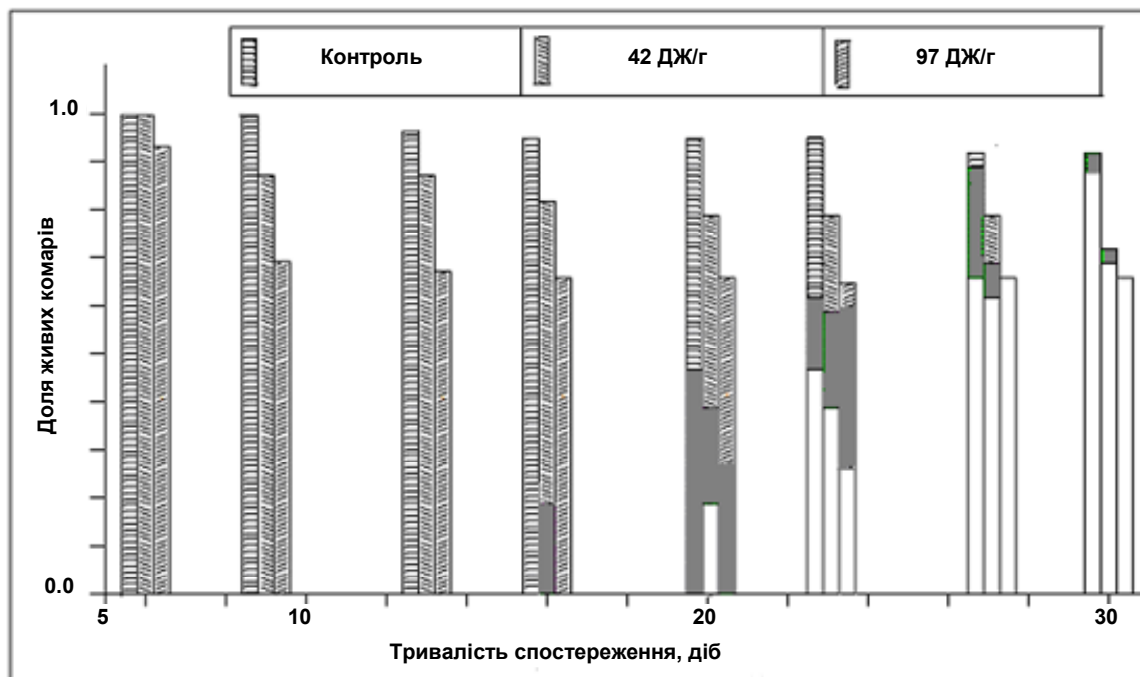


Рис. 1. Гістограма розвитку комарів в залежності від дози опромінення: контроль, 42 Дж/г, 97 Дж/г. Личинки позначено штрихом, лялечки – додатковим затемненням стовпчика, накладеного на штрихи, імаго – чистим полем стовпчика

При тривалому опроміненні *R. temporaria* від бічних стінок комп'ютера першими почали проходити метаморфоз опромінені пуголовки. У них почали з'являтися передні кінцівки (51 стадія розвитку) на 29 день експерименту, у контрольних – на 34. На 35 день експерименту 51 стадії розвитку серед дослідних особин досягло 16%, а серед контрольних – вдвічі менше, а саме 8%. Опромінені пуголовки розвивалися швидше, але й смертність у них була вищою: на 35 день серед особин, що дійшли 51 стадії, було 2% мертвих, а на 39–3%, у той час як у контролі не загинуло жодної особини. На 36 день значення фактично вирівнялись – у 22% і 21% особин відповідно з'явилися передні лапки. На 41 день повністю пройшли метаморфоз у контролі 27% особин, а серед опромінених – 29%.

Висновки. Вплив високоінтенсивного опромінення на викильов личинок із яєць носить пороговий характер: кладки комарів виявилися не чутливими до радіації в дозі < 100 Дж/г і практично гинуть після опромінення в

дозі > 100 Дж/г. Зі збільшенням дози радіації в допороговій області кількість особин, що дійшли до стадії імаго, зменшується. Серед опромінених особин, що випереджали в розвитку контроль, у подальшому спостерігається вища смертність.

1. Объекты биологии развития. / отв. ред. Т. А. Детлаф. – М.: Наука, 1975. – 579 с.
2. Большаков М. А., Евдокимов Е. В., Миненко О. В., Плеханов Г. Ф. О влиянии ЭМИ дециметрового диапазона на морфогенез дрозофил // Радиационная биология. Радиозология. – 1996. – том. 36, Вып. 5. – С. 676–680.
3. Зубкова С. М., Лапун И. Б. Действие электромагнитного излучения дециметрового диапазона на клеточные мембраны миокарда // Радиобиология. – 1989. – том. 24, № 2. – С. 276–279.
4. Григор'єва О. О. Вплив надвисокочастотного опромінення як екологічного фактора на деякі гідробіотні організми: Автореф. дис... канд. біол. наук. – К., 2005.
5. Carpenter R. L., Livstone E. M. Evidence for nonthermal effects of microwave radiation: abnormal development of irradiated insect pupae // IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques. – 1971. – Vol. MTT-19, № 2. – P. 173–178.

Надійшла до редколегії 28.02.08

УДК 577.112.083:616.33-002.44

У. Савко, студ.
К. Дворщенко, канд. біол. наук

ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ В МІТОХОНДРІЯХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ТА ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ

Встановлено зростання ферментативної активності сукцинатдегідрогенази в мітохондріях клітин слизової оболонки шлунка за умов обох моделей експериментальної виразки та в мітохондріях гепатоцитів за умов етанолової виразки. При стресовій виразці шлунка в мітохондріях гепатоцитів спостерігалось гальмування активності сукцинатдегідрогенази.

The increase of enzymatic activity of succinate dehydrogenase in mitochondria of gastric mucosa cells fixed at both models of an experimental ulcer and in mitochondria of hepatocytes at ethanol ulcer. At a stress stomach ulcer in mitochondria of hepatocytes depressing succinate dehydrogenase activity was observed.

Вступ. Згідно епідеміологічних досліджень провідне місце серед захворювань органів травлення займає виразкова хвороба, яка є однією з найбільш поширених

форм гастроентерологічної патології [1]. Виразкова хвороба шлунка – складний патологічний процес, виникнення якого пов'язано з порушенням балансу між фак-

торами кислотно-пептичної агресії шлункового вмісту та елементами захисту слизової оболонки [8]. Утворення виразок шлунка може відбуватись при дії стресу на організм, вживанні алкоголю або нестероїдних протизапальних препаратів. Виразкова хвороба не обмежується місцевими дефектами слизової поверхні шлунка, а обумовлює комплексні зміни інших органів травної системи [11]. Однією з перших на патологічну зміну реагує печінка, оскільки це орган хімічного гомеостазу, де створюються єдиний обмінний та енергетичний пул для метаболізму білків, вуглеводів і жирів.

Важливе значення в патогенезі виразкової хвороби відіграють зміни енергетичного статусу клітин, що на пряму пов'язано з функціонуванням мітохондрій. Ці органели чутливо реагують на негативні впливи зміною активності мембранозв'язаних ферментів. Сукцинатдегідрогеназа – фермент внутрішньої мембрани мітохондрій, який каталізує зворотне окислення янтарної кислоти до фумарової в циклі трикарбонових кислот, внаслідок чого утворюються молекули АТФ.

Метою роботи було визначити ферментативну активність сукцинатдегідрогенази в мітохондріях загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка та гепатоцитів щурів за умов експериментальної виразки.

Матеріали і методи. У досліджах використовували щурів лінії Вістар вагою 180–230 г, яких утримували на

стандартному раціоні віварію. Модель експериментальної етанолової виразки шлунка створювали загальноприйнятим методом (щурів перорально вводили 1мл 80% етанолу і через годину декапітували) [2]. Для моделювання стресової виразки шлунка у тварин, використовували модифіковану методику "імобілізаційного стресу" [4]. Отримання загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів проводили за методом Таїрова [5]. Гепатоцити виділяли неферментативним методом [7, 9]. Мітохондріальну фракцію епітеліоцитів шлунка та гепатоцитів отримували загальноприйнятим методом [10]. Активність сукцинатдегідрогенази визначали ферріціанідним методом [6]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати. Встановлено, що за умов етанолової моделі виразки в мітохондріях клітин слизової оболонки шлунка ферментативна активність СДГ збільшувалась на 50%, а за умов стресової – на 22% по відношенню до контрольних тварин (рис.1А). Показано, що при стресовій експериментальній моделі виразки сукцинатдегідрогеназна активність в мітохондріях клітин печінки знижувалась на 70%, а за умов етанолової зростала на 224% відносно контролю (рис. 1Б).

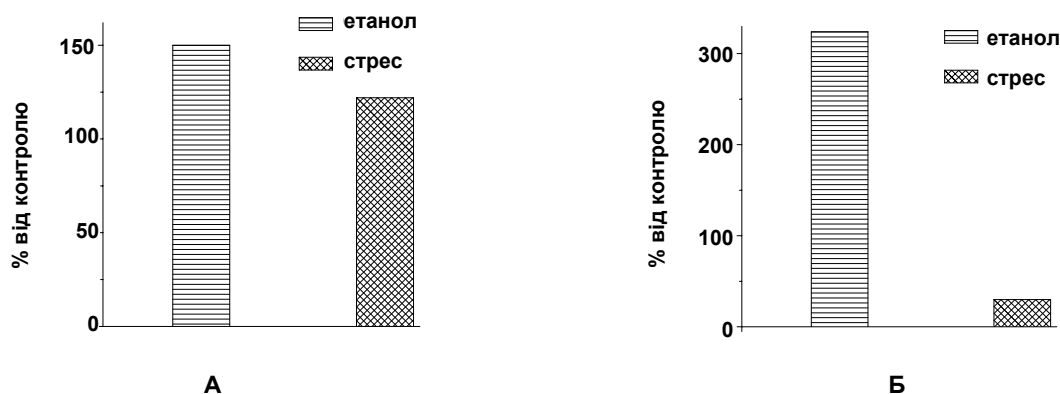


Рис. 1. Ферментативна активність сукцинатдегідрогенази в мітохондріях клітин слизової оболонки шлунка (А) та гепатоцитів (Б) щурів за умов експериментальної виразки

Зростання окислення сукцинату в мітохондріях слизової оболонки шлунка за умов обох моделей експериментальної виразки та в мітохондріях гепатоцитів за умов етанолової виразки пов'язано з гіперактивацією мітохондріального апарату. Негативним наслідком енергізації мітохондрій може бути підвищення утворення активних форм кисню, оскільки мітохондрії є головним джерелом їх утворення [3]. Гальмування сукцинатдегідрогенази в мітохондріях гепатоцитів при стресовій виразці шлунка можна розглядати як механізм захисту мітохондрій від гіперактивації.

Висновки. Отримані результати проведених досліджень показали, що при етаноловій та стресовій експериментальних моделях виразки в мітохондріях клітин слизової оболонки шлунка та гепатоцитів щурів порушується енергетичний баланс цих клітин, оскільки сукцинатдегідрогеназа є важливим каталізатором енергетичного обміну в організмі.

№12. – С. 13–19. 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. Ивашкин В.Т., Минасян Г.А., Барамия Г.Ш. Состояние печени, желчных путей и поджелудочной железы при язвенной болезни // Врачеб. дело. – 1988. – №4. – С. 35–38. 6. Лапина Т.Л. Язвенная болезнь и патология печени (анализ 6456 секционных наблюдений за 1983–1992 г.г.) / Т.Л. Лапина, В.В. Серов, Л.О. Северина // Архив патологии. – 1996. – №6. – С. 33–37. 7. Мансуров Х.Х., Мироджов Г.К. Этанол и печень // Проблемы гастроэнтерологии / Под ред. Х.Х. Мансурова. – Душанбе: Донши, 1985. – Вып.6. – С. 57–74. 8. Передерий В.Г., Ткач С.М., Скопиченко С.В. Язвенная болезнь. Прошлое. Настоящее. Будущее. – К., 2003. – 256 с. 9. Петренко А.Ю., Сукач А.Н., Росляков А.Д. Выделение гепатоцитов крыс неферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активность // Биохимия. – 1991. – Т.56, Вып.9. – С. 1647–1650. 10. Практикум по биохимии // Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – М.: МГУ, 1989. – 509 с. 11. Свиницкий А.С., Соловьева Г.А. Патогенез язвенной болезни в свете современных представлений // Современная гастроэнтерология и гепатология. – 2000. – Вып. 1. – С. 26–28.

Надійшла до редколегії 24.12.07

1. Baron J.H. Peptic ulcer. Mt. Sinai J. Med. – 2000. – Vol. 67. – P. 58–62. 2. 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. 3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросов. образов. жур. – 2000. – Т. 6,

УДК 582.572.8:581.4

Н. Карпенко, канд. біол. наук

МОРФОЛОГІЯ НАСІНИН ПРЕДСТАВНИКІВ РОДІВ CORONILLA L., HIPPOCREPIS L., SECURIGERA DC.

Досліджено морфологічні особливості насінин 12 видів родів Coronilla L., Hippocrepis L., Securigera DC. Подано описи форми, кольору та морфометричні параметри насінин. Гетерогенність роду Coronilla підтверджує доцільність перегляду його таксономічного складу.

The morphological features of seeds of 12 species of representatives of genera Coronilla L., Hippocrepis L., Securigera DC. are investigated. The form of seeds, colour and morphometrical parameters was given in article. Heterogeneity of genus Coronilla confirms expediency of revision its taxonomic structure.

Вступ. Більшість не тільки родів, а й видів покрито-насінних рослин відрізняється не лише за будовою квітки й вегетативних органів, але й плодів та насінин. Насіння, з якого починається і яким закінчується цикл розвитку рослин, давно привертало увагу ботаніків як центр, де перехрещуються інтереси самих різноманітних теоретичних та практичних дисциплін [1].

Створення визначників рослин за плодами і насінням полегшує виявлення карпологічних ознак видового, родового та інших рівнів. Разом з тим, карпологічні описи мають велике практичне значення. Вони потрібні в тих випадках, коли необхідно визначити рослину, яка вже відцвіла, або в розпорядженні ботаника є в наявності тільки насіння. Використання даних морфології насіння дає великий матеріал і додаткові діагностичні ознаки для систематики. Можливість одержання таких ознак особливо важлива для діагностично спірних таксонів, якими є роди *Coronilla* L., *Securigera* DC. та *Hippocrepis* L. [2, 3, 4].

Морфологія насіння видів триби *Coronilleae* вивчалася різними авторами. Так, В. Schmidt [2] та А. Pereira [3] вивчали морфологію насіння роду *Coronilla* s.l. світової флори. Американські автори J. Kirkbride, Jr. Gunn, A. Weitzman [4] дослідили морфологію плодів, насіння та мікроскульптуру поверхні насінної шкірки деяких родів підроду *Faboideae*, в тому числі *Coronilla*, *Hippocrepis*, *Securigera* та подали узагальнені характеристики для кожного роду. І. Т. Васильченко [5] дослідив морфологію насіння видів *C. varia* L. та *C. scorpioides* L. В. Доброхотов [6] описав морфологічні особливості насіння виду *Coronilla varia*. У російсько- та україномовних "Флорах..." та визначниках вищих рослин [7-11] морфологічні описи насіння подавалися в загальних рисах.

В Україні дослідження морфології плодів та насінин родини *Fabaceae* започаткувала Н. Дудик. Її робота "Визначник інтродукованих бобоцвітних України за плодами та насінням" [12] містить ключ для визначення родів *Fabaceae* за морфологією насіння, але досліджувані роди тут не розглядаються. В "Атласі плодів і насіння бобових природної флори УРСР" Н. Дудик та Є. Кондратюк [13] відсутні дані з морфології насінин видів *Coronilla cretica* L., *C. parviflora* Willd., *Hippocrepis comosa* L. та *H. ciliata* Willd. Замість зображення плодів та насінин *Hippocrepis comosa* помилково подається *H. biflora* Spreng. За довжину насінини автори прийняли довжину більшої сторони, а не відстань від насінного рубчика до спинки, як рекомендують Н. Каден та С. Смірнова [14]. Дотепер в Україні видано атлас "Морфологічні особливості плодів та насіння квіткових рослин світової флори" [15], де приділена увага морфології плодів та насіння представників 27 родин, в тому числі *Fabaceae*, проте дані з морфології насінин представників *Coronilla*, *Hippocrepis* та *Securigera* тут відсутні.

У зв'язку з цим, з метою виявлення додаткових діагностичних ознак, нами проведено детальне вивчення морфологічних особливостей насінин 12 видів дослі-

джуваних родів флори України та одного виду (*Coronilla emerus* L.) світової флори.

Об'єкт і методи досліджень. Матеріал для досліджень взятий з колекції насінин родини *Fabaceae* кафедри ботаніки Київського національного університету імені Тараса Шевченка, виписаних по *Deflectus seminum* з ботанічних садів окремих країн Європи та відібраних під час експедиційних досліджень на території України протягом 2002-2004 рр. Всього досліджено 35 зразків насіння 12 видів, в тому числі: *Coronilla* – 8 видів, *Securigera* – 1, *Hippocrepis* – 3 види :

Coronilla coronata L., зразок №1 – ботанічний сад м. Берн, Швейцарія; зразок №2 – ботанічний сад м. Мюнхен, Німеччина; зразок №3 – с. Гутисько, Тернопільська обл., Україна; зразок №4 – Ботанічний сад "Вакратот", Угорщина; *C. scorpioides* (L.) Koch., зразок №1 – ботанічний сад університету м. Копенгаген, Данія; зразок №2 – ботанічний сад інституту кормів та акліматизації рослин м. Бідожич, Польща; зразок №3 – ботанічний сад університету м. Генуя, Італія; зразок №4 – Нікітський ботанічний сад, АР Крим; *C. elegans* Panč., зразок №1 – ботанічний сад університету м. Єна, Німеччина; *C. varia*, зразок №1 – ботанічний сад інституту кормів та акліматизації рослин м. Бідожич, Польща; зразок №2 – Ботанічний сад м. Мюнхен, Німеччина; зразок №3 – ботанічний сад університету м. Генуя, Італія; зразок №4 – ботанічний сад університету м. Вітсбург, Німеччина; зразок №5 – Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка, Київ, Україна; зразок №6 – с. Плюти, Київська обл., Україна; зразок №7 – с. Плюти, Київська обл., Україна; зразок №8 – с. Малий Маяк, АР Крим, Україна; зразок №9 – с. Гутисько, Тернопільська обл., Україна; *C. emerus*, зразок №1 – ботанічний сад університету м. Генуя, Італія; зразок №2 – ботанічний сад м. Берн, Швейцарія; зразок №3 – Національний парк "Парадізія", Італія; *C. emeroides* Boiss. et Sprun., зразок №1 – с. Малий Маяк, АР Крим, Україна; зразок №2 – ботанічний сад університету м. Єна, Німеччина; *C. cretica* L., зразок №1 – ботанічний сад університету м. Копенгаген, Данія; зразок №2 – ботанічний сад університету м. Копенгаген, Данія; зразок №3 – Нікітський ботанічний сад, АР Крим, Україна; *C. parviflora*, зразок №1 – Ботанічний сад університету м. Копенгаген, Данія; *Securigera securidaca* (L.) Degen et Döerfl., зразок №1 – ботанічний сад університету м. Копенгаген, Данія; зразок №2 – ботанічний сад університету м. Бордо, Франція; зразок №3 – ботанічний сад університету м. Гутенберг, Німеччина; зразок №4 – м. Партеніт, АР Крим, Україна; *Hippocrepis comosa*, зразок №1 – с. Гутисько, Тернопільська обл., Україна; зразок №2 – ботанічний сад університету м. Єсен, Франція; зразок №3 – ботанічний сад університету м. Бордо, Франція; *H. biflora* Spreng., зразок №1 – Нікітський ботанічний сад, АР Крим, Україна; зразок №2 – ботанічний сад університету м. Гутенберг, Німеччина; *H. ciliata*, зразок №1 – ботанічний сад університету м. Гутенберг, Німеччина.

Морфологію насінин вивчали за допомогою стереоскопічного мікроскопу МБС-10. Морфометричні параметри насінин вимірювали за допомогою штангенциркуля з точністю до 0,05 мм на вибірці з 30 насінин кожного зразка. Довжиною вважали відстань від основи насінини, тобто від насінного рубчика, до протилежного боку – вершини (спинки); шириною – найбільшу відстань між боковими сторонами, що перпендикулярна довжині (за Н. Каденом та С. Смірною [14]).

Середня вага насінин визначалася шляхом зважування на електронних терезах Mettler PE 400 вибірки з 50 насінин з подальшим перерахунком до ваги 1000 насінин. Назви видів подано за "Флорой европейской части СССР" [11]. Вид *Hippocrepis unisiliquosa* L. вказано для флори України помилково, тому назву цього таксону наведено згідно з систематичним зведенням

С. Мосякіна та М. Федорончука [16] як *H. biflora*, а назву виду *Coronilla rostrata* Boiss. et Sprun. – як *C. parviflora*.

Результати та їх обговорення. В'язіль увінчаний – *Coronilla coronata* L. Досліджено 4 зразки насінин даного виду. Насінини середнього розміру (табл. 1), асиметричні. За формою – від овальних до нирковидних, латерально стиснуті. Поверхня нерівна, горбкувата, матова. Колір насінин варіює від горіхового, рудуватого (№3) до червонувато-бурого та каштанового (№1, 2, 4). Іноді посередині латерального боку спостерігається більш-менш виражене ребро, що не доходить до країв насінини (№2, 4). Насінний рубчик округлий, мало заглиблений, темніший від насінної шкірки, облямівка – світліша. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза у вигляді малопомітного горбочка, темнішого від насінної шкірки.

Таблиця 1. Морфометричні параметри насінин представників *Coronilla*, *Hippocrepis*, *Securigera*

№ п/п	Вид, № зразка	Довжина, мм M ± m	Ширина, мм M ± m	Товщина, мм M ± m	Маса 1000 насінин, г
1.	<i>C. coronata</i> , №1	1,87 ± 0,026	3,750 ± 0,03	1,31 ± 0,016	6,47
	№2	1,86 ± 0,023	3,432 ± 0,03	1,22 ± 0,017	6,0
	№3	1,88 ± 0,044	3,447 ± 0,06	1,36 ± 0,025	6,6
	№4	1,52 ± 0,022	3,663 ± 0,04	1,17 ± 0,018	4,66
2.	<i>C. scorpioides</i> , №1	1,33 ± 0,027	4,30 ± 0,049	0,95 ± 0,016	3,57
	№2	1,09 ± 0,012	3,64 ± 0,038	0,81 ± 0,010	2,39
	№3	1,26 ± 0,017	4,24 ± 0,047	0,94 ± 0,009	3,07
3.	<i>C. elegans</i> , №1	1,36 ± 0,022	4,48 ± 0,039	1,17 ± 0,010	5,66
4.	<i>C. varia</i> , №1	1,45 ± 0,019	3,69 ± 0,067	1,12 ± 0,016	4,42
	№2	1,42 ± 0,010	3,73 ± 0,056	1,16 ± 0,015	4,2
	№3	1,30 ± 0,015	3,46 ± 0,027	1,10 ± 0,008	4,0
	№4	1,32 ± 0,021	4,01 ± 0,059	1,00 ± 0,011	3,9
	№5	1,38 ± 0,016	4,11 ± 0,040	1,02 ± 0,010	3,4
	№6	1,21 ± 0,019	4,13 ± 0,054	0,99 ± 0,020	3,6
	№7	1,02 ± 0,013	3,76 ± 0,055	0,94 ± 0,010	2,68
	№8	1,18 ± 0,018	4,08 ± 0,056	1,05 ± 0,011	4,33
	№9	1,44 ± 0,029	3,52 ± 0,047	1,12 ± 0,013	4,0
5.	<i>C. emerus</i> , № 1	1,09 ± 0,015	4,47 ± 0,067	1,01 ± 0,013	4,6
	№2	1,38 ± 0,012	4,80 ± 0,047	1,20 ± 0,010	6,1
	№3	1,30 ± 0,019	4,75 ± 0,054	1,12 ± 0,014	5,1
6.	<i>C. emeroideis</i> , №1	1,33 ± 0,021	4,98 ± 0,060	1,17 ± 0,016	6,6
	№2	1,27 ± 0,023	4,64 ± 0,051	1,21 ± 0,012	5,33
7.	<i>C. cretica</i> , №1	0,99 ± 0,019	4,35 ± 0,039	0,80 ± 0,009	2,99
	№2	1,16 ± 0,020	4,56 ± 0,029	0,90 ± 0,008	3,68
	№3	0,94 ± 0,025	4,62 ± 0,045	0,83 ± 0,011	3,3
8.	<i>C. parviflora</i> , №1	2,20 ± 0,045	5,367 ± 0,08	1,003 ± 0,018	6,96
9.	<i>S. securidaca</i> , №1	3,36 ± 0,017	4,40 ± 0,042	1,28 ± 0,007	15,0
	№2	3,07 ± 0,033	4,35 ± 0,045	1,38 ± 0,028	14,3
	№3	2,87 ± 0,040	4,18 ± 0,062	1,34 ± 0,023	12,3
	№4	2,44 ± 0,033	3,94 ± 0,034	1,32 ± 0,024	9,0
10.	<i>H. comosa</i> , №1	1,03 ± 0,018	3,27 ± 0,046	1,02 ± 0,012	3,0
	№2	1,14 ± 0,027	3,18 ± 0,063	1,10 ± 0,017	3,66
	№3	0,92 ± 0,030	3,21 ± 0,100	1,02 ± 0,014	3,33
11.	<i>H. biflora</i> , №2	0,64 ± 0,015	4,09 ± 0,121	0,98 ± 0,017	3,66
12.	<i>H. ciliata</i> , №1	0,36 ± 0,018	2,59 ± 0,091	0,76 ± 0,011	1,33

Спільні ознаки морфології насінин в межах виду *C. coronata*: поверхня нерівна, горбкувата, матова; халаза темніша від насінної шкірки, відмінні – наявність або відсутність ребра. На нашу думку, варіабельність забарвлення насінної шкірки свідчить про недоцільність використання даної ознаки для діагностики виду.

В'язіль завитий – *Coronilla scorpioides* (L.) Koch. Досліджено 3 зразки насінин даного виду. Насінини середніх розмірів або крупні (табл. 1), майже симетричні. За формою лінійні, зігнуті, латерально стиснуті. Поверхня матова, з ребром. Ребро слабо виражене (№4), не виступає за краї насінин (№2, 4) або добре виражене і виступає за краї (№1). Насінна шкірка має забарвлення від коричнево-бурого до коричневого (№1, 3, 4), іноді

темно-коричневого (№2). По обидва боки від ребра (крім середньої частини латеральної поверхні) насінна шкірка вдавнена у вигляді коротких борозен (№1). Насінний рубчик знаходиться на випуклому боці насінини, округлий, мало заглиблений, коричневий, із залишками насінної ніжки сірого кольору. Облямівка темніша від насінної шкірки. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза у вигляді горбочка, забарвленням не відрізняється від насінної шкірки.

Спільні ознаки морфології насінин в межах виду: стиснутість; наявність ребер; насінний рубчик знаходиться на випуклому боці насінини.

Заслужують на увагу відміни в морфології насінин європейських та українського зразків. Так, у європейсь-

ких зразків насінини зігнуті, з добре вираженими ребрами. Водночас насінини даного виду з України слабо зігнуті, майже прямі, з одним більш-менш вираженим ребром. Тому ці ознаки – наявність ребер та форма насіння – ми не можемо розглядати як діагностичні.

В'язіль стрункий – *Coronilla elegans* Panc. Досліджено один зразок насінин даного виду. Насінини крупні (табл. 1), асиметричні. За формою овально-видовжені, прямі, латерально стиснуті. Поверхня матова. Іноді спостерігається слабо виражене ребро. Насінна шкірка має забарвлення від жовто-коричневого до коричневого. Насінний рубчик знаходиться на слабо випуклому боці насінини, округлий, у широкому неглибокому заглибленні, світло-коричневий, із залишками насінної ніжки сірого кольору. Облямівка темніша від насінної шкірки. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза майже не виступає, відрізняється від насінної шкірки лише темнішим відтінком.

В'язіль барвистий – *Coronilla varia* L. Досліджено 9 зразків насінин даного виду. Насінини середніх розмірів або крупні (табл. 1), майже симетричні. За формою від овально-видовжених (№8), ниркоподібних до чотирикутних (№1, 4), прямих, латерально стиснутих. Поверхня блискуча (№1, 2, 3) або матова. Ребро слабо виражене. Насінна шкірка має забарвлення від рудуватого, коричневого (№8), жовтувато-рудого (№3) до блідо-червонувато-бурого (№3), коричнюватого (№1 – 6, 9). Насінний рубчик знаходиться на слабо випуклому боці насінини, округлий, мало заглиблений, світло-коричневий, із залишками насінної ніжки сірого кольору. Облямівка темніша від насінної шкірки. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза у вигляді горбочка, за кольором темніша від насінної шкірки.

Спільні ознаки морфології зразків насінин в межах виду: стиснутість, наявність ребер, насінний рубчик знаходиться на випуклому боці насінини. Відмінні ознаки: варіабельність форми та забарвлення.

В'язіль емеровий – *Coronilla emerus* Boiss. et Sprun. Досліджено 3 зразки насінин даного виду. Насінини крупні (табл. 1), майже симетричні. За формою циліндричні, прямі, не стиснуті латерально. Поверхня гладенька, матова. На латеральному боці іноді спостерігається слабо виражене ребро. Насінна шкірка має забарвлення від коричневого (№2, 3) до темно-коричневого (№1). Насінний рубчик чітко виділяється на слабо випуклому боці насінини, округлий, мало заглиблений, із залишками насінної ніжки світло-сірого кольору у вигляді обідка. Облямівка темніша від насінної шкірки – темно-коричнева. Слід судинно-волокнистого пучка округлий. Халаза у вигляді горбочка, темніша від насінної шкірки, темно-коричнева.

Спільні ознаки морфології зразків насінин в межах виду: циліндрична форма; насінний рубчик знаходиться на слабо випуклому боці насінини, слід судинно-волокнистого пучка округлий. Відмінні ознаки: зразки насінин в межах виду відрізняються забарвленням насінної шкірки.

В'язіль емероїдний – *Coronilla emeroideis* Boiss. et Sprun. Досліджено 2 зразки насінин даного виду. Насінини крупні (табл. 1), злегка асиметричні (№1) або симетричні (№2). За формою циліндричні, прямі, не стиснуті латерально. Краї насінин завужені, більше у зразка №2. Поверхня гладенька, матова. Ребро відсутнє. Насінна шкірка має забарвлення від оливково-жовтого, охристого (№1) до шкірясто-бурого, коричневого (№2). Насінний рубчик виділяється на слабо випуклому боці насінини, округлий, жовтуватий, мало заглиблений, із залишками насінної ніжки світло-сірого кольору у вигляді обідка. Облямівка темніша від насінної шкірки

(№2) або світліша (№1). Слід судинно-волокнистого пучка округлий. Халаза у вигляді горбочка, темніша від насінної шкірки, коричнева.

Спільні ознаки морфології зразків насінин в межах виду: циліндрична форма; насінний рубчик знаходиться на слабо випуклому боці насінини, слід судинно-волокнистого пучка округлий. Відмінні ознаки: зразки відрізняються кольором облямівки насінного рубчика та формою країв.

В'язіль крітський – *Coronilla cretica* L. Досліджено 2 зразки насінин даного виду. Насінини крупні (табл. 1), симетричні. За формою паличкоподібні, слабо зігнуті, латерально стиснуті. Краї насінин обрубані, з виїмкою посередині (№1) або завужені (№2). Поверхня гладенька, матова. Ребро відсутнє. Насінна шкірка має забарвлення від махорково-бурого (№1) до жовтувато-рудого (№2). Насінний рубчик знаходиться на випуклому боці насіння, округлий, жовтуватий, не заглиблений, із залишками насінної ніжки світло-сірого кольору. Облямівка темна. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза у вигляді горбочка, жовто-коричневого кольору.

Спільні ознаки морфології зразків насінин в межах виду: зігнуто-паличкоподібна форма; колір від махорково-бурого до жовтувато-рудого. Ребро відсутнє, насінний рубчик знаходиться на випуклому боці насінини, слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Відмінна ознака – форма країв – обрубана або завужена.

В'язіль дрібноквітковий – *Coronilla parviflora* Willd. Досліджено 1 зразок насінин даного виду. Насінини крупні (табл. 1). За формою зігнуті, латерально стиснуті. Поверхня матова, з добре вираженим широким, випуклим ребром, що виступає за краї насіння. Насінна шкірка має жовтувато-руде або рудувате забарвлення. Насінний рубчик знаходиться на увігнутому боці насінини, округлий, не заглиблений, світло-коричневий, із залишками насінної ніжки сірого кольору, з коричневою облямівкою. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза дещо виступає у вигляді горбочка і відрізняється від насінної шкірки коричневим забарвленням.

Отже, морфологічними ознаками насінин представників роду *Coronilla* є: форма (пряма або зігнута); розміщення насінного рубчика посередині черевного боку насінини; забарвлення халази відрізняється від забарвлення насінної шкірки (за винятком *C. scorpioides*); насіння тьмяне або блискуче; крупне або середніх розмірів.

Секуригера мечовидна – *S. securidaca* (L.) Degen et Dörf. Досліджено 4 зразки насінин даного виду. Насінини крупні (табл. 1). За формою чотирикутні, прямі, латерально стиснуті, більше по периметру. Середня частина латеральної сторони дещо піднята. Поверхня ямчата, матова. Насінна шкірка має забарвлення жовтувато-руде, охристе (№4) червонувато-буре до каштанового (№2, 3) або до темно-бурого (№1). Насінний рубчик знаходиться на бічній стороні насінини, округлий, сильно заглиблений, із залишками насінної ніжки жовтуватого відтінку. Облямівка темніша від насінної шкірки. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза виступає у вигляді горбочка, темніша від насінної шкірки.

Спільні ознаки морфології насінин в межах виду: насінини крупні, чотирикутної форми; поверхня ямчата, слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Відмінні ознаки: український зразок насінин відрізняється забарвленням насінної шкірки, меншими розмірами та масою.

Гіпокрепіс чубатий – *Hippocrepis comosa* L. Досліджено 3 зразки насінин даного виду. Насінини середніх розмірів (табл. 1). За формою місяцеподібні, з плавним завуженими краями, не стиснуте латерально. Поверхня гладенька, матова. Ребро відсутнє. Насінна шкірка має забарвлення від оливково-жовтого, жовтувато-рудого

до коричневого. Насінний рубчик знаходиться на увігнутому боці насінини, овальний, мало заглиблений, із жовто-коричневою облямівкою. Залишків насінної ніжки немає. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза знаходиться відразу біля облямівки насінного рубчика і має вигляд темного, маленького загостреного горбочка.

Спільні ознаки морфології зразків насінин в межах виду: місяцеподібна форма; насінний рубчик знаходиться на увігнутому боці насінини, слід судинно-волокнистого пучка овальний. Залишків насінної ніжки немає. Відмінні ознаки: зразки насіння в межах виду відрізняються за морфометричними параметрами.

Гіпокрепіс двоквітковий – *H. biflora* Spreng. Досліджено 2 зразки насінин даного виду. Насінин крупні (табл. 1). За формою підковоподібні, зігнуті, латерально не стиснуті, з двома виїмками на спинному боці. Поверхня гладенька, матова. Ребро відсутнє. Насінна шкірка має забарвлення від охристого, рудуватого (№2) до коричнюватого (№1). Насінний рубчик знаходиться на увігнутому боці насінини, овальний, мало заглиблений, із жовто-коричневою облямівкою. Залишків насінної ніжки немає. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза знаходиться відразу біля облямівки насінного рубчика і має вигляд темного, маленького горбочка.

Спільні ознаки морфології насінин в межах виду: за формою підковоподібні, зігнуті, не стиснуті латерально, з двома виїмками на спинному боці; насінний рубчик знаходиться на увігнутому боці насінини, слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Відмінні ознаки: зразки насінин в межах виду відрізняються забарвленням насінної шкірки.

Гіпокрепіс війчастий – *Hippocrepis ciliata* Willd. Досліджено 1 зразок насінин даного виду. Насінини середніх розмірів (табл. 1). За формою підковоподібні, зігнуті, латерально не стиснуті, з двома виїмками на спинному боці. Поверхня гладенька, матова. Насінна шкірка має оливково-жовте, жовтувато-буре та коричнево-буре забарвлення. Насінний рубчик знаходиться посередині на увігнутому боці насінини, овальний, мало заглиблений, із жовто-коричневою облямівкою. Залишків насінної ніжки немає. Слід судинно-волокнистого пучка у вигляді щілини. Халаза знаходиться відразу біля облямівки насінного рубчика і має вигляд темного, маленького горбочка.

Спільні ознаки для роду: насінини крупні та середніх розмірів, С-подібні, без виїмок на спинці та підковоподі-

бні з виїмками. Не стиснуті латерально. Забарвлення – від оливково-жовтого до коричневого. Насінний рубчик знаходиться на увігнутому боці. Поверхня матова.

Висновки. В результаті проведених досліджень морфології насінин представників родів *Coronilla*, *Hippocrepis* та *Securigera* флори України нами встановлено, що діагностичними ознаками для *Hippocrepis* та *Securigera* на рівні родів є форма насінин, їх симетричність та місце розташування насінного рубчика; на рівні видів – забарвлення та морфометричні параметри насінин. Діагностичних ознак насінин на рівні роду для *Coronilla* s. l. нами не виявлено, що вказує на гетероморфність роду. Насінини *Coronilla emeroide*s та *C. emerus* подібні за формою, що може слугувати на користь перенесення *C. emeroide*s в ранг підвиду *C. emerus*, як вважають деякі зарубіжні автори [2, 17].

1. Цингер Н.В. Семья, его развитие и физиологические свойства. – М.: Изд-во АН СССР, 1958. – 285 с. 2. Schmidt B. Beitrage zur Kenntniss der Sippenstruktur der Gattung *Coronilla* L. // Feddes Repertorium, 1979. – Bd. 90. – Heft 5-6. – S. 257–361. 3. Pereira A.J. 1949. Recherches Pharmacognostiques sur les semences de quelques especes du genere *Coronilla*. Portug. Acta biologica, ser. 2. – P. 44. 4. Kirkbride J.H., Gunn Jr. C.R., Weitzman A.L. Fruits and seeds of genera in the subfamily Faboideae (Fabaceae) // U. S. Department of Agriculture. Technical Bulletin. – 2003. – №1890. – P. 738–749. 5. Васильченко И. Т. Карпологиические особенности *Coronilla varia* L. и *C. scorpioides* L. Koch. // Тр. по прикл. бот., ген. и сел., 1931. – Т. 25, №4. – С. 183–194. 6. Доброхотов В.Н. *Coronilla varia* // Семена сорных растений. – М.: Сельхозиздат, 1961. – С. 15. 7. Флора СССР / Под ред. В.Л. Комарова. – М. – Л.: Изд-во АН СССР, 1948. – Т. 13. – С. 242–255. 8. Вісюліна О.Д. Родина Бобові – Leguminosae Juss. // Барбарич А.І., Вісюліна О.Д., Доброчаєва Д.М. та ін. Флора УРСР. – К., 1954 – Т. 6. – С. 301–499. 9. Чернова Н.М. // Вульф Е.В. Флора Крыма. Двудольные. Толстянковые Бобовые. – М.: Гос. изд-во сельхоз. литературы, 1960. – Т. 2, вып. 2. – С. 174, 207–215. 10. Доброчаєва Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. Определитель высших растений Украины. – Киев: Наук. думка, 1987. – С. 190, 198–199. 11. Флора европейской части СССР / Под ред. Федорова А. А. – Л.: Наука, 1987. – Т. 6. – С. 122–125. 12. Дудик Н.М. Ornithopus // Визначник інтродукованих бобоцвітих України за плодами та насінням. – К.: Наук. думка, 1973. – С. 124. 13. Дудик Н.М., Кондратюк Є.М. Атлас плодів і насіння бобових природної флори УРСР. – К.: Наук. думка, 1970. – С. 5, 6, 141–145. 14. Каден Н.Н., Смирнова С.А. К методике составления карпологиических описаний // Составление определителей растений по плодам и семенам (методические разработки). – К.: Наук. думка, 1974 – С. 54–67. 15. Сікура Й.Й., Капустян В.В., Сікура А.Й. Морфологічні особливості плодів та насіння квіткових рослин світової флори. – Київ: Фітосоціоцентр, 2005. – 124 с. 16. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. // Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. – Kiev, 1999. – P. 210, 211, 213, 217, 219. 17. Polhill R. M. Papilionoideae // Polhill R.M., Raven P.H. (editors). Advances in Legume Systematics. Part 1. – Royal Botanic Gardens, Kew, 1981. – P. 191–208.

Надійшла до редколегії 17.12.07

О. Войцехівська, канд. біол. наук,
О. Ситар, канд. біол. наук,
А. Косян, канд. біол. наук

ФОРМУВАННЯ АДАПТИВНИХ РЕАКЦІЙ РОСЛИН НА РАННІХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Проведено порівняльний аналіз неспецифічних реакцій різних видів рослин та досліджено адаптивні реакції рослин озимої пшениці та сої за дії йонів Pb^{2+} на ранніх етапах онтогенезу. Показано, що проростки сої виявилися більш толерантними до дії токсиканта.

The comparative analysis of nonspecific reactions of different plant species (winter wheat and Soya bean) was showed. Adaptive reactions these plants upon lead ions actions on the early phases of ontogenesis was study. It is shown that Soya bean germs appeared more tolerant to the lead ions action.

Вступ. Однією з найактуальніших проблем сучасної фітофізіології є дослідження адаптивних реакцій рослинного організму до дії токсикантів різної хімічної природи. Одним із найбільш розповсюджених токсикантів з високим ступенем фітотоксичності є свинець. Згідно сучасних уявлень реакція рослин на дію йонів свинцю

проявляється в різноманітних фізіолого-біохімічних змінах, спрямованих на формування механізмів фізіологічної адаптації до надлишку токсиканта [6]. Метою нашої роботи було дослідити адаптивні реакції різних видів рослин за дії свинцевого навантаження для оцінки їх стійкості до даного поллютанта.

© Войцехівська О., Ситар О., Косян А., 2008

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктами дослідження були рослини озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Поліська 90 та сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Устя. Рослини вирощували протягом 3 діб у термостаті за температури 24°C. Потім проростки переносили на розчини $Pb(NO_3)_2$ у концентраціях 0,5 мМ та експонували впродовж 6, 12, 24, 48 та 96 год. Контрольні рослини вирощували на дистильованій воді.

Вміст хлорофілів та каротиноїдів визначали спектрофотометрично [7]. Сумарну активність пероксидази визначали за методом Бояркіна [3]. Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за кількістю малонового діальдегіду (МДА) на основі реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою [9] у модифікації Андрєєвої [1]. Активність антиоксидантних ферментів визначали за активністю СОД і каталази. Вміст сульфоліпіду визначали за методом Кіна [10]. Біологічна повторність дослідів 3-4 кратна, аналітична 9-ти кратна. Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики [4].

Результати та їх обговорення. Отримані дані показали, що обробка рослин озимої пшениці 0,5 М розчином $Pb(NO_3)_2$ призводила до висихання корінців і загибелі 50% проростків, тоді як рослини сої виявилися більш толерантними до даного важкого металу.

Одним із найбільш чутливих фізіологічних процесів до дії важких металів є фотосинтез. Зниження концентрації хлорофілів у листках рослин може бути біоіндикаторною ознакою забруднення навколишнього середовища, оскільки воно відмічено для різних токсикантів [2, 5]. Аналіз вмісту фотосинтетично активних пігментів показав, що за дії токсиканта у проростках пшениці і сої спостерігається зниження сумарного вмісту хлорофілів. Наразі у проростках озимої пшениці на 48 годину експозиції відмічено зниження вмісту хлорофілу а на 22% та суми хлорофілів на 9%, тоді як хлорофіл в виявився толерантним до дії важкого металу і його вміст збільшився на 13% проти контролю (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст пластидних пігментів у листках рослин пшениці за дії йонів свинцю

Час експозиції	6 год	24 год	48 год
Вміст хлорофілу а (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,516±0,012	0,648±0,039	0,629±0,032
Дослід (-S)	0,508±0,021	0,720±0,014	0,565±0,041
Вміст хлорофілу b (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,232±0,013	0,252±0,009	0,244±0,012
Дослід (-S)	0,223±0,010	0,246±0,011	0,258±0,010
Вміст суми хлорофілів а+b (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,748±0,010	0,900±0,012	0,873±0,030
Дослід (-S)	0,731±0,010	0,966±0,017	0,823±0,010
Вміст каротиноїдів (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,193±0,008	0,212±0,001	0,219±0,006
Дослід (-S)	0,216±0,002	0,226±0,003	0,229±0,019

Зниження вмісту хлорофілу а свідчить про зниження фотосинтетичної активності в проростках пшениці, так як відомо, що хлорофіл а є основним компонентом світлопоглинаючого комплексу хлоропластів. Слід зазначити, що збільшення вмісту хлорофілу в слід розгляда-

ти не як просте його накопичення, а як переважання синтезу над руйнуванням. У той же час у проростках сої вміст хлорофілу а знижувався на 23%, хлорофілу в – на 27%, сумарний вміст хлорофілів – на 25%, вміст каротиноїдів – на 35% проти контрольних рослин (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст пластидних пігментів у листках рослин сої за дії йонів свинцю

Час експозиції	6 год	24 год	48 год
Вміст хлорофілу а (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,616±0,003	0,848±0,041	0,829±0,026
Дослід (-S)	0,608±0,008	0,960±0,013	0,635±0,035
Вміст хлорофілу b (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,232±0,012	0,372±0,003	0,300±0,027
Дослід (-S)	0,199±0,006	0,322±0,004	0,217±0,007
Вміст суми хлорофілів а+b (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,848±0,004	1,217±0,038	1,129±0,053
Дослід (-S)	0,800±0,011	1,282±0,009	0,852±0,041
Вміст каротиноїдів (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,375±0,018	0,289±0,009	0,225±0,006
Дослід (-S)	0,431±0,021	0,291±0,011	0,147±0,019

На відміну від рослин сої у проростках озимої пшениці за дії свинцю спостерігається збільшення вмісту каротиноїдів на 17%, що є адаптивною реакцією рослини до надлишку токсиканта.

Відомо, що ферменти класу оксидоредуктаз є чутливими маркерами стресового стану рослин за дії різних стресових факторів. Аналіз динаміки активності цих ферментів у проростках пшениці показав, що на 48 год експозиції спостерігається зростання в 2,9 рази активності пероксидази і в 2,3 рази зниження активності каталази. Зниження активності каталази може бути обумовлено як інактивацією ферменту свинцем, так і пригніченням білкового синтезу внаслідок підвищеної генерації O_2 [8]. На 96 год експозиції відбувається стабіліза-

ція ферментних систем і їх активність у дослідних і контрольних рослин достовірно не відрізняється.

На відміну від рослин пшениці у проростках сої вже на 6 годину експозиції відмічено зростання активності каталази на 24%, вмісту МДА на 14% і пригнічення СОД на 12%. Ймовірно інтенсивне зростання O_2 є наслідком руйнування захисної системи клітини, про що свідчить пригнічення активності СОД. Також зменшення активності каталази та СОД може вказувати на зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в напрямку посилення генерації активних форм кисню та залучення їх до окиснення ліпідів мембран. На 24 та експозиції відзначено тенденцію до зниження активності каталази на 13% та аніонного ліпиду мембран хлоропластів СХДГ

на 46%. Наразі на 24 та 48 години експозиції відмічено тенденцію до зменшення вмісту МДА на 12% та 21%

відповідно (рис. 1), що свідчить про розвиток деструктивних процесів у мембранах.

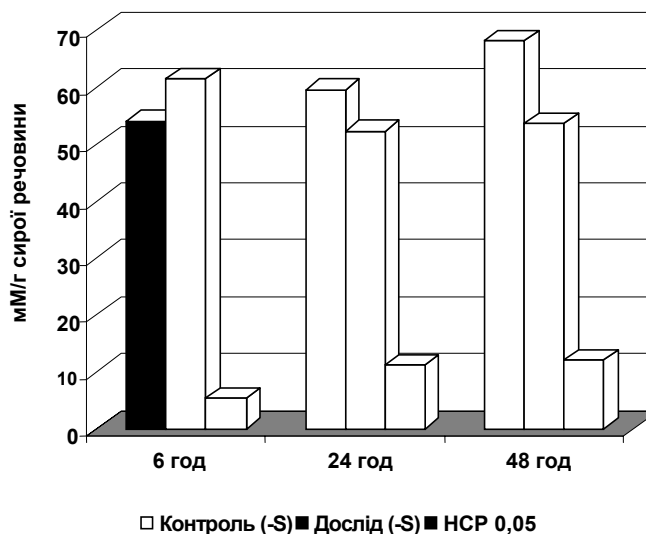


Рис. 1. Вміст МДА за дії йонів свинцю у листках сої

Таким чином детальне дослідження фізіологічної адаптації рослин пшениці та сої до дії свинцевого навантаження вказує на її неспецифічність, що на нашу думку обумовлено відносною еволюційною новизною даного чинника, а також наявністю механізмів преадаптацій, які забезпечують стійкість рослин до широкого спектру токсикантів.

1. Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. — М.: Наука, 1988. — 128 с. 2. Бессонова В.П. Влияние тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат, интенсивность фотосинтеза Чины душистой *Lathyrus odoratus*. — Днепропетровск: Изд-во Днепропетровского государственного университета, 1990. — 10 с. 3. Бояркин А.Н. Колориметрическое определение активности перокси-

дазы // Биохимия. — 1961. — Т. 16, № 2. — С. 252–254. 4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 352 с. 5. Коршиков И.И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. — К.: Наук. думка, 1996. — 238 с. 6. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. — 2001. — Т. 48. — № 4. — С. 606–630. 7. Arnon D. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris* // J. Plant Physiology. — 1949. — Vol. 24. — P. 1–15. 8. Fridovich I. Superoxide anion radical, superoxide dismutases and related matters // J. Biol. Chemistry. — 1997. — Vol. 272. — P. 18515–18517. 9. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. — 1968. — Vol. 125, № 1. — P. 189–198. 10. Kean E. A rapid sensitive spectrophotometric method for quantitative determination of sulfatides // J. Lipid Research. — 1968. — Vol. 9, № 3. — P. 319–329.

Надійшла до редколегії 07.03.08

УДК 577.21

А. Драницина, канд. біол. наук,
Г. Телегесв, канд. біол. наук

ВИЗНАЧЕННЯ СТАТІ ПІНГВІНІВ ДЖЕНТУ МЕТОДОМ ПЛР ЗІ СПЕЦИФІЧНИМИ ПРАЙМЕРАМИ

У статті узагальнюються літературні дані, отримані при підборі різноманітних підходів для надійного та швидкого визначення статі мономорфних видів птахів. Визначено стать особин пінгвінів дженту за допомогою ПЛР зі специфічними праймерами. Одержано індекси самка/самець (частка самок), які склали 0,336 для популяції о. Пітерманн та 0,398 для популяції о. Лівінгстон.

In the present paper literature data obtained during selection of different approaches for reliable and rapid sex identification of monomorphic bird's species have been summarized. Sex identification of Gentoo penguins by PCR technique with specific primers has been carried out. Female/male indexes (proportion of female) were estimated: 0,336 for population of Petermann Island and 0,398 for Livingston Island.

Вступ. Пінгвіни — це важлива складова антарктичної екосистеми, і на сьогоднішній день дослідження їхньої біології — одна з актуальних проблем антарктичних досліджень міжнародних спільнот, у першу чергу це стосується проблем розповсюдження видів та їхньої генетичної мінливості [1, 2]. І якщо деякі види пінгвінів (імператорські пінгвіни (*Aptenodytes forsteri*), пінгвіни Аделі (*Pygoscelis adeliae*)) вже досить непогано вивчені стосовно цього питання, то ослині пінгвіни — дженту (*Gentoo*) — або Папуа (*Pygoscelis papua*), які домінують в умовах Антарктичного півострова (їхня кількість складає приблизно 300000 пар, що розмножуються), практично не досліджені. Крім цього, особини пінгвінів дже-

нту зараховуються до найбільш консервативних видів, що проживали в стаціонарних умовах навколишнього середовища впродовж мільйонів років. Таким чином, вони можуть бути біоіндикаторами стану екосистеми цієї частини Антарктики з огляду на глобальні зміни навколишнього середовища та вплив туристів [3, 4].

Вважається, що дуже легко визначати стать дорослих особин різних видів птахів шляхом прямого обстеження. Проте нещодавно було обраховано, що неможливо визначити стать майже половини видів птахів за зовнішнім виглядом, і дане твердження стає ще вагомим, коли мова йде про пташенят [5]. У біології розвитку точні дані по статі ембріонів птахів та тварин були

б корисними для порівняння особливостей розвитку самок та самців у різні етапи їх розвитку та для преімплантаційної генетичної діагностики [6]. Визначення статі мономорфних видів птахів (до яких відноситься більшість морських птахів) є важким процесом. Тоді як точні дані необхідні в багатьох сферах досліджень, наприклад, у молекулярній екології та біології розвитку. Пінгвінам, у тому числі дженту, притаманні незначні зовнішні відмінності в розмірі тіла та оперенні, пов'язані із статевим диморфізмом [4]. Не дивлячись на те, що самці зазвичай більші від самок, зміни, які відбуваються з віком, та часткове співпадіння в розмірі між членами пари роблять визначення статі шляхом прямого спостереження проблематичним [7]. Для особин декількох видів пінгвінів було встановлено їх статеву належність різними методами, що включали в себе: спостереження за процесом копуляції [8], огляд клоаки, анатомування особин [9] та розробка дискримінантних функцій для визначення статі на основі біометричних даних [7, 10].

Потенційною альтернативою для точного визначення статі пінгвінів слугують нещодавно розроблені методи на основі ДНК [6]. У птахів гетерогаметна стать – самки (статеві хромосоми ZW), а гомогаметна стать – самці (статеві хромосоми ZZ). Отже, будь-яка послідовність ДНК, яка б була присутньою лише на W хромосомі та зберігалась у багатьох видів, могла бути інформативною мішенню для визначення статі на основі ПЛР [10]. Уперше визначення статі мономорфних видів тварин було проведено Гріффітсом [5] та незалежно Елленгеном [11]. Суть методу, розробленого Гріффітсом, у тому, що на статевих хромосомах птахів був знайдений ген білку хромохелікази ДНК (CHD), представлений двома копіями: CHD-Z та CHD-W. Екзони гена хромохелікази ДНК однакові на обох статевих хромосомах, а інтрони мають різний розмір на Z та W хромосомах. Таким чином, у самців при ампліфікації гена хромохелікази ДНК зв'язуючого протеїну утворюються фрагменти ДНК однакового розміру, а у самок – різного (CHD-Z та CHD-W) [5].

Також серед основних методів ідентифікації статі – виявлення генів на основі EEO.6 послідовності в полімеразній ланцюговій реакції [10]. EcoR1 – фрагмент (EEO.6) довжиною 0,6 т.п.н. клонований Ітохом та іншими з W хромосоми курчат. Ця послідовність, що не повторюється, у свою чергу, містить екзонподібну послідовність ET15, яка, ймовірно, є частиною псевдогена. Копія фрагмента EEO.6 знаходиться на Z хромосомі. Родини послідовностей XhoI та EcoR1, що не повторюються, знаходяться на W хромосомі курчат; окрім цього, ген HINTW у курчат та інших видів птахів, є придатною мішенню для визначення статі курчат на основі ПЛР, особливо для ранніх ембріонів, тому що ці послідовності є високо специфічними для W хромосоми зазначених послідовностей на W хромосомі обмежена в роді Gallus, і, таким чином, дана процедура не є прийнятною серед усіх видів птахів. Хоча кількість достатньо вивчених генів на пташиній W хромосомі незначна, ген CHD-W, як вже зазначалося [5], знайдений на хромосомі курчат, та унікальна послідовність EEO.6, яка знаходиться на довгому плечі W хромосоми [10], використовувались для визначення статі. Остання послідовність на W хромосомі є високо консервативною для багатьох родин птахів [10]. Ступінь відмінностей між W- та Z-пов'язаними послідовностями варіює між видами. Деякі вище зазначені молекулярно-генетичні методи були використані для деяких видів пінгвінів [7, 8, 10, 12], але не були продемонстровані на пінгінах дженту.

Використання даного методу для визначення статі мономорфних видів тварин є важливим для численних

екологічних досліджень, які розглядають статі птахів як потенційний фактор в аналізі популяційної динаміки [12]. Тобто молекулярні маркери для швидкого та точного встановлення статі тварин із низьким рівнем статевого диморфізму є необхідним знаряддям у популяційній екології, зокрема для дослідження популяцій пінгвінів дженту [7]. Тому проведення оцінки можливості використання праймерів, сконструйованих Ітохом та іншими [10], для виявлення W-специфічної та Z-W загальної (внутрішній контроль) послідовностей у ході ПЛР на основі фрагмента EEO.6 для визначення статі пінгвінів дженту було метою роботи.

Об'єкт та методи досліджень. Для визначення статі пінгвінів дженту було проаналізовано 236 зразки ДНК пінгвінів (143 з о. Пітерманн та 93 з о. Лівінгстон). Зразки крові дженту були зібрані на острові Пітерманн – 65° 10' S та 64° 10' W, поблизу Української антарктичної станції "Академік Вернадський" (колишня британська "Фарадей", перейменована 6 лютого 1996 року), яка знаходиться на острові Галіндес – 65° 15' S та 64° 16' W, в районі півострова Антарктичний; та острові Лівінгстон (поблизу Болгарської антарктичної станції "Святий Клімент Охридський", Південні Шетландські острови – 62° 38' 29" S та 60° 24' 53" W), українською командою під час 8 Антарктичної експедиції (антарктичне літо – грудень-лютий – 2003 року). Опис методичних процедур, проведених на пінгінах дженту, розглянутий Комісією з питань біоетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, яка підтвердила, що матеріали дисертаційних досліджень не суперечать питанням біоетики (Протокол № 3, від 06 лютого 2007 року).

Виділення ДНК відбувалося за 1) стандартною фенол – хлороформною екстракцією; та 2) за допомогою виділення ДНК із застосуванням NaCl. Для визначення кількості та якості ДНК у препаратах застосовували два методи: попереднє визначення концентрації ДНК та її якості в агарозному гелі та спектрофотометричний.

Для ПЛР були використані праймери, виробництва "Amersham Pharmacia Biotech, Inc.", (Швеція), із наступними послідовностями (5'–3'): 1) праймери для визначення статі: USP3 – AGCTGGAYTTCAGWSCATCTTCT, AWSO3 – ACAGTTTGTCTGTCTCCGGGGAA; 2) контрольні праймери: CPEI5F – AAGCATAGAAACAATGTGGGAC, CPEI5R – AACTCTGTCTGGAAGGACTT [10]. ПЛР проводили в 50 мкл реакційної суміші, що містила 10 нг геномної ДНК матриці, буфер для ПЛР (10 mM трис-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl ("Scientific Technologies", Болгарія)), по 200 мкМ кожного dNTP, 0,4 мкМ кожного праймера та 1,75 од. Таq ДНК полімерази ("Scientific Technologies", Болгарія) на апараті "Mastercycler personal", "Eppendorf" (Німеччина). Денатурація відбувалась при 95 °C 80 сек., гібридизація – 59 °C, 90 сек., добування ланцюгів при 72 °C, 60 сек., кількість циклів становила 35.

Розділення продуктів полімерізації ланцюгової реакції (по 20 мкл) проводили електрофоретично в 2% агарозному гелі ("Gibco", Німеччина), у 0,5 кратному TBE буфері, як описано в Маніатіса, при напрузі 5–10 В/см. Для встановлення розміру смуг використовували маркери молекулярної маси. Розподіл за статтю в двох популяціях пінгвінів дженту аналізували за допомогою критерію відповідності χ^2 із використанням програмного пакету GraphPad Prism 4.03 (GraphPad Software Inc., США). Репрезентативність вибірок була обрахована за допомогою програмного пакету GraphPad StatMate 1.01i (GraphPad Software Inc., США) і, зважаючи на те, що наше дослідження було пілотним (проводилось вперше), мала потужність $P < 80\%$.

Результати досліджень та їх обговорення. Методом ПЛР із специфічними праймерами на основі ЕЕО.6 послідовності було виявлено одиничну (W)–специфічну

смугу ≈ 190 п.н. та одиничну смугу внутрішнього контролю ≈ 250 п.н. Результати представлені на рис. 1.

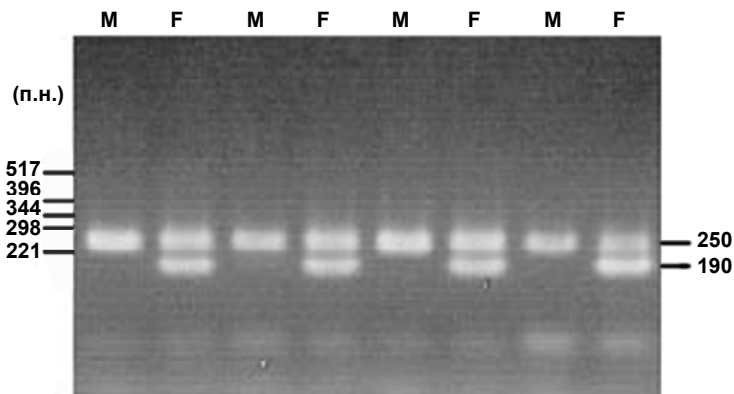


Рис. 1. Визначення статі пінгвінів дженту методом ПЛР (2% агарозний гель): М – самець; F – самка

Таким чином, для зразків ДНК самок пінгвінів дженту характерні дві смуги різного розміру, а для самців – одна. Таку саму кількість смуг одержано при встановленні статі куриних ембріонів, страусів, уток, пеліканів [10], пінгвінів Аделі [8], Магеланових пінгвінів (*Spheniscus magellanicus*) [7] тощо.

Із 143 особин пінгвінів дженту о. Пітерманн 48 були самками, а 95 – самцями. Із 93 особин пінгвінів дженту о. Лівінгстон 37 були самками, а 56 – самцями. Розподіл за статтю між популяціями птахів вірогідно не відрізнявся ($\chi^2=0,21$, $df=1$, $p=0,65$ ($p>0,05$)).

Оскільки з 143 проаналізованих особин пінгвінів дженту о. Пітерманн 98 були пташенятами, із яких 78 були самцями, а 20 – самками ($\chi^2=4,1$, $df=1$, $p=0,04$), то, як видно із статистичних обчислень, такий розподіл за статтю особин пінгвінів дженту двох популяцій статистично вірогідно відхиляє нульову гіпотезу про однакову кількість особин обох статей у природних популяціях даного виду птахів та, за попереднім висновком, не підтверджує гіпотезу Фішера про природну селекцію спрямовану на такий статевий розподіл у популяціях, коли як самки, так і самці однаково турбуються про нащадків під час періоду батьківської опіки [13, 14]. На основі отриманих результатів були обраховані індекси самка/самець (частка самок), що склали 0,336 для популяції о. Пітерманн та 0,398 для популяції о. Лівінгстон.

У популяційній екології вік та стать є потенційними факторами при визначенні динаміки популяцій. Наприклад, при оцінці різниці в трофічних рівнях між дорослими птахами та пташенятами звичайне порівняння раціону живлення є фактично неможливим, окрім цього, відсутність молекулярних методів для встановлення статі птахів робили донедавна практично неможливими дослідження такого роду [7]. Молекулярні методи мають характерні переваги над звичайними, що включають спостереження за поведінкою птахів, огляд клоаки та внутрішнє дослідження гонад при анатомуванні тіла тварини. Останнє, певна річ, призводить до загибелі тварини і, таким чином, є етично неприйнятним [7]. Визначення статі пінгвінів при спостереженні за поведінкою птахів (позиції при копуляції) обмежено невеликим відрізком часу сезону розмноження. При огляді клоаки методом ендоскопії тварини нерідко відчувають стрес [9]. Вимірювання розміру заднього проходу також обмежено коротким періодом (декілька днів після відкладання яєць), і може бути використано лише для птахів, які розмножуються [7, 9]. Дослідження дискримінантних функцій не завжди достовірні (як це було показано на

Магеланових пінгвінах [7], тому що різниці в морфометричних характеристиках (довжина дзьоба, маса тіла тощо) часто спряжені з географічними варіаціями меж ареалу, а не із статевим диморфізмом особин виду, крім того, визначення статі пташенят за допомогою даного підходу дає дуже низький відсоток достовірних результатів [7]. Визначення статі за допомогою аналізу каріотипу може проводитися незалежно від віку птахів та часу, але потребує культури клітин крові, що займає більше часу ніж молекулярні методи, використані нами [7, 9]. Інші методи, на основі цитогенетичного аналізу для виявлення статі різних видів птахів, є малопридатними через чисельні випадки неможливості ідентифікації статевих хромосом [6]. Отже, визначення статі птахів за допомогою молекулярних маркерів є надійним, швидким та простим методом ідентифікації, який потребує простої реакції ПЛР та гель-електрофорезу [6, 7, 9].

Для визначення статі птахів на основі ПЛР реакції було б бажаним знайти консервативну послідовність, що не повторюється та присутня лише на специфічній для самок W хромосомі. Проте різні гени, знайдені на ній, мають свої копії на Z хромосомі [5, 10, 11]. Вважається, що ЕЕО.6 послідовність в якості мішені для ідентифікації статі має декілька переваг, тому що дана послідовність є консервативною в багатьох видів, існує значна дивергенція між W- та Z – специфічними послідовностями через можливу відсутність генетичних функцій у даних генів [10]. Таким чином, використання праймерів, сконструйованих Ітохом та іншими [10], для виявлення W-специфічної та Z-W загальної (внутрішній контроль) послідовностей ДНК у ході ПЛР на основі ЕЕО.6 послідовності для визначення статі вибірки з 236 пінгвінів дженту є зручним та надійним методом ідентифікації мономорфного виду даних птахів із різних островів.

Обраховані нами індекси самка/самець відрізняються від одержаних на інших видах птахів – гаїчках (*Poecile atricapilla*) [14], яким притаманний практично біноміальний розподіл за статтю, і є подібними до отриманих результатів при дослідженні інших видів птахів, наприклад, блакитних синиць [14], зокрема особинам бородатого пінгвіна був притаманний практично біноміальний розподіл (0,460 – пропорція для самок), однак при зростанні розмірів гнізда кількість особин чоловічої статі збільшувалась, що свідчило про їх батьківську турботу, і підтверджувало гіпотезу Тріверса-Вілларда та Чарнова [13] про внесок і батьківських умов щодо майбутнього співвідношення нащадків у гнізді. Однак особинам імператорського пінгвіна (*Aptenodytes*

forsteri) також був притаманний не біноміальний розподіл за статтю у популяціях, із переваженням особин жіночої статі (60,5%) [14].

Можливо, одержані нами результати порушують питання про підтвердження гіпотез Тріверса-Вілларда [13] та Чарнова про оптимальне розподілення за статтю особин у популяціях, коли умови забезпечують деякі переваги для розвитку нащадків певної статі, і співвідношення особин різної статі у виводках засноване на відносних затратах на, наприклад, вигодовування самців чи самок [14].

Переважаання особин чоловічої статі в популяції пінгвінів дженту свідчить (особливо стосовно результатів, одержаних на пташенятах) про відкриту проблему співвідношення за статтю в популяціях пінгвінів дженту і, можливо, може бути пояснено мінливістю статевих хромосом W, дією відбору на певних стадіях: до утворення зиготи або до виходу пташенят з яйця, чи мейотичним драйвом Z хромосом, відповідно, із гальмуванням W хромосом. Отже, вік може бути використаний як зручний біоіндикатор дослідження популяцій пінгвінів дженту щодо тиску антропогенних чинників на екосистему Антарктичного півострову [2, 4].

Висновки. 1. У роботі були одержані молекулярно-біологічні інструменти для швидкого та надійного визначення співвідношення статі в популяціях пінгвінів дженту.

2. Встановлено стать особин пінгвінів дженту за допомогою ПЛР зі специфічними праймерами. Визначено індекси самка/самець ((частка самок) 0,336 для популяції о. Пітерманн та 0,398 для популяції о. Лівінгстон).

3. Обраховані індекси є цікавими з огляду численних питань натуральної селекції і можуть бути в подальшому використані для вивчення розподілу пінгвінів за статтю для створення бази даних із морфологічної та генетичної мінливості популяцій пінгвінів дженту.

4. Одержані результати поглиблюють можливість пінгвінів дженту бути видом – біоіндикатором у генетичному

та молекулярно-біологічному моніторингу стосовно дослідження впливу змін, що відбуваються в екосистемі Антарктичного півострову, на генетичну структуру видів.

1. Lambert D.M., Ritchie P.A., Millar C.D., Holland B., Drummond A.J., C. B. Rates of evolution in ancient DNA from Adelie penguins // Science. – 2002. – Vol. 295, № 5563. – P. 2270–2273.
2. Zhu R., Sun L., Yin X., Xie Z., Liu X. Geochemical evidence for rapid enlargement of a gentoo penguin colony on Barton Peninsula in the maritime Antarctic // Antarctic Science. – 2005. – Vol. 17, № 1. – P. 11–16.
3. Zentendjev P., Metcheva R., Savov A., Yankov Y., Ludvig A., Lieckfeldt D. Polymorphism of the population in Gentoo penguins (*Pygoscelis papua* Aves: *Sphenisciformes*) from Livingston Island, South Shetlands // Bulgarian Antarctic Research. Life Science. – 2006. – Vol. 5, № 4. – P. 1–8.
4. Metcheva R., Yurukova L., Teodorova S., Nikolova E. The penguin feathers as bioindicator of Antarctica environmental state // Science of The Total Environment. – 2006. – Vol. 362, № 1–3. – P. 259–265.
5. Griffiths R., Double M.C., Orr K., Dawson R.J. A DNA test to sex most birds // Mol. Ecol. – 1998. – Vol. 7, № 8. – P. 1071–1075.
6. Knihnicki K., Koontz C., Son J., Tubesing M. Sex determination in chicken tissue samples using PCR // Governor's School for Agriculture VA 24061. – 2004. – url: [14.10.2004] <http://www.gsa.vt.edu/projects/papers/AS2004paper.pdf>.
7. Bertelotti M., Tella J.L., Godoy J.A., Blanco G., Forero M.G., Donazar J.A., Ceballos O. Determining sex of Magellanic penguins using molecular procedures and discriminant functions // Waterbirds. – 2002. – Vol. 25, № 4. – P. 479–484.
8. Scolaro J.A., Stanganelli Z.B., Gallelli H., Vergani D.F. Sexing of adult Adélie penguins by discriminant analysis of morphometric measurements. – Australia: Hobart, 1990. – P. 543–549.
9. Malago W., Jr., Franco H.M., Matheucci E., Jr., Medaglia A., Henrique-Silva F. Large scale sex typing of ostriches using DNA extracted from feathers // BMC Biotechnol. – 2002. – url: [12.04.2005] http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12359044.
10. Itoh Y., Suzuki M., Ogawa A., Munechika I., Murata K., Mizuno S. Identification of the sex of a wide range of Carinatae birds by PCR using primer sets selected from chicken EE0.6 and its related sequences // J. Hered. – 2001. – Vol. 92, № 4. – P. 315–321.
11. Ellegren H. First gene on the avian W chromosome (CHD) provides a tag for universal sexing of non-ratite birds // Proc. Biol. Sci. – 1996. – Vol. 263, № 1377. – P. 1635–1641.
12. Forero M.G., Hobson K.A., Bortolotti J.A., Donazar J.A., Bertelotti M., Blanco G. Food resource utilization by Magellanic penguins evaluated through stable isotope analysis: segregation by sex and influence of offspring quality // Marine Ecology Progress Series. – 2002. – Vol. 234, № 1. – P. 289–299.
13. Trivers R.L., Willard D.E. Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring // Science. – 1973. – Vol. 179, № 68. – P. 90–92.
14. Ramsay S.M., Mennill D.J., Otter K.A., Ratcliffe L.M., Boag P.T. Sex allocation in black-capped chickadees *Parus atricapilla* // Journal of Avian Biology. – 2003. – Vol. 34, № 2. – P. 134–139.

Надійшла до редколегії 05.12.07

УДК 591.543.43

Н. Садыхова

СОВРЕМЕННЫЕ ОРНИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАССЕЛЕНИЯ ГНЕЗДЯЩИХСЯ ПТИЦ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ

Установлено, что 42 вида птиц из 256 гнездящихся в Азербайджане, имеют различный характер сезонного пребывания в отдельных орнитогеографических районах. В статье впервые все различия приводятся по отдельным видам птиц, что необходимо для сохранения биоразнообразия.

Seasonal character of sheltering of 42 sorts fertile birds from 256 sorts in Azerbaijan differs specifically depending on ornithogeographic region. Those differences upon the sorts are shown in the article, it is also the first initiative and necessary for remaining of biological variety.

Изменение расселения гнездящихся птиц в зависимости от рельефа и ландшафта более или менее изучено (Радде, 1884; Гамбаров, 1954; Дроздов, 1965; Мустафаев, 1968, 1972, 1984, 1985, 1998; Мустафаев, Исмаилова, 2006;). Было также внимание обращено и на зависимость орнитофауны от физико-географических районов (Гамбаров, 1954; 1958; Ханмамедов, 1960; Мустафаев, Ханмамедов, 1965; Мустафаев, Агаева, 1974; Мустафаев, 2005 и др.). Однако зависимость изменения расселения птиц от орнитогеографических районов до сих пор изучено.

Материал и методы. В основу статьи положены полевые исследования проводимые автором за 1998–2007-е года. Исследования проводились в соответствии с научным направлением кафедры "Зоология позвоночных и биоэкология" БГУ под руководством проф. Г.Т. Мустафаева. Естественно, были изучены коллекционный материал и литература. Как и тема ме-

тод работы также оригинален. Так, территория Азербайджана была разделена на 17 орнитогеографических районов (Мустафаев, Садыхова, 2007), затем уточнен видовой состав гнездящихся птиц во всех районах, после определен характер пребывания каждого вида в конкретном районе. Исследованы причины различия жизни птиц в отдельных районах. Предполагаем, что такого рода исследования служат теоретической основой для сохранения биоразнообразия.

Обсуждение материала. Анализ материала показывает, что расселение гнездящихся видов птиц в Азербайджане зависит от конкретного орнитогеографического района, рельефа климата, ландшафта, времен года, и даже от конкретной отрасли хозяйства. Это ясно видно по нижеследующим 42 видам.

1. *Podiceps nigricollis nigricollis* Brehm., 1831. Гнездится в 6 орнитогеографических районах Азербайджана. Оседло живет на Самур-Дивичинской равнине, Ала-

© Садыхова Н., 2008

зань-Агричае, Ленкоранской равнине и Кура-Араксинской низменности, для гнездования поднимается в леса Восточного Кавказа и Шемахинское нагорье. Причина покидания последних двух районов зимой является заледенение стоячих водоемов, текущие воды же не любят.

2. *Phalacrocorax carbo sinensis* Blum., 1796. Последние годы гнездится в двух орнитогеографических районах Азербайджана – горные леса Восточного Кавказа и Баку-Апшеронские архипелаги. Для гнездования поднимается на горные водоемы, зимой спускается в низменность, а на архипелагах живет оседло. Сейчас основным местом гнезда этой птицы являются старые платформы морских нефте-газовых месторождений.

3. *Egretta garzetta garzetta* Linn., 1776. Оседло живет на Ленкоранской и Кура-Араксинской низменности, а на Нахичеванской и Приараксинской низменностях встречается весной и летом. Заледенение мелких стоячих водоемов в Нахичевани не позволяет вести оседлый образ жизни.

4. *Ardea cinerea cinerea* Linn., 1758. Широко распространен. Гнездится в 8 орнитогеографических районах: на Самур-Дивичинском, Алазань-Агричайском, горных лесах Восточного Кавказа, Шемахинском нагорье, высокогорье Малого Кавказа. Живет оседло на Ленкоранской, Кура-Араксинской низменностях, Апшероне и некоторых Баку-Апшеронских островах. Изменение сезонного распределения зависит от кормового фактора.

5. *Ciconia ciconia ciconia* Linn., 1758. Гнездится в лесных районах Алазань-Агричае, Восточного Кавказа Ленкоранской и Кура-Араксинской низменности, предгорных районах Аджынохур-Джейранчоль и Малого Кавказа, а в августе улетают. Но на Приараксинской низменности, иногда и на Ленкоранской низменности живет оседло.

6. *Tadorna ferrugina* Pall., 1764. Гнездится в высокогорьях Малого Кавказа, Гобустане, Апшероне и Шемахинском нагорье, живет оседло на Кура-Араксинской, Приараксинской низменностях и в Баку-Апшеронских архипелагах. Причиной раннего покидания осенью некоторых мест гнездовья является браконьерство и нехватка корма.

7. *Tadorna tadorna* Linn., 1758. Гнездится в 4 орнитогеографических районах. Для гнездования поднимается в высокогорья Малого Кавказа. Живет оседло на Ленкоранской равнине, Кура-Араксинской низменности и Баку-Апшеронских островах.

8. *Aythya nyroca* Guld., 1770. Гнездится в Гобустане, живет оседло в Алазань-Агричае, горных лесах Восточного Кавказа, Ленкоранской равнине и Кура-Араксинской низменности.

9. *Circus makrorus* Gm., 1771. Живет оседло в Аджынохур-Джейранчолье. Однако на Самур-Дивичинской, Ленкоранской, Приараксинской равнинах, среднегорье Нахичевани, горных степях Талыша, Гобустане, Каспийских островах и предгорных районах Малого Кавказа наблюдается в основном во время гнездования. Возможно на Аджынохур-Джейранчолье зимой находит много мышевидных грызунов и другой корм.

10. *Buteo rufinus rufinus* Cretz., 1827. Для гнездования поднимается в высокогорье Малого Кавказа и Гобустан, но здесь не зимует. Оседло живет в районах Приаракса, среднегорье Нахичевани и нагорной степи Талыша.

11. *Aquila chrysaetos homeyeri* Severt., 1888. Живет оседло в горных лесах Восточного Кавказа. Для гнездования поднимается в высокогорные районы Большого и Малого Кавказа.

12. *Haliaetus albicilla albicilla* Lim., 1958. Гнездиться на Приараксинской низменности и Гобустане, живет

оседло на Самур-Дивичинской, Алазань-Агричайской и Кура-Араксинской равнинах.

13. *Aegypius monachus* Lim., 1766. Для гнездования поднимается в высокогорья Большого и Малого Кавказа, живет оседло в горных лесах Восточного Кавказа, среднегорьях Нахичевани, горных степях Талыша и Аджынохур-Джейранчолье.

14. *Cypus fulvus fulvescens* Hum., 1869. По районам гнездования подобен предыдущему виду.

15. *Falco tinnunculus tinnunculus* Linn., 1758. Установлено гнездование по всем орнитогеографическим районам. Азербайджана зимой покидает районы высокогорья Кавказа, в остальных районах живет оседло.

16. *Rallus aquaticus aquaticus* Lim., 1758. Гнездится в Гобустане, но живет оседло на Самур-Дивичинской, Алазань-Агричайской, Ленкоранской, Кура-Араксинской низменностях и на Каспийских островах.

17. *Callinula chloropus chloropus* Lim., 1758. Для гнездования поднимается в леса Восточного Кавказа. Живет оседло на Самур-Дивичинской, Алазань-Агричайской, Ленкоранской, Кура-Араксинской низменностях и на Баку-Апшеронских архипелагах.

18. *Vanellus vanellus* Lim., 1758. Гнездится на Самур-Дивичинской низменности, а на Алазань-Агричайской, Ленкоранской, Кура-Араксинской равнинах живет оседло.

19. *Himantopus himantopus himantopus* Lim., 1758. На некоторых Каспийских островах живет оседло, а на Самур-Дивичинской, Ленкоранской и Кура-Араксинской низменностях, а также в Гобустане и на Апшероне гнездиться.

20. *Pterocles orientalis orientalis* Lim., 1758. Гнездится на Араксинской равнине и среднегорье Нахичевани, а живет оседло на Кура-Араксинской низменности и Гобустане.

21. *Columba livia neqlecta* Hum., 1873. Для гнездования поднимается в высокогорья Большого Кавказа, во всех остальных 16 орнитогеографических районах живет оседло.

22. *Calandrella cinerea longipennis* Ever., 1848. На Самур-Дивичинской равнине бывает во время гнездования, в остальных предгорных и равнинных районах живет оседло.

23. *Calandrella rufescens pseudobaetica* Steq., 1932. В высокогорья Малого Кавказа, среднегорье Нахичевани, Гобустане, Апшероне, Аджынохур-Джейранчолье и предгорьях Малого Кавказа гнездиться, но оседло живет на Самур-Дивичинской, Ленкоранской, Приараксинской равнинах, Кура-Араксинской низменности и на Баку-Апшеронских архипелагах.

24. *Melancorypha calandra calandra* Linn., 1776. Гнездиться на Самур-Дивичинской равнине и в горных лесах Талыша, живет оседло на остальных равнинных и предгорных районах – живет оседло.

25. *Alauda arvensis cantarella* Bon., 1850. Для гнездования поднимается в высокогорья Малого Кавказа, а в 9 равнинных и горных районах живет оседло.

26. *Anthus spinoletta kautelli* And., 1828. Живет оседло в горных лесах Талыша, а в нагорной степи Талыша размещается для гнездования.

27. *Motacilla cinerea* Tunst., 1771. Гнездится на высокогорных районах Большого и Малого Кавказа, но в горных лесах, на Нахичеванском среднегорье, Талышских нагорных степях и на Шемахинском нагорье живут оседло.

28. *Motacilla alba dukhuneisis* Syes, 1832. Гнездится на Самур-Дивичинской низменности, высокогорьях Малого Кавказа, Араксинской равнине, Нахичеванском среднегорье, Талышских нагорных степях, в Гобустане и Шемахинском нагорье. Живет оседло на Алазань-Агричае, Ленкоранской равнине, на Кура-Араксинской

низменности, на Каспийских островах, в предгорных районах Аджинохур-Джейранчель и Малого Кавказа.

29. *Sturnus vulgaris purpurascens* Gould., 1868. Распространена в 7 орнитогеографических районах, расположенных к западу от Каспия и всюду живет оседло.

30. *Sturnus vulgaris caucasicus* Lor., 1887. Его нет на высокогорном районе Большого Кавказа, но гнездится в 9 районах. В горных лесах Восточного Кавказа и высокогорном районе Малого Кавказа встречается на гнездовье, а в остальных 7 районах живет оседло.

31. *Pyrrhocorax pyrrhocorax docilis* Gm., 1774. На время размножения поднимается на высокогорные районы Кавказа, однако Нахичеванском среднегорье, Талышских нагорных степях и в Гобустане живет оседло.

32. *Corvus cornix sharpii* Oat., 1889. Во все не обитает в высокогорном районе Большого Кавказа, поднимается на высокогорья Малого Кавказа для размножения потомства, а в остальных 15 районах живет оседло.

33. *Prunella modularis obscura* Sabl., 1783. Для размножения поднимается на высокогорья Кавказа и на Талышские нагорные степи, а в горных лесах живет оседло.

34. *Cettia cetti orientalis* Trisx., 1867. Гнездится в горных лесах, а в Алазань-Агричайской, Ленкоранской и Кура-Араксинской низменностях живет оседло. Гнездование на Араксинской низменности и в предгорье Малого Кавказа точно не установлено.

35. *Phoenicurus ochurus ochurus* Cm., 1774. Гнездится на высокогорьях и в горных лесах, а в Нахичеванском среднегорье и Талышских нагорных степях живет оседло.

36. *Turdus torquatus amicum* Hart., 1923. Живет оседло в горных лесах Восточного Кавказа, а в период размножения поднимается на высокогорья Большого и Малого Кавказа.

37. *Remiz pendulinus menzbieri* Zar., 1915. Гнездится на Нахичеванском среднегорье и в районах Аджинохур-Джейранчель, а в остальных районах живет оседло.

38. *Parus caurelensis satunimi* Zar., 1908. Гнездится на Нахичеванском среднегорье и на Талышских нагорных степях, живет оседло в других районах, где находит древесную растительность.

39. *Tichodroma muraria*, Linn., 1766. Гнездится в горных лесах и на высокогорьях Восточного Кавказа. Однако в Талышских горных лесах, в Нахичеванском среднегорье, Талышских нагорных степях, Аджинохур-Джейранчель и в предгорьях Малого Кавказа живет оседло.

40. *Acanthis cannabina* Bella Br., 1845. Гнездится на высокогорьях Кавказа и на Талышских нагорных степях. Однако в горных лесах, Нахичеванском среднегорье, в Шемахинском нагорье и в предгорье Малого Кавказа живет оседло.

41. *Carpodacus erythrinus kubanensis* Launb., 1915. Гнездится на высокогорье Малого Кавказа, Нахичеванском среднегорье и в Шемахинском нагорье, зимой же редко встречается в горных лесах.

42. *Emberiza calandra calandra* Linn., 1758. Гнездится в высокогорном районе Малого Кавказа, а в предгорных и низменных районах живет оседло.

1. Гамбаров К.М. Материалы по орнитофауне восточной части южного склона Главного Кавказского хребта и прилегающей низменности // Тр. Инст. Зоол. Азерб. ССР. – Баку, 1954, т.17, с. 57–112. 2. Гамбаров К.М. Материалы по птицам Апшеронского полуострова // Уч. зап. АГУ, сер. биол. №1. – Баку, 1958. 3. Дроздов Н.Н. География летнего населения птиц в избранных ландшафтах Азербайджана. Орнитология. – М. изд. МГУ, 1965, вып. 7. – с. 166–199. 4. Мустафаев Г.Т., Ханмамедов А.И. Сухопутная орнитофауна северо-восточной части Азербайджана / Изв. АН АЗССР. Сер. биол. – Баку, 1965, №2. – с. 33–41. 5. Мустафаев Г.Т. Новые данные по распространению и характеру пребывания птиц в Азербайджане Уч. зап. АГУ. Серия биол. – Баку, 1968, №3. – с. 60–66. 6. Мустафаев Г.Т. Значение антропогенных ландшафтов в вертикальном распространении птиц в Азербайджане / Уч. зап. АГУ. Сер. биол. – Баку, 1973, №1. – с. 32–37. 7. Мустафаев Г.Т., Агаева Ч.А. Орнитофауна горного Талыша / Уч. зап. АГУ. Сер. биол. – Баку, 1974, №1. – с. 60–65. 8. Мустафаев Г.Т. Охрана птиц в Азербайджане и задачи общественности. – Баку, Азернешр, 1984. 9. Мустафаев Г.Т. Птицы наземных экосистем Азербайджана. – М., МГУ. АДД, 1985. – 54 с. 10. Мустафаев Г.Т. Роль антропогенных факторов во взаимоотношениях низменных и горных элементов фауны // М-лы науч. конф. 80-летие Азербайджанского Университета. – Баку, БГУ, 1998. – с. 29–31. 11. Мустафаев Г.Т. Птицы Азербайджана (таксономия и распространение). – Баку, БГУ, 2005. – 40 с. 12. Мустафаев Г.Т., Садыгова Н.А. Птицы Азербайджана. – Баку, БГУ, 2005. – с. 419. 13. Мустафаев Г.Т., Садыгова Н.А. Комплексный анализ видов гнездящихся птиц на Кура-Араксинской равнине. Вестник БГУ, 2007, №2. – с. 61–71. 14. Радде Г. Орнитологическая фауна Кавказа. Тифлис, изд. Кавказск. музея, 1884. – 451 с.

Надійшла до редколегії 11.02.08

УДК.6/6.34+577.115

А. Сергійчук, студ.,
В. Ковальова, канд. біол. наук,
О. Моргасенко, асист.

ЕКЗОГЕННІ ТА ЕНДОГЕННІ ФАКТОРИ ВИРАЗКОУТВОРЕННЯ

Узагальнено дані наукової літератури щодо етіологічної та патогенетичної ролі різних чинників у виразкоутворенні.

There were generalized the scientific literatures information about etiological and pathogenetic role of different factors in beginnings of ulcer.

Вплив на організми тварин і людини комплексу несприятливих чинників оточуючого середовища призводить до виникнення в них різних захворювань. Протягом останніх десятиріч у сфері інтенсивних наукових досліджень знаходиться патологія органів травлення, серед яких домінує виразкова хвороба шлунка. Виразковий процес в шлунку є кінцевим етапом складного захворювання, в патогенез якого залучені центральна нервова система, загальна ендокринна система, біогенні аміни та поліпептиди травної системи.

Знання про виразкову хворобу пройшло ряд історичних етапів. Ще в працях видатних лікарів давніх часів – Гіппократа, Галена та Цельса мають місце вказівки на можливість існування виразок у шлунку. Першу морфологічну характеристику виразок шлунка дав вчений Моргані в XVIII сторіччі. Проте засновником вчення про

виразкову хворобу прийнято вважати французького лікаря Крювел'є, який в 1829–1835 роках опублікував свої багатолітні спостереження за хворими на виразку шлунка, дав її класичний клінічний та морфологічний опис. Упродовж тривалого часу виразка шлунка носила назву хвороби Крювел'є. Детальніша клінічна картина дуоденальної виразки була описана Мойнигеном значно пізніше в 1913 році. Надзвичайно важливим для розуміння як етіологічної так і патогенетичної ролі різноманітних факторів у виникненні виразок було встановлення явища шлункової секреції, яке було відкрито понад 150 років тому. А в 1893 році італійський гістолог К. Гольджі вперше встановив, що місцем секреції хлоридної кислоти у шлунку є періетальна клітина. Ці відкриття дозволили вже на початку минулого сторіччя (у 1911 році) Шварцу сформулювати класичне положення

© Сергійчук А., Ковальова В., Моргасенко О., 2008

– "без кислоти немає виразки". Наступні дослідницькі роботи в цій області дозволили відкрити в 20-х роках минулого сторіччя три основні стимулятори секреції HCl – ацетилхолін, гістамін та гастрин, хоча їх роль в стимуляції парієтальної клітини була встановлена лише через 50 років, після відкриття H_2 – рецепторів гістаміну.

Виразкова хвороба – це поліетіологічне захворювання, що має низку фонових та основних факторів, які в більшій чи меншій мірі беруть участь у формуванні виразок. Їх участь у виразкоутворенні далеко нерівнозначна. Усі фактори можна поділити на неспецифічні (екзогенні) та ендогенні.

До неспецифічних (екзогенних) факторів виразкоутворення належать шкідливі звички, нервово-психічні фактори, професійні фактори та спосіб життя, вплив ліків, аліментарні фактори. З давніх часів поява різноманітних уражень шлунка намагалися пов'язати з вживанням того чи іншого харчового продукту, систематичною мікротравматизацією слизової оболонки шлунка погано подрібненою, недовареною, занадто гострою та грубою їжею. Багато-чисельні досліді в різних країнах не підтвердили прямого ульцерогенного впливу аліментарних часточок. Певний час припускався вплив занадто гострої, пряної та грубої їжі на ульцерогенез через підвищення секреторної функції шлунка, до якого призводить така їжа. Проте проведені епідеміологічні досліді не показали переважної поширеності виразкової хвороби у тих країнах, де гостра та пряна їжа є повсякденною.

Велику кількість досліді було присвячено питанню значимості алкоголю, куріння та зловживання кавою у виникненні виразки. Доведено, що куріння викликає ішемію та має прямий цитотоксичний ефект на слизову оболонку шлунка. Є дані й про те, що куріння, вживання алкогольних напоїв та зловживання кавою здійснюють негативний вплив на протікання виразкової хвороби, зокрема, сприяючи її частковому рецидивуванню. Тому в наш час відмова від куріння, алкоголю, а також зменшення вживання кави розглядають в якості загальнообов'язкових принципів лікування виразкової хвороби [1].

Достатньо тривалий період нервово-психічні перенапруження розглядалися в якості провідних ульцерогенних факторів, а виразкова хвороба – як своєрідна "хвороба негативних емоцій". Добре відомі факти збільшення захворюваності виразкою під час війни, поява або загострення хвороби після тяжких психо-емоційних переживань. Визнання значної ролі нервово-психічних факторів знайшло своє відображення в кортико-вісцеральній теорії К.М. Бикова та І.Т. Курцина, запропонованій ще в 1949 році, яка довгий час була основною теорією. Згідно з цією теорією, довготривалі емоційні перенапруження призводять до послаблення гальмівного впливу кори на підкоркові центри, в яких утворюються спалахи "застійного" збудження, що, в свою чергу, призводить до дезорганізації секреторної та рухової функції, трофічним змінам слизової оболонки гастродуоденальної зони та в підсумку – до виразкоутворення.

Серед лікарів поширена думка, що поява виразки шлунка або дванадцятипалої кишки напряму пов'язана з характерологічними особливостями особи. Проте ретельно проведені багаточисельні психологічні та психо-соціальні дослідження (обстеження) не встановили будь-яких специфічних психічних або невротичних змін особи, характерних тільки для хворих на виразку [2].

В наш час негативні психічні емоції слід розглядати як один з неспецифічних шкідливих факторів, що провокують загострення не лише виразкової хвороби, але й багатьох інших захворювань. Та слід пам'ятати, що шлункова секреція напряму залежить від функціонального стану нервової системи.

За останні роки зацікавленість роллю нервово-психічного фактора набула нової актуальності. Це пов'язано з патофізіологічними дослідями, що переконливо продемонстрували самостійну або автономну роль так званої метасимпатичної нервової системи, завдяки якій різноманітні ульцерогенні ефекти можуть реалізовуватися без активної та провідної участі центральної нервової системи.

Дані про зв'язок між професіональними умовами та появою виразки неоднозначні. Більшість даних свідчить про їх велику поширеність серед осіб, що піддаються в силу професійних особливостей психо-емоційним та фізичним перенавантаженням разом з неповноцінним відпочинком та режимом харчування (лікарі, диспетчери, телефоністи, керівники, робітники залізничного та водного транспорту) [3]. Як правило, міські мешканці хворіють на виразку частіше, ніж мешканці сільської місцевості. Хоча слід зазначити, що ці фактори є факторами ризику і для інших захворювань, наприклад, для гіпертонічної хвороби та ін. Напевно, професіональні фактори, стереотипи поведінки та образ життя являються загальним фоном, що готує відповідний ґрунт для виникнення тієї чи іншої хвороби. Яка з них проявиться у конкретної людини, передбачити дуже важко, оскільки це залежить від різних складових.

До основних ліків, які вражають слизову оболонку шлунка можна віднести протизапальні засоби, такі як аспірин, індометацин, кортикостероїди, антибактеріальні засоби, дигоксин, теофілін, резерпін, препарати заліза, калію та ін.

Ульцерогенний вплив аспірину був вперше описаний австралійськими авторами R.A. Douglas, E.D. Johnston в 1961 році. Згодом подібний ефект був встановлений і у багатьох інших нестероїдних та стероїдних протизапальних засобів. В наш час доведено, що ці препарати викликають гостре ерозійно-виразкове ураження слизової оболонки шлунка шляхом пониження гастрcitoпротекції (зменшення кількості простагландинів в клітинах слизової оболонки, посилення зворотної дифузії йонів водню) та сприяють загостренню вже існуючої виразкової хвороби [4].

Разом з екзогенними факторами існують також деякі ендогенні сприятливі фактори, такі, наприклад, як генетична схильність, вік та стать, попередні структурні зміни слизової оболонки гастродуоденальної зони, наявність хелікобактерної інфекції, підвищена продукція хлоридної кислоти. Вважається, що значення цих факторів в ініціації виразки більш суттєве.

Багатолітні та багаточисельні спостереження за предками та родичами хворих на виразкову хворобу дозволили встановити спадкову залежність, що у хворих на дуоденальну виразку досягає 30–40% [5]. Встановлено, що генетично детерміновані наступні ознаки: підвищена кількість та щільність обкладових клітин на одиницю поверхні слизової оболонки, що визначає кислотну продуктивність шлунка; підвищений вміст пепсиногену I (підвищує ризик виникнення виразки у 8 разів) і дефіцит інгібіторів пепсину і фукоглікопротеїнів у слизовій оболонці; надлишкове виділення гастрину у відповідь на харчову стимуляцію. Дуоденальні виразки в 1,5 рази частіше виникають та тяжче протікають у осіб з групою крові 0(I), Rh^+ , наявністю в крові деяких HLA – антигенів (B-5, B-15, B-35).

Середнє співвідношення чоловіків та жінок, що хворіють на виразки, складає 4:1. Це стосується осіб дітородного віку, що дуже важливо для жінок. Вважається, що жіночі статеві гормони певною мірою оберігають їх від виразкоутворення. В молодому віці частіше зустрічається дуоденальна виразка, а в старших вікових гру-

пах різниці в захворюваності зменшується за рахунок підвищення питомої маси шлункових виразок.

Порушення гастродуоденальної моторики. Безумовно, зміни в гастро-дуоденальній моториці відіграють важливу роль в патогенезі виразкової хвороби, проте і в наш час залишається незрозумілим, являються вони причиною або ж наслідком виразкоутворення. Ще в 1961 році відомий гастроентеролог L. Dragstedt висунув теорію, згідно до якої послаблення моторної функції шлунка та стаз шлункового вмісту розглядалися в якості основних факторів ульцерогенезу [6]. Припускалося, що збільшення часу контакту кислого вмісту шлунка з його стінкою, а також гіперсекреція у відповідь на розтягнення антрального відділу шлунка є основними моментами патогенезу виразки. Але наступні дослідження не підтвердили закономірної наявності шлункового стазу у хворих на виразку. В якості можливих патогенетичних факторів при виразці розглядається дуодено-гастральний рефлюкс, оскільки дуоденальний вміст (суміш жовчі з панкреатичним соком), що закидається у шлунок, викликає утворення лізолециту, що ушкоджує захисний слизовий бар'єр та призводить до посилення зворотної дифузії водневих іонів, їх прориву в гастродуоденальну слизову та створення умов для виразкоутворення.

Прискорений викид кислого шлункового вмісту в дванадцятпалу кишку та порушення надходження до неї лужного панкреатичного соку призводить до надлишкового кислотного удару по мало адаптованій до нього дуоденальній слизовій, сприяє розвитку шлункової метаплазії та створює умови для дуоденального виразкоутворення [7].

Інфекція *Helicobacter pylori* вважається однією з найпоширеніших у світі. Обов'язкові умови існування бактерії *H. pylori* – визначений оптимальний рівень pH (3-6), наявність сечовини в шлунковому соку та наявність шлункового епітелію. Всі штами *H. pylori* продукують велику кількість ферменту уреазу, що гідролізує сечовину шлункового соку, в результаті чого утворюється вуглекислий газ та аміак, які нейтралізують хлоридну кислоту в місцях скупчення бактерій. В середині бактерії міститься окисно-відновний насос (H^+ -редукс-помпа), що забезпечує перенесення іонів водню з *H. pylori* крізь мембрану, периплазматичний простір та клітинну оболонку в приклітинний простір. В результаті цього процесу внутрішня частина *H. pylori* заряджається негативно, а зовнішня – позитивно. Крім цього електричного механізму, існує ще один – хімічний, який тісно пов'язаний з електричним та забезпечується різницею pH всередині *H. pylori* (8–8,4) та ззовні, де він нижчий (від 4 до 7) за рахунок хлоридної кислоти. Таким чином, на мембрані *H. pylori* формується 2 потенціали. Перший – електричний градієнт, обумовлений різницею зарядів внутрішньої та зовнішньої поверхонь бактеріальної клітини. Другий – хімічний градієнт, обумовлений перекачуванням іонів водню із зовнішньої поверхні *H. pylori* у бактеріальну клітину за рахунок різниці pH всередині та ззовні клітини. Величина електричного та хімічного потенціалів (в наш час виміряна за допомогою спеціальних внутрішньоклітинних барвників та при різниці pH в 1,4) всередині та ззовні *H. pylori* і становить відповідно 131 мВ та 90 мВ. Разом ці градієнти формують загальний електро-хімічний градієнт – електрорушійну силу, яка за допомогою ферменту АТФ-синтетази забезпечує синтез молекул АТФ, необхідних для життєдіяльності бактерії. Відомо, що кількість сечовини в слизовій оболонці шлунка у людини при нормі є сталою величиною. Саме орієнтуючись на цю сталість сечовини в слизовій оболонці шлунка, *H. pylori* знайшли свою біологічну нішу та забезпечили можливість життєдіяльності в шлунку

при оптимальних значеннях вмісту хлоридної кислоти. Розкладаючи сечовину на водень та амоній, уреаза сприяє створенню навколо бактерії вузької смуги локального pH=4-6, яке значно вище, ніж у шлунку та допомагає бактеріям вижити в кислому середовищі [8].

Виразки виявляються тільки на тих ділянках травного тракту, де слизова оболонка безпосередньо контактує з хлоридною кислотою шлункового соку (зокрема, сам шлунок). Тому відомо, що ефективне пригнічення навіть непоміченого кислотоутворення зазвичай призводить до загоєння виразок.

Стимуляція секреції кислоти здійснюється центральними та периферичними механізмами, які у визначеній послідовності здійснюють вплив на парієтальні клітини. Центральний шлях (мозкова фаза секреції) починається з активації гіпоталамічних ядер еферентних волокон вагуса (рис. 1). Далі збудження передається через нервову сплетення стінки шлунка клітинами слизової оболонки: парієтальним, пепсинпродукуючим, ентеро-хромафіно-подібним клітинам (ECL), ендокринним G-, D- та іншим клітинам. Центральна стимуляція ініціюється думками про їжу, запахом, смаком їжі, тоді як периферична стимуляція залежить від наявності їжі у шлунку.

Розтягнення шлунка їжею та стимуляція компонентами їжі, амінокислотами, білками G-клітин антрального відділу призводить до вивільнення гастрину. Підвищення рівня сироваткового гастрину є ключовим моментом в ендокринній стимуляції кислоти, оскільки він активує ECL-клітини, розташовані навколо парієтальних клітин в нижній третині шлункових залоз та багаті на гістамін. Синтез гістаміну в ECL-клітинах забезпечується ферментом гістидиндекарбоксилазою, активність якої регулюється рівнем внутрішньоклітинного кальцію Ca^{2+} . Гастрин пов'язаний з поверхневими рецепторами ECL-клітин, що належать до субтипу B-рецепторів холіцистокініну, в результаті чого за рахунок підвищення рівня внутрішньоклітинного Ca^{2+} стимулюється виділення гістаміну, який, в свою чергу, пов'язаний з H_2 -рецептором та запускає весь внутрішньоклітинний ланцюг, результатом дії якого є виділення у просвіт залоз HCl [9].

В кінці шлункової фази секреції, коли pH в антральному відділі досягає значення нижче 3, починаються зворотні процеси гальмування шлункової секреції. Це пов'язано, в першу чергу, із виділенням з D-клітин антрального відділу соматостатину, що пригнічує не лише функцію G-клітин та продукування гастрину за типом "зворотнього зв'язку", але й являється "універсальною гальмівною рідиною" для інших гормонів та біологічно активних речовин.

В кишкову фазу секреції при попаданні в дванадцятпалу кишку речовин шлункового вмісту з pH нижче 4, з клітин слизової оболонки кишки виділяється секретин, який інгібує як шлункову секрецію, так і виділення гастрину. Інгібіторний вплив на шлункову секрецію мають також простагландини, які можуть впливати на парієтальні клітини через спеціальний рецептор та змінювати активність аденілатциклази. Так здійснюється секреторний процес на рівні парієтальної клітини.

За кілька годин, які тривають всі три фази шлункової секреції, парієтальна клітина та спряжені з нею ECL- та G-клітини піддаються великій кількості найрізноманітніших впливів, які чинять гормони, медіатори нервової системи, локально виділені субстанції, значна частина яких ще мало вивчена, а деякі просто невідомі. Проте вже відомі основні фази та механізми секреторного процесу, які з успіхом використовуються як в розробці концепцій патогенезу гастродуоденальних виразок, так і для їх лікування.

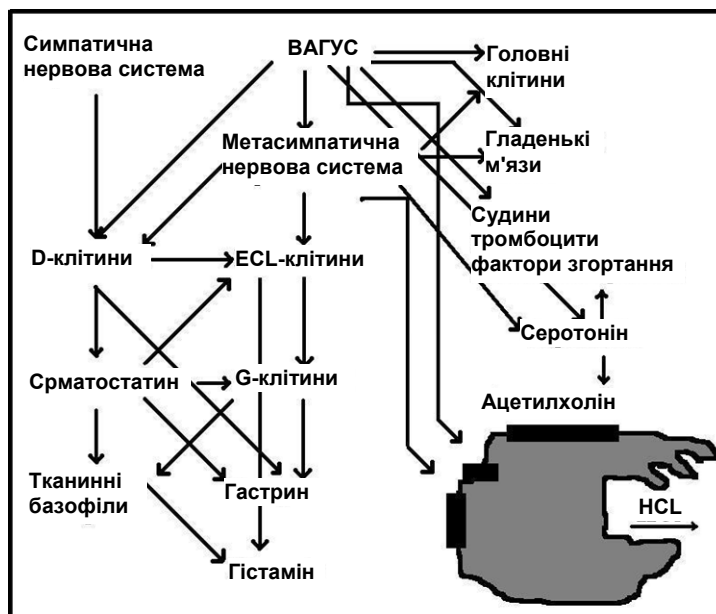


Рис. 1. Нервова та ендокринна регуляція шлункової секреції

Таким чином, в наш час гіперпродукція хлоридної кислоти та пепсину вважається одним з вирішальних факторів утворення виразки [10]. Але повністю пояснити процес формування та рецидивування виразки даного механізму поки не вдалося через низку причин. Так, виразка може розвиватися при будь-якому типі та ступені кислотоутворення у шлунку, в тому числі й при гіпохлоргідрії. Від ступеню гіперсекреції не залежать рубцювання виразок, він суттєво не впливає на характер та протяжність загострень, частоту ускладнень. Не встановлений взаємозв'язок між рівнем гіперсекреції HCl та локалізацію виразкового дефекту. Крім того, у більшості практично здорових людей можна виявити гіперсекрецію HCl, в той час, як у людей при нормальній секреторній функції шлунку можуть розвиватися багаточисельні виразки.

Підсумовуючи, можна сказати що причин, які сприяють появі виразок, достатньо багато і кожна, без сумніву, відіграє свою визначену роль.

Сьогодні патогенез виразкової хвороби розглядається як результат порушення рівноваги між факторами "агресії" та факторами "захисту" слизової оболонки шлунка. До групи агресивних факторів належать гіперпродукція хлоридної кислоти та пепсину, бактерії *H. pylori*, травматизація слизової гастродуоденальної зони, порушення евакуаторно- моторної діяльності шлунка та дуоденально-гастральний рефлюкс, лікарські препарати з ульцерогенним ефектом. До захисних факторів належать: поверхневий епітелій та вкриваючий його слизово-бікарбонатний бар'єр, активна клітинна регенерація, достатній кровотік в слизовій оболонці, цитопротективні речовини (простагландини, фукоза, N-ацетилнейрамінова кислота), антидуоденальний гальмуючий кислотний фактор, імунологічні механізми захисту [11].

Здатність слизової оболонки оберігати клітини епітелію від загибелі отримала назву цитопротекція. Феномен цитопротекції був уперше продемонстрований в класичних дослідках А. Роберта з введенням в шлунок етанолу в різних концентраціях. Це поняття охоплює антикислотний та антипепсиновий бар'єр, що формується шлунковим слизом та продукцією в слиз бікарбонатних йонів, нормальна регенераційна активність покривного епітелію, адекватний кровотік в слизовій обо-

лонці та наявність в ній речовин, що забезпечують перераховані протекційні властивості [12]. До цих речовин належать: простагландини, соматостатин, епідермальний фактор росту. Слизовий бар'єр шлунка був ідентифікований Х. Давенпортом, який в 1960 році вперше описав здатність слизової оболонки протистояти зворотній дифузії водневих йонів. Поняття про слизово-бікарбонатний бар'єр як "першу лінію оборони" проти агресивних факторів було введено в 1982 році. Було встановлено, що між просвітом шлунка та поверхнею клітин покривного епітелію існує градієнт рН, що реалізується в шарі слизу і обумовлений секрецією бікарбонатів слизової оболонки шлунка, що забезпечує на поверхні клітин рН 6,0-8,0. Саме цей градієнт перешкоджає пошкодженню клітин водневими йонами, оскільки слизовий гель уповільнює в декілька разів швидкість зворотної дифузії H^+ і за цей час бікарбонат-йон встигає його нейтралізувати. Слід зазначити, що секреція бікарбонатів відбувається разом із секрецією HCl, чим більше секретується H^+ , тим більше секретується бікарбонатів. Це пояснює той факт, що слизова оболонка, яка інтенсивно виробляє HCl, внаслідок ще більш інтенсивної секреції бікарбонатів виявляється більш стійкою до дії різних пошкоджуючих чинників.

Головну роль в стимуляції секреції слизу та бікарбонатів відіграють простагландини, які є похідними поліненасичених жирних кислот. Встановлено, що простагландини A, E і простациклін пригнічують секрецію хлоридної кислоти і пепсину, а також збільшують продукцію бікарбонат-йонів в слизовій, причому ці ефекти є дозозалежними [13]. Простагландини також оберігають клітини шляхом підтримання адекватного кровотоку в слизовій оболонці в момент дії пошкоджуючих факторів.

Важливу захисну функцію в підтриманні резистентності слизової гастродуоденальної зони відіграє достатній кровотік, що забезпечує всі енергозалежні процеси в клітинах. Порушення кровопостачання гастродуоденальної зони в результаті стресового впливу, ураження судин, вираженої гіпоксемії при серцево-легеневих захворюваннях може сприяти виразкоутворенню.

В нормі клітинна регенерація розглядається як важливий захисний фактор, що забезпечує резистентність слизової та швидке загоєння дефектів за декілька днів.

Епітелій слизової оболонки шлунка належить до системи лабільних тканин, що швидкооновлюються. В нормі процес клітинного оновлення поверхневого епітелію триває 3–4 дні [14]. При виразці можуть виникати різні порушення клітинної регенерації, як її прискорення і неповноцінність, що призводять до порушення диференціації клітин, їх функцій, так і сповільнення, що визначає зниження репаративних процесів.

При порушенні механізмів цитопротекції та слизово-бікарбонатного бар'єру відбувається лізис клітин і тоді важливу роль починають відігравати репаративна регенерація слизової оболонки та механізми імунного захисту. При адекватній імунній відповіді посилюється продукція секреторного IgA, зв'язуючи антигени їжі та мікроби. За недостатньої продукції секреторного IgA надходження антигенів їжі та мікробних антигенів продовжується, при цьому активується "друга лінія захисту", складовою частиною якої являються плазмодити власної пластинки слизової оболонки, які продукують IgG. Останній взаємодіє з антигенами, утворюючи імунні

комплекси з включенням компонентів, які здатні пошкоджувати тканину на місці розвитку реакції. У хворих на виразку спостерігається різноманітні відхилення на рівні імунотоксичних клітин, імунотоксичних та інших показників, що свідчать про порушення імунітету. Проте невирішеним залишається питання, чи є ці порушення первинними, свого роду "пусковим механізмом" виразкоутворення, або виникають вторинно, у відповідь на структурні зміни слизової гастродуоденальної зони.

За нормальних умов фізіологічна рівновага між факторами агресії та захисту в різні фази травлення та при змінних умовах зовнішнього та внутрішнього середовища підтримується узгодженою взаємодією центральної та вегетативної нервової системи, а також складною системою медіаторів та гастроінтестинальних гормонів [15].

Взаємовідношення вказаних факторів прийнято відображати схемою, що отримала назву "ваги Шея" (рис. 2), на ім'я відомого американського гастроентеролога Г.Шея, який запропонував такий підхід.

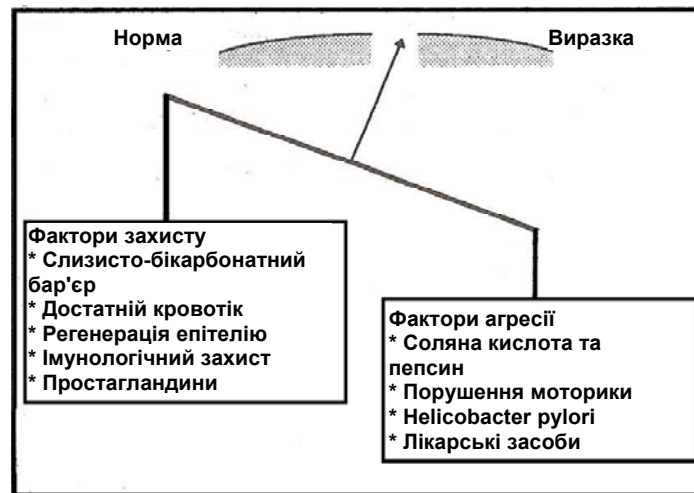


Рис. 2. Ваги Шея (співвідношення факторів агресії та захисту)

Хоча виразкова хвороба вивчається дуже давно та широко, на теперішній час немає конкретної уяви про біохімічні процеси в клітинах слизової оболонки шлунка, маловивчені зміни в структурі та біорегуляторних процесах їх мембран.

1. *Передерий В. Г., Ткач С. М., Швець Н. И., Цветков А. В., Яценко О. В.* Язвенная болезнь или пептическая язва? // Киев – 1997. 2. *Щербинина М.Б.* Язвенная болезнь: современный взгляд на вопросы патогенеза // Диагностика та лікування. – 2005. – №2–3. 3. *Циммерман Я.С.* "Этиология, патогенез и лечение язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori*-инфекцией: состояние проблемы и перспективы // Клин. мед. – 2006. – №3. 4. *Харченко Н.В.* Клиническая гастроэнтерология // Київ, Здоров'я. – 2000. 5. *Свиницкий А.С., Соловьева Г.А.* Патогенез язвенной болезни в свете современных представлений // Сучасні інфекції. – 2000. – №1. 6. *Свиницкий А.С.* Диагностика та лікування поширених захворювань органів травлення // Київ, ТОВ "ДЕГ ЛТД". – 2004. 7. *Васильюк М.Д., Чурпій К.Л., Васильюк С.М.* Дуоденостаз як одна з причин калькульозного холециститу і виразкової хвороби // Шпитальна хірургія. – 1998. – №2. – С. 58–60. 8. *Джумабаев Х.Д.* Оперативное

лечение язвенной болезни в сочетании с хронической дуоденальной непроходимостью двенадцатиперстной кишки // Клин. хирургия. – 1997. – №1. – С. 6–8. 9. *Зайцев В.Т., Пеев Б.И., Бойко В.В.* и др. Хирургическое лечение больных с осложненной язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, сочетающейся с дуоденостазом // Клин. хирургия. – 1993. – №3. – С. 12–14. 10. *Нестеренко Ю.А., Ступин В.А., Федоров А.В., Богданов А.Е.* Хроническая дуоденальная непроходимость. – М.: Медицина, 1990. – 240 с. 11. *Шидловський В.О., Романів В.О., Шидловський О.В.* Хірургічне лікування виразкової хвороби, поєднаної з функціональним порушенням дуоденальної прохідності // Шпитальна хірургія. – 1998. – №4. – С. 60–64. 12. *Авандилов Г.Г.* Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина. – 2002. – 240 с. 13. *Амиров Н.Ш., Трубицина И.Е.* Ферментативные механизмы в этиопатогенезе желудочного язвобразования // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2005. – №1. – С. 46–55. 14. *Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А.* Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Трида-Х, 1998. – 496 с. 15. *Крышень П.Ф., Пругло Ю.В.* Морфологическая диагностика заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки. – К.: Здоров'я, 1978. – 184 с.

Надійшла до редколегії 12.04.08

УДК 612.82/83; 612.821

Т. Куценко, канд. біол. наук,
Н. Філімонова, канд. фіз.-мат. наук,

АНАЛІЗ ПІДСИСТЕМ ОБРОБКИ ІНФОРМАЦІЇ ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ ФУНКЦІЇ КРЕАТИВНОСТІ

Виявлені прямі кореляційні зв'язки між показниками креативності за тестом на дивергентне мислення та інсайтною стратегією складання оповідань. Показники креативності не пов'язані із показниками правильних реакцій на складні вербальні та невербальні подразники, оскільки останні складають жорстку метасистему, спрямовану на виконання завдання, яка обмежує потоки інформації по додаткових нейронних ланцюгах, натомість утворюючи підсистему із показниками помилкових реакцій, які здійснюються при послабленні обмежувачого впливу метасистеми.

Direct correlations between parameters of creativity under the test for divergent thinking and insight strategy of drawing up of the story are revealed. Parameters of creativity are not connected to parameters of correct reactions on complex verbal and nonverbal stimuli as the last make the rigid metasystem directed on performance of the task which limits streams of the information on additional neural circuits, instead of these forming subsystems with parameters of erroneous reactions which are carried out at weakening limiting influence of metasystem.

Вступ. Креативність – це здатність мозку генерувати інформацію в нових, незвичних комбінаціях. За нашою гіпотезою, яка базується на аналізі сучасної літератури про функціональні системи мозку і нейронні основи креативності, в мозку має існувати як генератор ідей (неусвідомлюване, невербальне, образність схоплення ситуації в цілому (синтез), імовірно, тім'яна кора правої півкулі), так і детектор помилок, який із всього різноманіття комбінацій відбирає "правильні", такі, які не суперечать здоровому глузду і свідомому досвіду (критичність, вербалізація, послідовна обробка інформації, аналіз, прийняття рішення, система дорзо-латеральна префронтальна кора-передня поясна звивина лівої півкулі).

В мозку існує два основних потоки інформації – зовнішня, від сенсорних систем, про поточний стан навколишнього середовища, і внутрішня – обробка інформації, яка вже наявна в мозку. Ці потоки можуть конкурувати – "сенсорний тиск" пригнічує обробку внутрішньої інформації (креативність), хоча і покращує пам'ять [10].

За сучасними уявленнями, які отримують все більшу експериментальну підтримку, креативність не є монолітною системою, а складається із функціональних підсистем різного рівня складності [1, 7]. Психологічні тестові методики, за якими оцінюють рівень креативності, теж можуть характеризувати різні ознаки цієї властивості. У зв'язку з цим першим завданням нашого дослідження стало визначення взаємозв'язків показників креативності між собою.

Не зважаючи на використання самих сучасних методів візуалізації роботи мозку, питання про нейронні механізми креативності залишається далеким від вирішення [1]. Деякі автори прямо вказують на необхідність зміни підходів у дослідженні фізіологічних основ креативності [7]. За цих умов не можна нехтувати поведінковими методиками, підходом до мозку, як до "чорної скриньки", який дає можливість оцінити роботу системи в цілому. Багато робіт вказують на переважання правої півкулі у вирішенні креативних завдань [8], хоча накопичуються дані і про залучення лівої півкулі [1, 9]. Нами було показано, що за реакціями правої і лівої руки на першо- та другосигнальні подразники можна до певної міри судити про функціональну асиметрію мозку [5]. Тому другим завданням нашої роботи став аналіз зв'язків між реакціями на першо- та другосигнальні подразники та показниками креативності.

Об'єкт та методи досліджень. У обстеженні взяли участь 68 осіб обох статей (студентів біологічного факультету віком від 18 до 23 років).

Показники креативності отримували за двома методиками – тестом на дивергентне мислення, який є одним із варіантів тесту Дж. Гілфорда на використання предметів ("Цеглина") та двома варіантами модифікованої методики Дж. Гілфорда ("Матриця"). У тесті "Цеглина" обстежуваний повинен був перерахувати якнайбільше способів використання предмету (цеглина). Без відома обстежуваних враховувався час, за який називались способи використання цеглини, вираховувалась кількість піднятих тем (віднесення слів до певних семантичних груп) та оригінальність (наведений приклад використання цеглини вважався оригінальним, якщо зустрічався один раз у всій вибірці). Другий тест, "Матриця" [6], складався із двох частин. Стимульним матеріалом були набори із 16 слів (8 іменників та 8 дієслів). Всі слова складались із 2-3 складів. В якості основного тестового завдання на креативність було вибрано складання оповідання подумки на основі поданих слів із відносно різних семантичних полів ("Матриця-1" (M1)). Інше завдання також представляло собою складання оповідання, але зі слів із одного семантичного поля ("Матриця-2" (M2)). Для оцінки завдання використовувались критерії креативності – швидкість, гнучкість, стратегія. Швидкість визначалась кількістю речень у складеному оповіданні; гнучкість – кількістю слів, використаних із матриці. Обстежуваний після виконання кожної частини тесту давав звіт, за яким можна було судити про стратегію (інсайтну або нормальну), яку він використовував. "Інсайтна" стратегія – обстежуваний не складає оповідання, а, як тільки з'являється загальна ідея, повідомляє про готовність, а саме оповідання складає безпосередньо в процесі звіту. "Нормальна" стратегія – обстежуваний подумки складає оповідання, і тільки після того повідомляє про готовність. Враховувався також показник часу запам'ятовування слів матриці.

За допомогою комп'ютерної методики проводились одночасне пред'явлення подразників, які відносяться до різних сигнальних систем [2]. Обстежуваному на екрані комп'ютера пред'являлись слова "КРАСНЫЙ" і "ЗЕЛЕНЫЙ", які могли бути написані червоним або зеленим кольором, незалежно від значення самого слова. Якщо колір та значення слова співпадали – обстежуваний мав реагувати правою рукою, якщо не співпадали – лівою. У випадку помилкової реакції на екран виводилось повідомлення і цей подразник переносився в кінець серії для повторного пред'явлення. Таким чином, субтест тривав до одержання заданої кількості правильних реакцій, по 24 для кожної з рук. Порядок проходження подразників і часовий інтервал між сусідніми

пред'явленнями (0.4...1.8 с) варіювали у псевдовипадковому порядку. Раніше нами було показано, що при включенні у обробку другосигнальних подразників латентні періоди (ЛП) правої руки стають коротшими, ніж лівої, тобто проявляється ефект міжпівкульної латералізації, пов'язаний із обробкою вербальної інформації, який при виконанні даного субтесту посилюється ефектом Струпа (при співпадінні значення слова і кольору реакції здійснюються швидше, ніж коли значення слова і колір не співпадають) [5]. Тому ми обрали для нашого дослідження саме даний субтест, за яким чітко проявляється функціональна асиметрія ЛП сенсомоторних реакцій правої і лівої рук.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2001). Нормальність розподілів змінних перевірялась тестом Ліліфора, який є модифікацією тесту Колмогорова – Смірнова. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним $p=0,05$.

Результати та їх обговорення. Для виявлення взаємозв'язків показників креативності між собою і з показниками функціональної асиметрії за ЛП сенсомоторних реакцій був використаний факторний аналіз. Модель факторного аналізу розкладає кореляційну матрицю досліджуваних психофізіологічних даних на самовідтворену та залишкову кореляційні матриці. Для побудови коваріаційної матриці обчислюються власні значення і відповідні їм власні вектори, для визначення яких використовуються так звані відносні дисперсії простих факторів – тобто, чим меншим є власне число, тим менший відсоток варіації даних пояснює відповідний йому фактор. Якість побудованої моделі характеризується відсотком поясненої варіації, який бажано мати не меншим, ніж 80%, і значеннями діагональних елементів залишкової кореляційної матриці, які повинні бути близькими до нуля [4]. Модель головних компонент для 8 загальних факторів забезпечила відсоток поясненої варіації на рівні 79,4% загальної варіації даних (табл.) При цьому значення діагональних елементів залишкової кореляційної матриці є більшими, ніж 0,1 для пар $r(\text{Швидкість, M1}; \text{Швидкість, M2}) = -0,15$, $r(\text{Стратегія, M1}; \text{Стратегія, M2}) = 0,15$, $r(\text{ЛП лівої руки}; \text{ЛП правої руки}) = 0,12$ і $r(\text{Зелений колір, ЛП}; \text{ЛП правої}$

руки) = -0,13. Це свідчить про неточність моделі та потребу уточнення зв'язку відповідних пар параметрів.

До фактора 1 "Правильні реакції" увійшли латентні періоди усіх правильних реакцій, і, крім того, правильні реакції не увійшли ні в один інший фактор (див. табл.). Раніше нами було показано, що правильні реакції формують метасистему, спрямовану на успішне виконання завдання, тоді як помилкові реакції розпадаються на ряд підсистем ієрархічно нижчого рівня [4]. За отриманими результатами, помилкові реакції мають значно менші вагові навантаження на 1-й фактор, натомість формуючи цілий ряд інших факторів – окремих підсистем обробки інформації (див. табл.). Показники креативності утворюють спільні фактори із показниками помилкових реакцій, і не взаємодіють із правильними реакціями. Такий розподіл зв'язків вказує на те, що метасистема вищого порядку (правильні реакції) обмежує потоки інформації по інших нейронних ланцюгах, тоді як послаблення метасистеми при помилкових реакціях робить більш імовірною активацію інших нейронних ланцюгів, що і проявляється в генеруванні нових ідей. Важливо і те, що висококреативні обстежувані не здійснюють більшої кількості помилок у порівнянні із низькокреативними обстежуваними, що узгоджується із нашими попередніми результатами [3]. При поділі на підгрупи за показником кількості тем у тесті "Цеглина" висококреативні обстежувані мають найбільшу кількість правильних реакцій на червоний колір і найбільшу кількість помилкових реакцій на слово "красный". За факторами 2 і 3, кількість помилок правої руки негативно корелює із креативністю, а лівої руки – позитивно (див. табл.), що свідчить на користь зв'язку "детектора помилок" із лівою півкулею, а "генератора ідей" – із правою.

Окремо слід звернути увагу на показник помилок лівої руки на слово "Красный", написане червоним кольором. Цей показник, на відміну від усіх інших показників ЛП помилкових реакцій, випадає із метасистеми першого фактора – правильних реакцій. Разом із ним до цієї системи не входять показники кількості помилок, і, як вже вказувалось, показники креативності.

Таблиця 1. Факторний аналіз показників креативності та показників сенсомоторних реакцій правої і лівої рук на комплексні подразники

	Фактор	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 4	Фактор 5	Фактор 6	Фактор 7	Фактор 8
Креативність	Показник								
	Кількість тем, "Цеглина"	0,04	0,74	-0,41	-0,07	-0,15	0,09	-0,20	-0,07
	Оригінальність, "Цеглина"	-0,01	0,69	-0,51	0,00	-0,09	0,12	-0,15	-0,01
	Час запам'ят. слів, M1	-0,05	-0,69	0,07	0,27	-0,16	0,17	-0,23	0,07
	Швидкість, M1	0,03	-0,18	-0,21	0,38	-0,20	0,31	0,37	-0,40
	Гнучкість, M1	0,08	-0,08	-0,71	0,03	0,23	-0,22	-0,14	-0,41
	Стратегія, M1	0,15	-0,78	-0,06	0,29	0,00	-0,12	-0,18	0,10
	Час запам'ят. слів, M2	-0,08	-0,61	0,05	0,40	-0,20	0,22	-0,34	-0,02
	Швидкість, M2	0,08	-0,05	0,01	0,44	0,06	0,62	0,28	-0,19
	Гнучкість, M2	0,04	-0,16	-0,70	0,05	0,16	0,01	-0,19	-0,47
Правильні реакції	Стратегія, M2	0,05	-0,74	-0,12	0,37	0,00	-0,16	-0,16	0,05
	ЛП лівої руки	-0,83	0,03	0,08	0,08	0,02	0,05	0,14	-0,11
	ЛП правої руки	-0,86	0,02	0,07	0,08	-0,03	0,05	0,05	-0,10
	Зеленим "Красный", ЛП	-0,90	0,20	0,04	0,18	-0,02	0,01	0,07	-0,01
	Зеленим "Зеленый", ЛП	-0,88	0,08	0,03	0,21	0,00	0,05	-0,11	0,00
	Червоним "Зеленый", ЛП	-0,88	0,15	-0,02	0,20	-0,01	-0,03	0,04	0,06
	Червоним "Красный", ЛП	-0,87	0,09	0,04	0,17	-0,03	-0,14	0,02	-0,03
	Слово "Зеленый", ЛП	-0,93	0,12	0,00	0,18	-0,02	-0,02	-0,03	0,06
	Слово "Красный", ЛП	-0,93	0,15	0,04	0,20	-0,05	-0,11	0,03	0,02
	Зелений колір, ЛП	-0,94	0,14	0,03	0,19	-0,04	-0,02	-0,02	0,03
	Червоний колір, ЛП	-0,93	0,14	-0,01	0,19	-0,04	-0,10	0,02	0,06

Продовження табл. 1

Фактор		Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 4	Фактор 5	Фактор 6	Фактор 7	Фактор 8
Показник									
Помилкові реакції	Зеленим "Красный", ЛП (помилки правої руки)	-0,35	-0,17	-0,25	-0,38	-0,50	0,03	-0,32	0,15
	Зеленим "Зеленый", ЛП (помилки лівої руки)	-0,41	-0,27	0,39	-0,50	0,08	0,13	-0,19	-0,34
	Червоним "Зеленый", ЛП (помилки правої руки)	-0,47	-0,22	-0,45	-0,21	0,48	0,09	0,09	0,30
	Червоним "Красный", ЛП (помилки лівої руки)	-0,26	-0,43	-0,26	-0,27	-0,21	-0,36	0,53	-0,06
	Слово "Зеленый", ЛП	-0,57	-0,23	0,19	-0,36	0,49	0,10	-0,17	0,01
	Слово "Красный", ЛП	-0,45	-0,31	-0,27	-0,25	-0,56	-0,25	0,01	-0,08
	Зелений колір, ЛП	-0,55	-0,06	0,13	-0,58	-0,12	0,06	-0,14	-0,26
	Червоний колір, ЛП	-0,43	-0,52	-0,39	-0,06	0,35	-0,21	0,23	0,15
	Кількість помилок лів. руки	-0,24	-0,20	-0,33	-0,34	-0,27	0,51	0,00	0,28
	Кількість помилок прав. руки	0,00	-0,34	-0,16	-0,38	-0,14	0,32	0,45	0,10
	ЛП лівої руки	-0,51	-0,05	-0,35	-0,13	0,28	0,37	-0,17	0,18
	ЛП правої руки	-0,41	-0,28	0,48	-0,31	0,13	0,07	0,01	-0,39
власне значення		10,2	4,3	2,8	2,5	1,6	1,5	1,4	1,3
відсоток поясненої варіації		31,7	13,3	8,6	7,8	5,1	4,7	4,3	3,9

До фактора 2 увійшли показники креативності – обидва показники тесту "Цеглина" – кількість тем і оригінальність та наступні показники із обох "Матриць": стратегія та час запам'ятовування слів. Чим більша кількість генерованих тем і їх оригінальність, тим коротший час запам'ятовування слів і більше проявляється інсайтна стратегія складання оповідання. Що стосується помилок, то цей фактор пов'язаний переважно із помилками лівої руки та червоним кольором.

До фактора 3 увійшла гнучкість – кількість слів, використаних із матриці, яка пов'язана із показниками креативності за тестом на дивергентне мислення. За нашими даними, цей показник має тісні зв'язки із показниками пам'яті. До цього фактору увійшли помилкові протилежні за знаком реакції на слово "Зелений", написане зеленим і червоним кольором, що вказує на реципроктність реагування правої і лівої рук.

Фактор 4 сформований в основному показником швидкості (кількості продуктованих речень) і має певні зв'язки із часом запам'ятовування слів і стратегією із М2. Взагалі цей показник розподілений по 4-х факторах (4-й, 6-й, 7-й, 8-й) і практично не пов'язаний із показниками креативності, які формують 2-й фактор. Імовірно, що в цьому показнику відображається не так функція креативності, як інші функції, можливо, пов'язані із швидкісними процесами обробки інформації. Цей фактор пов'язаний із помилками при обробці інформації про зелений колір і слово "Зеленый", причому права і ліва рука помиляються односпрямовано.

Цікаво, що фактор 5 не пов'язаний із показниками креативності, а відображає реципроктну реакцію правої руки на слова "Зеленый" і "Красный". Отже, обробка вербальної інформації в лівій півкулі не пов'язана із креативністю.

У факторах 6, 7 і 8 представлені показники швидкості (кількості продуктованих речень) у сполученні із показниками часу запам'ятовування слів (фактор 7) і гнучкістю (фактор 8) і, ймовірно, як вже вказувалось, відображають швидкість обробки інформації (фактор 7) і її запам'ятовування (фактор 8). При цьому фактор 6 – підсистема помилок переважно лівої руки, фактор 7 – визначається помилками як лівої, так і правої руки, а фактор 8 – підсистема помилок правої і лівої рук з реципроктними характером, аналогічним фактору 3. Можливо, всі реципроктні взаємодії є відображенням прояву ефекту Струпа.

Таким чином, до другого фактора увійшли обидва показники тесту "Цеглина" – кількість тем і оригінальність та наступні показники із обох "Матриць": стратегія та час запам'ятовування слів. Оскільки час запам'ятовування слів пов'язаний і із швидкістю обробки інформації, і із пам'яттю (фактори 4, 7), то найбільш інформативними з

точки зору відображення функції креативності ми вважаємо показники кількості тем і оригінальності із тесту "Цеглина" та стратегії із матриць 1 та 2. Гнучкість (кількість слів, використаних із матриці) сформувала окремий фактор, мало пов'язана із іншими показниками креативності, має тісні зв'язки із показниками пам'яті. Швидкість (кількість продуктованих речень) – ряд окремих факторів, має певні зв'язки із гнучкістю. Таким чином, показники креативності не є однорідними і відображають різні інформаційні процеси в мозку. Можливо, найбільше із досліджуваних показників функція креативності відображена у показниках, які увійшли в 2-й фактор.

Висновки. 1. Досліджувані показники креативності не є однорідними і формують ряд факторів, відображаючи різні інформаційні процеси в мозку. Імовірно, найбільше із досліджуваних показників функція креативності відображена у показниках кількості тем і оригінальності тесту на дивергентне мислення та стратегії із тестів "Матриця". Виявлені прямі кореляційні зв'язки між високими значеннями кількості генерованих тем, оригінальності та інсайтною стратегією складання оповідань.

2. Показники креативності не пов'язані із показниками правильних реакцій, оскільки останні складають жорстку метасистему, спрямовану на виконання завдання, яка обмежує потоки інформації по додаткових нейронних ланцюгах.

3. Показники креативності утворюють підсистеми із показниками помилкових реакцій, які здійснюються при послабленні обмежуючого впливу метасистеми.

4. Висококреативні обстежувані не здійснюють більшої кількості помилок у порівнянні із низькокреативними обстежуваними. Кількість помилок правої руки негативно корелює із показниками креативності, а лівої руки – позитивно, що гіпотетично може свідчити на користь зв'язку "детектора помилок" із лівою півкулею, а "генератора ідей" – із правою.

1. Бехтерева Н.П. Магия мозга и лабиринты жизни. – доп. изд. – М.: АСТ; СПб.: Сова, 2007. – 383 с. 2. Костенко С.С., Локтева Р.К. Оцінка діяльності першої та другої сигнальних систем людини // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2000. – вип. 32. – С. 31–34. 3. Куценко Т.В., Артикула А.В. Дослідження зв'язків креативності з психофізіологічними функціями у студентів // Тези конф. "Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології". – Київ, 2002. – С. 71. 4. Куценко Т.В., Філімонова Н.Б. Особливості функціонування підсистем обробки інформації при здійсненні помилкових реакцій людиною // Вісн. Черкаського ун-у. Серія біологічні науки. – 2007. – вип. 105. – С. 55–61. 5. Куценко Т.В., Філімонова Н.Б., Костенко С.С. Оцінка функціональної асиметрії мозку за латентними періодами сенсомоторних реакцій людини // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2007. – вип. 12. – С. 14–16. 6. Старченко М.Г., Воробьев В.А. Исследование мозговой организации творчества. Сообщение 1. Разработка психологического теста // Физиология человека. – 2000. – т. 26. №2. – С. 5–9. 7. Dietrich A. Who's afraid of a cognitive neuroscience of creativity? // Methods. – May 2007. – Vol. 42, № 1. – P. 22–27. 8. Carlsson L., Wendt P.E., Risberg J. On the neurobiology of creativity. Differences in frontal activity

between high and low creative subjects // *Neuropsychologia*. – Jun 2000 – Vol. 38, № 6. – P. 873–885. 9. Cella-Conde C.J., Arenillas C.L., Nadal M., et al. Creativity and evolution // *International Congress Series* – Jun 2006. – Vol. 1296. – P. 95–105. 10. Ghacibeh G.A., Shenker J.I., Shenal B. et al.

Effect of vagus nerve stimulation on creativity and cognitive flexibility // *Epilepsy and Behavior*. – Jun 2006. – Vol. 8, № 4. – P. 720–725.

Надійшла до редколегії 20.01.08

УДК 597.08: 628.1

Ю. Ситник, канд. біол. наук,
П. Шевченко, канд. біол. наук,
А. Подобайло, канд. біол. наук,
С. Салій, студ.

СКЛАД ІХТІОФАУНИ КИІВСЬКОЇ ДІЛЯНКИ КАНІВСЬКОГО ВОДОСХОВИЩА ТА ГИРЛА ДЕСНИ

Досліджено видовий склад іхтіофауни київської ділянки (її верхньої, "річкової" частини) Канівського водосховища та пригирлової ділянки річки Десни влітку 2005 року. Наведено порівняння з матеріалами попередніх досліджень. Виявлено нові види риб для досліджених водойм.

Ichthyofauna composition of the Kaniv reservoir's headstream and the Desna river mouth is discovered in summer 2005. New fish species were revealed in the region of discovering in comparison with previous data.

Вступ. Напружені екологічні обставини, що склалися в водних об'єктах в останні десятиріччя суттєво вплинули на біорізноманіття та інші структурні та функціональні показники екосистем, тому захист біорізноманіття став сьогодні новою філософією та світоглядом людства XXI століття [3, 7]. Вивчення біорізноманіття в усій його багатоплановості та багатоаспектності є парадигмою сучасної екології. Відповідь у вигляді змін різних рівнів є відображенням стану водного середовища і може бути індикатором процесів, що проходять в екосистемі [12].

Канівське водосховище своєю вершиною прилягає до греблі Київського водосховища. Дніпро тут розпадається на декілька рукавів. У нього дуже розвинена лівобережна заплава, складена з пісків та супісків. Правий берег високий, в окремих місцях дещо віддалений від русла річки. Водосховище утворене в 1972–1976 рр. Водна площа – близько 675 км², довжина – 162 км, об'єм – 2,6 км³, найбільша ширина – 5 км, середня глибина – 4,4 м, максимальна – 21 м. Повний водообмін здійснюється 17 – 18 разів на рік. Характерною особливістю водоймища є "голуба зона" (власне київська або як її називають "річкова" ділянка), розташована у верхній частині і призначена тільки для любительського рибальства (промисловий вилов риби тут заборонений). Її площа складає 7800 га, довжина – 57 км – від затоки Погребецька Стариця в р. Десна, до с. Плюти (правий берег) і с. Павловка (лівий берег) у водосховищі. Річка Десна – друга за величиною після Прип'яті притока Дніпра, яка впадає у нього з лівого берега. Її довжина від верхів'я до гирла – 1126 км. Територією України річка протікає від с. Мурав'я до гирла, довжина цієї ділянки – 605 км. Десна впадає у Дніпро двома рукавами, з яких лівий називається Десенкою. Його верхів'я загалом з метою спрямувати усю воду у головне русло Десни [10]. Сприятливими також для рибного населення є чисельні затоки, заплави Дніпра і особливо річка Десенка, що протікає паралельно руслу Дніпра і стала важливим місцем розмноження та нагулу риб і їх молоді [11].

Об'єкт та методи досліджень. Іхтіологічні дослідження проводили в пригирловій ділянці р. Десни (4 станції – с. Пухівка (руслотва частина та 3 невеликі затоки на лівому березі річки), до Деснянського водозабору, після Деснянського водозабору, гирлова ділянка – при впадінні в Канівське водосховище); на Десенці – 3 станції (в районі шлюзу, що відділяє Десенку від р. Десни, в районі урочища та біля Московського мосту) та русловий частині вище пішохідного мосту (Труханів острів) в липні 2005 року.

На прибережних ділянках молодь риб (цьоголітки, дволітки та інші) ловили тською із капронового сита № 8 довжиною 6 м, а в більш глибоких місцях відловлювали їх старші вікові групи за допомогою 25-метрової малькової волокуші. Всього проведено 57 контрольних ловів і зібрано для аналізу 1253 екземпляри молоді риб. Для встановлення видової належності риб користувались визначниками [4, 6]. Виловлена риба опрацьовувалася в лабораторних умовах на свіжому матеріалі.

Результати та їх обговорення. З літературних джерел відомо, що склад іхтіофауни цієї частини річок Дніпра та Десни, власне Десенки [1], налічував більше 41 виду риб та їх молоді. Було багато видів, які мали надзвичайно високу харчову цінність – осетер, оселедець, вирезуб, марена дніпровська та інші [2]. Більшість з промислово-цінних риб в недалекому майбутньому, як для цих ділянок так і для всього Дніпра, були втрачені [9].

З завершенням гідробудівництва видовий склад риб та їх молоді скоротився на 8–10 представників і став налічувати не більше 35–37 таксонів, які належали до 9 родин [5]. Промислово-цінні та промислово-малоцінні види риб налічували до 80 % від їх загальної кількості. Частка непромислових риб була незначною.

В кінці 70-х – на початку 80-х років 20 сторіччя число видів риб та їх молоді значно скоротилося: до 21–28 видів. А більшість риб, чисельність яких раніше була високою, значно звузили свій ареал та зменшили чисельність [11]. В результаті досліджень не були виявлені стерлядь, марена дніпровська, рибець, голянь, в'юн, миньок, голец та інші риби, які хоч зрідка але зустрічалися у 70-х роках двадцятого сторіччя [11].

Дослідження видового складу іхтіофауни (молоді риб) проводили на 4-х станціях гирлової ділянки Десни в липні 2005 року. Всього було виявлено 39 видів риб. В р. Десні, в районі с. Пухівка (в русловій частині та 2-х затоках) було виловлено 26 видів риб, на станціях вище та нижче Деснянського водозабору було виловлено 11 та 14 видів, відповідно. Зменшення кількості виловлених видів риб пояснюється змінами біотопів, а саме – піщаних та мулистих донних відкладів – на камінні та гравійні відсипки з поглибленням русла, що притаманно технологічним особливостям водозабірних споруд [8]. Саме каміння та камінні відсипки є добрим місцем для існування минька. Найбагатший склад іхтіофауни було зафіксовано в гирлі Десни – 28 видів.

В сучасний період на київській ділянці Канівського водосховища широко представлені 8 видів риб – щука, плітка, краснопірка, білізна, верховодка, плоскирка, ялец і окунь. Часто також зустрічаються тюлька, ялец, вівсянка, підуст, клепець, синець, чехоня, гірчак, щипів-

© Ситник Ю., Шевченко П., Подобайло А., Салій С., 2008

ка, йорж, носар, бички, рідко – боби́рець, головень, лин, пічкур, голя́н, карась, сазан, голець, сом і судак [10].

У річці Десна та її притоках і заплавлених водоймах зустрічаються 36 видів риб – стерлядь, тюлька, щука, плітка, ялець, головень, в'язь, голя́н, краснопірка, білізна, вівсянка, лин, підуст, верховодка, плоскирка, лящ, окунь, клепець, синець, чехоня, гірчак, карась золотий, карась сріблястий, сазан, голець, в'юн, сом, ву́гор, минь, судак, окунь, йорж, носар, бичок-пісочник, бичок-цуцик, колючка триголка [10].

В результаті наших досліджень виявлено 39 видів риб, а саме: *азово-чорноморська тюлька*, щука, плітка, ялець, головень, в'язь, голя́н, краснопірка, білізна, *вівсянка*, лин, пічкур, верховодка, плоскирка, лящ, клепець, синець, чехоня, *гірчак*, *карась сріблястий*, *сазан (корол)*, *щипівка*, *в'юн*, *минь*, колючка звичайна трьохголова, *мала південна колючка дев'ятиголова*, *чорноморська пухло щока іглиця*, судак, окунь, йорж, носар, бичок-пісочник, бичок-цуцик, *бичок-кругляк*, *бичок-головач*, *бичок-гонець*, *чебачок амурський* та *ротан-головешка*. Підкреслено ті виловлені нами види, на яких посилення у авторів однієї з останніх робіт [11] відсутнє.

Якщо ж проаналізувати всі доступні нам літературні джерела, то слід зауважити, що в складі іхтіофауни Десни (природно, включаючи і досліджені нами ділянки) не називалися лише 7 видів риб, а саме: *мала південна колючка дев'ятиголова*, *чорноморська пухло щока іглиця*, бичок-кругляк, бичок-головач, бичок-гонець, чебачок амурський та ротан-головешка. Слід звернути увагу на вилов ротана-головешки, оскільки він являє собою загрозу для цінних видів риб, активно поїдаючи їх ікру та молодь [9].

На Десенці на першій станції (недалеко від шлюзу, що відділяє від основного русла р. Десни) виявлено 28 видів риб, в районі урочища Чорторий – 30 видів, біля Московського мосту – 23 види, а на русловій частині збоку острова Труханів – лише 12 видів. Пояснити такі результати можна різницею в біотопах – три перші переважно озерного типу, тобто відносно менш проточні, а четвертий – сильно проточний, типово річковий біотоп.

Порівняння результатів показує, що в наших умовах зафіксовано найбільшу кількість видів, в порівнянні з наведеними в доступних нам літературних джерелах. Кількість видів збільшилася за рахунок непромислових та смітних видів риб.

В результаті штучного вселення у дніпровські водосховища цінних представників іхтіофауни з метою підвищення їх рибопродуктивності в Дніпрі з'явилися три нових види – представники далекосхідної іхтіофауни: товстолобики білий та строкатий, білий амур. Широке розповсюдження отримали чорноморсько-азовська тюлька, деякі види бичків та мала південна 9-голова колючка [9]. В наших умовах практично зустрічалися лише бички, тюлька, іглиця, колючки. За усними повідомленнями ст.н.с., к.б.н. С.О. Афанасьєва в гирлах річок на Канівському водосховищі, зокрема р. Віта, були випадки виліву вугра європейського, також ці дані підтверджені в монографії В.Д. Романенка та ін. [9].

Видами-інтервентами є єврибіонтні види, що здатні в результаті збільшення чисельності їх популяцій та змін умов існування, в тому числі під впливом антропогенних факторів, активно й значно розширювати свій ареал.

В Україні видів-інтервентів нараховується 8 видів – колючка триголка, колючка дев'ятиголова, чорноморсько-азовська тюлька, чорноморська іглиця пухлощока, бичок-головач, бичок-кругляк, бичок-цуцик, бичок зірчаста пуголовка. Результати наших досліджень показали наявність 7 видів з вищенаведених, а саме – колючка

триголка, колючка мала південна дев'ятиголова, чорноморсько-азовська тюлька, чорноморська іглиця пухлощока, бичок-головач, бичок-кругляк, бичок-цуцик.

Інвазійними є види риб, що заселені в природні водойми випадково, під час рибоводних заходів або несанкціонованого розселення, які не відносяться до об'єктів риборозведення. На території України до числа інвазійних видів риб відносять головешку-ротана, чебачка амурського, сонячного окуня або американського вухастого окуня – сонячну рибу. Результати наших досліджень показали наявність 2 видів з вищенаведених, а саме – головешку-ротана і чебачка амурського. Навесні 2001 року іхтіологами Інституту зоології НАН України виявлена популяція ротана в гирлі р. Стугна, яка впадає в Канівське водосховище [9].

Більшість понто-каспійських видів риб в природному ареалі розселення (як до зарегулювання Дніпра, так і після цього) можуть нормально нереститись, розвиватись, нагулюватись як в прісній, так і у воді різної солоності.

Серед основних причин, що призвели до зникнення багатьох видів риб та скорочення чисельності інших, потрібно назвати зменшення кількості нерестовищ, відсутність на них необхідної лучної рослинності, яка витримує тривале затоплення, заростання їх повітряно-водною рослинністю, значні коливання рівнів води, різке зменшення водообміну та швидкостей течії.

Висновки. 1. Під час досліджень видового складу іхтіофауни (молоді риб) на 4-х станціях гирлової ділянки Десни в липні 2005 року зафіксували 39 видів риб. В р. Десні, в районі с. Пухівка (в русловій частині та 2-х затоках) було виловлено 26 видів риб, на станціях вище та нижче Деснянського водозабору було виловлено 11 та 14 видів, відповідно. Зменшення кількості виловлених видів риб пояснюється змінами біотопів, а саме – піщаних та мулистих донних відкладів – на камінні та гравійні відсипки з поглибленням русла, що притаманно технологічним особливостям водозабірних споруд. Найбільший склад іхтіофауни було зафіксовано в гирлі Десни – 28 видів.

2. Наші дослідження видового складу іхтіофауни (молоді риб) верхньої частини київської ділянки Канівського водосховища проводилися на трьох станціях, що розміщувалися на Десенці, а одна – на русловій (судноплавній) частині напроти річкового (вантажного) порту.

На Десенці на першій станції (недалеко від шлюзу, що відділяє від основного русла р. Десни) виявлено 28 видів риб, в районі урочища Чорторий – 30 видів, біля Московського мосту – 23 види, а на русловій частині збоку острова Труханів – лише 12 видів. Пояснити такі результати можна різницею в біотопах – три перші переважно озерного типу, тобто відносно менш проточні, а четвертий – сильно проточний, типово річковий біотоп.

3. В наших умовах зафіксовано найбільшу кількість видів, в порівнянні з приведеними в доступних нам літературних джерелах. Кількість видів збільшилася за рахунок непромислових та смітних видів риб.

4. Результати наших досліджень показали наявність 7 видів-інтервентів, а саме – колючка триголка, колючка мала південна дев'ятиголова, чорноморсько-азовська тюлька, чорноморська іглиця пухлощока, бичок-головач, бичок-кругляк, бичок-цуцик.

5. Результати наших досліджень показали наявність 2 інвазійних видів, а саме – головешку-ротана і чебачка амурського.

1. Беліне Д. Прибережне рибне населення р. Десни. // Труды гідробіологічної станції. – № 10. – 1935. – С. 93–105. 2. Беліне Д., Ляшенко О., Носаль П. Характеристика рибного населення нижньої течії р. Десни / Труды гідробіологічної станції. – 1936. – № 13. – С. 75–123. 3. Гіляров А. М.

Связь биоразнообразия с продуктивностью // Природа. – 2001. – № 2. – С. 20–24. 4. Коблицкая А.Ф. Определитель молоди пресноводных рыб. – Москва: Легкая и пищевая промышленность, 1981. – 208 с. 5. Коваль Н.В., Дячук И.Е., Волненко Ю.А., Кундиев В.А. О заносе рыбы в системы водоподготовки (на примере Деснянского водопровода) // Гидробиологический журнал. – 1979. – № 4. – С. 58–62. 6. Маркевич О.П., Короткий И.И. Визначник прісноводних риб УРСР. – Київ: Радянська школа, 1954. – 209 с. 7. Протасов А. А. Биоразнообразие и его оценка. Концептуальная диверсикология. – Киев, 2002. – 105 с. 8. Павлов Д.С. Оптомоторная реакция и особенности ориентации рыб в потоке воды. – Москва: Наука, 1970. – 148 с. 9. Романенко В.Д., Афанасьев С.А., Петухов В.Б. и др. Влияние рыбного хозяйства на биологическое разнообразие в

бассейне реки Днепр. Определение пробелов и проблем. – Киев: Академперіодика, 2003. – 188 с. 10. Сабодаш В.М., Процан Ю.Г. Смірнов А.І. Риби водойм Київського довкілля. Науково-екологічний і правовий посібник. – Київ, 2003. – 192 с. 11. Шевченко П.Г., Коваль Н.В., Ворончук Л.В. Условия обитания, численность, распределение и рост молоди промысловых рыб устья Десны // Гидробиологический журнал. – 1986. – 22, № 3. – С. 107–109. 12. Шеляг-Сосонко Ю. Р., Емельянов І. Г. Концепція біорізноманіття в аспекті функціонування та охорони біосистем і ландшафтів // Біорізноманіття Карпатського біосферного заповідника. – Київ: ІНТЕРЕКОЦЕНТР, 1997. – С. 478–495.

Надійшла до редколегії 10.04.07

УДК 612.82/83; 612.821

В. Кравченко, канд. біол. наук,
Ю. Демченко, студ.,
К. Максимович, асп.,
М. Макачук, д-р біол. наук.

ВАРІАТИВНІСТЬ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У ЖІНОК В РІЗНІ ФАЗИ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛУ

В роботі досліджено особливості регуляції серцевого ритму молодих жінок в різні фази менструального циклу в стані спокою та під час розумового навантаження на основі аналізу спектральних та статистичних показників варіативності серцевого ритму. Показано, що під час лютеїнової фази зростає вплив симпатичного відділу автономної нервової системи на серцевий ритм в стані спокою порівняно з фолікулярною. Розумове навантаження в лютеїнову фазу не супроводжувалось закономірним для таких умов ростом симпатичної активності, так як її вихідний рівень вже був високим.

Peculiarities of cardiac rhythm regulation in the different phases of menstrual cycle in young women in the rest state and under mental overload were investigated. It is shown that in the luteal phase an influence of sympathetic nervous system was increased compared with the follicular phase. Mental performance in luteal phase was not accompanied appropriate for such conditions growth of sympathetic activity, so as its initial level already was high.

Вступ. Аналіз варіабельності серцевого ритму (BCP) є одним з поширених неінвазивних методів оцінки стану механізмів регуляції фізіологічних функцій людини, і, зокрема, співвідношенням між симпатичним та парасимпатичним відділом автономної нервової системи (АНС). Поточна активність різних відділів АНС є результатом багаторівневої реакції системи регуляції кровообігу, що відображується в зміні розкиду тривалостей кардіоінтервалів, так як BCP є кінцевою ланкою впливу на систему кровообігу нервових та гормональних чинників [1, 2]. В літературі є досить суперечливі дані щодо міжстатевих відмінностей в регуляції BCP: так, в роботі [3] показано, що у жінок переважають парасимпатичні впливи на регуляцію CP, в дослідженні [4], навпаки, більша варіативність кардіоінтервалів і парасимпатичні впливи на CP виявлені в чоловіків. В довготривалому дослідженні [5] було встановлено, що показники BCP менші у жінок, проте такі відмінності спостерігаються тільки від 30 до 50 років, а потім міжстатеві відмінності зникають. Оскільки такий вік припадає на період менопаузи, цілком ймовірно, що різниця в механізмах регуляції серцевого ритму в молодому віці пов'язана з впливом циклічних коливань естрогену і прогестерону впродовж менструального циклу. А розбіжності в даних літератури можуть пояснюватися невраховуванням таких циклічних коливань рівня жіночих статевих гормонів. Тому, науковий і практичний інтерес представляє дослідження стану регуляторних механізмів в різні фази менструального циклу жінки, оскільки в багатьох дослідженнях не враховується можливі фазо-залежні відмінності. Зокрема, важливого значення ця проблема набуває в контексті встановлення багатофакторної етіології передменструального синдрому, де важливого значення може відігравати дисбаланс функціонування автономної нервової системи, зумовлений гормональними коливаннями в лютеїнову фазу.

Метою даного дослідження було оцінити можливий вплив коливання ендогенних статевих гормонів на стан механізмів регуляції серцевого ритму в стані спокою та під час розумового навантаження в молодих жінок з регулярним менструальним циклом.

Об'єкт та методи досліджень. В дослідженні взяло участь 20 студенток університету, віком 20–23 років ($20,9 \pm 0,40$), з регулярним впродовж року менструальним циклом тривалістю 26–33 дні, які не вживали гормональні протизаплідні препарати. Всі обстежувані були здорові, тобто на момент дослідження не вживали ліків, не хворіли на неврологічні чи психіатричні захворювання. Кожна учасниця брала участь в дослідженні тричі в різні фази менструального циклу: 1) під час фолікулярної фази (2–5 день); 2) під час овуляції (13–17 день); 3) під час лютеїнової фази (21–25 день). Наявність і час овуляції перевірялись за характером кристалізації слини за допомогою тест-мікроскопа "Арбор" (реєстраційне свідоцтво МЗ України № 817/2002). Метод заснований на тому, що під час овуляції, коли концентрація естрогенів в крові жінки стає максимальною, в слині зростає концентрація солей, що виявляється в максимальній кристалізації слини – феномен "листіків папороті".

На кожному етапі обстежувані виконували ряд тестів когнітивних функцій, під час виконання яких реєстрували 5 хвилинні записи кардіоінтервалів за допомогою 12-канального електрокардіографа "Поли-Спектр-12" (ООО "Нейрософт", Росія). В якості розумового навантаження використовували підбірку з комп'ютерних тестів по дослідженню психофізіологічних функцій [6, 7], серед яких були: тести на асоціативну пам'ять (тест 1), дослідження нейродинамічних функцій мозку (латентні періоди реакції вибору та реакцію стеження за рухомими об'єктом – тест 2), та коректурна проба (тест 3). Для аналізу варіативності серцевого ритму (BCP) реєстрували кардіограму в передньому відведенні по Небу

протягом 5 хв в стані спокою в положенні лежачи на спині (фон) та під час виконання тестів на асоціативну пам'ять (тест 1), реакції вибору (тест 2) та коректурної проби (тест 3). Запис кардіограми під час тестування проводили не менше ніж через 10 хвилин після переходу з горизонтального у сидяче положення. Аналізу підлягали показники статистичного (часового) аналізу кардіоінтервалів: середнє квадратичне відхилення всіх нормальних синусових RR інтервалів (SDNN), тривалість інтервалу, що найбільш часто зустрічається в ряді – мода (Mo), кількість кардіоінтервалів, що відповідають значенню моди – амплітуда моди (AMo). Аналізували також показники спектрального (частотного) аналізу: абсолютні потужності сумарного спектру (TP), високочастотної (HF), низькочастотної (LF) та "дуже" низькочастотної (VLF) складової серцевого ритму (мс^2) та відносні значення (%) зазначених спектральних компонентів, а також частоту серцевих скорочень (ЧСС).

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (Statsoft, USA, 2001). Оскільки розподіл майже всіх показників був відмінним від нормального (за критерієм Лілієфора), то для порівняння залежних вибірок застосовували Т-критерій Вілкоксона. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним $p=0.05$. Для опису вибіркового розподілу вказували медіани та нижній і верхній квартилі (Me [25; 75]).

Результати та їх обговорення. Коливання статевих гормонів впродовж менструального циклу можуть впливати на стан регуляторних систем організму, зокрема на активність відділів автономної нервової системи. Для оцінки взаємозв'язку між станом регуляції серця та фазами менструального циклу ми використали показники варіативності серцевого ритму (BCP). Загалом, виконання всіх трьох завдань супроводжувалося зростанням впливу симпатичної нервової системи на роботу серця, що виявлялось в підвищенні ЧСС та зниженні моди в усі фази менструального циклу (табл.1). Найменше напруження, судячи із отриманих даних, викликав блок тестів реакції вибору та стеження за рухомим об'єктом, оскільки під час тестування ЧСС була нижчою, а значення моди вірогідно вищими порівняно з тестами на асоціативну пам'ять та коректурну пробу. Відносна потужність високочастотної складової, HF%, яка характеризує вагусні впливи на серце та активність автономного контура його регуляції, була найвищою під час реакції вибору, що також підтверджує "легкість" виконання цього тесту. Одним з показників BCP, який характеризує ступінь психоемоційного напруження людини, є потужність "дуже" низькочастотної складової спектру (VLF), і оскільки цей показник був найвищим під час тестування асоціативної пам'яті, можна зробити висновок, що цей тест вимагав найбільшої мобілізації від обстежуваних. Проте найбільша потужність "дуже" низькочастотної складової спектру (VLF, %) спостерігалась при тестуванні асоціативної пам'яті під час лютеїнової фази, тоді як в фолікулярну фазу цей показник був вірогідно нижчим.

Оцінка спектральних показників BCP виявила, що під час фолікулярної фази та овуляції виконання всіх психофізіологічних тестів супроводжувалося підвищенням відносної потужності низькочастотної складової спектру LF(%), що свідчить про активацію симпатичної

модуляції серцевого ритму [1, 2] і є нормальним в умовах розумового навантаження [2]. Під час лютеїнової фази зростання LF(%) під час тестування не відбувалося, але при цьому цей показник в стані спокою вже був вірогідно вищим, ніж у овуляцію (див. рис.1). Тест на асоціативну пам'ять (тест 1) супроводжувалося вищим значенням низькочастотного компоненту спектру LF (%) під час фолікулярної фази порівняно з лютеїною, що на нашу думку відображає високу активацію симпатичного ланки регуляції CP в цю фазу в стані спокою. Показник співвідношення LF/HF, який зростав під час виконання когнітивних тестів по відношенню до фону в фолікулярну фазу та овуляцію (табл. 1), що свідчить про гальмування парасимпатичних впливів на роботу серця внаслідок активації симпатичного відділу та розвиток психоемоційного напруження, під час лютеїнової фази не змінювався. Це також підтверджує вихідний високий рівень активності симпатичної системи в лютеїнову фазу. Проте під час овуляції співвідношення потужностей високочастотної і низькочастотної складових LF/HF було значимо вищим в стані спокою порівняно з фолікулярною фазою, а от вірогідних відмінностей цього показника в лютеїнову фазу не виявлено.

Аналіз статистичних показників BCP також виявив характерні відмінності регуляції в лютеїнову фазу в напрямку збільшення активності симпатичної нервової системи. Так, виконання завдань під час фолікулярної фази та овуляції супроводжувалося зростанням амплітуди моди (AMo) порівняно з станом спокою (табл. 1). У лютеїнову фазу AMo в спокої була вищою, і значимо не відрізнялася від значень під час когнітивних тестів. Динаміка зміни цього показника в лютеїнові фазу є зовсім інакшою, ніж у фолікулярну та овуляційну фази менструального циклу. Зростання амплітуди моди відображає зменшення розкиду тривалостей кардіоінтервалів, що притаманно для активації центрального контуру регуляції серцевого ритму і характерно для психічних навантажень. Високі значення амплітуди моди в стані спокою відображають зростання активності симпатичного відділу АНС під час лютеїнової фази [2], що, правда, сам показник вірогідно не відрізняється в різні фази. Тобто виходячи з отриманих даних можна зробити висновок, що під час лютеїнової фази відбувається зсув серцевої регуляції в бік симпатичної нервової системи.

Отримані дані узгоджуються з результатами [8], які також показали зростання низькочастотного компоненту спектру під час лютеїнової фази. Щоправда в їх обстежуваних ($n=14$) також відбувалось зменшення потужності високочастотної складової та зростання співвідношення LF/HF в лютеїнову фазу, тоді як в наших дослідженнях цей показник зростав у фазу овуляції порівняно з фолікулярною. В роботі Dimitriev D. з співавт. [9] виявлено зростання AMo, індексу напруги та тенденцію до зростання LF/HF під час лютеїнової фази порівняно з фолікулярною в 10 молодих жінок, що також не суперечить отриманим нами даними.

Таблиця 1. Показники варіативності серцевого ритму у стані спокою та під час тестування у різні фази менструального циклу (Ме [25; 75]), n=20

Показник	Етап	Фолікулярна фаза	Овуляція	Лютеїнова фаза
Частота серцевих скорочень за хв	Фон	71 (65; 78)	74 (62; 82)	74 (66; 81)
	Тест 1	82 (73; 87) **	81 (72; 91)**	81 (71; 87)**
	Тест 2	79 (73; 82) ***	79 (71; 90)**	78 (69; 90)**
	Тест 3	83 (77; 87) **&&	82 (75; 92)**&	83 (75; 91)**+&&
Мода, с	Фон	0,84 (0,75; 0,93)	0,83 (0,73; 0,93)	0,81 (0,73; 0,91)
	Тест 1	0,75 (0,69; 0,85) **	0,76 (0,67; 0,86) **	0,75 (0,68; 0,86)**
	Тест 2	0,79 (0,75; 0,88) ***	0,79 (0,70; 0,86)	0,74 (0,65; 0,87)**
	Тест 3	0,72 (0,67; 0,85) **&	0,73 (0,64; 0,81) **&&	0,74 (0,64; 0,82)**&
Амплітуда моди, %	Фон	32 (26; 41)	32 (24; 44)	38 (27; 50)
	Тест 1	40 (29; 46)	39 (30; 47)+	35 (30; 44)
	Тест 2	39 (28; 49) *	44 (37; 50) **	37 (31; 46)
	Тест 3	38 (34; 51)	46 (35; 52) **	43 (29; 47)
Середнє квадратичне відхилення, SDNN, мс	Фон	69 (53; 80)	63 (44; 89)	60 (44; 82)
	Тест 1	72 (53; 102)	56 (45; 83)	72 (49; 81)
	Тест 2	66 (44; 116)	67 (40; 105)	63 (47; 94)
	Тест 3	68 (49; 126)	61 (36; 94)	68 (42; 81)
Потужність "дуже" низько-частотної складової, VLF, мс ²	Фон	1039 (528; 2340)	1649 (952; 2175)	1014 (894; 1272)
	Тест 1	1285 (1189; 3429)	1471 (1041; 2658)	1769 (1175; 2595)
	Тест 2	784 (487; 2272)	1003 (422; 3419)	1029 (429; 1385) #
	Тест 3	934 (747; 2699) +	1197 (654; 2378)	1247 (724; 1699)
Потужність низько-частотної складової LF, мс ²	Фон	1134 (540; 2052)	1013 (443; 1866)	1374 (511; 2325)
	Тест 1	2332 (1086; 3072)**	1401 (989; 2712)**	1369 (752; 3082)
	Тест 2	1907 (675; 3174)**	1436 (662; 5802)*	1666 (682; 3519)
	Тест 3	1823 (1397; 4471)**	1249 (897; 3001) О-Ф	1621 (593; 3465)
Потужність високо-частотної складової HF, мс ²	Фон	1867 (1153; 3222)	1700 (439; 3025)	1456 (688; 3188)
	Тест 1	2095 (892; 3221)	1007 (555; 2662)	1420 (799; 2738)
	Тест 2	1976 (746; 6951)	1645 (545; 4670)	2065 (440; 3327)
	Тест 3	2126 (655; 7609)	952 (525; 2884)	1949 (443; 3812)
Співвідношення потужностей високо-частотної і низько-частотної складових LF/HF	Фон	0,65 (0,47; 0,95)	0,88 (0,37; 1,35) О-Ф	0,71 (0,58; 1,35)
	Тест 1	0,96 (0,64; 1,60) **	1,10 (0,87; 1,75) *	0,94 (0,81; 1,30)
	Тест 2	0,87 (0,66; 1,05)	1,10 (0,66; 2,15)	0,83 (0,65; 1,65)
	Тест 3	0,90 (0,76; 1,80) *	1,15 (0,67; 1,50)	0,88 (0,68; 1,50)
Сумарна потужність спектра TP, мс ²	Фон	4754 (2664; 6855)	4938 (2206; 8221)	4425 (2229; 7393)
	Тест 1	4971 (3441; 9595)	4248 (2805; 7332)	4689 (2628; 7527)
	Тест 2	4945 (2022; 12019)	4716 (2054; 13310)	4777 (2505; 7953)
	Тест 3	5061 (2932; 4314)	4149 (1887; 9532)	4617 (2110; 7983)
Потужність "дуже" низько-частотної складової, VLF %	Фон	33 (21; 44)	37 (19; 64)	31 (20; 43)
	Тест 1	27 (21; 40)	31 (20; 47)	36 (27; 42) Л-Ф
	Тест 2	16 (10; 25) ***	25 (14; 32) *#	21 (10; 34) *#
	Тест 3	17 (16; 33)	33 (23; 42) &	27 (19; 36)
Потужність низько-частотної складової, %	Фон	25 (19; 31)	23 (15; 30)	30 (21; 39) Л-О
	Тест 1	33 (28; 44)**	36 (31; 40)**	31 (26; 38) Л-Ф
	Тест 2	35 (32; 42)**	37 (30; 47)**	35 (27; 42)
	Тест 3	35 (32; 41)**	32 (28; 38)**&	33 (31; 39)
Потужність високо-частотної складової, HF%	Фон	41 (30; 53)	34 (18; 52)	37 (28; 46)
	Тест 1	35 (26; 44)	32 (22; 38)	32 (25; 38)
	Тест 2	44 (30; 55) #	36 (23; 51) #	41 (29; 52)
	Тест 3	41 (19; 48)	30 (22; 43)	40 (29; 45)

Примітки: ** – p<0,01, * – p<0,05 – тест відносно до фону;

– p<0,01, # – p<0,05 – тест 2 відносно тесту 1;

++ – p<0,01, + – p<0,05 – тест 3 відносно тесту 1;

&& – p<0,01, & – p<0,05 – тест 3 відносно тесту 2;

Л-О – p<0,05 – значущі відмінності показника у лютеїнову фазу по відношенню до овуляції

Л-Ф – p<0,05 – значущі відмінності показника у лютеїнову фазу по відношенню до фолікулярної фази

О-Ф – p<0,08 – відмінності показника у овуляцію по відношенню до фолікулярної фази

А от в дослідженні [10] отримані зовсім протилежні дані: зростання низько-частотного компонента в фолікулярну фазу та його зниження в лютеїнову. Але дослідження проводилось лише на 6 жінках, що, на нашу думку, є недостатнім для адекватної статистичної обробки даних. В дослідженні [11] зростання активності симпатичного відділу під час лютеїнової фази було пов'язано із рівнем вираженості передменструального синдрому. Причому в тих обстежуваних, які не мали скарг на його протікання, вірогідних змін активності відділів автономної нервової системи порівняно з фоліку-

лярною фазою не було виявлено. А в обстежуваних, які страждали на передменструальний синдром, відмічалося суттєве зростання симпатичної активності в пізню лютеїнову фазу. Оскільки ми не робили опитування щодо особливостей протікання передменструального синдрому в наших обстежуваних, цілком можливо, що групування за цим критерієм в наступному дослідженні виявить більш чіткі закономірності функціонування механізмів регуляції в різні фази менструального циклу. Висока активність симпатичного відділу під час лютеїнової фази виявлена не тільки опосередковано через

показники ВСР. Так, в роботі *Minson C.T.* з співавт. [12] показано, що середині лютеїнової фази вища чутливість симпатичного барорефлексу, та вища концентрація норадреналіну в плазмі порівняно з ранньою фолікулярною фазою. Який механізм лежить в основі підвищеної активності симпатичного відділу в лютеїнову фазу є питан-

ням, яке залишається дискусійним. Проте можна припустити, що це є результатом зниження концентрації естрогену в цей період. Згідно даних *Saleh, Connell* [13], естроген посилює активність блукаючого нерву, а підвищення рівня ФСГ, ЛГ та прогестерону можуть пригнічувати вплив естрогену на автономну регуляцію серця.

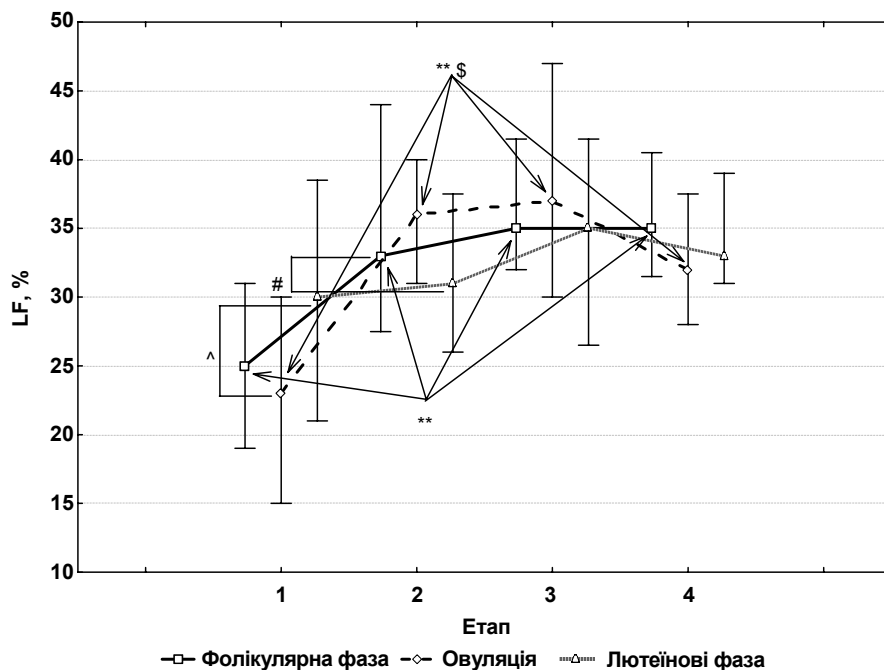


Рис. 1. Потужність низькочастотної складової спектру (LF, %) у різні фази менструального циклу (n=20)

Примітки:

1. Стан спокою.

2. Тест на асоціативну пам'ять.

3. Тест "реакція вибору".

4. Тест "коректурна проба".

** – $p < 0,01$ – значущі відмінності показника під час тесту по відношенню до фону

\$ – $p < 0,05$ – значущі відмінності показника під час тесту 3 по відношенню до тесту 2

^ – $p < 0,05$ – значущі відмінності показника у лютеїнову фазу по відношенню до овуляції

– $p < 0,05$ – значущі відмінності показника у лютеїнову фазу по відношенню до фолікулярної фази

Висновки. Під час лютеїнової фази менструального циклу спостерігається переважання симпатичних механізмів регуляції серцевого ритму порівняно з овуляцією та фолікулярною фазою.

Розумове навантаження в лютеїнову фазу не супроводжується зростанням активності симпатичного відділу АНС, характерного для фолікулярної фази та овуляції, що може пояснюватись високим вихідним рівнем симпатичної активації.

1. *Malliani A.* The Pattern of Sympathovagal Balance Explored in the Frequency Domain // *News in Physiological Sciences*. – 1999. – Vol. 14, № 3. – P. 111–117. 2. *Баевский Р.М., Иванов Г.Г.* Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения // Москва. – 2000. 3. *Snieder H., van Doorn L.J., Boomsma D.I., Thayer J.F.* Sex differences and heritability of two indices of heart rate dynamics: a twin study // *Twin Res Hum Genet*. 2007. – V.2. – P. 364–372. 4. *Bonnemeier H., Richardt G., Potratz J., Wiegand UK, Brandes A, Kluge N, Katus H.A.* Circadian profile of cardiac autonomic nervous modulation in healthy subjects: differing effects of aging and gender on heart rate variability // *J. Cardiovasc Electrophysiol*. 2003 V.8, P.791–799. 5. *Umetani K., Singer D.H., McCratty R., Atkinson M.* Twenty-four hour time domain heart rate variability and heart rate: relations to age and gender over nine decades // *J. Am Coll Cardiol*. 1998. – V. 31. – №3. – P. 593–601. 6. *Фіні-*

монова Н.Б., Макачук М.Ю., Мірошник Т., Качуріна К. Взаємозв'язки між показниками асоціативної і оперативної пам'яті у жінок та чоловіків // *Вісник КНУ імені Тараса Шевченка. Серія "Біологія"*. 2008. – (друк). 7. *Філімонова Н.Б.* Комп'ютерна експрес-методика для визначення психофізіологічного стану людини // В кн.: Матеріали II Міжнародної наук.-метод. конф. "Культура здоров'я як предмет освіти". Херсонський держ. пед.ун-т., 2000р. – с. 204–209. 8. *Sato N, Miyake S.* Cardiovascular reactivity to mental stress: relationship with menstrual cycle and gender // *J Physiol Anthropol Appl Human Sci*. 2004 V.6. – P. 215–223. 9. *Dimitriev D.A., Saperova E.V., Dimitriev A.D., Karpenko Iu.D.* Features of cardiovascular functioning during different phases of the menstrual cycle // *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2007 – V. 93 – №3. – P. 300–305. 10. *Princi T, Parco S, Accardo A, Radillo O, De Seta F, Guaschino S.* Parametric evaluation of heart rate variability during the menstrual cycle in young women // *Biomed Sci Instrum*. 2005. – V. 41. – P. 340–345. 11. *Matsumoto T, Ushiroyama T, Morimura M, Moritani T, Hayashi T, Suzuki T, Tatsumi N.* Autonomic nervous system activity in the late luteal phase of eumenorrheic women with premenstrual symptomatology // *J Psychosom Obstet Gynaecol*. – 2006. – V. 27. – № 3. – P. 131–139. 12. *Minson C.T., Halliwill J.R., Young T.M., Joyner M.J.* Influence of the menstrual cycle on sympathetic activity, baroreflex sensitivity, and vascular transduction in young women // *Circulation*. – 2000. – V. 101, №8. – P. 862–868. 13. *Saleh T.M., Connell B.J.* 17beta-Estradiol modulates baroreflex sensitivity and autonomic tone of female rats // *J. Autonom. Nerv. Syst*. – 2000. – V.80. – P. 148–161.

Надійшла до редколегії 24.04.08

УДК.577.3

Д. Ноздренко, канд. біол. наук,
І. Бардадим, студ.,
Д. Заводовський, студ.

ЗАЛЕЖНІСТЬ ВСТАНОВЛЕННЯ РІВНОВАЖНОГО СТАЦІОНАРНОГО СТАНУ СКОРОЧЕННЯ КАМБАЛОПОДІБНОГО М'ЯЗУ ЩУРА ВІД ЗМІНИ ЧАСТИТИ МОДУЛЬОВАНОЇ ЕЛЕКТРОСТИМУЛЯЦІЇ

В роботі досліджені параметри скорочення камбалоподібного м'язу щура викликаного модулюючим стимуляційним сигналом. Отримані результати показують що гістерезис м'язового скорочення є важливою нелінійною властивістю активного м'язу. Він модернізує та змінює макропараметри скорочення залежно від зміни зовнішніх умов.

In this article, parameters of rat salens muscle contraction induced with modulating stimulative signal were investigated. Obtained data demonstrate the muscle contraction hysteresis as important nonlinear property of active muscle. It is pointed out that hysteresis determines macroparameters of muscle contraction according to environment.

Вступ. Відомо, що природний стимулюючий сигнал, знаходячись у досить вузьких межах частотних, амплітудних та часових характеристик в нормі, широко варіює при відхиленні м'язу від фізіологічного стану [1–3]. Очевидно, що зміна характеристик стимулюючого сигналу може вагомо впливати на загальний процес скорочення. Дане питання є на сьогодні малодослідженим. Скорочення скелетного м'язу є складним, багатоступеневим процесом. Незважаючи на широкий спектр досліджень м'язової активності, механізм скорочення остаточно не встановлено. Існуючі концепції часто носять суто гіпотетичний характер і наразі, не можуть повною мірою пояснити експериментальні результати. Одним з таких феноменів є нелінійність скоротливих процесів, що протирічить широко розповсюдженій гіпотезі ковзання, згідно якої процес скорочення повинен здійснюватися лінійно. Гістерезис м'язового скорочення в деякій мірі враховується та компенсується на рівні ЦНС [4–6], при функціонуванні найпростіших спінальних рефлексів центральні нервові команди збільшують швидкість руху. В той же час питання про відношення нелінійних властивостей м'язу та еферентних сигналів і закономірності перетворення еферентної активності центральних нейронів в динамічний компонент м'язового скорочення залишається відкритим.

Методика. Експерименти, виконували на дорослих щурах масою від 0,2 до 0,3 кг. Стандартна підготовка полягала в препаруванні й канюлюванні (для введення фармпрепаратів і для виміру тиску), трахеотомії та ламінектомії на рівні поперекового відділу спинного мозку. У досліджах, для підготовки до модульованої стимуляції еферентів у сегментах L7-S, перерізували вентральні корінці безпосередньо в місцях їхнього виходу зі спинного мозку. Стимуляцію здійснювали електричними імпульсами прямокутної форми тривалістю 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів, керованим АЦП. У ході експерименту препарували камбаловидний м'яз. М'яз ретельно звільняли від оточуючих тканин, його васкуляризація при цьому не порушувалася. Сухожилля м'яза перерізували та приєднували до механостимулятора. Зміну сили виміряли за допомогою чотирьох тензорезисторів, наклеєних із двох сторін на сталеву пластину й включених у мостову вимірювальну схему. Вимірювання довжини м'яза здійснювали прецизійним потенціометричним датчиком [7].

Результати та обговорення. Реакція м'язу на ступінчасту зміну довжини складалась з вираженої динамічної компоненти та наступного переходу до нового рівня сили. Слід відмітити, що постійні часу спаду динамічного компоненти були більші в випадках вкорочення м'язу, що відповідає асиметрії часового плину перехідних процесів: зовнішнє навантаження – довжина м'язу.

Як видно з рисунку 1, гістерезисні ефекти характеризуються вираженою післядією при повільних змінах довжини та тривалому утриманні досягнутого рівноважного стану, час переходу зусилля до нового рівня після закінчення руху досягав 6–7 секунд та більше, а сам цей рівень був більшим при подовженні м'язу або меншим при вкороченні.

На рисунку 2 показана залежність часової затримки початку руху при використанні ступінчатої модульованої стимуляції з різним рівнем постійного модульованого стимуляційного сигналу та з різним рівнем постійного навантаження. Як видно з рисунку 2 встановлені значення сили при змінах довжини майже у всіх випадках відрізнялись від максимальних значень сили. Ця різниця була чітко виражена в фазах подовження, при цьому м'яз розвивав більше зусилля під час повільної зміни довжини, гістерезисні ефекти які виникали в м'язі під час змін довжини приводили до випередження зусилля.

Таким чином, показана гістерезисна зміна сили м'язу яка складалась в її збільшенні при попередньому подовженні та зменшенні при скороченні приводила до розбіжностей в встановленні рівноважної довжини м'язу залежно від передісторії її руху. При однакових значеннях частоти еферентної стимуляції та зовнішнього навантаження в залежності від напрямку руху встановлюються значення довжини м'язу що закономірно відрізняються: більша довжина при вкороченні та менша довжина при подовженні. Одже, гістерезисні ефекти м'язового скорочення можуть приводити до розбіжностей в встановленні рівноважних значень стаціонарних станів активного м'язу та сили взаємодії м'язів антагоністів.

Слід відмітити, що за даних умов стимуляційного сигналу тривалість утримання рівноважного стаціонарного стану відповідала саме ділянкам на фазах лінійного спаду стимуляції, а утримання стаціонарної ділянки скорочення значно перевищувало по часу генерацію максимальної частоти подразника. В той же час у випадках використання максимальних частот стимуляції (і, відповідно, максимальних швидкостей приросту подразнення) дотетанічна ділянка м'язової відповіді співвідносилася з утриманням максимальної частоти стимуляції протягом декількох секунд. Однак, слід зазначити майже повну відсутність кореляційної залежності часової затримки початку скорочення камбалоподібного м'язу з величиною прикладеного зовнішнього навантаження. Виходячи з цього можна вважати, що за даних умов, запізнення виходу скорочення на стаціонарний рівень компенсується більш тривалим утриманням цього рівня на фазах лінійного зменшення стимуляційного сигналу. Це в свою чергу веде до залежності швидкості вкорочення не тільки від максимальної частоти і швидкості приросту на дотетанічних ділянках, а і швидкості зменшення подразнюючого стимулу до фоновому рівня імпульсації.

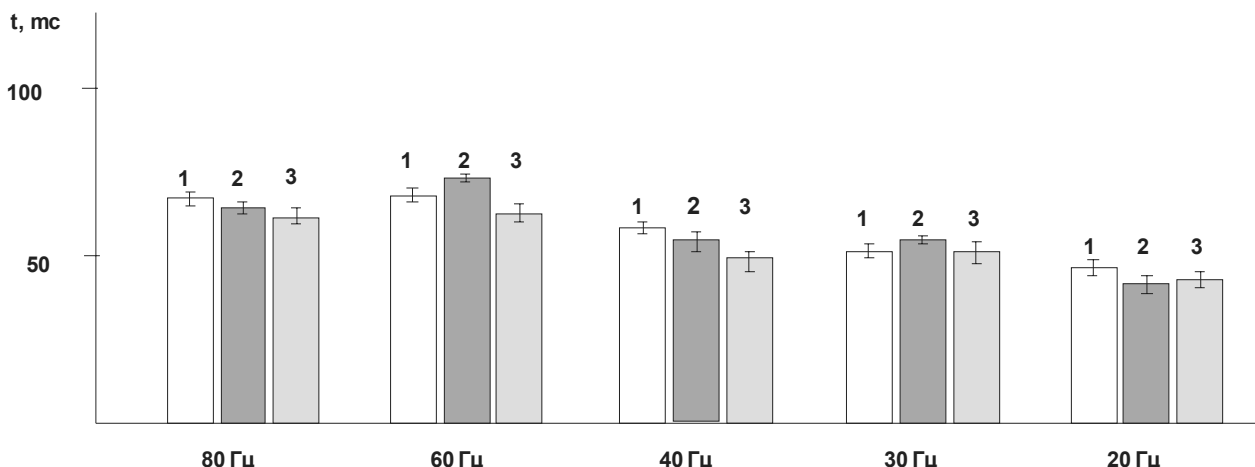


Рис. 1 Залежність часової затримки початку скорочення камбалоподібного м'язу при використанні модулюючого стимуляційного сигналу з лінійним збільшенням частоти від рівня прикладеного зовнішнього навантаження (трикутна стимуляція).
1, 2, 3 – рівні зовнішнього навантаження 0,4, 0,3 та 0,2 Н/м відповідно.

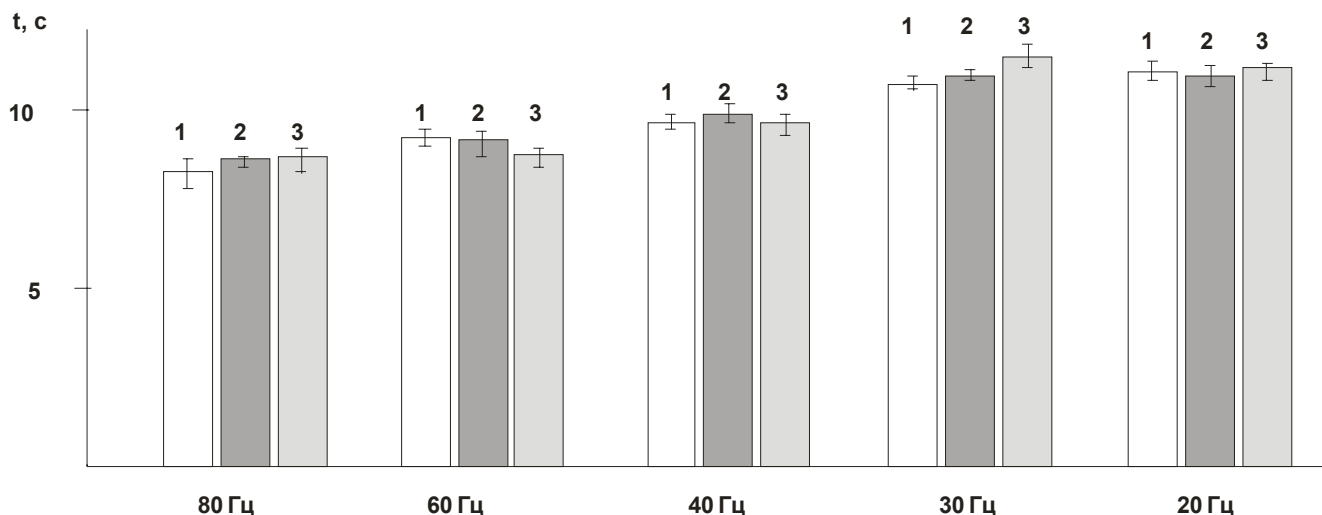


Рис. 2. Діаграма часової залежності встановлення рівноважного стаціонарного стану скорочення камбалоподібного м'язу щура.
1, 2, 3 – рівні зовнішнього навантаження 0,4, 0,3 та 0,2 Н/м відповідно.

Наведені данні показують, що при аналізі рухових реакцій м'язу необхідно враховувати динамічні властивості перетворення сегментарної та низхідної активності на рівні спинного мозку, в тому числі й окремими мотонейронами. Результати експериментів свідчать про існування певної "вимикаючої" структури, яка припиняє процес скорочення незалежно від параметрів прикладеної зовнішньої стимуляції. На сьогодні подібного утворення не виявлено на жодному з досліджених рівнів (група м'язів, поодинокі м'яз, нейрони), що свідчить про її молекулярний характер.

Отже, проведене дослідження показує наявність нелінійного гістерезисного зв'язку між основними макропараметрами, що контролюють стан активного м'язу: рівень еферентної стимуляції, зовнішнє навантаження, сила – довжина. Це призводить до розбіжностей між встановленням рівноважного стаціонарного стану скорочення і частотою імпульсації еферентів. Частотно модульована активність мотонейронних пулів, котра і є первісним компонентом активації процесу скорочення м'язу, корегує процес скорочення залежно від попереднього

стану м'язу, так і від зміни зовнішніх умов в процесі скорочення – передісторії руху. Таким чином, продемонстровані лабільні властивості гістерезисних ефектів скорочення здатні перетворювати лінійні або циклічні еферентні сигнали в нелінійну м'язову відповідь і трансформувати її в невідповідні до еферентного сигналу скорочення.

1. Мірошніченко М.С., Залоїло І.А., Ноздренко Д.М., Прилуцький Ю.І. // Динаміка скорочення ізольованого м'язового волокна" // Фізика живого – 2001. – 9, №2. – с. 71–78. 2. Kostyukov A.I., Korchak O.E. Length changes of soleus muscle under frequency-modulated distributed stimulation of efferents in isotony // Neuroscience. – 1998. – V.82. – P. 943–955. 3. Edgley SA, Lemor RN. Experiments using transcranial magnetic brain stimulation in man could reveal important new mechanisms in motor control // J Physiol. 1999 Dec 15;521 Pt 3:565. 4. Костюков А.И. // Динамические свойства двигательной системы млекопитающих. – К.: ФАДА, ЛТД, 2007 – 199 с. 5. Tal'nov A.M., Cherkassky V.L., Kostyukov A.I. Movement-related and steady state electromyographic activity of human elbow flexors in slow transition movements between two equilibrium states // Neuroscience – 1997. – V. 79, №3. – P. 923–933. 6. Edman K.A.P. Myofibrillar fatigue versus failure of activation // Adv. Exp. Med. Biol. – 1995. – V. 384. – P. 29–43. 7. Мірошніченко Н.С., Ноздренко Д.Н., Залоїло І.А. // Динаміка скорочення ізольованого м'язового волокна жаби при високочастотній модульованій стимуляції. – Фізика живого. – 2002. – 10, №1. – С. 41–48.

Надійшла до редколегії 15.03.08

УДК 581.8 (477.52-751.3)

О. Лукаш, канд. біол. наук, докторант

ГЕОГРАФІЧНА СТРУКТУРА ФЛОРИ СУДИННИХ РОСЛИН СХІДНОГО ПОЛІССЯ

Проведений географічний аналіз флори судинних рослин Східного Полісся. Встановлено, що сучасна флора регіону поповнюється за рахунок американських та азійських видів, які натуралізуються. Виділені види на межі ареалу. Показано явище крайового ефекту.

The geographical analysis of flora vascular plants of East Polissia is carried out. Established, that the modern flora of region replenishes at the expense of American and Asian species, which are naturalized. The species on border of natural habitat are allocated. The phenomenon of extreme effect is shown.

Вступ. Основним поняттям у географії рослин є ареал, що уособлює територію чи акваторію, де поширений відповідний таксон [3]. У зв'язку з тим, що поширення кожного виду є неповторним, неможливим є створення єдиної загальновизнаної класифікації ареалів. О.І. Толмачов [4] зазначає, що загальнопланетарну класифікацію географічних елементів, мабуть, не можна робити – та і навряд чи вона практично потрібна. Я.П. Дідух [3] наголошує, що система ареалів є досить складною і розмитою, тому знайти основу поділу, отже, і класифікувати ареали, за існуючими правилами формальної логіки неможливо. Ми поділяємо думку О.О. Глазкової [2] про те, що кожен автор, виходячи зі специфіки досліджуваної флори та поставлених завдань, розробляє власну систему географічних елементів, завжди спираючись на досвід попередніх дослідників. Метою нашого дослідження було з'ясувати з хорологічних позицій характер флори Східного Полісся в цілому та його фізико-географічних районів, а також з'ясувати напрямки сучасного розвитку флори регіону.

Матеріали та методика досліджень. Для географічного аналізу флори судинних рослин Східного Полісся ми використали створену нами базу даних "Flora-SchidPol". Застосовували метод біогеографічних координат [5]. В основу виконання аналізу покладена схема ботаніко-географічного районування земної кулі, розроблена Г. Мойзелем, Е. Єгером, Е. Вайнертом [6]. Відомості про ареали видів одержані з різних літературних джерел. Географічний аналіз проведений для спонтанної флори Східного Полісся (1307 видів) без розподілу на абorigенну та спонтанну фракції.

Результати та їх обговорення. За максимальною приуроченістю ареалів видів до тієї чи іншої широтної зони ми зарахували їх до 19 груп, а також до п'ятизональної групи географічних елементів (рис., 2). За протяжністю ареалів на тих чи інших довготних ділянках виділили 9 довготних груп географічних елементів (рис., 1).

Порівняння співвідношення широтних географічних елементів свідчить, що у флорі Східного Полісся переважають температно-субмеридіональні види (284; 21,73%). Проте відсоток температно-субмеридіональних видів у кожному окремо взятому фізико-географічному районі (ФГР) у жодному випадку менший за середнє значення для Східного Полісся в цілому і коливається у межах 15,89–20,00%. Це свідчить про територіальну "розсіянність" видів температно-меридіональної групи на Східному Поліссі. Найбільша абсолютна кількість температно-субмеридіональних видів у Гомельському (182 види), Козелецько-Куликівському (181 вид) та Дніпровсько-Нижньодеснянському (174 види) ФГР.

Кількість бореально-субмеридіональних та температно-меридіональних видів на Східному Поліссі становить відповідно 202 та 201. Бореально-субмеридіональні види становлять 15,46% досліджуваної флори судинних рослин. Разом з тим представленість у всіх фізико-географічних районах видів цієї групи перевищує цей показник на 3–8%. Найбільша кількість бореально-субмеридіональних видів у Гомельському (179), Середньодеснянсько-Нижньодеснянському та Дніпровсько-Нижньодеснянському (по 175 видів) ФГР. Порівняно з відсотком температно-меридіональних видів на Східному Поліссі в цілому (15,38%) лише у Любецько-Чернігівському та Козелецько-Куликівському ФГР він більший на 1–2%. За абсолютною кількістю температно-меридіональних видів перші позиції посідають Козелецько-Куликівський (158 видів), Середньодеснянсько-Нижньодеснянський (135 видів) та Гомельський (127 видів) ФГР.

До п'яти провідних географічних широтних груп флори Східного Полісся належить бореально-температна (168 видів; 12,85%). Цій кількості для флори регіону в цілому та окремих фізико-географічних районів поступається кількість видів з бореально-меридіональним (128; 9,79%) та температним (106; 8,11%) типами ареалів.

Отже, у флорі Східного Полісся переважають види з ареалом, що охоплює головним чином температну та субмеридіональну зони Голарктики. Це цілком узгоджується з географічним розташуванням регіону досліджень. Ми не виявили в межах Східного Полісся зміни чисельності провідних груп видів, виділених за зональним поширенням, у широтному чи довготному напрямку.

Незначний широтний діапазон території Східного Полісся дозволяє взяти до уваги невеликі значення показників впливу на сучасну флору досліджуваного регіону південних та північних флорогенетичних центрів. Сумарний відсоток субмеридіональних, субмеридіонально-меридіональних та субмеридіонально-аустральних видів (35; 2,68%) майже у 2 рази перевищує відсоток бореальних та аркто-бореальних видів (18; 1,37%). Найвищий показник "бореальності" флор спостерігаємо у північно-східній частині Східного Полісся. Сумарний відсоток аркто-бореальних та бореальних видів у Нерусо-Деснянському ФГР становить 1,83%, у Середньодеснянсько-Нижньодеснянському – 0,87%, при тому, що для половини фізико-географічних районів Східного Полісся цей показник не перевищує 0,16%.

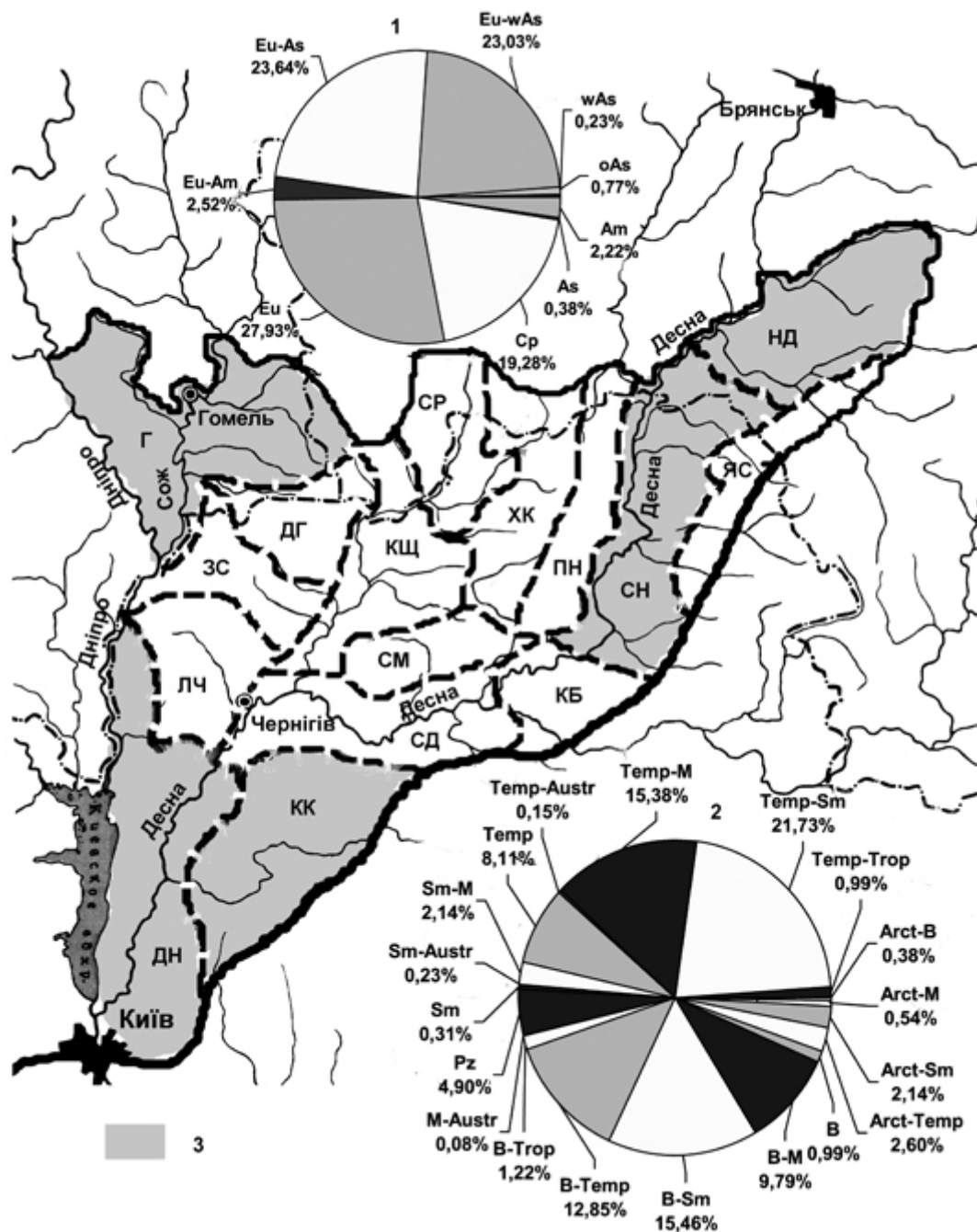


Рис. Фізико-географічні райони Східного Полісся:

Г – Гомельський, СР – Сновсько-Ревнинський, ХК – Холминсько-Костробобринський, ПН – Понорницько-Новгород-Сіверський, НД – Нерусо-Деснянський, СН – Середньодеснянсько-Нижньошосткинський, ЯС – Ямпільсько-Середино-Будський, ЗС – Замглайсько-Седнівський, ДГ – Добрянсько-Городнянський, КЩ – Корюківсько-Щорський, СМ – Сосницько-Менський, КБ – Коропсько-Батуринський, ЛЧ – Любецько-Чернігівський, СД – Середньо-Деснянський, ДН – Дніпровсько-Нижньодеснянський, КК – Козелецько-Куликівський. Розподіл видів флори судинних рослин Східного Полісся за широтними (2) типами ареалів: Arct-B – аркто-бореальний, Arct-Temp – аркто-температний, Arct-Sm – аркто-субмеридіональний, Arct-M – аркто-меридіональний, B – бореальний, B-Temp – бореально-температний, B-Sm – бореально-субмеридіональний, B-M – бореально-меридіональний, B-Trop – бореально-тропічний, Temp – температурний, Temp-Sm – температурно-субмеридіональний, Temp-M – температурно-меридіональний, Temp-Trop – температурно-тропічний, Temp-Austr – температурно-аустральний, Sm – субмеридіональний, Sm-M – субмеридіонально-меридіональний, Sm-Austr – субмеридіонально-аустральний, M – субмеридіонально-аустральний, M-Austr – меридіонально-аустральний, Pz – плури зональний. Розподіл видів флори судинних рослин Східного Полісся за довготними (1) типами ареалів: Ср – циркумполярний, Eu – європейський, Eu-wAs – європейсько-західноазійський, Eu-As – європейсько-азійський, As – азійський, oAs – східноазійський, wAs – західноазійський, Eu-Am – європейсько-американський, Am – американський. Крайовий ефект: 3 – фізико-географічні райони з найбільшою кількістю видів (загальною та за провідними хорологічними групами)

Виявлені аркто-бореальні (*Avenella flexuosa* (L.) Drejer, *Calamagrostis langsdorffii* (Link) Trin., *Carex chondrorhiza* Ehrh., *Salix lapponum* L.) та бореальні (*Carex aquatilis* Wahlenb., *C. brunescens* (Pers.) Poir.,

C. disperma Dew., *C. globularis* L., *C. vaginata* L., *Chamedaphne calyculata* (L.) Moench, *Corallorhiza trifida* Chatel., *Dactylozhiza traunsteineri* (Saut. ex Rchb.) Soy, *Listera cordata* (L.) R. Br., *Malaxis monophyllos* (L.) Sw.)

види перебувають у регіоні на крайній південних позиціях свого ареалу. Тут відомі лише їх поодинокі місцезнаходження у північних ФГР Східного Полісся. Відсутність та зникнення місцезростань бореальних видів у більш південних районах Східного Полісся можна пояснити як кліматичними умовами так і наслідками антропогенного впливу – знищенням місцезростань. Бореальні види *Larix decidua* Mill. та *L. sibirica* Ledeb., виявлені у регіоні, є інтродуцентами, які трапляються у лісових культурах.

По території Східного Полісся проходить південна межа суцільного поширення низки аркто-температних (*Andromeda polifolia* L., *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., *Huperzia selago* (L.) Bernh. ex Schrank et Mart., *Lycopodium annotinum* L., *Linnaea borealis* L., *Pedicularis sceptrum-carolinum* L., *Salix myrsinifolia* Salisb., *Trollius europaeus* L.) та борео-температних (*Betula humilis* Schrank, *Calla palustris* L., *Carex limosa* L., *Cypripedium calceolus* L., *Daphne mezereum* L., *Diphysastrum complanatum* (L.) Holub, *D. zeilleri* (Rouy) Holub, *Drosera rotundifolia* L., *Eremogone saxatilis* (L.) Ikonn., *Goodyera repens* (L.) R. Br. L., *Phegopteris connectilis* (Michx.) Watt, *Polystichum braunii* (Spenn.) Fee, *Salix vinogradovii* A.K. Skvortsov, *S. myrtilloides* L.), температурних (*Astragalus arenarius* L., *Botrychium virginianum* (L.) Sw. та *Laserpitium latifolium* L.) видів, а також *Juniperus communis* L., *Pyrola chlorantha* Sw. (B-Sm), *Ledum palustre* L. (Arct-Sm), *Drosera intermedia* Hayne (Temp-Sm), *Alnus incana* (L.) Moench (B-Sm).

Найбільший вплив південних флор спостерігаємо у Любецько-Чернігівському та Козелецько-Куликівському ФГР, де сумарний відсоток субмеридіональних, субмеридіонально-меридіональних та субмеридіонально-аустральних видів становить відповідно 2,42 та 2,09%. "Опівденювання" флори Східного Полісся головним чином відбувається за рахунок культурних видів, які дичавіють в рудералізованих місцезростаннях, і з низькою частотою трапляються поблизу дач, городів, садів, парків та лісопарків у центральній та південній частині Східного Полісся. До таких видів належать сільськогосподарські культури (*Armoracia rusticana* P. Gaertn., B. Mey. & Schreb., *Fagopyrum esculentum* Moench, *Lycopersicon esculentum* Mill. s. l., *Lens culinaris* Medik., *Lupinus luteus* L., *Panicum miliaceum* L.), декоративні трави (*Aster salignus* Willd., *Nicandra physaloides* (L.) P. Gaertn., *Physalis ixocarpa* Brot. ex Hornem.) та плодові й декоративні деревні форми (*Aesculus hippocastanum* L., *Cerasus tomentosa* (Thumb.) Wall., *Chaenomeles japonica* (Thumb.) Lindl., *Hippophaë rhamnoides* L., *Morus alba* L., *Syringa vulgaris* L., *Ulmus pumila* L.). На Східному Поліссі, насамперед у південній його частині, має місце поширення протягом останнього десятиліття вздовж транспортних шляхів з південних районів бур'янових видів, зокрема *Bromus japonicus* Thunb., *Ceratocarpus arenarius* L., *Corispermum declinatum* Stephan ex Iljin, *C. hyssopifolium* L., *Erucastrum armoracioidea* (Czern. ex Turcz.) Cruchet, *Isatis tinctoria* L., *Kochia scoparia* (L.) Schrad., *Ornithopus sativus* Brot., *Potentilla orientalis* Juz., *Salsola tragus* L. s. str., *Symphytum asperum* Lepech. У регіоні ми спостерігаємо поширення степових видів на остепнених ділянках, зокрема *Allium rotundum* L., *Echium russicum* J.F. Gmel., *Galatella rossica* Novopokr., *Linum perenne* L., *Poa bulbosa* L., *Stipa pennata* L. На слабкозасолених алювіальних новоутвореннях антропогенного походження в околицях м. Чернігова активно поширюється *Typha laxmanii* Lepech., який з'явився тут 3–5 років тому.

На Східному Поліссі перебувають на північній межі ареалу температурно-меридіональні види (*Aster amellus* L., *Centaureum pulchellum* (Sw.) Druce, *Cerasus fruticosa*

(Pall.) Woronow, *Linum flavum* L.), температурно-субмеридіональні (*Phlomis tuberosa* L., *Carex disticha* Huds., *Prunus spinosa* L., *Secale sylvestre* Host., *Scorzonera purpurea* L.) та температурно-тропічний вид *Lemna gibba* L., на північно-східній межі ареалу – *Dentaria bulbifera* L., *D. quinquefolia* M. Bieb., *Galanthus nivalis* L., *Thesium linophyllum* L., *Prunella grandiflora* (L.) Scholl.

Наші дослідження підтверджують висновок Я.П. Дідуха [3] про те, що під впливом змін клімату, глобального потепління види, які знаходяться на північній межі ареалу розширюють ареал за умов сприяння інших екологічних факторів (у нашому випадку ксерофітизації рослинного покриву у південних та центральних районах Східного Полісся).

Аналіз довготних діапазонів ареалів видів флори Східного Полісся (рис., 1) свідчить, що передуючі позиції займають європейські види (365; 27,93%). Проте їх участь у флорах окремих ФГР знижується до 24,74–19,1%. Найбільші абсолютні показники європейських видів у Гомельському (234), Середньодеснянсько-Нижньошосткинському (221) та Козелецько-Куликівському (217) ФГР.

На східній межі ареалу перебувають європейські види *Aquilegia vulgaris* L., *Carex brizoides* L., *Carpinus betulus* L., *Genista germanica* L., *Sedum sexangulare* L., *Scilla bifolia* L., *Peucedanum cervaria* (L.) Lapeyr., на східній – *Scilla siberica* Haw. У регіоні трапляються східноєвропейські ендемічні види *Dianthus fischeri* Spreng., *D. pseudosquarrosus* (Novák) Klok., *D. stenocalyx* Juz.

Вагомий внесок у формування флори Східного Полісся європейсько-азійських (309; 23,64%) та європейсько-західноазійських (301; 23,03%) видів. Для кожного окремого ФГР відсоток європейсько-азійських видів збільшується до 25,52–29,84%. З цієї групи видів особливо рідкісним явищем є трапляння *Corydalis marschalliana* (Pall. ex Willd.) Pers. на північно-західній межі ареалу. Стосовно європейсько-західноазійських видів маємо незначні відхилення їх відсотку у окремих ФГР відносно показника для Східного Полісся в цілому. Найбільша кількість видів цих груп у Гомельському, Козелецько-Куликівському та Середньодеснянсько-Нижньошосткинському ФГР. 252 циркумполярні види становлять 19,28% видового складу флори Східного Полісся. Їх найбільша кількість у Нерусо-Деснянському (208), Гомельському (207) та Середньодеснянсько-Нижньошосткинському (205) ФГР.

Переважають провідних груп видів, виділених за максимальною приуроченістю їх ареалів до того чи іншого широтного й довготного регіону, та загальної кількості видів у крайніх ФГР є проявом крайового ефекту, що у нашому випадку виявляється у тенденції збільшення чисельності видів на границях між Лісо-степовою і Лісовою зонами, а також між Південною та Східною підпровінціями Поліського краю (рис., 3), що обумовлене поєднанням більш різноманітних екологічних умов. Крайовий ефект підкреслює природність виділення Східного Полісся.

Участь у флорі Східного Полісся видів американського та азійського походження незначна (47; 3,6%). Проте факт їх присутності не пов'язаний з процесом природного флорогенезу і є свідченням антропогенного впливу на флору. Серед північноамериканських видів, які натуралізуються у порушені фітоценози, ми зафіксували декоративні деревні види (*Acer saccharinum* L., *Amorpha fruticosa* L., *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot, *Catalpa bignonioides* Walter, *Fraxinus pennsylvanica* Marshall, *Gleditsia triacanthos* L., *Padus serotina* (Ehrh.) Ag., *P. virginiana* (L.) Roem., *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch., *Pinus banksiana* Lamb., *P. strobus* L.,

Populus deltoides Marshall, *Ptelea trifoliata* L., *Quercus rubra* L., *Rhus typhina* L., *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim.), а також декоративні та овочеві рослини (*Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. & A.Gray, *Epilobium pseudorubescens* A.K.Skvortsov, *Fragaria virginiana* Duchensne, *Phacelia tanacetifolia* Benth., *Phlox paniculata* L., *Physalis ixocarpa* Brot. ex Hornem., *Sisyrinchium septentrionale* Bicknell).

Спостерігаємо активну інвазію у порушені природні фітоценози північноамериканських видів, які раніше натуралізувалися на Східному Поліссі: *Acer negundo* L., *Ambrosia artemisiifolia* L., *Asclepias syriaca* L., *Bidens frondosa* L., *Helianthus tuberosus* L., *Iva xanthiifolia* Nutt., *Lepidium densiflorum* Schrad., *Lupinus polyphyllus* Lindl., *Oenothera rubraucalis* Klebahn., *Phalacrolooma annuum* (L.) Dumort., *Ph. septentrionale* (Fernald & Wiegand) Tzvelev, *Ph. strigosum* (Muehl. ex Willd.) Tzvelev, *Robinia pseudoacacia* L., *Rudbeckia laciniata* L., *Silphium perfoliatum* L., *Solidago canadensis* L. У зв'язку з їх значним поширенням у Європі ми віднесли їх до групи євроамериканських.

Серед видів азійського походження серед спонтанної флори антропогенно порушених фітосистем Східного Поліссі з низькою частотою трапляння виявлені види трав'яних рослин (*Fagopyrum esculentum* Moench, *Lens culinaris* Medik., *Panicum miliaceum* L., *Reynoutria japonica* Houtt., *R. sachalinensis* (F. Schmodt ex Maxim.) Nakai) та деревно-чагарникові види (*Cerasus tomentosa* (Thumb.) Wall., *Chaenomeles japonica* (Thumb.) Lindl., *Juglans mandshurica* Maxim., *Lycium barbatum* L., *Morus alba* L., *Phellodendron amurense* Rupr., *Rosa rugosa* Thunb., *Spiraea japonica* L. f., *Spiraea salicifolia* L., *Sorbaria sorbifolia* (L.) A.Braun, *Ulmus pumila* L., *Vitis amurensis* Rupr.).

Співвіднесення широтних та довготних груп ареалів видів показало, що найбільш чисельною у флорі Східного Поліссі є температурно-меридіональна європейська група видів (138; 10,56%). Наступні позиції у географічному спектрі флори посідають температурно-субмеридіональні європейсько-західноазійські види (83; 6,35%), температурні європейські (76; 5,81%), бореально-субмеридіональні європейсько-азійські (72; 5,51%) та температурно-меридіональні європейсько-західноазійські

(70; 5,36%). Ці дані підкреслюють температурний та європейський характер досліджуваної флори.

Відсутність єдиного підходу до класифікації ареалів ускладнює порівняння хорологічної структури флори Східного Поліссі з такою інших флор. Проте порівняння результатів хорологічного аналізу флори Східного Поліссі з такими даними для Українського Поліссі [1] вказує на значно меншу роль у флорі досліджуваного нами регіону аркто-бореальних, бореальних, субмеридіональних, а також західноєвропейських видів.

Висновки. Основу флори судинних рослин Східного Поліссі складають європейські, європейсько-західноазійські, європейсько-азійські та циркумполярні види, поширені головним чином у температурній та субмеридіональній зонах Голарктики. Це цілком узгоджується з географічним розташуванням регіону досліджень. Співвіднесення широтних та довготних груп ареалів видів показало, що досліджувана флора має температурно-субмеридіональний європейський характер.

Спостерігаємо розвиток спонтанної флори регіону у бік її поповнення адвентивними видами американського та азійського походження шляхом первинної натуралізації та активної інвазії.

На Східному Поліссі має місце крайовий ефект, що виявляється у тенденції збільшення чисельності видів на границях між Східним Поліссі та фізико-географічними виділами, з якими воно межує.

По території Східного Поліссі знаходяться крайні південні місцезнаходження 4 аркто-бореальних та 8 бореальних видів. У досліджуваному регіоні на південній межі ареалу перебуває 43 види (в тому числі 8 аркто-температних та 14 борео-температних), на північній – 13 видів, на східній – 8 видів.

1. Андриенко Т.Л., Шеляг-Сосонко Ю.Р. Растительный мир Украинского Полесья в аспекте его охраны. – Киев: Наук. думка, 1983. – 216 с.
2. Глазкова Е.А. Флора островов Восточной части Финского залива: состав и анализ. – СПб.: Из-во С.-Петерб. ун-та, 2001. – 348 с.
3. Дідух Я.П. Географічний аналіз флори: минуле, сучасне, майбутнє // Укр. бот. журн. – 2007. – том 56, № 4. – С. 485 – 507.
4. Толмачев А.И. Введение в географию растений. – Л.: Из-во Ленингр. ун-та, 1974. – 244 с.
5. Юрцев Б.А. Флора Сунтар-Хаята. – Л.: Наука, 1968. – 235 с.
6. Meusel H., Jäger E., Weinert E. Vergleichende Chorologie der Zentraleuropäischen Flora. – Jena: Fischer Verl., 1965. – Bd. 1. – 583 s.

Надійшла до редколегії 19.03.08

ТЕМПЕРАТУРНО – ЗАЛЕЖНІ ЗМІНИ ШВИДКОСТІ ВКОРОЧЕННЯ СКЕЛЕТНОГО ВОЛОКНА ЖАБИ

Досліджено процес приросту сили скорочення поодиноких волокон скелетного м'язу жаби в ізометричному режимі під впливом двокомпонентної модульованої стимуляції. Показано наявність нелінійного характеру протікання скоротливих процесів. Продемонстрована асиметрія часового плину у встановленні рівноважного стаціонарного стану залежно від температури омиваючого розчину.

We investigated the process of a force contractility gain of frog skeletal muscle fibers in isometric regime under effect of two-component modulating stimulation. Nonlinearity of the contractile processes was shown. We demonstrated the asymmetry of equilibrium state establishing in dependence of solution temperature.

Вступ. Систематизація та облік гістерезисних ефектів м'язового скорочення дозволяє висловити серйозні сумніви в універсальності теорії ковзання і стимулює пошук альтернативних рішень, які дозволять сформулювати всебічне пояснення існуючих на сьогоднішній день експериментальних даних. Раніше нами була виявлена асиметрія часового плину у встановленні рівноважного стаціонарного стану в залежності від температури, яка виявляється на ділянках зростання сили і залежить від напрямку попереднього руху [1, 2]. У зв'язку з цим є актуальним дослідження нелінійних ефектів м'язового скорочення, викликаних модульованою електростимуляцією при змінах температури розчину, що оточує м'язове волокно. У цій роботі порівняно зусилля при експонентних змінах довжини, викликаних трапецієподіб-

ною модульованою стимуляцією з різною швидкістю наростання частоти і різних температурах розчину.

Матеріали і методи. Досліджували процеси зміни довжини і сили м'язу при фіксації зовнішнього навантаження і *східчастій* зміні частоти електростимуляції при різних температурах розчину. Експерименти проводили з використанням спеціального механічного пристрою, в якому перехід від ізометрії до ізотонії здійснювали за допомогою електрокерованого механостимулятора [1, 2, 3, 4]. Досліди проводили на поодиноких волокнах *m.tibialis* жаби *Rana temporaria*. Для реєстрації сили і довжини скорочення м'язових волокон використовували оригінальний тензометричний прилад [1]. Для підтримання постійних температурних умов у камері використовували охолоджуючий пристрій, змонтований на основі охолоджуючого кристалу і зворотної термопари [1, 2].

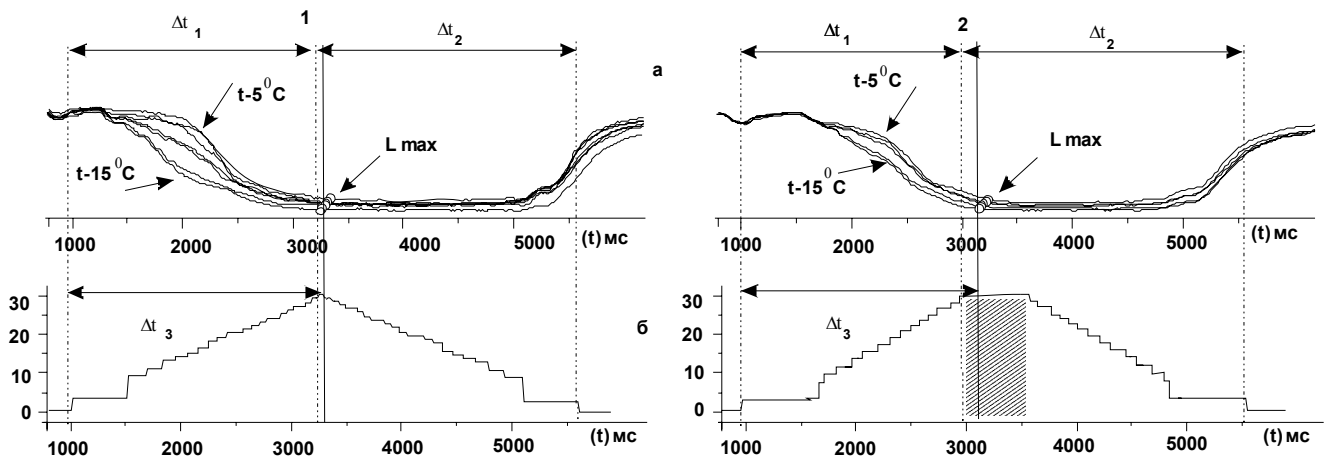


Рис. 1, 2. Криві зміни довжини м'язового волокна при застосуванні модулюючого стимуляційного сигналу (максимальна частота 30 Гц) і змінної температури розчину від 5 °С до 15 °С. (а) – криві зміни довжини м'язового волокна. (б) – часова і геометрична форма прикладеної електричної стимуляції

На кривій зміни довжини точками позначені моменти досягнення максимальної амплітуди скорочення для кожної з застосованих температур розчину. Залежність часу досягнення максимальних значень амплітуди від температури, показана прямою, яка з'єднує точки максимумів кожної з кривих. Стрілками показані криві зміни довжини волокна при найбільшій (15 °С) і найменшій (5 °С) температурі розчину. Заштрихована область відповідає часу утримання максимальної частоти стимулюючого сигналу.

На рисунках 1, 2 показана зміна довжини м'язових волокон при застосуванні модулюючого стимуляційного сигналу з частотою, що змінювалась від 0 до 30 Гц. При даних умовах чітко спостерігаються розходження в часовому плинні дотетаничної ділянки зміни довжини. При максимальній застосованій температурі розчину швидкість скорочення на ділянці Δt_1 лінійно збільшувалася, досягаю-

чи свого максимального значення на рівні 2000 мс, що відповідало частоті еферентного подразнення 16–18 Гц – основній частоті імпульсації рухового мотонейрона жаби. При подальшому лінійному підвищенні частоти подразнюючого стимулу швидкість скорочення знижувалась до часової ділянки, що відповідає часу виходу на стаціонарний рівень скорочення. При зниженні температури розчину зміна довжини дотетаничної ділянки мала нелінійний характер. Зокрема при мінімальній температурі на ділянці стимуляції 16–18 Гц зміни довжини практично не спостерігалось. Різке наростання швидкості вкорочення волокна виникало після проходження ділянки 20 Гц з виходом на лінійний рівень тільки після 25 Гц. Слід зазначити, що час встановлення стаціонарного стану практично не залежав від температурних умов експерименту, а різниця між ділянками Δt_1 і Δt_3 складала не більш 50 мс. Привертає увагу той факт,

що у випадку збільшення швидкості наростання частоти стимуляції (рис 2), часові розходження дотетаничних ділянок $\Delta t_1 - \Delta t_3$ збільшуються до 100–200 мс. У той же час зміна довжини на ділянці Δt_1 набувала практично лінійний характер, навіть при мінімальних застосовуваних температурах розчину. У даному випадку фактично спостерігається тісний зв'язок швидкості приросту еферентного подразнення і зменшення розходження між швидкостями скорочення при різних температурах тільки на дотетаничній ділянці.

Часове розходження зміни довжини вкорочення волокна при різних температурах може мати важливе функціональне значення. В умовах зниження температури швидкість переходу м'язів до нового стаціонарного стану вимагає більш високого порогу еферентного сигналу, що у свою чергу підвищує швидкість його досягнення. Швидкодія також може бути підвищена на рівні ЦНС за рахунок фазних компонентів аферентної імпульсації, спрямованих до м'яза [5]. У той же час швидкість вкорочення в умовах різкого зниження рівня еферентної активності може забезпечуватись тільки динамічними властивостями самого м'яза.

Слід відмітити, що за даних умов стимуляційного сигналу тривалість утримання рівноважного стаціонарного стану відповідала саме ділянкам лінійного спаду стимуляції. Таким чином, утримання стаціонарної ділянки скорочення перевищувало по часу генерацію максимальної частоти подразника. В той же час у випадках використання максимальних частот стимуляції (і, відповідно,

максимальних швидкостей приросту подразнення) дотетанична ділянка м'язової відповіді корелювала з утриманням максимальної частоти стимуляції. Виходячи з цього можна вважати, що за даних умов, запізнення виходу скорочення на стаціонарний рівень компенсується більш тривалим утриманням цього рівня на фазах лінійного зменшення стимуляційного сигналу. Це в свою чергу веде до залежності швидкості вкорочення не тільки від максимальної частоти і швидкості приросту стимуляції на дотетаничних ділянках, а і швидкості зменшення подразнюючого стимулу до фонового рівня стимуляції.

Усе це може свідчити про наявність зв'язку динамічних властивостей м'яза з напрямком руху і температурним градієнтом, а не зі зміною частоти еферентної стимуляції. У той же час необхідно враховувати, що у відповідній реакції м'яза присутній незначний інерційний компонент.

1. Мірошніченко М.С., Ноздренко Д. М. Прилуцький Ю.І., Шут А.Н. // Влияние температуры на динамику мышечного сокращения скелетного волокна лягушки, вызванного модулированной электростимуляцией. Физика живого – 2005 г. – Vol. 13, No.1. – С. 71–78. 2. Мірошніченко М.С., Прилуцький Ю.І., А. Н. Шут. // Температурно-зависимые эффекты динамики сокращения одиночных волокон m. tibialis лягушки. – Физика живого. 2005 г. – Т.13. – № 2. – С. 104–108. 3. Мірошніченко М.С., Залоїло І.А., Ноздренко Д.М., Прилуцький Ю.І. // Динаміка скорочення ізольованого м'язового волокна. – Фізика живого. – 2001. – 9, №2. – С. 71–78. 4. Мірошніченко Н.С., Ноздренко Д.Н., Залоїло І.А. // Динаміка скорочення ізольованого м'язового волокна жаби при високочастотній модульованій стимуляції. – Фізика живого. – 2002. – 10, №1. – С. 41–48. 5. Brezina V, Orekhova IV, Weiss KR // J Neurophysiol. 2000 Jan; 83(1):207-31.

Надійшла до редколегії 05.03.08

УДК 612.821 : 612.82/83

М. Макаrchук, д-р біол. наук,
Н. Філімонова, канд. фіз.-мат.наук,
Т. Кравець, канд. фіз.-мат.наук

ОСНОВНІ ФАКТОРИ ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЛЮДИНИ

При комп'ютерному тестуванні 96 обстежуваних обох статей, середній вік яких складав 20 ± 1 рік, визначали значення 16 загальноновживаних психофізіологічних показників, а також рівні особистісної і реактивної тривоги та брехні. В результаті факторного аналізу отриманих даних доведено, що психофізіологічний стан тієї або іншої людини визначають певні групи взаємопов'язаних показників або факторів, які до певної міри незалежні між собою і об'єднують у собі як базові властивості нервової системи, так і психофізіологічні характеристики особи.

At computer testing 96 inspected both sexes which middle age was 20 ± 1 year, 16 common psychophysiological parameters, and also levels of personal and reactive anxiety and falsehood were determined. As a result of factor analysis of the obtained data it is proved, that the psychophysiological state of that or other person is determined by the defined groups of the interrelated characteristics or factors which in the defined measure are independent among themselves and unite in themselves both base properties of the nervous system, and psychophysiological performances of the person.

Вступ. Психофізіологічний стан людини в більшості випадків в фізіології оцінюється на основі аналізу ряду загальноприйнятих показників функціонального стану центральної нервової системи та основних властивостей нервової системи. Крім того в багатьох роботах реєструються не лише чисто фізіологічні показники, а досить часто і інтегральні психологічні показники, які отримують при застосуванні різного роду опитувальників. Це робить оцінку психофізіологічного стану більш глибокою, але одночасно і неминуче ставить перед будь-яким дослідником при аналізі отриманих даних ряд дуже важливих питань. Головними серед них є: які показники і в якій мірі дублюють один одного, які є основними і визначальними, на які групи отримані показники можна розбити або згрупувати, яка кількість таких груп? Для відповіді на поставлені питання в даній роботі проведено факторний аналіз отриманих даних, в результаті якого зроблено спробу довести, що досліджувані характеристики можна об'єднати в певну кількість підгруп і що таке об'єднання дозволяє виявляти приховані загальні фактори, які визначають психофізіологічний стан людини.

Об'єкт та методи досліджень. В даній роботі за спеціальною комп'ютерною програмою, яка складається з 6 субтестів, у 96 обстежуваних обох статей, середній вік яких складав 20 ± 1 рік, визначали значення 16 загальноновживаних психофізіологічних показників: (ПСМР/мс), СІГМА (мс), (КС/коэф.), (ФРС/с⁻²), (РФМ/с⁻²), (ШРВ/мс), (ШРВЛ/мс), (ШРВЛ/мс), (ФРНП/мс), ПГМ (%помилка), (РРО/відн.од.), (ЗБУД/відн.од.), (ГАЛЪМ/відн.од.), (УРІВН/коэф.), а також: рівні тривоги (ТРИВ.), брехні (РІВ_БР.), особистісної (ОСОБ_ТР) та реактивної тривоги (РЕАК_ТР.) [1].

Результати та їх обговорення. Психофізіологічний стан людини ми оцінювали на основі аналізу 20 відповідних показників. Виходячи з цього, найпростіше було б представити психофізіологічний стан тієї або іншої людини точкою в 20-вимірному евклідовому просторі. Однак, зробити це неможливо, бо розмірність евклідового простору визначається кількістю взаємозалежних, тобто ортогональних векторів. Математична обробка отриманих даних показала, що між визначеними параметрами існують різноманітні кореляційні зв'язки [1]. Звідси випливає, що в першу чергу необхідно дослідити структуру

множини отриманих параметрів, щоб за рахунок зменшення розмірності знайти максимально ортогональну підсистему координат. Як один з методів стиснення інформації можна розглядати факторний аналіз, бо це – метод зниження розмірності досліджуваного факторного простору, оскільки кореляція між досліджуваними ознаками означає їх надлишковість, а зведення багатьох надлишкових ознак до небагатьох допоміжних ознак (загальних факторів), вільних від надлишковості і є задачею стиснення інформації (зниження розмірності) [2].

Для того, щоб систематизувати параметри, визначити на які підгрупи вони розбиваються, які з них є провідними в цих підгрупах, а які показники в певній мірі дублюють інші, було застосовано програму STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2001). Перевірка розподілів досліджуваних психофізіологічних параметрів на узгодженість з нормальним розподілом за критерієм тестом Ліліфора, який є модифікацією тесту Колмогорова – Смірнова показала, що вони не є нормально розподіленими величинами з рівнем значущості $p < 0.5$. Оскільки метод факторного аналізу базується на кореляційній матриці Пірсона [2], то його застосування до досліджуваних параметрів, розподіл яких не є нормальним, може призводити до певного викривлення істинних результатів. Факторний аналіз застосовує різні методи оцінювання факторних навантажень і залишкових дисперсій. Частіше оцінювання здійснюється методом головних компонент, або методом максимальної правдоподібності, які вимагають нормального розподілу досліджуваних параметрів, в той час, як центроїдний метод, який є непараметричним методом, спирається на геометричну інтерпретацію взаємозв'язків як зважених досліджуваних параметрів. Але центроїдний метод дає менш чітку структуру досліджуваних параметрів, ніж, наприклад, метод головних компонент. Для того, щоб застосування факторного аналізу було коректним, пропонуємо попередньо прологарифмувати отримані психофізіологічні дані. Зауважимо, що перехід від параметру до його логарифму призводить до зменшення асиметрії початкового розподілу. В результаті розподіл логарифмованого параметру стає нормальним, або наближається до нього. Зауважимо, що оскільки показник гальмування нервових процесів (ГАЛЬМ/відн.од.) визначався як середнє значення відхилень в реакціях запізнення, тобто як деяке від'ємне число, для його логарифмування необхідно було від'ємні значення замінити відповідними додатними. За результатами застосування критерію Ліліфора до логарифмованих психофізіологічних параметрів, розподіл 9 з них (СІГМА, РВ, РВП, ПГМ, РРО, ЗБУД, ГАЛЬМ, ВРІВН, КПКЧП) став нормальним, а розподіл решти зменшив коефіцієнт асиметрії з 0,7–8,2 до –2,2–0,03. Оскільки після логарифмування більшість показників мала нормальний розподіл, для визначення оптимальної кількості факторів, які визначають психофізіологічний стан, було побудовано модель головних компонент для різної кількості загальних факторів. Для побудови коваріаційної матриці обчислюються власні значення і відповідні їм власні вектори, для визначення яких використовуються, так звані, відносні дисперсії простих факторів [3], тобто чим меншим є власне число, тим менший відсоток варіації даних пояснює відповідний йому фактор. В моделі з 8 головними факторами рівень обмеження значень власних чисел коваріаційної матриці даних був обраний не нижчим за 0,9. Модель факторного аналізу розкладає кореляційну матрицю досліджуваних психофізіологічних даних на самовідтворену та залишкову кореляційні матриці. Якість побудованої моделі характеризується відсотком поясненої варіації,

який бажано мати не меншим, ніж 80% і значеннями недіагональних елементів залишкової кореляційної матриці, які повинні бути близькими до нуля [2]. Для 8 загальних факторів відсоток сумарної поясненої дисперсії дорівнював 84,1%, і така якість моделі задовольняє критерію достатньої якості, а моделі з меншим числом факторів не є адекватними. В результаті побудови моделі факторного аналізу з застосуванням стратегії нормалізованого варімакс, як методу обертання факторів, отримано матрицю навантажень загальних факторів на досліджувані параметри (Табл.). Навантаження – це коефіцієнти кореляції між відповідними парами "загальний фактор – параметр". Якщо навантаження перевищує значення 0,7, то вважається, що має місце лінійний кореляційний зв'язок між відповідною парою "фактор – параметр". Зауважимо, що для деяких пар "фактор – параметр" значення навантажень є досить високими, хоча і не досягають встановленої межі 0,7.

Якість моделі факторного аналізу також контролюється значеннями недіагональних елементів залишкової кореляційної матриці – у тому випадку, якщо вони більші, ніж 0,1, це свідчить про неточність моделі та потребу уточнення зв'язку відповідних пар параметрів: ТРИВ – РЕ АКТ_ТР.; РІВ_БР – КС; РІВ_БР – ФРНП; РІВ_БР – ГАЛЬМ; РЕ АКТ_ТР. – ОСОБ_ТР.; КС – ПГМ; КС – ГАЛЬМ; КС – КПКЧП; КС – ТКЧП; ФРС – СІГМА; ФРНП – ПГМ; ПГМ – КПКЧП та ПГМ – ТКЧП, для яких відповідні значення становлять 0,11 – 0,20. Самовідтворена кореляційна матриця дає наближення початкових багатовимірних спостережень з допомогою невеликої кількості загальних факторів. В цій матриці діагональні елементи повинні бути близькими до одиниці. Реально, якщо діагональні елементи більші ніж 0,7, якість моделі вважається достатньою. Порушення цієї вимоги свідчить про недостатню точність моделі для таких параметрів, як: КС та СІГМА, бо їх діагональні елементи дорівнюють 0,64 та 0,68.

Таким чином, ми отримали розбиття комплексу психофізіологічних параметрів на наступні вісім підгруп за корельованістю з загальними факторами. Інтерпретація результатів факторного аналізу базується на теорії функціональної системи як одиниці інтеграції цілого організму, яка утворюється динамічно для досягнення будь-якої його пристосувальної діяльності і є до певної міри замкненою системою [4]. Будь-який фактор ми асоціюємо з деякою функціональною системою.

До 1 фактору увійшли проста сенсомоторна реакція, розкид простої сенсомоторної реакції, функціональний рівень системи та рівень функціональних можливостей, тобто показники які фактично характеризують міру активізованості центральної нервової системи (ЦНС) та її тонус, оскільки вони обчислюються на основі латентних періодів простих сенсомоторних реакцій при багаторазовому повторенні подразників. Величина ФРС тим більша, чим вищим є функціональний рівень ЦНС, бо встановлено, що чим вищим є тонус ЦНС, тим легше організується функціональна система, яка реалізує дану реакцію, а РФМ характеризує здатність обстежуваного формувати адекватну завданню функціональну систему і достатньо довго її утримувати [5]. Факторні навантаження вказують, що чим вищими є показники ФРС та РФМ, тим коротшими є латентні періоди ПСМР і меншим є їх розкид – СІГМА, що узгоджується з отриманими раніше результатами [5].

До 2 фактору увійшли показники точності на рухомий об'єкт, показники збудження та врівноваженості ЦНС (за методикою Лейтеса [6]). Оскільки структури головного мозку, які оцінюють швидкість рухомого об'єкту, еволюційно виникли пізніше, ніж ті структури, які

забезпечують реакції на подразник, який не змінює свого місцеположення в просторі, то теоретично можна припустити, що той час реагування, який оцінюється ПСМР, фізіологічно відрізняється від часу, який входить як складова у визначення швидкості руху об'єкту в просторі. Забезпечення точності реакції потребує координації рухів та певного рівня активації ЦНС, що, можливо, є необхідною умовою для того, щоб забезпечити деякий оптимальний рівень концентрації уваги.

Окремим психофізіологічним фактором є тривожність людини. До 3 фактору увійшли показники тривожності, особистої та реактивної тривожності.

До 4 фактору увійшли показники точності та якості короткочасної пам'яті, а також показник працездатності головного мозку. Тобто, чим більше помилок робить обстежуваний при запам'ятовуванні стимулів, тим гіршим є комплексний показник короткочасної пам'яті людини (КПКЧП) і тим більше він робить помилок при розпізнаванні геометричних фігур в максимально швидкому для нього темпі (ПГМ). Таким чином, цей фактор характеризує стійкість та інертність слідових процесів в пам'яті людини.

До 5 фактору увійшла реакція вибору, реакція вибору правої та лівої рук. Оскільки час реакції вибору складається з часу простої сенсомоторної реакції та часу центральної затримки [7], природно, що коефіцієнт кореляції цього фактору з ПСМР є 0,49, а з СІГМА – 0,45.

6-й фактор визначається показником сили нервової системи. Коефіцієнт сили (КС) нервової системи за методикою В.С.Мерліна визначається як відношення середніх значень ЛП 20-ти початкових реакцій та 20-ти кінцевих. Відомо, що заданий темп, одноманітність і значна кількість подразників викликає своєрідне "психічне насичення", яке виявляється у осіб із слабкою нервовою системою у збільшенні ЛП реакцій в кінці дослідження порівняно із його початком. У осіб із сильною нервовою системою ЛП в кінці дослідження залишається незмінним або, навіть, зменшується. Якщо ЛП реакції у обстежуваного не змінюються, то це представник із середнім типом нервової системи [8]. Цей фактор також включає в себе і показник ГАЛБМ з факторним навантаженням 0,51. Чим меншим є коефіцієнт сили нервових процесів, тим більшим є показник гальмування нервових процесів, тобто сила НС та сила гальмівних процесів є різнонаправленими.

Функціональна рухливість нервових процесів відокремлюється в 7 фактор. Цей фактор корелює з працездатністю головного мозку з $r = 0,45$ – чим вищим є рівень ФРНП, тобто чим вищим є темп пред'явлення подразників, тим більше помилок припускається обстежуваний при розпізнаванні геометричних фігур в максимально швидкому для нього темпі. Процеси розпізнавання пов'язані як з об'ємом пам'яті, так і з її типом. Загалом виділяють три типи зорової пам'яті – сенсорну, оперативну та довготривалу, основною характеристикою яких є тривалість збереження інформації для її відтворення. Час зберігання інформації в сенсорній пам'яті приблизно дорівнює декільком сотням мс, в оперативній – 15–30 с, а в довготривалій – рокам. Ці типи пам'яті можливо реалізуються різними механізмами однак, як показали дослідження [9] сенсорні сліди считуються оперативною пам'яттю, далі слід пам'яті поступає в довготривалу пам'ять. Процес довготривалого запам'ятовування інформації називається консолідацією сліду в пам'яті. При цьому відбувається певні перетворення інформації, однак нас зараз цікавить тільки стійкість цих слідів. Оскільки пам'ять – це єдина система, стійкість слідових процесів повинна проявлятися на всіх етапах. Саме це було виявлено у факторі 4, але якщо стійкість сліду пам'яті при визначенні ПГМ є позитивною ознакою, то при визначенні ФРНП інерційність слідових процесів заважає правильному розпізнаванню стимулів при збільшенні темпу пред'явлення стимулів. Отримані результати можна пояснити в рамках знайдених Ф. Бартлетом [10] закономірностей реконструкції матеріалу при відтворенні, які дозволяють зблизити процеси запам'ятовування з процесами розуміння. Це може пояснити, чому ФРНП та ПГМ мають факторні навантаження різних знаків.

8-й фактор визначається рівнем брехні. Крім того, цей фактор має певні навантаження на ГАЛБМ та ВРІВН, тобто вищий рівень брехні супроводжується меншою врівноваженістю та більш вираженим процесом гальмування нервової системи. Оскільки показник ВРІВН визначається як відношення ЗБУД до ГАЛБМ, а показник ЗБУД має факторне навантаження 0,09, то це означає, що показник ВРІВН має факторне навантаження 0,44 саме за рахунок ГАЛБМ. Таким чином, можна припустити, що саме сила гальмівних процесів пов'язана з вищим рівнем брехні.

Таблиця. Навантаження загальних факторів на досліджуванні параметри

Показники	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 4	Фактор 5	Фактор 6	Фактор 7	Фактор 8
ТРИВ	0,18	0,08	0,80	-0,13	-0,03	0,11	-0,13	-0,25
РІВ_БР	0,13	0,10	-0,12	0,09	-0,04	-0,17	-0,20	0,82
РЕАК_ТР	-0,07	-0,04	0,80	0,03	0,05	-0,18	0,08	0,16
ОСОБ_ТР	-0,05	0,00	0,88	-0,01	0,04	0,02	0,04	-0,06
ln(КС)	0,13	-0,07	0,06	-0,20	0,02	-0,75	0,09	0,08
ln(ФРС)	-0,94	-0,04	0,02	-0,05	-0,02	0,03	-0,05	-0,07
ln(РФМ)	-0,96	-0,08	0,00	-0,05	-0,09	0,04	0,02	-0,04
ln(ПСМР)	0,72	0,05	0,04	-0,02	0,49	0,12	0,10	0,13
ln(СІГМА)	0,66	-0,04	0,02	0,05	0,45	-0,13	0,00	0,13
ln(РВ)	0,15	0,03	0,03	0,06	0,97	0,02	-0,05	0,02
ln(РВП)	0,15	0,03	0,00	0,00	0,92	-0,02	-0,06	0,12
ln(РВЛ)	0,15	0,02	0,04	0,11	0,93	0,05	-0,05	-0,09
ln(ФРНП)	-0,09	-0,15	0,02	0,07	0,13	0,02	-0,88	0,08
ln(ПГМ)	-0,09	-0,06	0,14	0,64	-0,02	-0,23	0,45	-0,03
ln(РРО)	0,13	0,82	0,05	-0,15	0,18	0,25	0,13	0,21
ln(ЗБУД)	0,09	0,95	0,01	-0,01	0,02	0,05	0,11	0,09
ln(ГАЛБМ)	0,28	0,07	0,04	-0,08	0,24	0,51	0,27	0,64
ln(ВРІВН)	-0,15	0,75	-0,02	0,06	-0,18	-0,37	-0,13	-0,44
ln(КПКЧП)	-0,12	0,04	0,04	-0,91	-0,15	-0,15	0,12	-0,06
ln(ТКЧП)	0,05	-0,03	-0,12	0,93	0,03	0,17	-0,09	0,01
власне значення	4,75	2,55	2,22	1,96	1,85	1,42	1,10	0,98
відсоток поясненої варіації	23,8%	12,8%	11,1%	9,8%	9,2%	7,1%	5,5%	4,9%

Примітка. Виділено жирним шрифтом значення навантажень, які не менші ніж 0,7, а курсивом – які не менші ніж 0,4

В отриманій факторній моделі найбільш "розмазані" виявився показник гальмування нервових процесів. Це пов'язано з наявністю великої кількості значущих кореляційних зв'язків цього показника з іншими. Так, отримано наступні коефіцієнти кореляції Спірмена: r_s (ГАЛЬМ, РІВ_БР) = 0,28 ($p=0,01$); r_s (ГАЛЬМ, ФРС) = -0,31 ($p<0,01$); r_s (ГАЛЬМ, РФМ) = -0,32 ($p<0,01$); r_s (ГАЛЬМ, ПСМР) = 0,57 ($p<0,01$); r_s (ГАЛЬМ, СІГМА) = 0,36 ($p<0,01$); r_s (ГАЛЬМ, РВ) = 0,28 ($p=0,01$); r_s (ГАЛЬМ, РВП) = 0,25 ($p=0,01$); r_s (ГАЛЬМ, РВЛ) = 0,23 ($p=0,02$); r_s (ГАЛЬМ, РРО) = 0,64 ($p<0,01$); r_s (ГАЛЬМ, ЗБУД) = 0,34 ($p<0,01$) та r_s (ГАЛЬМ, ВРІВН) = -0,38 ($p<0,01$). Кореляційний аналіз свідчить про істотну участь процесу гальмування в формуванні основних психофізіологічних процесів – активованості і тонуусу ЦНС (фактор 1), реакції вибору (фактор 5), сили нервової системи (фактор 6), функціональної рухливості нервових процесів (фактор 7) і, крім того, ГАЛЬМ є практично єдиним з психофізіологічних показників, який корелює з суто психологічним показником – рівнем брехні. Оскільки всі вказані фактори розкривають структуру відповідних функціональних систем, можна припустити, що процес гальмування погіршує процес організації цих систем. Це особливо цікаво у порівнянні з процесом збудження. Знайдено набагато менше кореляційних зв'язків показника ЗБУД з іншими: r_s (ЗБУД, ПСМР) = 0,22 ($p=0,03$); r_s (ЗБУД, РРО) = 0,78 ($p<0,01$); r_s (ЗБУД, ВРІВН) = 0,69 ($p<0,01$). Факторний аналіз показав, що процес збудження нервової системи бере участь тільки в функціональній системі реакції на рухливий об'єкт, причому погіршуючи точність реакцій.

Висновки. На основі результатів даної роботи можна стверджувати, що психофізіологічний стан тієї або іншої людини визначають певні групи взаємопов'язаних пока-

зників або факторів, які до певної міри незалежні між собою і об'єднують у собі як базові властивості нервової системи, так і психофізіологічні характеристики особи. Першим із таких факторів є активація і тонуус ЦНС, другий фактор – це реакція на рухливий об'єкт (координація реакцій людини у просторі та часі), четвертий – це стійкість слідових процесів пам'яті, п'ятий фактор – це реакція вибору, шостий фактор визначається силою нервових процесів, а сьомий – функціональною рухливістю нервових процесів. Крім того, два фактори – третій та восьмий визначають стан тривоги людини, а саме: третім фактором є тривожність людини, а восьмий визначається рівнем брехні.

1. Макачук М.Ю., Філімонова Н.Б., Кравець Т.В. Кореляційний аналіз основних психофізіологічних показників людини // Вісник Київського університету (серія Біологія) – 2003. – Вип 40. – С. 76–79. 2. Айвазян С.А., Бежаева З.И., Староверов О.В. Классификация многомерных наблюдений. – М.: Статистика, 1974. – 239 с. 3. Бюль А. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей / А. Бюль, П. Цёфель. – СПб.: ООО "ДиаСофтЮП", 2001. – 608 с. 4. Анохин П.К. Узловые вопросы теории функциональной системы. – М.: Наука, 1980. – 196 с. 5. Лоскутова Т.Д. Оценка функционального состояния центральной нервной системы человека по параметрам простой двигательной реакции // Физиол. журн. СССР. – 1975. – т. LXI, №1. – с. 3–11. 6. Лейтес Н.С. Результаты определения уравновешенности основных нервных процессов тремя двигательными методиками // В кн.: Типологические особенности высшей нервной деятельности человека. Т.3. – М., Изд-во АПН РСФСР, 1963. – с. 155–163. 7. 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. 8. Ильин Е.П. Дифференциальная психофизиология. – СПб.: Питер, 2001. – 464 с. 9. Дружинин В.Н. Экспериментальная психология. – М.: ИНФРА-М, 1997. – 255 с. 10. Барлетт Ф. Человек запоминает // Хрестоматия по психологии памяти / под ред. Ю.Б. Гиппенрейтер и В.Я. Романова. – М., 2002. – С. 292–303.

Надійшла до редколегії 20.01.08

УДК 577.543.426

А. Майданюк, канд. біол. наук

УЧАСТЬ АДЕНИЛОВИХ НУКЛЕОТИДІВ В ІНДУКЦІЇ АПОПТОЗУ

Методом хроматографічного аналізу встановлено зниження рівня АТР на 30% та суми аденінових компонентів тимокитів, що підтверджено спектрофотометричним аналізом на 35% відносно контрольних значень, протягом 2,5 годин після рентгенівського опромінення суспензії тимокитів в дозі 4,5 Гр.

Decrease of level of ATP and adenine row components in 2,5 hour after an X-irradiation of thymocytes in a dose 4,5 Gy is established.

Сучасні погляди на форми клітинної загибелі зазнали значних змін. Уявлення про наявність двох альтернативних форм: непрограмованої, паталогічної – некрозу і запрограмованої – апоптозу, змінилися до визнання трьох основних видів запрограмованої загибелі клітин (ЗЗК) – апоптозу, аутофагії і некрозу (або некрозоподібної ЗЗК) [1]. Накоплені результати свідчать про взаємозалежність, а не автономність як сигнальних шляхів ЗЗК, так і їх механізмів. Більш традиційним виявився висновок про залежність варіанту ЗЗК від концентрації АТР. Характер загибелі клітини за механізмом апоптозу чи некрозу визначається рівнем внутрішньої організації геному і метаболізму клітин. Показано, що процеси апоптозу стимулюються як зовнішніми сигналами (гормони, стрес, опромінення і інше), так і внутрішніми сигналами – такими як зміни метаболізму пуринів за відповідної зміни активності ферментів пуринового обміну [3]. Пуринові нуклеозиди – аденозин, дезоксиаденозин і дезоксигуанозин індують загибель клітин тимусу за механізмом апоптозу. Порушення пуринового обміну в післяпроменевий період, являється одним із ранніх і характерних процесів апоптозу тимокитів. Зниження концентрації аденілових нуклеотидів відбувається за

рахунок їх посиленого катаболізму. Більш того, додавання аденіну (А) до суспензії опромінених клітин тимусу сприяє їх виживанню і пригнічує утворення і вихід полідезоксинуклеотидів (ПДН) [3]. Вважається, що прискорення катаболізму аденіннуклеотидів являється загальною реакцією клітини на дію будь-яких стресорних факторів. Прискорений катаболізм аденілових нуклеотидів буде мати своїм наслідком зменшення внутрішньоклітинної концентрації АТР і збільшення її для аденозину. Аденозин призводить до зміни рівня цАМР через взаємодію з відповідними рецепторами на зовнішній та внутрішній поверхнях плазматичної мембрани. Збільшення вмісту цАМР в клітинах часто супроводжує токсичну дію різних речовин в тому числі і аденозину на лімфоцити. Вважається, що визване аденозином або дезоксиаденозином збільшення вмісту дезоксиАТР призводить до гальмування синтезу АТР при гліколізі і прискорення його катаболізму за рахунок активації АМР-аміногідролазної реакції [2].

Зниження внутрішньоклітинного вмісту АТР в тимокитах, яке корелює з розпадом ядерного хроматину крім іонізуючої радіації визивають гідрокортизон та дегранол. Зменшення вмісту АТР пригнічує репарацію розривів

© Майданюк А., 2008

ДНК після опромінення лімфоцитів, що призводить до накопичення розривів двоспіральної ДНК, зростання нестійкості генома і до ініціації процесів апоптозу.

Тому метою даної роботи було визначення динаміки змін вмісту АТФ і аденінових компонентів у тимоцитах за умов розвитку апоптозу після їх рентгеновського опромінення в дозі 4,5 Гр.

Об'єкт і методи досліджень. Аденозин-5'-трифосфорної кислоти динатрієва сіль (АТФ) виробництва фірми Reanal (Угорщина). Тимоцити отримували м'яким продавлюванням через капронове сито тимусу молодих щурів вагою 120-150 г у буфері, що містив, ммоль/л: Na_2HPO_4 – 3, KCl , HEPES – 5, NaCl – 120, глюкоза – 10, NaHCO_3 , CaCl_2 , MgCl_2 – 1. Цей буфер використовували для інкубації і опромінення суспензії тимоцитів. Опромінення проводили однократно на установці РУМ-17 у дозі 4,5 Гр за умов: потужність дози – 0,4 Гр/хв, напруга – 200 кВ, сила струму – 10 мА, фокусна відстань – 50 см. Для кількісного аналізу суспензію тимоцитів центрифугували (1500 об/хв., 10–15 хв на центрифугі ОПН – ЗУ42), осад тимоцитів використовували для екстракції вільних компонентів аденінового ряду протягом 25–30 хв при температурі 0, +4 °С, шля-

хом розтирання в охолодженому розчині 0,8н HClO_4 . Одержані кислотні екстракти нейтралізували K_2CO_3 до значень рН 7,0 – 7,5 і після центрифугування за вищевказаних умов відбирали верхню фазу, визначали її об'єм і певні аліквоти використовували для ТШХ на модифікованих силікагелевих пластинах Silufol UV-254. Розділення та кількісне визначення аденіннуклеотидів на силуфолі проводили за методом описаним у роботі [4].

Результати та їх обговорення. Експериментально встановлено, що клітини, в яких рівень АТФ становила менше 50% від контрольних значень, гинули за варіантом некрозу, а при більш високих значеннях макроергу спостерігався розвиток апоптичної загибелі [6]. Для пояснення цієї залежності запропоновані "АТФ-сенсори", які пов'язують з протеїніназою із надзвичайно низькою спорідненістю до АТФ і (або) гіперактивацією АМР – протеїнінази (АМРК) [5], проте їх роль в індукції апоптозу не встановлена. На нашу думку, слід враховувати і можливість контролю активності ключових ферментів амфіболічних шляхів (цикл трикарбонових кислот, гліколіз, глюконеогенез, гексозомонофосфатний шлях) аденіновими нуклеотидами за принципом аденілатного контролю Аткинсона (енергетичного заряду).

Таблиця. Відсоток АТФ та суми (Σ) аденінових компонентів від контрольних значень тимоцитів в процесі розвитку апоптозу

Час після Х-опромінення (год)	ТШХ – аналіз		СФ – аналіз
	АТФ	Σ А к-нентів	Σ А к-нентів
1	70	71	73
2,5	72	65	65

В наших дослідженнях (Таблиця) методом хроматографічного аналізу встановлено зниження рівня АТФ на 30% та суми аденінових компонентів тимоцитів, що підтверджено спектрофотометричним аналізом на 35% відносно контрольних значень, протягом 2,5 годин після рентгеновського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5 Гр.

Висновки. Виявлені через 1 та 2,5 години після рентгеновського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5Гр зниження рівня АТФ на фоні зменшення суми аденінових компонентів дозволяють зробити висновок про можливість "спрацювання" як "АТФ – сенсорів", так і

аденілатного енергетичного заряду (контролю Аткинсона) для індукції апоптозу.

1. Бра М., Квінан Б., Сузін С. А. // Біохімія. – 2005. – Т. 70. – Вип. 2. – С. 284–293.
2. Дмитренко Н. П. Пуриновий обмін і його регуляція в лімфоцитах. – К., 1991.
3. Кучеренко М.Є. (загальна редакція) Радіаційно – індукована структурно – метаболічна модифікація еритроцитів та лімфоїдних клітин. – К. 2006.
4. Майданюк А.В., Імедадзе С.П. // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2004. – Вип. 42–43. – С. 12–13.
5. Черняк Б.В., Плетюшкіна О.Ю., Изюмов Д.С., і др. // Біохімія. – 2005. – Т. 70. – Вип. 2. – С. 294–301.

Надійшла до редколегії 20.01.08.

УДК 576.3

О. Маслова, студ.,
К. Лапшина, студ.,
Н. Скрипник, канд. біол. наук, доц.,
М. Держинський, д-р біол. наук, проф.

ОСНОВНІ МЕХАНІЗМИ ТА ХІМІКО-БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВИНИКНЕННЯ ОКИСНИХ ПОШКОДЖЕНЬ ДНК ТА БІЛКІВ

Проаналізовано сучасні положення теорії окисного стресу, особливості дії агентів, що спричиняють окисний стрес та наслідки окисних пошкоджень білків та ДНК.

Contemporary assertions of the oxygen stress theory, peculiarities in the action of agents, which cause the oxidative stress and consequences of the oxidative damage of proteins and DNA are analyzed.

Вступ. Окисний стрес є важливим чинником у житті організму та кожної його клітини окремо. Всі клітини постійно піддаються фізіологічному окисному стресу, віддаючи данину еволюції, і постійно долають його наслідки [1]. Виникнення окисного стресу спричинюється дисбалансом між утворенням активного кисню та можливістю біологічної системи швидко детоксикувати окисник або усувати пошкодження.

Сильний окисний вплив спричинює пошкодження практично всіх клітинних компонентів, накопичення мутацій у генетичному апараті та порушень у білковому

складі клітин, що у свою чергу проявляється у зміні морфо-фізіологічного статусу клітин. В свою чергу метаболічні порушення призводять до збільшення окисних пошкоджень, і як наслідок – до розвитку патології [2]. При надзвичайно високих рівнях окисного стресу відбувається некроз клітин, зумовлений вичерпанням АТФ [3, 4].

Крім того, особливості руйнівної активності окисного стресу лягли в основу найпопулярнішої сьогодені вільнорадикальної теорії старіння (теорія оксидативного стресу), що пов'язує процеси старіння організму як і з запро-

грамованими подіями, так і з накопиченням помилок у генетичному апараті.

Однак, активні форми кисню крім пошкоджувального ефекту мають суттєвий позитивний вплив на морфологію клітин: вони використовуються клітинами для боротьби з чужорідними агентами (клітини імунної системи) або передачі міжклітинних сигналів [5], є необхід-

ними медіаторами контролю клітинного росту (АР-1, кВ) та синтезу білків теплового шоку.

Агенти, що спричиняють окиснення. Найпоширенішими окисниками є активні форми кисню (АФК) та продукти перекисного окиснення ліпідів. До групи АФК відносять вільні радикали та пероксиди (табл.1).

Таблиця 1. Характеристика агентів, що спричиняють окиснення

Окисник	Характеристика
•O ₂ ⁻ , супероксид аніон	Одноелектронвідновлена форма кисню, що утворюється у багатьох автоокисних реакціях та електронтранспортним ланцюгом. Не дуже реакційно здатний, проте може звільняти Fe ²⁺ з залізо-сірчаних кластерів білків. Підпадаючи дисмутації спонтанно або ензиматично перетворюється у H ₂ O ₂ . Є попередником метал-каталізованого утворення •ОН-радикалу.
H ₂ O ₂ , перекис водню	Двоелектрон відновлена форма, утворена шляхом дисмутації •O ₂ ⁻ або прямим окисненням O ₂ . ліпідорозчинний, а отже здатний проникати крізь мембрану.
•ОН, гідроксильний радикал	Три електронвідновлений стан, утворений у Фентонівських реакціях та шляхом перебудови пероксинітриту. Дуже активний. Атакує більшість клітинних компонентів.
ROOH, органічні гідропероксиди	Утворені за участі вільних радикалів з таких клітинних компонентів, як ліпіди та азотисті основи.
RO•, алкоксил та ROO•, пероксид радикали	Формуються у присутності кисню, додаванням радикалу до подвійного зв'язку або відриванням водню.
OOONO-, пероксинітрит	Утворюється під час реакції між •O ₂ ⁻ та NO•. Ліпідорозчинний. Протонувана форма може підпадати розщеплення, формуючи гідроксильний радикал та диоксид нітрогену.

АФК утворюються в результаті не повного відновлення кисню до води у електрон-транспортному ланцюзі мітохондрій.

Супероксид аніон формується в результаті одноелектронного відновлення кисню, підпадаючи дисмутації, він довільно або ензиматичним шляхом утворює перекис водню. Супероксид аніон є попередником метал-каталізованого утворення гідроксильного радикалу. Формується він у мітохондріях (у присутності НАДН), ксантинооксидазою, цитохромом Р450, НАДН-дегідрогеназою та іншими шляхами [6, 7].

Перекис водню формується шляхом дисмутації супероксид аніону або прямого відновлення кисню у мітохондріях, а також гліюксалат оксидазою мікротілець. Він є ліпідорозчинним і здатен дифундувати через мембрану клітин [6, 7].

Гідроксильний радикал формується у Фентонівських реакціях (рис.1.) та шляхом перебудови пероксинітриту. Дуже активний. Утворює ковалентно зв'язані білкові агрегати. Білки, денатуровані гідроксильним радикалом швидше розпізнаються та знешкоджуються клітинними протеолітичними системами. Гідроксильний радикал призводить до втрати білками триптофанових залишків та формування бітирозину [6, 7].



Рис. 1. Приклад Фентонівської реакції

Пероксинітрит формується у реакції супероксид аніону та нітросо радикалу. Ліпідорозчинний [6,7].

Продукти перекисного окиснення ліпідів: **малондіальдегід** та **гідроксиноненал**, є небезпечними тим, що здатні утворювати міжмолекулярні зшивки з білками, які при цьому повністю втрачають свою функціональну активність. Вони діють через високомолекулярні білкові агрегати, що здатні інгібувати активність протеолітичних ферментів, або самостійно ковалентно приєднуються до протеолітичних ензимів, що спричиняє той самий ефект. Окрім того продукти перекисного окиснення ліпідів здатні необмежено поширювати окиснення ліпідним бішаром, руйнуючи структуру мембран і призводячи до клітинної загибелі [8].

Крім того окисниками можуть бути **хінони** та **метали зі змінною валентністю**. Такі метали вступають у Фентонівські реакції (рис.1.) та реакції Габера-Вейса

(рис. 2.). Ці метали походять з металовмісних білків. Такий тип окиснення називають метал-каталізованим [2].

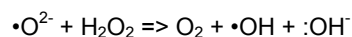


Рис. 2. Реакція Габера-Вейса

Метали ініціюють перекисне окиснення ліпідів та утворюють з фенілаланіну мета- та ортотирозин. Хінони здатні віддавати та приймати електрони від різних субстратів, відновлюючи та окислюючи їх.

Джерелами АФК можуть бути електрон-транспортний ланцюг мітохондрій, ксантин оксидаза, НАДН-оксидаза, цитохром Р450 та багато інших метаболічних циклів.

Ксантин оксидаза каталізує окиснення гіпоксантину у ксантин і подальше окиснення ксантину до сечової кислоти (рис.3.). При цьому виділяється перекис водню.

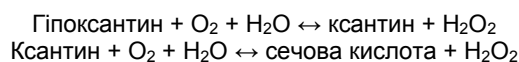


Рис. 3. Окиснення гіпоксантину до сечової кислоти

Цитохром Р450 є мембрано асоційованим ензимом. Він метаболізує численні субстрати і відіграє важливу роль у розкладанні токсинів, синтезі та утилізації гормонів, метаболізмі вітаміну Д, але при цьому може виділяти АФК [2].

Електрон-транспортний ланцюг мітохондрій при переносі чотирьох електронів на кисень може формувати неповністю відновлені сполуки: супероксид аніон, перекис водню та гідроксильний радикал [8].

Наслідки окисних пошкоджень білків. Окиснення білків спричиняє суттєві зміни метаболізму та цитоархітекτονіки клітин. У результаті дії окисників порушуються структура та властивості білків. Наслідками таких порушень може бути, перш за все сайт-специфічна модифікація амінокислот. Прикладами такої модифікації можуть бути: відривання водню від SH-груп цистеїнів та формування дисульфідних зв'язків, утворення похідних метионінсульфоксиду за рахунок взаємодії активного кисню з метіоніном, взаємодія супероксид радикалу з залізо-сірчаними центрами ензимів і, як наслідок, необоротна втрата їх функцій, утворення міжмолекулярних зшивок між треонінами і формування біти-

розину з агрегованих залишків триптофану [9, 10], утворення карбонільних груп на таких амінокислотах, як лізин, гістидин, пролін, аргінін та серин [11], а також утворення бічних ланцюгів на валіні та лейцині [12], гідроксильовання фенілаланіну, тирозину та триптофану. Крім того спостерігається фрагментація пептидного ланцюга, що викликається розривом пептидного зв'язку і спричиняється здебільшого взаємодією з гідроксильним радикалом. При цьому новоутворені пептидні деривати не виконують ніяких функцій і підлягають утилізації. Також можлива агрегація продуктів, що утворили міжмолекулярні зшивки під дією продуктів перекисного окиснення ліпідів, яка спричинює утворення великих білкових комплексів, що не лише складно піддаються деградації, а й здатні інгібувати ферменти, котрі забезпечують утилізацію пошкоджених білків. Зміна заряду білку призводить до порушення розподілу білкових молекул у цитозолі та зміни заряду всієї клітини. Одним з наслідків може бути підвищення чутливості до протеолізу, що необхідне для знищення пошкодженого білку і набувається при взаємодії з гідроксильним радикалом або сумішшю $\bullet\text{O}_2$ та $\bullet\text{OH}$ [11]. Також наслідком окисного пошкодження білку є утворення Шифових основ – продуктів реакції амінокислот з карбонільними залишками, молекули яких дуже нестійкі і не виконують функцій своїх попередників [2].

Наслідки окисних пошкоджень ДНК. Пошкодження ДНК з'являються у результаті ряду хімічних реакцій: окисно-відновних реакцій, алкілювання, гідролізу. У клітині перманентно присутній певний рівень пошкоджень ДНК. За нормальних умов такі пошкодження – рівноважний стан. Вважається, що показником патологічного стану клітини є не наявність певного виду пошкодження, а його кількість, що перевищує норму на порядки [13–18].

Найбільшою групою пошкоджень є окисдаивні пошкодження ДНК. Ці пошкодження утворюються у великій кількості під час окисдаивного стресу. Окисдаивні пошкодження ДНК виникають під впливом вільних радикалів та інших активних форм кисню [13–19].

ОН-радикали реагують з дезоксирибозою з утворенням різних похідних (еритрози, 2-деокси-тетродіальдози та інших) та розривів ланцюга, а з усіма типами азотистих основ з утворенням сотень проміжних продуктів [14].

За причини нестійкості більшості з утворених проміжних продуктів, лише для деяких з них вдалось визначити біохімічні особливості [13, 17].

Основну частину пошкоджень, спричинених ОН-радикалом, вивчали в умовах *in vitro* та *in vivo* з використанням гамма-опромінення. Гідроксил радикал здатен відривати Н атом з метильної групи тиміну та від кожного з С-Н зв'язків у 2'-деоксирибозі. Приєднання до подвійних зв'язків у основах характеризується константою швидкості від 3 до $10 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, а відрив атома водню – $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [13]. Чутливим до ОН-радикалу є С4-С5 зв'язок у піримідині та атоми С4, С5, С8 у пурині. Атака гідроксил-радикалу спричиняє різні модифікації піримідинових основ: утворення 5-ОНdU, 5-ОНdC, урацилгліколю, тимінгліколю та інших сполук [13–19].

Тимінгліколь є досить поширеним ушкодженням, він блокує реплікацію і є потенційно летальним для клітини. Взаємодія ОН-радикалу з пуринами теж призводить до змін – утворюються формамідопіримідини (Fapy), 8-ОНdG (основний маркер окисдаивного стресу *in vitro* та *in vivo*), 8-ОНdA та інші. Формамідопіримідини – це пурини з відкритим імідазольним кільцем: 2,6-діаміно-4-гідрокси-5N-метил-формамідопіримідин (Fapy-G) та 4,6-діаміно-5-формамідопіримідин (Fapy-A) [13]. Ці модифікації здатні блокувати роботу полімераз [16]. Утворення 8-гідроксидеоксигуанозину (8-ОНdG) або майже

еквівалентного йому 8-охо-7,8-дигідрогуаніну (8-охоG) є найпоширенішим результатом окисдаивних пошкоджень (дані від 7500 до 200 000 модифікацій у клітині на добу). Ці форми легко перетворюються одна в одну, тому прийнято називати такий тип пошкоджень 8-оксогуаніном. 8-охоG є мутагенною модифікацією – він спричинює G:C T:A трансверсії – у процесі реплікації він здатен утворювати стабільну пару з аденіном.

Крім того 8-охоG у складі нуклеозидтрифосфату вбудовується в ДНК навпроти аденіну ДНК-матриці, викликаючи A:T C:G трансверсії. Проте, 8-охоG не спричиняє блокування реплікації та транскрипції і не впливає на клітинний цикл [15]. Кількісний аналіз 8-охоG найчастіше проводиться для визначення рівня окисдаивного стресу. Це пов'язано з високою вмістом цієї модифікації у клітинах та наявністю великої кількості відносно об'єктивних методик [13–18]. Для ефективного проведення кількісного аналізу на сьогодні створена ціла низка комерційних наборів [11, 16, 20, 21].

Науковий інтерес викликають також так звані аддукти азотистих основ з ОН-радикалом – група сполук, що мають окисно-відновну амбівалентність та здатні вступати у складні реакції. Наприклад, у випадку аденіну формується як мінімум два типи аддуктів – C4-ОН та C8-ОН. Відомі також пуринові C5-ОН аддукти [13].

Гліколи та гідрати цитозину цікаві тим, що частіше ніж нормальний цитозин підлягають відриву аміногруп, таким чином спричинюючи трансверсії [13, 22].

Деякі модифіковані основи самі стають вільними радикалами та призводять до ланцюгових реакцій. Наприклад, C5-ОН-6-пероксил та C6-ОН-5-пероксил радикали цитозину пов'язані з утворенням 4-аміно-5-гідрокси-2,6(1H,5H)-піримідиндіону та 4-аміно-6-гідрокси-2,5(1H,6H)-піримідиндіону [13, 15, 17].

При взаємодії ДНК з озоном, синглетним киснем та іншими АФК також утворюється ряд похідних азотистих основ [15, 16].

Ще одним типом пошкоджень, індукованих вільними радикалами (особливо – гідроксильним радикалом і малондіальдегідом) та радіацією, вважаються перехресні взаємодії нуклеїнових кислот і білків. Одними з поширених прикладів є тимін-тирозинові та тимін-лізинові взаємодії. Тимін також здатен взаємодіяти з гліцином, аланіном, валіном, лейцином, ізолейцином та треоніном. З тирозином інколи взаємодіє цитозин [13, 14].

Відсутність чітких кількісних, а інколи і якісних результатів дослідження пошкоджень ДНК викликає необхідність детального вивчення цієї проблеми. Важливим є підбір адекватної методики дослідження з урахуванням форми пошкодження та типу досліджуваних клітин. Деякі модифікації поки що недостатньо вивчені у зв'язку з їхніми біохімічними особливостями, деякі – у зв'язку з невеликою кількістю у клітинах [13–19]. Слід враховувати також той факт, що, як показує практика, результати, отримані при дослідженнях ізольованої ДНК та генетичного матеріалу інтактних клітин можуть суттєво відрізнятися. Окрім того, ті пошкодження які визначаються у клітинах є, насправді, рівноважним станом пошкоджень.

1. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr Med Chem.* – 2005. – №12. – P. 1161–1369.
2. Dean R. T, Fu S, Stocker R, Davies M. J. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation // *Biochem. J.* – 1997. – №324. – P. 1–18.
3. Lee Y, Shacter E. Oxidative stress inhibits apoptosis in human lymphoma cells // *J Biol Chem.* – 1999. – № 274. – P. 19792–19800.
4. Nathan C, Shiloh M. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1997. – P. 8841–8849.
5. Rice-Evans C, Gopinathan V. Oxygen toxicity, free radicals and antioxidants in human disease: biochemical implications in atherosclerosis and the problems of premature neonates // *Essays Biochem.* – №29. – P. 39–63.
6. Sies H. Oxidative stress: introductory remarks // *London: Academic Press Inc.* – 1985. – №5. – P. 1–7.
7. Bulteau A.L,

Lundberg K.C., Humphries K.M., et al. Oxidative modification and inactivation of the proteasome during coronary occlusion/reperfusion // The Journal of Biological Chemistry. – 2001. – №32. – P. 30057–30063. 8. Gardner P.R., Fridovich I. Superoxide sensitivity of Escherichia coli 6-phosphogluconate dehydratase // J. Biol. Chem. – 1991. – №266. – P. 1478–1483. 9. Davies K.J.A. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I General aspects // J. Biol. Chem. – 1987. – №162. – P. 9895–9901. 10. Stadtman E.R. Oxidation of proteins by mixed-function oxidation systems: implication in protein turnover, aging and neutrophil function // Trends Biochem. Sci. – 1986. – №11. – P. 11–12. 11. Grune T., Merker K., Sandig G., Devise K. J. Selective degradation of oxidatively modified protein substrates by the proteasome // Biochem Biophys Res Commun. – 2003. – №305. – P. 709–718. 12. Carrad G., Dieu M., Toussaint R.O., Friguet B. Impact of ageing on proteasome structure and function in human lymphocytes // IJBCB. – 2003. – №3. – P. 728–739. 13. Cooke M. S., Evans M. D., Dizdaroglu M., Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease // The FASEB Journal. – 2003. – Vol.17. – P. 1195–1214. 14. Dizdaroglu M. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA // Free radical biology

and medicine. – 1991. – Vol.10. – P. 225–242. 15. Epe B. DNA damage profiles induced by oxidizing agents // The FASEB Journal. – 1997. – Vol.2. – P. 222–240. 16. Epe B., Hegler J. Oxidative DNA damage: endonuclease fingerprinting // Nucleic Acids Res. – 1999. – Vol.3. – P. 458–469. 17. Cadet J., Berger M., Douki T., Ravanat J. L. Oxidative damage to DNA: formation, measurement, and biological significance // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol.86. – P. 8764–8797. 18. Wiseman H., Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer // Biochem. J. – 1996. – Vol.1. – P. 313–314. 19. Beckman K.B., Ames B.N. Oxidative Decay of DNA // Journal of Biological Chemistry. – 1997. – Vol. 272. – № 32. – P. 19633–19636. 20. Halliwell B. Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far can we come? // Am J Clin Nutr. – 2000. – Vol.72. – P. 1082–1087. 21. Hamilton M.L., Van Remmen H., Drake J.A., et al. Does oxidative damage to DNA increase with age? // PNAS. – 2001. – Vol.98. – №18. – P. 10469–10474. 22. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA // Nature. – 1993. – Vol.362. – P. 709–715.

Надійшла до редколегії 27.12.07

УДК 615.9

І. Бєлінська, канд. біол. наук,
Т. Рибальченко, канд. біол. наук,
В. Кокозей, д-р хім. наук,
О. Нестерова, канд. хім. наук

ПАРАМЕТРИ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ХЛОРИДНОГО КОМПЛЕКСУ CU/ZN З ЕТИЛЕНДІАМІНОМ ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ ВВЕДЕННІ PER OS

Встановлено, що параметри гострої токсичності хлоридного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном при введенні per os становлять: доза 1000 мг/кг є летальною для щурів; доза 250 мг/кг – максимально переносима доза, при якій жодна з тварин не загинула; LD₅₀, доза, при якій загинуло 50% дослідних тварин, становить 831 мг/кг.

Toxicological parameters after per os single dose injection of chloride complex Cu/Zn with ethylenediamine [Cu(en)₂ZnCl₄]-dmsol have been studied. The dose 1000 mg per kg is lethal for rats, the dose 250 mg per kg is maximal non lethal dose, LD₅₀ (lethal dose for 50% of animals) is 831 mg per kg.

Метою доклінічних токсикологічних досліджень фармакологічної речовини є встановлення характеру і вираженості її пошкоджуючої дії на організм експериментальних тварин та оцінка її безпеки. Гостра токсичність – це шкідлива дія речовини, яка проявляється після однократного застосування або повторного введення через короткі інтервали (не більше 6 годин) протягом доби. Визначення токсичних властивостей хімічних сполук як потенційних терапевтичних засобів, є важливим та відповідальним етапом доклінічних досліджень, так як від цього залежить вибір лікувальних доз, режиму лікування, стратегії та ефективності терапії [2].

В попередніх дослідженнях встановлено, що гетерополіядерні комплекси Cu/Co з діетаноламіном проявляють мембранотропну активність, взаємодіють з природними і штучними моношаровими та бішаровими мембранами, змінюють активність мембранозв'язаних ферментів гепатоцитів, проявляють гальмівну дію на об'ємну швидкість секреції жовчі печінкою [7, 8]. Гетерополіядерні комплекси Cu/Zn з етилендіаміном проявляють антифібровірусні, антимікробні і фунгіцидні властивості [9, 10], що обумовлює їх вивчення для розробки антибіотиків і протівірусних препаратів.

Найбільш зручним та нетравматичним способом використання лікувальних засобів як для пацієнтів, так і для лікарів, є їх введення per os, що дає змогу проводити лікування амбулаторно. Тому метою даного дослідження було визначення показників гострої токсичності хлоридного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном (PO39) при введенні per os.

Об'єкт та методи досліджень. Комплекс [Cu(en)₂ZnCl₄]-dmsol (en – етилендіамін, dmsol – диметилсульфоксид) (PO39) був синтезований в лабораторії "Біологічно активні речовини" хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шев-

ченка за методикою [6]. Досліди проведені на білих безпородних щурах-самцях з розплідника віварію біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію при нормальному світловому дні. Досліджували діапазон доз, абсолютна величина яких за логарифмічною шкалою відрізнялась з інтервалом 0,1, за методикою Прозоровського [5]. Комплекс Cu/Zn розчиняли у дистильованій воді і вводили зондом через рот. За тваринами спостерігали протягом 10 діб при дослідженні низьких доз, а при дозах 631 мг/кг і 831 мг/кг – 14 діб. Відмічали вживання води і їжі тваринами, активність, зовнішній вигляд, особливості поведінки.

Результати досліджень та їх обговорення. Комплекс Cu/Zn при введенні per os добре переносився тваринами. Після введення досліджуваної речовини спостерігається незначне зниження активності тварин, примруження очей, зменшення поглинання їжі, що зникало через одну-дві доби, після введення. Загибель тварин відбувалась протягом першої доби після введення. Тварини, які залишалися жити, з часом виглядали без зовнішніх ознак токсичної дії досліджуваної речовини.

Як видно з таблиці 1, доза 1000 мг/кг є летальною для всіх тварин при введенні per os. Доза 250 мг/кг – максимально переносимою, при якій жодна з тварин не загинула. LD₅₀, яку визначали на підставі табличних даних при співставленні результатів "через дві дози на третю" за методикою Прозоровського [5], становила 831±338 мг/кг. Проведені додаткові дослідження з метою уточнення LD₅₀, в яких 6 щурам була введена доза 831 мг/кг, показали, що із 6 щурів три загинуло протягом першої доби після введення. Три щури залишалися жити протягом 14 діб без ознак токсичного впливу речовини. Таким чином, LD₅₀ гетерополіядерного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном становить 831 мг/кг.

Таблиця 1. Залежність загибелі нелінійних білих щурів від величини введеної дози (мг/кг маси тварини) хлоридного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном (PO39) при введенні per os

Доза, мг/кг	200 мг/кг	250 мг/кг	317 мг/кг	398 мг/кг	501 мг/кг	631 мг/кг	794 мг/кг	831 мг/кг	1000 мг/кг
Кількість тварин у досліді	3	3	8	3	3	8	8	6	4
Кількість тварин, які загинули	0	0	1	1	1	2	2	3	4

Напівлетальна доза різних сполук міді (II) при введенні per os щурам складає: для хлориду – 140 мг/кг, карбонату – 159 мг/кг, сульфату – 500 мг/кг, ацетату – 710 мг/кг, нітрату – 940 мг/кг [1], для сполук цинку, наприклад етилен-бісдитіокарбамат цинку – 1900 ± 237 мг/кг [4], для хлориду цинку – 6,5 мг/кг [3]. Для етилендіаміну, який входить до складу гетерополіядерного комплексу, напівлетальна доза при введенні в шлунок складає 500 мг/кг [4]. Виходячи з цих даних комплекс Cu/Zn відноситься до помірно небезпечних речовин (III клас токсичності) і добре переноситься тваринами при введенні per os, навіть у високих дозах.

Порівняльні дослідження, проведені Григор'євою з співавторами [3], показали, що для комплексів перехідних металів Fe (III), Zn (II), Mn (II), Cu (II), Cr (III) з N-2,3-діметилфенілантраніловою кислотою показники гострої токсичності зменшуються в ряду сполук: йонні форми металів > прості солі > комплекси металів з амінокарбоною кислотою. На думку авторів, ці дані не слід вважати таким, що обмежуються дослідженими координаційними сполуками з конкретним лігандом. Токсикологічні переваги, наприклад, амінокислотних комплексів перехідних металів (а також комплексів з деякими іншими органічними кислотами – лимонною, фумаровою, молочною) обумовили використання їх як фармакологічних агентів.

Це дозволяє розцінювати комплексоутворення як перспективний системний шлях до підвищення нешкідливості мікроелементів та обумовлює фармакотерапевтичні переваги їх застосування у вигляді координаційних сполук та їх композицій.

Висновки. Дослідження гострої токсичності гетерополіядерного комплексу Cu/Zn при введенні per os показало, що доза 1000 мг/кг є летальною для всіх тварин, доза 250 мг/кг – максимально переносимою дозою, при якій жодна з тварин не загинула, LD₅₀ становить 831 мг/кг. Ці показники значно менші в порівнянні з показниками гострої токсичності простих солей міді і

цинку [1,3], що свідчить про їх перевагу при фармакологічному використанні.

1. Антонович Е.А., Подрушняк А.Е., Щуцкая Т.А. Токсичность меди и ее соединений. Сообщение первое // Совр. Пробл. Токсикол. – 1999. – №3. – 4-13.
2. Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская И.В. и др. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ // В кн. "Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ". – Москва, 2000. – 398 с.
3. Григор'єва Г.С., Киричок Л.М., Конахович Н.Ф. та ін. Комплексоутворення як спосіб підвищення нешкідливості сполук мікроелементів // Современные проблемы токсикологии – 1998. – №1. – С. 21-24.
4. Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии. – М. "Медицина", 1977. – 240 с.
5. Прозоровский В. Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты // Токсикологический вестник. – 1998. – № 1. – С. 28–32.
6. Скопенко В.В., Бойко А.Л., Козей В.М., Полішук В.П., Прима О.В., Петрусенко С.Р., Будзанівська І.Г. Патент України № 48544 А, C01G 1/00, Бюл. № 8, 2002.
7. Філінська О.М., Бичко А.В., Рибальченко Т.В., Кулинич К.Є. Зміна властивостей ліпідного бішару під впливом складових гетерополіядерних Cu(II)/Co(III) сполук з діетаноламіном // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. Збір. наук. праць. – 2005. – Вип. 6 (69). – С. 84–93.
8. Філінська О.М., Рибальченко Т.В., Островська Г.В., Козей В.М., Маханькова В.Г., Яблонська С.В., Лозовий В.П., Рибальченко В.К. Екто-АТФаза та Mg²⁺, Ca²⁺-АТФаза активності плазматичних мембран гепатоцитів щурів за умов дії гетерополіядерних Cu(II)/Co(III) комплексів з діетаноламіном // Доповіді НАН України. – 2006. – № 3. – С. 173–175.
9. Яворська Н., Фурзікова Т., Нестерова О., Позур В. Антимікробні властивості новосинтезованих гетеробіметалевих Cu/M (M=Zn, Cd) комплексів з етилендіаміном // Вісник КУ: Біологія. – 2006. – №47-48. – С. 45–47.
10. Kharina A.V., Polischuk V.P. and Nesterova O.V. Antiphytoviral activity of heterometallic copper containing amine complexes // Archives of Phytopathology and Plant Protection. – 2004. – V.37. – pp. 299–306.

Надійшла до редакції 28.12.07

УДК 573.2

Л. Бучацький, д-р біол. наук,
В. Щербик, наук. співроб.

ВИРОДЖЕНІСТЬ ГЕНЕТИЧНОГО КОДУ У ЧОТИРИВИМІРНОМУ РІМАНОВОМУ ПРОСТОРІ МАТРИЧНОЇ РНК

Розглянута модель перетворення триплета матричної РНК в амінокислоту генетичного коду. Показано, що виродженість генетичного коду пов'язана з обмеженістю числа незалежних компонент тензора кривизни чотиривимірного ріманового простору.

The model of triplet transformation of matrix RNA into amino acid of the genetic code is considered. It is shown, that the genetic code degeneration is connected with limitation number of independent component of curvature tensor of four-dimensional Riemann space.

Вступ. Відомо, що генетичний код, який виражає залежність амінокислот від триплетів мРНК, вироджений [1]. Це означає, що амінокислоти генетичного коду, окрім метіоніну і тріптофану, кодуються більш, ніж двома триплетами. За амінокислотною послідовністю неможливо однозначно відновити послідовність триплетів кодуючої мРНК.

В даний час причина виродженості генетичного коду невідома.

У більшості робіт, присвяченим походженню генетичного коду [2, 3] використовується інформація про відповідність амінокислот триплетам мРНК. У роботах по теорії еволюції генетичного коду [4, 5] розглядаються різні схеми перетворення амінокислот на основі групових перетво-

рень. Генетичний код часто розглядається як статичний кристал [6] з певними алгебраїчними властивостями.

Ми вважаємо, що походження генетичного коду тісно пов'язане з рімановою геометрією. Двадцять амінокислот генетичного коду точно відповідають числу незалежних компонент тензора кривизни чотиривимірного простору-часу, що і визначає виродженість генетичного коду.

Об'єкт і методи досліджень. Матрична РНК має складну просторову структуру. Тому нуклеотиди мРНК знаходяться в криволінійній системі координат щодо сахаро-фосфатного базису. При трансляції триплетів мРНК в амінокислоти генетичного коду необхідно враховувати динаміку перетворення триплетів в амінокислоти. Тому можна вважати, що процес трансляції триплетів мРНК в амінокислоти відбувається в криволінійному чотиривимірному просторі-часі. Припустимо, що цим криволінійним простором є рімановий простір кодуючих нуклеотидів мРНК.

Результати та їх обговорення. Позначимо буквою ξ довільний кодуючий нуклеотид мРНК. Тоді варіація нуклеотида ξ_i при його перенесенні уздовж рибосоми визначається за формулою [7]:

$$\delta \xi_i = \Gamma_{it}^k \xi_k dx^t, \quad (1)$$

де Γ_{it}^k – просторово-часова зв'язність триплету kit мРНК; x^t – просторово-часові координати нуклеотида ξ_i мРНК.

Аналогічно визначається варіація нуклеотида $\delta \xi^j$ тРНК:

$$\delta \xi^j = -\Gamma_{\alpha\beta}^i \xi^\alpha dx^\beta, \quad (2)$$

де $\Gamma_{\alpha\beta}^i$ – просторово-часова зв'язність антикодового триплету $i\alpha\beta$ тРНК; x^β – просторово-часові координати нуклеотида ξ^j тРНК.

Перемножимо (1) і (2). В результаті одержимо квадрат інваріантного просторово-часового інтервалу $d\sigma^2$ зміни кодуючого нуклеотида мРНК:

$$d\sigma^2 = \delta \xi_i \delta \xi^i = -\Gamma_{it}^k \Gamma_{\alpha\beta}^i \xi_k \xi^\alpha dx^t dx^\beta = g_{t\beta} dx^t dx^\beta,$$

де $g_{t\beta}$ – метричний тензор чотиривимірного ріманового простору.

Представимо добуток $\xi_k \xi^\alpha$ двома способами:

$$\xi_k \xi^\alpha = g_{kv} \xi^v \xi^\alpha = g^{va} \xi_k \xi_v.$$

Припустимо, що нуклеотид ξ_v мРНК утворює навколо себе замкнуту поверхню:

$$\xi_v = S_v^{en} \xi_e \xi_n. \quad (3)$$

Добуток нуклеотидів $\xi^v \xi^\alpha$ тРНК виразимо через вектор амінокислоти ζ^μ :

$$\xi^v \xi^\alpha = \xi_k \xi_v = Z_\mu^{va} \zeta^\mu. \quad (4)$$

Відзначимо, що співвідношення (4) не визначає будь-яку алгебру. Необхідність введення співвідношення (4) пов'язана з безповоротністю процесу перетворення триплету мРНК в амінокислоту.

Із співвідношень (3) і (4) витікає залежність кодуючих нуклеотидів мРНК від амінокислот, але не навпаки:

$$\xi_v = g_{ev} g_{n\alpha} S_v^{en} \xi^v \xi^\alpha = g_{ev} g_{n\alpha} S_v^{en} Z_\mu^{va} \zeta^\mu.$$

З урахуванням співвідношень (3) і (4) одержимо два представлення метричного тензора $g_{t\beta}$:

$$g_{t\beta} = -\Gamma_{it}^k \Gamma_{\alpha\beta}^i g^{va} \xi_k \xi_v = -\Gamma_{it}^k \Gamma_{\alpha\beta}^i g^{va} S_v^{en} \xi_k \xi_e \xi_n = \Omega_{t\beta}^{ken} \xi_k \xi_e \xi_n. \quad (5)$$

$$g_{t\beta} = -\Gamma_{it}^k \Gamma_{\alpha\beta}^i g_{kv} \xi^v \xi^\alpha = -\Gamma_{it}^k \Gamma_{\alpha\beta}^i g_{kv} Z_\mu^{va} \zeta^\mu = \Xi_{t\beta} \zeta^\mu. \quad (6)$$

Визначимо симетричні різниці правих частин співвідношень (5) і (6):

$$\Omega_{t\beta}^{ken} (-) \Xi_{t\beta} = R_{\mu}^{ken}; \quad \xi_k \xi_e \xi_n (-) \zeta^\mu = \Lambda_{ken}^\mu.$$

Функція R_{μ}^{ken} є тензором кривизни чотиривимірного ріманового простору нуклеотидів мРНК. Вектор амінокислоти ζ^μ приєднує до себе триплет $\xi_k \xi_e \xi_n$ мРНК, тобто вектор ζ^μ лише формально залежить від кодуючого триплету мРНК. Тому функція Λ_{ken}^μ є квантованим представленням тензора кривизни R_{μ}^{ken} . Оскільки тензор кривизни R_{μ}^{ken} чотиривимірного ріманового простору має 20 незалежних компонент, то і його квантоване відображення Λ_{ken}^μ також має двадцять незалежних векторних відображень, тобто амінокислот.

Виродженість генетичного коду обумовлена двома причинами:

1) формальним зв'язком між амінокислотою і кодуючим триплетом мРНК, тобто простим накладенням амінокислоти на триплет мРНК;

2) обмеженістю числа незалежних компонент тензора кривизни чотиривимірного ріманового простору.

Відзначимо, що тензор кривизни шестивимірного ріманового простору має 105 незалежних компонент, яких було б цілком достатньо для невиродженої відповідності амінокислот триплетам мРНК. Але в цьому випадку амінокислота залежала б не тільки від триплету мРНК, але і від триплету тРНК, що сильно б ускладнило спаровування мРНК–тРНК.

Покажемо, що, не дивлячись на безповоротність перетворення триплету мРНК в амінокислоту, об'єм функціонального простору при переході від кодування інформації мРНК до кодування інформації амінокислота, не змінюється.

Функціональний об'єм при переході від функцій $\Omega_{t\beta}^{ken}$ до функцій $\Xi_{t\beta}$ рівний $3^5 = 243$ функцій. До цього об'єму слід додати об'єм допоміжних просторів, рівний $13 = 5 + 4 + 3 + 1$. Одержимо 256 функцій перетворення триплетів мРНК в амінокислоти генетичного коду.

Навпаки, перехід від функцій $\Xi_{t\beta}$ до функцій $\Omega_{t\beta}^{ken}$ і від амінокислот ζ^μ до триплетів $\xi_k \xi_e \xi_n$ вимагає $5^3 + 3^1 = 128$ функцій. До цього числа необхідно додати 128 триплетів спаровування мРНК – тРНК.

Висновки. Виродженість генетичного коду пов'язана з обмеженістю числа незалежних компонент чотиривимірного ріманового простору мРНК. Перетворення триплетів мРНК в амінокислоти генетичного коду зберігає об'єм інформаційного простору.

1. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. – М.: Мир, 1998. – Т1. – 374 с.
2. Di Giulio M. The origin of the genetic code: theories and their relationships, a review // BioSystems. – 2005. – 80 – P. 175–184.
3. Yarus M., Caporaso J.G., and Knight R. Origins of the Genetic Code: The Escaped Triplet Theory // Annu. Rev. Biochem. – 2005. – 74 – P. 179–198.
4. Hornos J.E.M. and Hornos Y.M.M. Algebraic Model for the Evolution of the Genetic Code // Phys. Rev. Lett. – 1993. – 71 – P. 4401–4404.
5. Bashford J.D., Tsohantjis I., Jarvis P.D. A supersymmetric model for the evolution of the genetic code // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – 95 – P. 987–992.
6. Frappat L., Sciarrino A., Sorba P. A crystal base for the genetic code // Phys. Lett. – 1998. – A250 – P. 214.
7. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теория поля. – М.: Наука. – 1973. – 504 с.

Надійшла до редколегії 29.01.08

УДК 616.24-002.5+616.23/24:576.851.252:611

Г. Любченко, асп.,
О. Гриценко, асп.,
Г. Олешко, асп.,
Л. Холодна, д-р біол. наук

ВПЛИВ БІЛКУ-АДГЕЗИНУ Р 70 СТАФІЛОКОКУ НА ПОГЛИНАЛЬНУ ЗДАТНІСТЬ ЦИРКУЛЮЮЧИХ НЕЙТРОФІЛОЦИТІВ

Показано, що досліджувані субстанції чинять виразний вплив на поглинальну здатність фагоцитів, який мав різну спрямованість у здорових осіб та у пацієнтів з неспецифічним і туберкульозним запаленням легень.

It is demonstrated that study substance made expressive influence on absorptive capacity of phagocyte cells, which had different direction in healthy persons and patients with nonspecific and tuberculosis inflammation of lungs.

Вступ. При взаємодії патоген-хазяїн спостерігається, з одного боку, комплекс подій, направлених на елімінацію мікроорганізму, а з іншого – прагнення патогену обійти захисні механізми організму. Серед головних механізмів протиінфекційного захисту організму одне з провідних місць належить фагоцитозу. Фагоцитуючі клітини першими контактують з інфекційними агентами і в них відбувається або знищення останнього, або його персистенція чи навіть розмноження (що є характерним для внутрішньоклітинних патогенів *Mycobacterium tuberculosis*). До циркулюючих фагоцитів відносяться нейтрофілоцити (Нф) та моноцити (Мц) периферичної крові (ПК) – найважливіші ефektorні клітини, яким належить провідне місце в здійсненні неспецифічних механізмів протиінфекційного захисту, в т.ч. протитуберкульозного [5].

Одним з найпоширеніших видів внутрішньоклітинних патогенів є мікобактерії туберкульозу, інфікованість якими має місце практично у 98% дорослого населення України [7]. Перебіг запального процесу при туберкульозі (ТБ) часто ускладнюється приєднанням вторинної (неспецифічної) інфекції, зокрема стафілококової етіології. При розвитку туберкульозу ускладненого стафілококовою інфекцією спостерігається пригнічення функціональної активності фагоцитуючих клітин [8].

Стафілокок експресує багато факторів патогенності (токсини, екзоферменти, протеїни, поверхневі адгезини та ін.), імунобіологічна активність яких залишається ще не зовсім з'ясованою. Існують дані про те, що важливу роль у колонізації, проникненні, адгезії відіграють поверхневі білкові антигени стафілококу. Адгезія забезпечується бактеріальними поверхневими компонентами – адгезинами, але значення кожного з поверхневих білків у розвитку інфекції є не до кінця з'ясованим як і їх роль у формуванні імунної відповіді в організмі [1, 4].

Першим кроком елімінації бактеріальних патогенів є поглинання цих об'єктів фагоцитами, тому дослідження поглинальної здатності фагоцитуючих клітин є важливим для оцінки функціонального стану фагоцитуючих клітин як у хворих на туберкульоз, так і у пацієнтів з хронічними неспецифічними захворюваннями бронхо-легеневої системи, етіологічним чинником яких виступає тривала персистенція патогенних бактеріальних мікроорганізмів, що підтримують хронічне запалення [5].

Отже, для комплексного аналізу впливу стафілококу на організм необхідно з'ясувати особливості змін поглинальної здатності циркулюючих Нф при туберкульозному та неспецифічному запаленні, які спричиняються корпускулярним стафілококом та його окремими субстанціями, що й стало метою цього дослідження.

Об'єкти та методи дослідження. Дослідження впливу корпускулярного *S. aureus* та білку-адгезину р 70 на поглинальну здатність фагоцитів було проведено у 37 хворих з активним туберкульозним процесом в легенях, 21

пацієнта з хронічними обструктивними захворюваннями легень (ХОЗЛ) та 28 здорових осіб – донорів крові.

В роботі використовували інактивовані стафілокок – *Staphylococcus aureus* Wood 46 (Чехословацька колекція мікроорганізмів) та виділений з нього білок-адгезин р 70 [3], який застосовували в трьох концентраціях: 10 мкг/мл, 50 мкг/мл та 100 мкг/мл.

Інтенсивність поглинання часток латексу (діаметром 1,1 мкм) адгерентними Нф ПК оцінювали після 30-хвилинної преінкубації цих клітин з відповідними субстанціями, розраховуючи процент активних фагоцитів – ПФ та їх активність – фагоцитарне число (ФЧ) [6].

Вплив *S. aureus* та виділеного з нього білку-адгезину р 70 оцінювали за рівнями поглинальної здатності фагоцитів після їх преінкубації з досліджуваними субстанціями, за частотою стимуляції і пригнічення та за інтенсивністю стимуляції чи пригнічення. Крім того, у обстежених всіх груп визначали вихідні рівні поглинальної здатності Нф, в тому числі в залежності від наявності активуючого та супресуючого впливу *S. aureus* та білку-адгезину р 70.

Статистичну обробку отриманих даних проводили на персональному комп'ютері за допомогою пакету прикладних програм Microsoft Excel з використанням критерію Стьюдента [2].

Результати та їх обговорення. При аналізі отриманих даних (табл. 1) було виявлено, що преінкубація Нф ПК здорових осіб зі *S. aureus* та білком-адгезином в цілому призводила до пригнічення їх поглинальної здатності як за рахунок зменшення кількості активних фагоцитів, так і через зниження їх середньої активності. У хворих на ХОЗЛ спостерігалися аналогічні зміни. В той же час у пацієнтів з туберкульозним запаленням легень вірогідного впливу *S. aureus* на поглинальну здатність Нф не виявлялося, проте визначалася явна тенденція до її зростання під впливом білку-адгезину, залежно від використаної концентрації.

У донорів та хворих на ХОЗЛ преінкубація Нф ПК з білком-адгезином призводила до послаблення поглинальної здатності цих клітин, причому найбільш виразне зменшення середньої активності спостерігалось у випадку використання цієї субстанції в дозі 50 мкг/мл (табл. 1). В той же час у пацієнтів з туберкульозним запаленням легень показники поглинальної здатності Нф після їх преінкубації з білком-адгезином були значно вищими, ніж після інкубації зі *S. aureus*.

Вивчення характеру та частоти змін індивідуальних показників поглинальної здатності Нф продемонструвало різну спрямованість впливу *S. aureus* та білку-адгезину у здорових осіб і хворих на ХОЗЛ та ТБ. У донорів та у пацієнтів з хронічними неспецифічними запаленнями легень спостерігалася переважно супресуюча дія білку-адгезину яке не залежала від застосованої дози цієї субстанції.

При туберкульозному запаленні частота пригнічення та стимуляції поглинальної здатності Нф *білком-адгезином* в менших дозах не відрізнялися між собою, тоді як при використанні цієї субстанції в концентрації 100 мкг/мл частота та показник стимуляції виявився найбільшим.

Треба зазначити, що активація *білком-адгезином* поглинальної здатності Нф в групі донорів та хворих на ХОЗЛ мала місце лише у випадках зниження її вихідного рівня, а пригнічення – у пацієнтів із нормальними та високими показниками ПФ. В той же час у пацієнтів з запальним процесом туберкульозної етіології такої залежності зафіксовано не було.

Висновки. *S. aureus* та *білок-адгезин* чинять виразний вплив на поглинальну здатність фагоцитів, який мав різну спрямованість у здорових осіб та у пацієнтів з неспецифічним та туберкульозним запаленням легень.

У здорових осіб та хворих неспецифічним запаленням зафіксовано супресуючий ефект *S. aureus* та *білку-адгезину*, який спостерігався при нормальних та високих вихідних рівнях поглинальної здатності Нф.

При туберкульозному запаленні легень виявлено стимулюючу дію *білку-адгезину*, що порівняно з супресуючим впливом корпускулярного стафілококу залежала від використаної концентрації антигену стафілококу.

Таблиця 1. Вплив препаратів стафілококу на поглинальну здатність нейтрофілоцитів хворих хронічними обструктивними захворюваннями легень та туберкульозом, ($M \pm m$)

Проби		Показники	Групи обстежених		
Препарат	Доза		Здорові особи (n = 28)	Хворі на:	
				ХОЗЛ (n=21)	ТБ (n=37)
Контроль		ПФ (%)	27,2 ± 2,0	30,3 ± 2,3	23,6 ± 1,8
		ФЧ (у.о.)	8,3 ± 0,3	7,6 ± 0,3	7,6 ± 0,3
<i>S.aureus</i>	2,0 × 10 ⁸ /мл	ПФ (%)	21,0 ± 1,3*	22,8 ± 1,1*	22,1 ± 1,4
		ФЧ (у.о.)	7,5 ± 0,2*	7,5 ± 0,3	7,6 ± 0,3
БІЛОК-АДГЕЗИН	10,0 мкг/мл	ПФ (%)	20,5 ± 1,8*	20,5 ± 1,2*	25,5 ± 2,5
		ФЧ (у.о.)	8,0 ± 0,2	7,6 ± 0,3	7,4 ± 0,5
	50,0 мкг/мл	ПФ (%)	19,5 ± 1,5*	19,3 ± 1,4**	26,0 ± 2,2
		ФЧ (у.о.)	6,8 ± 0,2**	7,6 ± 0,4	7,7 ± 0,5
	100,0 мкг/мл	ПФ (%)	21,6 ± 1,4*	20,0 ± 1,4*	30,2 ± 3,9 [#]
		ФЧ (у.о.)	7,2 ± 0,2*	7,6 ± 0,3	8,1 ± 0,8

Примітки.

1. * – різниця показника в порівнянні з контролем, вірогідність ($p < 0,05$).

2. # – різниця показника в порівнянні з показником, отриманим при інкубації клітин зі *S.aureus*, вірогідність ($p < 0,05$).

3. ** – різниця показника в порівнянні з показником, отриманим при інкубації клітин з відповідною субстанцією *S.aureus* в дозі 50 мг/кг, вірогідність ($p < 0,05$).

1. Вершигора А.Е., Холодная Л.С. Иммунобиологическая активность белка А стафилококка // Успехи современной биологии. – 1986. – Т. 101, № 3. – С. 449–461. 2. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев: Морион, 2001. – 408 с. 3. Олешко Г.М., Любченко Г.А. Виділення та очистка поверхневих білків-адгезинів стафілокока // Матеріали IX Укр. біохім. з'їзду. – Харків, К.: "GRASA" – 2006. – № 2 – С. 57–58. 4. Олешко Г.М., Любченко Г.А. Імунобіологічні властивості поверхневих білків-адгезинів стафілококу / Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79/ – № 1. – С. 5–11. 5. Стан фагоцитарної ланки системного та місцевого імунітету хворих на ХОЗЛ з різним типом міксоміцетів, виділених

з нижніх дихальних шляхів / Ільїнська І.Ф., Рекалова О.М., Фірсова А.С., Петішкіна В.М. // Укр. пульмон. журн. – 2005. – № 4. – С. 55–58. 6. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения: Метод. рекомендации / Киевский НИИ фтизиатрии и пульмонологии. – Киев, 1988. – 18 с. 7. Феценко Ю.І., Мельник В.М., Коблянська А.В. Хіміорезистентний туберкульоз. – К.: Здоров'я, 2003. – 136 с. 8. Филинук О.В., Уразова О.И., Новицкий В.В. Функциональная активность фагоцитирующих клеток крови при туберкулезе легких // ЖМЭИ. – 2006. – № 1. – С. 79–81.

Надійшла до редколегії 25.09.07

УДК 612.821 : 612.82/83

Л. Чікіна, пров. інж.,
Ю. Горго, д-р біол. наук, проф.,
С. Федорчук, канд. біол. наук,
А. Тернова, інж. III кат.

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНИХ РЕАКЦІЙ ОБСТЕЖЕНИХ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ЗА РЕЗУЛЬТАТИ ДІЯЛЬНОСТІ

Досліджено стан статичних електричних потенціалів в біологічно активних зонах шкіри людини за оптимальних умов та за умов підвищеної відповідальності за результати діяльності. Виявлено статеві відмінності при вивченні електрофізіологічних характеристик шкіри людини. Підвищена відповідальність за результати діяльності сприяє збільшенню різниці в електрофізіологічних показниках шкіри у представників чоловічої та жіночої статі.

The state of static electrical potentials in biologically zones of a skin of the person is researched under optimal conditions and under conditions of the raised responsibility for outcomes of activity. Sexual differences are found at study of electrophysiological performances of a skin of the person. The raised responsibility for outcomes of activity causes augmentation of differences in electrophysiological parameters of a skin for representatives man's and a female.

Вступ. В роботі [1] встановлено, що на характеристики статичних електричних потенціалів в біологічно активних зонах обличчя суттєво впливають статеві, вікові, психофізіологічні та психологічні індивідуально-типологічні особливості людини. Проте, дослідженню

електрофізіологічних особливостей шкіри чоловіків та жінок приділяється недостатньо уваги.

Тому доцільно вивчити та порівняти стан статичних електричних потенціалів в біологічно активних зонах шкіри обличчя у чоловіків та жінок за оптимальних

умов та за умов підвищеної відповідальності за результати діяльності.

Об'єкт і методи дослідження. В дослідженні як обстежувані брали участь 93 студенти (32 особи чоловічої статі та 61 жіночої) Київського національного університету імені Тараса Шевченка віком 19–21 років. Ця група обстежуваних проходила комп'ютерне тестування за оптимальних умов. Дві інші групи – 161 абітурієнт (128 осіб чоловічої статі та 33 жіночої) віком 17–21 років та 153 слухача (83 особи чоловічої статі та 70 жіночої) віком 23-25 років проходили аналогічне тестування за умов підвищеної відповідальності за результати діяльності, бо результати цього тестування були визначальними при складанні іспитів до Української військово-медичної академії. За допомогою комп'ютерного тестування [5] визначалися основні психофізіологічні характеристики чоловіків та жінок, порівняльний аналіз яких був здійснений нами раніше [3]. Окрім психофізіологічних характеристик, вивчалися ще й електрофізіологічні характеристики – статичні електричні потенціали (СТЕП) у п'яти симетричних правих та лівих біологічно активних зонах (БАЗ) шкіри обличчя обстежуваних: лобних, надбрівних, біляносових, скроневих та білявушних [2, 4]. Реєстрацію СТЕП в усіх групах обстежуваних здійснювали двічі: до проходження психофізіологічного тестування та безпосередньо після тестування. Величини отриманих значень СТЕП до проходження тестування в лобних відповідно правих і лівих зонах ми по-

значали як ЛП, ЛЛ, в надбрівних – НП, НЛ, в біляносових – БНП, БНЛ, в скроневих – СП, СЛ, в білявушних – БВП, БВЛ. Після проходження тестування отримані дані позначали наступним чином: статичні електричні потенціали в лобних БАЗ шкіри – ЛП1, ЛЛ1, в надбрівних – НП1, НЛ1, в біляносових – БНП1, БНЛ1, в скроневих – СП1, СЛ1, в білявушних – БВП1, БВЛ1.

Результати та їх обговорення. Використавши непараметричний тест Манна та Уїтні для незалежних вибірок ми провели порівняння відповідних значень СТЕП в БАЗ шкіри обличчя у чоловіків та жінок як за оптимальних умов, так і за умов підвищеної відповідальності за результати діяльності. Також проведено порівняльний аналіз значень СТЕП за умов підвищеної відповідальності за результати діяльності з відповідними значеннями потенціалів за оптимальних умов окремо для представників чоловічої та жіночої статі. За допомогою непараметричного критерію Вілкоксона була проаналізована асиметрія в показниках СТЕП у кожній із п'яти пар вивчаємих зон шкіри та проведено порівняльний аналіз значень СТЕП до та після тестування в межах кожної із обстежуваних підгруп.

В табл.1 наведені абсолютні значення амплітуд статичних електричних потенціалів до та після тестування та результати порівняльного аналізу СТЕП у відповідних парах БАЗ шкіри серед студентів, абітурієнтів і слухачів для представників обох статей.

Таблиця 1. Стан електрофізіологічних характеристик шкіри у обстежуваних чоловіків та жінок (Ме [25%,75%])

Показники (мВ)	Оптимальні умови діяльності		Умови підвищеної відповідальності за результат			
	Студенти (n=93)		Абітурієнти (n=161)		Слухачі (n=153)	
	Чоловіки (n=32)	Жінки (n=61)	Чоловіки (n=128)	Жінки (n=33)	Чоловіки (n=83)	Жінки (n=70)
ЛП	38 (30, 41)	34(25, 46)	45(40, 55)*** #	50(40, 56)***	42(35, 50)**	45(38, 52)*** !
ЛЛ	38(30, 45)	40(24, 49)	49(40, 55)*** # \$1	55(44, 58)***	45(35, 51)**	45(40, 54)*** !
НП	45(35, 50)	42(30, 50)	50(45, 57)***	53(45, 60)*** #	48(40, 55)**	50(40, 55)**
НЛ	43(35, 50)	40(30, 50)	50(43, 55)*** #	50(45, 56.5)***	45(40, 55)	46(40, 53)**
БНП	42(35, 47)	45(32, 50)	50(40.5, 55)*** \$\$\$	55(48, 62.5)*** # !	48(40, 55)	50(40, 55)**
БНЛ	44(40, 46)	45(35, 54) \$1	45(40, 55)	52(46, 60)*** # !	48(40, 55)	49(40, 55)*
СП	44(34, 50)	40(25, 52)	51(45, 60)***	55(52, 60)*** !	52(46, 60)*** \$	53(45, 60)*** \$
СЛ	40(35, 53)	40(30, 55) \$1	50(45, 58)**	55(50, 60)***	53(42, 58)**	52(43, 58)**
БВП	45(43, 50) \$\$\$	45(32, 55)	52(46, 60)*** \$	55(50, 60)*** \$	54(48, 60)*** \$\$\$	53(45, 50)*** \$\$\$
БПЛ	45(40, 50)	45(35, 55)	50(45, 55)***	55(48, 60)**	53(48, 60)***	50(45, 59)*
ЛП1	38(31, 43)	35(28, 45)	48(40, 55)*** #	52(45, 60)*** !	44(35, 50)*	45(40, 52)*** !
ЛЛ1	40(32, 47)	36(28, 45)	50(44, 55)*** ## \$1	55(46, 60)*** !	45(35, 50)*	48(40, 54)*** !
НП1	44(37, 50)	40(30, 49)	50(45, 56)** ##	55(50, 60)*** # !	45(36, 55)	47(40, 55)*** !
НЛ1	41(40, 50)	40(30, 50)	50(42.5, 55)*** #	55(49, 59)*** !	45(36, 55)	45(38, 55)***
БНП1	42(35, 50)	42(36, 50)	50(41, 55)* \$	55(50, 60)*** ## !	45(39, 53)	46(40, 55)*
БНЛ1	40(38, 49)	44(35, 51)	50(40, 54)*	55(50, 59)*** # !	45(37, 55)	46(40, 55)*
СП1	44(35, 53)	42(30, 50)	52(45, 57)* \$\$\$	54(50, 60)*** !	51(44, 60)** \$\$\$	51(44, 60)***
СЛ1	42(35, 50)	40(30, 50)	50(42, 55)*	51(49, 60)***	49(41, 58)**	50(41, 57)***
БВП1	45(40, 50)	42(35, 51)	50(44, 55)* #	52(48, 60)***	52(47, 61)*** \$\$\$	52(45, 60)*** \$\$\$
БВЛ1	42(35, 50)	40(35, 54)	50(43, 55)*	52(45, 60)***	51(45, 60)***	50(42, 58)**

Примітки: ЛП, ЛЛ; НП, НЛ; БНП, БНЛ; СП, СЛ; БВП, БВЛ- значення статичних електричних потенціалів в правих та лівих лобних, надбрівних, біляносових, скроневих, білявушних зонах шкіри до проходження тестування; ЛП1, ЛЛ1; НП1, НЛ1; БНП1, БНЛ1; СП1, СЛ1; БВП1, БВЛ1 – після проходження тестування; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ при порівнянні вимірюваних показників у групах чоловіків(жінок)-абітурієнтів та чоловіків (жінок)-слухачів з відповідними показниками в групі чоловіків (жінок)-студентів; # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ при порівнянні відповідних показників в групах чоловіків(жінок)-абітурієнтів та чоловіків(жінок)-слухачів; \$ – $p < 0.05$, \$\$\$ – $p < 0.01$, \$\$\$\$ – $p < 0.001$ - права асиметрія абсолютних значень статичних електричних потенціалів у відповідних парах обстежуваних зон; \$1 – $p < 0.01$ ліва асиметрія абсолютних значень статичних електричних потенціалів у відповідних парах обстежуваних зон; ! – $p < 0.01$ при вимірюваних показників у жінок (абітурієнтів-слухачів) з відповідними показниками у групах чоловіків (абітурієнтів-слухачів)

В чоловіків-абітурієнтів значуще зростання амплітуд СТЕП виявлено в усіх обстежуваних БАЗ шкіри голови за винятком біляносової лівої зони до проходження тестування та в усіх обстежуваних БАЗ після тестування в порівнянні з відповідними абсолютними значеннями потенціалів у групі чоловіків-студентів. У чоловіків-

слухачів значуще зростання амплітуди СТЕП до тестування виявлено в лобних, надбрівній правій, скроневих та білявушних БАЗ, після тестування – в лобних, скроневих, білявушних БАЗ в порівнянні з відповідними величинами СТЕП у чоловіків-студентів.

Вплив підвищеної відповідальності за результати діяльності у абітурієнтів та слухачів жіночої статі проявляється в значущому зростанні величин СТЕП в усіх обстежуваних БАЗ як до тестування, так і після нього при порівнянні з даними, які були отримані за оптимальних умов.

Порівняльний аналіз електрофізіологічних характеристик шкіри серед обстежуваних обох статей показав, що до проходження тестування у чоловіків-абітурієнтів виявилися значуще нижчі значення СТЕП в білявушних та скроневій правій БАЗ шкіри, ніж у жінок-абітурієнтів. Після проходження тестування значуща різниця між відповідними величинами СТЕП проявилася ще в більшій мірі: у чоловіків абсолютні значення статичних електричних потенціалів в лобних, надбрівних, біляносових та скроневій правій БАЗ виявилися нижчими, ніж у представників жіночої статі. У чоловіків-слухачів до проходження тестування виявлено значуще нижчі показники потенціалів лише в лобних зонах, ніж у жінок-слухачів. Після проходження тестування значуща різниця в електрофізіологічних показниках шкіри спостерігалася в лобних і надбрівній правій зонах: у чоловіків-слухачів абсолютні значення СТЕП вірогідно нижчі, ніж у жінок-слухачів.

Хочеться відмітити, що функціональна асиметрія розподілу потенціалів у п'яти парах БАЗ проявляється частіше при підвищеній відповідальності за результати діяльності. В оптимальному стані у представників чоловічої статі значуща асиметрія СТЕП має місце лише в правій білявушній зоні до проходження тестів. При підвищеній відповідальності за результати діяльності у чоловіків-абітурієнтів виявлена ліва асиметрія значень СТЕП в лобних БАЗ як до тестування, так і після тестування, та права асиметрія в біляносових та білявушних зонах до тестування та в біляносових і скроневих БАЗ після тестування. У чоловіків-слухачів права функціональна асиметрія розподілу СТЕП до тестування виявлена в скроневих та білявушних парах БАЗ, після тестування – лише в білявушній парі БАЗ. В оптимальному стані у представників жіночої статі значуща ліва асиметрія СТЕП спостерігається лише в біляносових та скроневих парах БАЗ до проходження тестування. За умов підвищеної відповідальності за роботу у жінок-абітурієнтів виявлена значуща права асиметрія розподілу СТЕП в білявушній парі БАЗ до проходження тестування. У жінок-слухачів до тестування виявлена права функціональна асиметрія в скроневих та білявушних парах БАЗ, а після тестування – права асиметрія в білявушній парі БАЗ. Отже, у чоловіків-абітурієнтів функціональна асиметрія СТЕП проявляється частіше, ніж у жінок-абітурієнтів. У слухачів обох статей права функціональна асиметрія розподілу потенціалів виявлена в одних і тих же парах обстежуваних зон шкіри (скроне-

вих та білявушних) за винятком скроневої пари БАЗ після тестування: у чоловіків вона присутня, а у жінок – відсутня (див. табл. 1).

У чоловіків-абітурієнтів спостерігаються значуще вищі потенціали в лобних, надбрівній лівій БАЗ до тестування та в лобних, надбрівних БАЗ після тестування ніж у чоловіків-слухачів. Винятком складає значення потенціалу в білявушній правій зоні після проходження тестування: у абітурієнтів він значуще нижчий, ніж у слухачів. У жінок-абітурієнтів виявлено значуще вищі величини СТЕП в правих надбрівних та біляносових БАЗ до тестування та в правій надбрівній та біляносових зонах після тестування ніж у жінок-слухачів. На нашу думку, це можна пояснити тим, що слухачі-випускники вищих навчальних закладів, мають більш багатий досвід проходження тестувань, ніж абітурієнти – випускники середніх шкіл та училищ, і, звичайно, реакція слухачів на психоемоційне напруження є менш вираженою, ніж у абітурієнтів, що, можливо, і є причиною вірогідно вищих електрофізіологічних показників шкіри у абітурієнтів.

В межах кожної із обстежуваних підгруп не виявлено значущої різниці в електрофізіологічних показниках шкіри при порівнянні відповідних характеристик до та після тестування.

Висновки. Підвищена відповідальність за результати діяльності сприяє зростанню значень потенціалів шкіри в порівнянні з відповідними значеннями в оптимальному стані. Це явище більш яскраво виражено у представників жіночої статі. Асиметрія розподілу потенціалів у відповідних парах біологічно активних зон шкіри у чоловіків і жінок проявляється по-різному як за оптимальних умов діяльності, так і за умов підвищеної відповідальності за результати діяльності. За екстремальних умов діяльності явище асиметрії статичних електричних потенціалів зустрічається частіше у представників чоловічої статі. Значення статичних електричних потенціалів за умов підвищенної відповідальності за результат у жінок вище, ніж у чоловіків, причому, ця різниця стає більш вираженою після проходження тестування.

1. Богданов В.Б. Дослідження зв'язків електрофізіологічних характеристик шкіри та індивідуально-типологічних особливостей людини: Автореферат дисерт. к.б.н. – К., 2005. 2. Горго Ю.П. Диагностирование состояния человека по электро-электрическим процессам // Нейробионика и моделирование биосистем. – Киев: Изд. ИК АН УССР, 1980. – С. 64–73. 3. Макачук М., Чікіна Л. Стан психофізіологічних функцій чоловіків і жінок за умов різної відповідальності за результати діяльності // Вісн. Київ. ун-ту. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2006. – вип.11. – С. 6–8. 4. Подшибякин А.К. Значение активных точек кожи для эксперимента и клиники: Автореф. дисс. д.м.н. – К., 1960. 5. 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 18.01.08

УДК 581.188

ЗМІНИ ШВИДКОСТІ ТА ЕНЕРГОВИТРАТ РУХУ РІЗНИХ ВИДІВ ВОДОРОСТЕЙ З РОДИНИ *CHLAMYDOMONAS* В ПРИСУТНОСТІ БІХРОМАТУ КАЛІЮ

Досліджено вплив $K_2Cr_2O_7$ на ростові реакції та параметри фоторуху двох видів рухливих зелених водоростей роду *Chlamydomonas*. Визначено, що *Chl. aculeata* більш резистентний, ніж *Chl. pitschmannii* до присутності біхромату калію в оточуючому середовищі. Встановлено, що токсичність біхромату калію підвищується при збільшенні терміну контакту клітин водорості з ним до 14 діб.

It is investigated the influence of $K_2Cr_2O_7$ on growth reactions and parameters of photomotion for 2 strains of mobile green algae from gen. Chlamydomonas. It is determined that Chl. aculeata is more resistant, than Chl. pitschmannii on presence of potassium bichromate in environment. It is established that $K_2Cr_2O_7$ toxicity is increased under increment of its contact time with algae cells up to 14 days.

Вступ. Відомо, що фоторух є наслідком фоторегуляції руху – сукупності елементарних процесів, індукова-

них світловим імпульсом, а саме: фоторецепції, первинних реакцій фоторецепторних пігментів, сенсорного

© Власенко В., Новікова І., Паршикова Т., Березовська М., 2008

В. Власенко, канд. біол. наук,
І. Новікова, асп.,
Т. Паршикова, д-р біол. наук,
М. Березовська, канд. біол. наук

перетворення світлового стимулу у фізіологічний сигнал, що керує роботою рухливого апарату та реалізує фотоорієнтування організму у водному середовищі [5]. Вивчення процесів фоторуху та його залежності від світла має безпосереднє відношення не лише до формування загальних принципів регуляції внутрішньоклітинних процесів метаболізму але й особливостей онтогенезу, ембріогенезу, морфогенезу водорості. Наприклад, в альгології будова локомоторного та фоторецепторного апаратів, а також характер руху джгутиків є важливими систематичними ознаками на рівні вищих таксонів – відділів та класів [8]. Це дозволяє передбачити можливе існування специфічності в процесах фоторецепції та механізмах фоторегуляції руху у представників різних відділів (класів) водоростей. В свою чергу закономірності фоторуху можуть мати практичне значення в біоіндикації стану водних об'єктів та біотестуванні якості води. З другого боку можуть підказати особливості поведінки водорості при підвищенні продуктивності цінних в господарському відношенні штамів мікроскопічних водоростей.

Метою нашої роботи було визначення резистентності двох видів з родини *Chlamydomonas* до присутності в середовищі біхромату калію, як прикладу альгіцидних сполук.

Об'єкти та методи досліджень. В експерименті використовували бактеріально чисті культури представників родини *Chlamydomonas* виділені з прісноводних біотопів: *Chlamydomonas aculeata* Korschikoff in Pascher та *Chl. pilschmannii* Etzl. отримані з альгологічної колекції SAG Гетингенського університету (Німеччина) та люб'язно надані для проведення експерименту професором І.Ю. Костіковим. При вирощуванні різних видів роду *Chlamydomonas* використовували однакове культуральне середовище [7]. Водорості культивували в колбах Ерленмейера при температурі $20 \pm 2^\circ\text{C}$ та освітленості 4500–5000 лк. В досліді використовували культуру на стаціонарній фазі росту.

Підрахунки кількості клітин водоростей здійснювали за допомогою камери Горяєва на мікроскопі МБІ-6. Розміри поверхні (мкм^2) та об'єму клітин мікроводоростей (мкм^3) розраховували за відповідними формулами [2].

Швидкість руху клітин *Chlamydomonas* (мкм/с) та енерговитрати на цей процес (ум. од.) визначали за допомогою лазерного кореляційно-доплерівського спектрометра [1]. Експериментально отримані корелограми апроксимували модельною формою кореляційної функції за методом найменших квадратів шляхом варіації значень швидкості. Енерговитрати на рух у в'язкому середовищі пропорційні швидкості рухливої клітини:

$$N = F \times V, \quad (1)$$

де V – швидкість поступального руху клітини, F – сила в'язкості тертя, яка розраховується за формулою:

$$F = 6 \times \pi \times \eta \times r \times V, \quad (2)$$

де η – коефіцієнт в'язкості середовища, r – радіус клітини. Підставивши (2) в (1) отримували потужність (або енерговитрати) рухливої клітини, що була прямо пропорційна квадрату її швидкості:

$$N = \gamma \times V^2, \quad (3)$$

де γ – коефіцієнт пропорційності, що залежить від форми, розмірів клітини та властивостей середовища.

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ додавали в середовище в концентраціях 0,05; 15,0; 45,0; 75,0 мг/л. Зміни показників розвитку водоростей визначали через 1 та 14 діб контакту з біх-

роматом калію. Виміри швидкості та енерговитрат руху клітин проводили в 10-разовій повторності. Для цього реєстрували усереднені по 5–10 тисячах клітин експериментальні дані.

Для математичної обробки отриманих результатів використовували методи статистичного аналізу [4]. Висновки формулювали на основі критерію Стюдента при довірчій ймовірності $P=0,95$.

Результати та їх обговорення. Як свідчать отримані експериментальні дані, під час закладання досліду види роду *Chlamydomonas* відрізнялись за швидкістю руху клітин та енерговитратами. Більшу швидкість руху до закладки досліду мали клітини *Chl. aculeata* ($52,60 \pm 3,87 \text{ мкм/с}$) порівняно з *Chl. pilschmannii* ($43,51 \pm 2,74 \text{ мкм/с}$). Енергетичні витрати на рухливість були найбільшими також у клітин *Chl. aculeata* ($17,67 \pm 2,15$) проти $6,51 \pm 0,68 \text{ ум.од}$ у *Chl. pilschmannii* (рис. 1 а, б).

Через 1 добу контакту з $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ види роду *Chlamydomonas* проявляли специфічність реакції. Найбільш стійким до присутності біхромату калію в середовищі виявився *Chl. aculeata* (рис. 1а), клітини якого майже не відчували токсичності Cr(VI) у складі біхромату калію, сповільнюючи швидкість руху клітин лише при максимальних діючих концентраціях (45 та 75 мг/л) біхромату калію. Через 14 діб контакту швидкість руху клітин залишалась на рівні контролю для гранично допустимої концентрації біхромату калію (0,05 мг/л). Разом з тим швидкість руху починала знижуватися у варіантах з концентраціями 45 та 75 мг/л (на 28–34%). Це може свідчити про збільшення ступеню токсичності біхромату калію при підвищенні тривалості контакту клітин *Chlamydomonas* з токсикантом. Важливо відмітити, що енерговитрати на рух клітин (через 1 добу контакту з біхроматом) поступово зменшувались починаючи з концентрації 15 мг/л. Через 14 діб тривалості контакту культури з біхроматом калію відмічено стимулювання енерговитрат клітин *Chl. aculeata* для найнижчої дослідної концентрації 0,05 мг/л порівняно з контролем. Це свідчило про те, що клітини відчували токсичність впливу біхромату калію й мобілізували свій енергетичний потенціал для уникнення контакту з токсичною речовиною. Аналогічна реакція була зареєстрована нами раніше при дослідженні впливу поверхнево-активних речовин з клітинами *Chl. reinhardtii* Dang. [6]. Це дало підставу вважати, що саме рухливість клітин водоростей допомагає їм вижити в умовах впливу несприятливих хімічних факторів водного середовища. Однак, виявилось, що такий захисний механізм допомагав виживанню клітин мікроскопічних водоростей лише до певних концентрацій токсичних речовин. При подальшому підвищенні концентрації останніх пошкоджувався фоторецепторний апарат і у дослідних клітин реєструвалось різке зниження енерговитрат. Саме таку картину ми спостерігали через 14 діб у клітин *Chl. aculeata* при концентрації біхромату 15 мг/л. При збільшенні діючих концентрацій вище 15 мг/л зареєстровано різке зменшення енерговитрат (на 88–91% для концентрацій 45 та 75 мг/л). Це свідчило про відмирання клітин мікроводоростей.

Паралельно з оцінкою параметрів фоторуху клітин *Chl. aculeata* проводився контроль за темпами росту та розмноження водоростей в культурі. Отримані дані свідчать, що чисельність клітин цього виду *Chlamydomonas* збільшувалась лише при найменшій діючій концентрації (0,05 мг/л) порівняно з контролем. Через 1 та 14 діб контакту клітин з $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ чисельність дослідних клітин дорівнювала відповідно 345 та 619 тис.кл./ см^3 – що складало 79% порівняно з контролем. При збільшенні діючої концентрації біхромату калію реєструвалось поступове зниження чисельності

клітин відповідно 543 та 231 тис.кл./см³ (для концентрації біхромату 15 мг/л через 1 та 14 діб контакту з ним клітин), 509 та 435 тис.кл./см³ (для 45 мг/л), 398 та 362 тис.кл./см³ (для 75 мг/л). Важливо відмітити, що об'єми клітин *Chl. aculeata* поступово знижувались при підвищенні діючої концентрації токсиканту в середньому на 2-47% порівняно з контролем.

В цілому, отримані експериментальні дані свідчать про те, що в низьких концентраціях хром може використовуватись клітинами водоростей як необхідний для їх метаболізму мікроелемент. Разом з тим відмітимо, що отримані дані свідчать про можливу двохфазну реакцію рослинного організму на дію важких металів зі змінною валентністю [3]. При низьких концентраціях металу спостерігається стимулювання росту, а зі збільшенням концентрації металу реєструється поступове інгібування, припинення росту та загибель організму. "Перехідна зона" між стимулюванням та інгібуванням життєдіяльності клітин знаходиться в досить вузьких межах. Це свідчить про необхідність обов'язкового визначення концентраційної залежності рослинних клітин від дії токсиканту не лише для різних видів, але й штамів водоростей одного виду. Не виключено, що реакція клітин мікроскопічних водоростей на присутність в культуральному середовищі певного металу може залежати від ряду причин: його концентрації, віку організму та його властивості до активного руху, а також загальних фізико-хімічних умов середовища (наприклад, температури, інтенсивності освітлення, pH).

Найменш стійкими до присутності біхромату калію в середовищі виявились клітини *Chl. pitschmannii* (рис. 1б). Через 1 добу контакту з біхроматом калію клітини цього виду втратили рухливість при концентра-

ціях 45 та 75 мг/л. Разом з тим, при концентрації 0,05 мг/л реєструвалося прискорення швидкості та збільшення енерговитрат клітин, що свідчило про здатність цих клітин виживати. Цікаво відмітити, що при концентрації біхромату 15 мг/л (через 1 добу контакту з ним) реєструвалось різке підвищення швидкості руху (на 100%) порівняно з контролем, при зменшенні енерговитрат клітин для забезпечення їхньої рухливості на 5%. Разом з тим відмітимо, що енерговитрати клітин *Chl. pitschmannii* при найбільших дослідних концентраціях біхромату калію (45 та 75 мг/л) реєструвались на рівні 2,65–2,81 ум. од, що свідчило про можливе пошкодження біхроматом калію поверхневої плазмалеми, що знаходиться під гідроксипроліновою клітинною оболонкою (або плазмалею джугтиків), якою оточені клітини роду *Chlamydomonas*.

Для клітин *Chl. pitschmannii* реєструвалось дуже різке зниження їхньої чисельності порівняно з контролем: 760 та 290 тис.кл./см³ (для концентрації 0,05 мг/л через 1 та 14 діб контакту клітин з біхроматом калію), 520 та 410 тис.кл./см³ (для 15 мг/л), 510 та 440 тис.кл./см³ (для 45 мг/л) та 450 та 310 тис.кл./см³ (для 75 мг/л). При підвищенні діючої концентрації K₂Cr₂O₇ об'єми клітин цього виду *Chlamydomonas* знижувались в середньому на 4,5–71%. Аналогічні зміни на фоні зниження чисельності клітин в популяції *Scenedesmus quadricauda* були відмічені раніше іншими авторами [3]. Є підстави вважати, що в присутності високої концентрації біхромату калію мало місце зменшення об'єму поверхні клітин для скорочення площі контакту з хромом, тобто зменшення поверхні контакту для проникнення альгіциду в середину клітини.

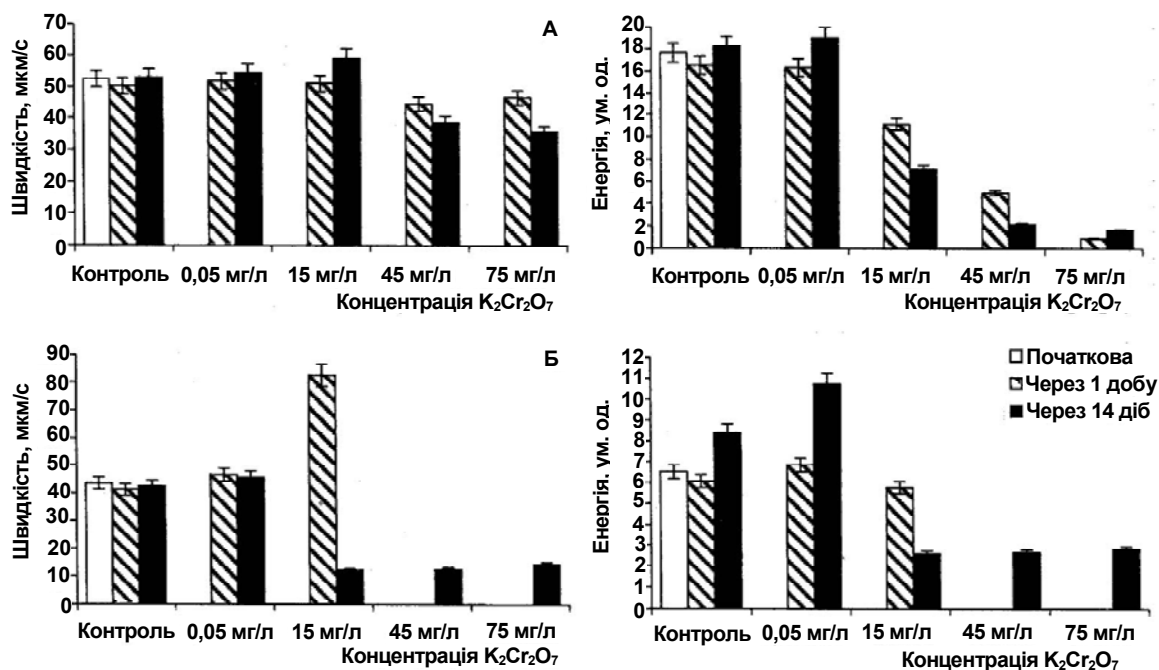


Рис. 1. Вплив K₂Cr₂O₇ на швидкість та енерговитрати для здійснення фоторуху двох видів роду *Chlamydomonas*: А) *Chlamydomonas aculeata* Korschikoff in Pascher; Б) *Chl. pitschmannii* Ettl

Цікаво відмітити, що при додаванні гранично допустимої концентрації біхромату калію (0,05 мг/л) в культуральне середовище у складі клітин *Chl. pitschmannii* відмічено утворення краплин олії, яка як гідрофобний бар'єр можливо попереджає проникнення альгіциду в клітину, захищаючи її від інтоксикації. Це й може пояснити

той факт, що навіть при найбільших діючих концентраціях біхромату калію (45 та 75 мг/л) через 14 діб клітини виживали й в них реєструвалась невелика швидкість руху. Утворення краплин олії в клітинах мікроскопічних водоростей відмічалось й для інших видів [3] при дії різноманітних токсичних речовин.

Неоднакова чутливість різних видів роду *Chlamydomonas* до дії біхромату калію, може бути пов'язана з різними розмірами їх фоторецепторних систем, що є мішенями, відповідаючими за ураження рухливих реакцій. При характеристиці фоторецепторного апарату цих видів *Chlamydomonas* слід враховувати можливі існуючі відмінності у товщині пігментованих та непігментованих шарів, а також оточеного мембраною тилакоїду, що прилегає до внутрішньої поверхні кожного пігментованого шару стигми. Аналізуючи аналогічні зміни відмічені для різних видів роду *Dunaliella* вважають [5], що різниця на внутрішньому рівні не торкається структурних особливостей фоторецепторних систем, а також механізмів фоторецепції, сенсорного перетворення світлового сигналу та рухливих реакцій, а є наслідком з одного боку екологічних адаптацій, з другого може бути пов'язана з розмірними характеристиками клітин та їхніх органел. Враховуючи структуру стигми у представників роду *Chlamydomonas* можна передбачити, що крім модуляційного механізму, суттєву роль в їх виживанні може відігравати інтерференція світлового потоку [9] й комплекс фотобіологічних процесів.

Висновки. Отримані експериментальні дані свідчать про специфічність реакції різних видів роду *Chlamydomonas* до дії біхромату калію. Найбільш стійким виявився *Chl. aculeata*. Ступінь токсичності біхромату калію суттєво змінювалась: чим довшим був час контакту, тим суттєвіше проявлялася негативна реакція водорості. Утворення краплин олії у нестійкого виду *Chl. pilschmannii* свідчило про прискорення старіння клітин та сильне їх пошкодження токсичною речовиною.

УДК 616.384.015.46.07:616.155.32

Можливо цей механізм можна розглядати, як захисну реакцію до дії несприятливих факторів довкілля.

В цілому слід зазначити, що вивчення особливостей фоторуху водоростей представляє безперечний інтерес для вивчення їх екології та географії, особливо для аутоекології. Подальші роботи в цьому напрямку дозволять уточнити характеристики окремих видів, стосовно їх відношення до параметрів світла, визначення оптимумів, максимумів та мінімумів факторів довкілля для параметрів фоторуху різних видів. Це буде використовуватись при застосуванні розділення водоростей на групи тіньюлюбивих та світлолюбивих, тіньовитривалих та світлостійких організмів, а також допоможе більш глибокому розумінню закономірностей їх розподілу на планеті Земля та можливостей виживання в різних умовах середовища.

1. Бегма А.А., Власенко В.В., Мацківський В.И. и др. Устройство для измерения параметров движения клеток. А.с. № 1782125, 1992.
2. Брянцева Ю.В., Лях А.М., Сергеева А.В. Расчет объемов и площадей поверхности одноклеточных водорослей Черного моря. – Севастополь, 2005.
3. Дмитриева А.Г., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. Физиология растительных организмов и роль металлов. – М., 2002.
4. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. – К., 2000.
5. Масюк Н.П., Посудин Ю.И., Лулицкая Г.Г. Фотодвижение клеток *Dunaliella* Teod. (*Dunaliellales*, *Chlorophyceae*, *Viridiplantae*). – К., 2007.
6. Паршикова Т.В. Поверхнево-активные речовини як фактор регуляції розвитку водоростей. – К., 2004.
7. Сиренко Л.А., Рыбак Н.В., Паршикова Т.В. Коллекция живых культур микроскопических водорослей (акроним коллекции HPDP). – К., 2005.
8. Barsanti L., Gualtieri P. Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. – Boca Raton, 2006.
9. Hegemann P., Fischer M. Algal Eyes // Encyclopedia of Life Science. – Macmillan, 2001.

Надійшла до редколегії 24.12.07

С. Демидов, д-р біол. наук,
Н. Дергай, пров. інж.,
С. Шкляр, пров. інж.,
К. Скрипка, пров. інж.

ВПЛИВ ТИМАГЕНУ, ТИМАЛІНУ, ВИЛОЗЕНУ НА СИСТЕМУ ВТОРИННИХ ПОСЕРЕДНИКІВ ПРИ РОЗВИТКУ АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ

*Вивчався вплив препаратів тимуса на систему циклічних нуклеотидів при сенсibiliзації і анафілактичному шоці.
It was explored influence of thymus preparations on cyclic nucleotides system under sensibilization and anaphylactic shock.*

Виявлено, що тималін, тимоген і вилазен змінюють внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів який виражається в зниженні співвідношення цАМФ/цГМФ яке приводить до активації метаболізму імунокомпетентних клітин, що веде до проліферації і диференціювання Т-лімфоцитів. При анафілактичному шоці введення препаратів з тимуса приводить також до перерозподілу циклічного нуклеотида, в результаті чого підвищується функціональна активність супресорних нуклеотидів.

Вступ. Епідеміологічне обстеження з оцінкою імунологічного статусу населення спрямовано на ранню діагностику імунозалежних патологічних станів на донозологічному етапі [1]. Мета наших досліджень виявлення змін імунної системи, які передують розвитку патологічних станів. При вивченні молекулярного механізму дій тималіну встановлено, що його вплив опосередковується змінами внутріклітинного вмісту циклічних нуклеотидів і активності ферментів анаболізму і катаболізму циклічних нуклеотидів [2]. З літератури відомо, що експресія специфічних рецепторів на поверхню Т-лімфоцитів пов'язана з збільшенням рівня цАМФ, що слугує пусковим механізмом, який визначає диференцію Т-лімфоцитів.

Таким чином, активація ферментів і наступний комплекс цАМФ-залежних метаболічних процесів є першими біохімічними ланцюгами в процесі придбання клітинною імунокомпетентності [3].

Раніше нами було показано, що препарати з тимуса стимулюють імунологічну реактивність Т-лімфоцитів при ГНТ. Такий ефект може бути зумовлений зміною активності процесів метаболізму в клітині, а також основних регуляторних систем. Як відомо регуляція ефектів, викликаних дією різних біологічно активних речовин, гормонів, фармакологічних засобів, опосередкована системою циклічних нуклеотидів і Ca^{2+} обміну. Очевидно, що активація Т-лімфоцитів буде здійснюватися за участю універсальної системи регуляції – системи циклічних нуклеотидів. У зв'язку з вищезгаданим нам здалося цікавим вивчення впливу препаратів тимуса на систему циклічних нуклеотидів при сенсibiliзації і анафілактичному шоці.

Матеріали і методи. Дослід проведений на 240 мурчаках вагою 250 ± 25 г (самця). Т-лімфоцити селезінки розділяли на колонках з нейлоною ватою за методом [4]. Внутріклітинний вміст цАМФ та цГМФ визначали за допомогою наборів Amersham (Англія).

В групу "контроль 1" увійшли інтактні мурчаки, які на протязі досліду та в попередній період не отримували яких-небудь впливів.

Другу групу "контроль 2" складали сенсibilізовані тварини, третю "контроль 3" – тварини у яких було викликано анафілактичний шок, четверту – тварини які були сенсibilізовані з послідовним введенням препаратів з тимуса, п'яту – тварини у яких був викликаний анафілактичний шок, які отримували препарати з тимуса. Препарати з тимуса вводили тваринам на протязі 10 днів після сенсibilізації, в дозах: тималін – 0,2 мг/кг, тимоген – 0,02 мг/кг, вілозен – 2мг/кг.

Для розвитку стану сенсibilізації мурчакам одноразово вводили кінську сироватку по 0,5 мл під шкіру. Тварин забивали на 21 день сенсibilізації. Анафілактичний шок у імунізованих тварин відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення 2 мл кінської сироватки. Тварин забивали через 30 хвилин після введення кінської сироватки.

Визначення внутріклітинного вмісту цАМФ та цГМФ.

Внутріклітинна концентрація циклічних нуклеотидів виявляється радіоімуносорбентним способом, використовуючи набори, виготовлені фірмою Amersham (Англія). Єство вказаного метода виявляється в інкубації досліджуваних зразків з відомою кількістю міченого ^3H – цАМФ чи ^3H – цГМФ та акцептуючих білків чи антитіл. Комплекс, що утвориться (циклічний нуклеотид- акцептуючий білок) відокремлюють від вільного нуклеотида за допомогою активуючого вугілля чи розчину сульфата амонію 60% насичення.

Сипаровані Т- та В –лімфоцити (10^7 клітин в мл) інкубують в середовищі Ігла 500 мкл, рН 7,2, яка містить різні концентрації досліджуваних препаратів. Зразки центрифугують при 150g 10 хвилин, до осаду додають розчин, який містить 50 мМ Трис НСІ, 4 мМ ЄДТА, рН 7,5 і витримують 3 хв. в киплячій водяній бані. Денатуровані частки видаляють центрифугуванням при 260g 15 хв. Супернатант зберігають при -20°C і використовують для виявлення цАМФ та цГМФ.

Порядок визначення цАМФ проводять згідно рекомендації в специфікації до набору. Серію пробірок одноразового застосування розміщують в льодовій бані ($2-4^\circ\text{C}$). В перші дві додають 150 мкл буфера. Вони слугували контролем для визначення радіоактивного фону. В 3-4 пробірки вносили по 50 мкл буфера. Ці проби необхідні для визначення зв'язування міченого нуклеотида у відсутності не міченого стандартного нуклеотида.

В кожному парі десяти наступних пробірок з 5-ї по 14-у вносять по 50 мкл розчину стандартного неміченого цАМФ в розведеннях: 16, 8, 4, 2, 1 пікомоль. Починаючи з 15-ї, в кожні пару додають по 50 мкл досліджуваного зразка. У всі пробірки починаючи з третьої, додають по 50 мкл ^3H – цАМФ, а потім по 100 мкл зв'язуючого білку. Пробірки закривають пробками і перемішують їх вміст перекиданням (5 сек.). Штатив розміщують в холодильнику при $2-4^\circ\text{C}$ на дві години. Потім до всіх пробірок на холоді додають по 100 мкл водяної суспензії активованого вугілля, попередньо охолодженої і ретельно перемішаної за допомогою магнітної мішалки. Для осадження вугілля, адсорбуючого не зв'язаний з білком цАМФ, проби центрифугують при 1000g 5 хв. і відбирають по 200 мкл надосадкової рідини у флаконі з сцинтиляційною рідиною (ЖС –8). Радіоактивність вимірюють на рідинному сцинтиляційному лічильнику СБС –2. За допомогою побудованого калібрувального графіка визначають рівень цАМФ у всіх досліджуваних зразках, перераховують на кількість клітин у кожному зразку і проводять статистичну обробку результатів.

Методика визначення цГМФ дотримана описаної вище, з тією різницею, що розподіл комплексу цГМФ–антисироватка від вільного нуклеотида проводили сульфатом амонію 60% насичення. Проби центрифугують при 1000g 10 хв., до осаду додають 1,1 мл води і переносять 1 мл аліквоти в сцинтиляційні флакони с ЖС – 8.

Результати та їх обговорення. В результаті проведених експериментів, встановлено, що введення тималіну, тимогену та вілозену приводить до незначного перерозподілу внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів Т-лімфоцитів селезінки мурчаків (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив тималіна, тимогена і вілозена цАМФ і цГМФ в Т-лімфоцитах селезінки мурчаків при сенсibilізації і анафілактичному шоці (пмоль цАМФ чи цГМФ $\times 10^7$ кл.)

Групи спостереження	№ пп	цАМФ	цГМФ	цАМФ/цГМФ
Інтактні тварини	1	23,40 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,4	5,2
	2	26,9 $\pm$ 0,2 ^х	5,5 $\pm$ 0,08 ^х	4,9
	3	27,6 $\pm$ 0,1 ^х	6,0 $\pm$ 0,1 ^х	4,6
	4	25,0 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 0,08	5,0
Сенсibilізовані тварини	1	31,2 $\pm$ 0,2	8,2 $\pm$ 0,08	3,8
	2	89,1 $\pm$ 5,4 ^х	17,8 $\pm$ 0,3 ^х	3,2
	3	90,64 $\pm$ 2,9 ^х	32,5 $\pm$ 0,7 ^х	3,0
	4	45,0 $\pm$ 1,1 ^х	15,0 $\pm$ 0,08 ^х	3,4
Тварини з викликаним анафілактичним шоком	1	28,9 $\pm$ 0,3	6,9 $\pm$ 0,1	4,2
	2	74,5 $\pm$ 0,1 ^х	20,7 $\pm$ 0,1 ^х	3,6
	3	84,7 $\pm$ 1,5 ^х	24,9 $\pm$ 1,04 ^х	3,4
	4	43,9 $\pm$ 1,3	10,2 $\pm$ 0,08 ^х	4,3

Примітка: 1-тварини які не отримали препарат; Х- достовірність розбіжностей в контрольній і дослідній групі складала $p < 0,05$.

З метою оптимізації оцінки дії препаратів з тимуса на вміст циклічних нуклеотидів Т-лімфоцитів селезінки тварин, а також для порівняння ступеня впливу тималі-

на, тимогена і вілозена на зміну складу циклічних нуклеотидів у клітині ми використали відношення, яке називається індексом стимуляції (I_c).

$$I_c = \frac{\text{цАМФ/цГМФ}_{\text{нестимульованих клітин}}}{\text{цАМФ/цГМФ}_{\text{Т-лімфоцитів стимульованих препаратами}}}$$

Індекс стимуляції при введенні тималіна дорівнює – 1,06, тимогена-1,13, вілозена – 1,04. Як видно з наведених даних, препарати із тимуса одно направлено діють на характер змін внутріклітинної концентрації ци-

клічних нуклеотидів, змінюючи відношення цАМФ/цГМФ в бік його зменшення. Це приводить до активації процесів метаболізму у Т-лімфоцитах з послідовною проліферацією і диференціюванням.

При вивченні перерозподілу внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів в умовах імунізації тварин кінською сироваткою встановлено, що рівень цАМФ збільшувався на 133%, а рівень цГМФ в Т-лімфоцитах збільшувався на 182%. Такий перерозподіл вмісту циклічних нуклеотидів приводить до зниження співвідношення цАМФ/цГМФ з 5,2 у інтактних до 3,8 у сенсibilізованих тварин, що вказує на активацію метаболічних процесів у Т-лімфоцитах специфічним антигеном (табл. 1).

Введення препаратів з тимуса приводить до ще більшого зниження співвідношення цАМФ/цГМФ. Так, введення тималіну приводить до зниження співвідношення до 3,2, тимогена до 3,0, вілозена до 3,4, що свідчить про активацію процесів метаболізму в імунотетних клітинах.

Дозволяючи введення кінської сироватки приводить тварин до анафілактичного шоку і супроводжується також зміною складу циклічних нуклеотидів у всіх вивчаємих групах (табл.1).

При оцінці індексу стимуляції, яка дозволяє порівняти ступінь змін внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів встановлено, що найбільшою активністю володіють тималін і тимоген, меншою – вілозен (табл.2).

Таблиця 2. Вплив тималіна, тимогена і вілозена на індекс стимуляції в Т-лімфоцитах селезінки мурчаків при сенсibilізації і анафілактичному шоці

Групи спостережень	№ п/п	Індекс стимуляції
Сенсibilізовані тварини	1	1,4
	2	1,6
	3	1,8
	4	1,5
Тварини з викликанням анафілактичним шоком	1	1,2
	2	1,5
	3	1,5
	4	1,2

УДК 576.311.347:612.353

Фізіологічне значення цього показника зводиться до того, що підвищення його відповідає активації Т-лімфоцитів. В наших дослідженнях кінська сироватка значно змінює внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів. Застосування препаратів приводить до збільшення рівня цАМФ та цГМФ у всіх досліджених групах тварин. Такий перерозподіл циклічних нуклеотидів веде до зниження співвідношення цАМФ/цГМФ, що свідчить про активацію процесів метаболізму у Т-лімфоцитах.

Висновки. Таким чином, тималін, тимоген і вілозен змінюють внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів, що виражається в зниженні співвідношення цАМФ/цГМФ, який приводить до активації метаболізму імунотетних клітин, що приводить до проліферації і диференціюванню Т-лімфоцитів. Фізіологічне розуміння активації метаболічних процесів Т-лімфоцитів при анафілактичному шоку полягає в перерозподілі субпопуляційного складу Т-лімфоцитів в бік збільшення ефektorної ланки імунотетних клітин.

Тималін при впливі на Т-лімфоцити збільшує рівень цАМФ в незрілих клітинах і практично не змінює його в диференційованих лімфоцитах, при чому рівень цАМФ збільшується тільки до рівня диференційованих лімфоцитів.

1. Орадовская И.В., Пинегина Б.В. // Иммунология. – М. – 1990, №2, с. 70–72. 2. Михалевич В.С., Гриценко Б.И., Яненко В.М., Атеев К.М., Голлинг О.В., Демидов С.В., Костромин А.П. // Моделирование функционирования развивающихся систем с изменяющейся структурой: Сб. научн. труд. – К., 1989. – с. 56–78. 3. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Некрасов А.В. и др. // Иммунология. – 2000, №3. – с. 63–66. 4. Ткачук В.А., Лазаревич В.Г., Мельников М.Ю., Северин В.С. // Биохимия. – 1978. – 4, № 9. – с. 1622–1620.

Надійшла до редколегії 23.02.08

К. Дворченко, канд. біол. наук,
У. Савко, студ.,
О. Бервен, студ.,
С. Вакал, студ.

НЕСПЕЦИФІЧНА ПРОНИКНІСТЬ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ МЕМБРАН КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ

Встановлено зростання неспецифічної проникності мембран мітохондрій клітин слизової оболонки шлунка за умов обох моделей експериментальної виразки.

The increase of permeability transition of mitochondria membranes of gastric mucosa cells fixed at both models of an experimental ulcer.

Вступ. Провідне місце серед захворювань травної системи займає виразкова хвороба шлунка. При розвитку виразкового процесу на рівні клітин порушується система функціонування фізико-хімічних та біохімічних процесів. Важливе значення в патогенезі виразкової хвороби відіграють зміни енергетичного статусу клітин, що на пряму пов'язано з функціонуванням мітохондрій. Порушення енергопродукції може призвести до пригнічення процесів, які потребують енергії АТФ, та розвитку необоротних біохімічних змін в клітинах слизової оболонки шлунка (СОШ) [7].

На молекулярному рівні мітохондріальна дисфункція характеризується гальмуванням транспорту електронів по дихальному ланцюгу, порушенням окисного

фосфорилування, зниженням вмісту аденіннуклеотидів, а також виникненням неселективної проникності внутрішньої мембрани мітохондрій [6, 8].

Метою даної роботи було дослідити неспецифічну проникність мітохондріальних мембран в загальній фракції клітин СОШ щурів за умов експериментальної виразки.

Матеріали і методи. У досліді використовували щурів лінії Вістар вагою 180–230 г, яких утримували на стандартному раціоні виварю. Модель експериментальної гострої виразки шлунка у щурів створювали за методом Окабе [2]. Для цього щурам перорально вводили 1 мл 80% етанолу і через годину декапітували. Для моделювання стресової виразки шлунка у тварин, використовували модифіковану методику "імобілізацій-

ного стресу" [1]. Отримання загальної фракції клітин СОШ проводили за методом Таїрова [5]. Мітохондрії з клітин отримували загальноприйнятим методом [4]. Неспецифічну проникність мітохондрій оцінювали за зміною світлорозсіювання суспензії при $\lambda=520$ нм [3]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати. При проведенні експериментальних досліджень по вивченню стану мітохондріальних мембран клітин СОШ, нами було встановлено, що оптична густина 1 мг контрольних мітохондрій при $\lambda=520$ нм складала

$2,87 \pm 0,25$. Показано, що за умов стресової виразки в мітохондріях клітин СОШ рівень світлорозсіювання зменшувався на 45% порівняно з контрольними мітохондріями (рис. 1). Для дослідження структурного стану мітохондрій в середовище інкубації вносили H_2O_2 , як джерело гідроксил-радикалу, та $CaCl_2$, який виконує провідну регуляторну роль в процесах внутрішньоклітинної сигналізації. При додаванні до середовища інкубації мітохондрій $0,1$ мМ H_2O_2 спостерігалось поступове зниження світлорозсіювання суспензії. Внесення 5 мкМ Ca^{2+} спричинювало подібний ефект.

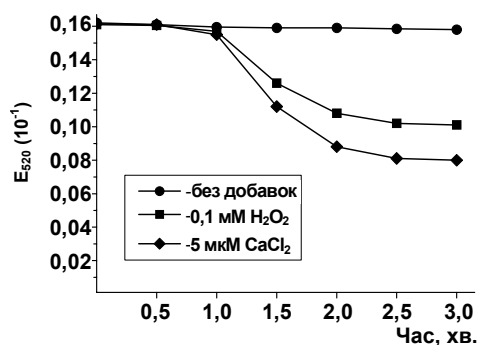


Рис. 1. Вплив стресового фактору на світлорозсіювання суспензії мітохондрій загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів

При етаноловій моделі виразки за інкубації ізольованих мітохондрій СОШ щурів упродовж 3 хв спостерігалось зниження світлорозсіювання суспензії відповідно на 20% відносно контролю (рис. 2). За умов етанолової мо-

делі виразки шлунка у досліджуваній суспензії мітохондрій при додаванні, як $0,1$ мМ H_2O_2 , так і 5 мкМ $CaCl_2$, спостерігалось менш суттєве зниження досліджуваного показника, порівняно з впливом стресового фактору.

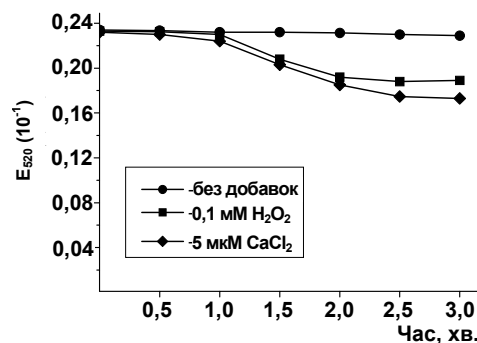


Рис. 2. Вплив етилового спирту на світлорозсіювання суспензії мітохондрій загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів

Дані, отримані в ході проведених експериментів по вивченню стану мітохондріальних мембран загальної фракції клітин СОШ за умов стресової та етанолової моделей виразки, свідчать про наявність процесу набрякання мітохондрій при дії досліджуваних ульцерогенних чинників. В результаті цього порушується осмотичний баланс між матриксом та міжмембранним простором мітохондрій. В матрикс проникають молекули води, що спричинює збільшення його об'єму, внутрішня мембрана при цьому розправляється.

Зростання неспецифічної проникності мітохондріальних мембран клітин СОШ може бути пов'язано з переокисненням ліпідів мембран, що призводить до окислення тіолових груп білків та "перекисному" набряканню мітохондрій.

Висновки. Отримані результати проведених досліджень показали, що при стресовій та етаноловій експериментальних моделях виразки в клітинах СОШ зрос-

тає рівень неспецифічної проникності мембран мітохондрій. Це, в свою чергу, може призвести до трансформації бар'єрних властивостей мітохондріальних мембран. В подальшому структурно-функціональні зміни цих органел можуть спричинити розвиток патологічних змін в епітеліоцитах шлунка.

1. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Биол. указ. ВИНТИ. Деп. рукопись №. 452/79 – 1979. – № 12. – С. 131. 2. Доклінічні дослідж. лік. засобів: Метод. рекомендації // За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К., 2001. – С. 528. 3. Караполов А.В. Изменение фосфолипидного состава интактных митохондрий при набухании их в гипотоническом растворе сахарозы // Биохимия. – 1979. – Т. 44. – Вып. 2. – С. 293–295. 4. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – 1989. – Изд-во Моск. Универ. – С. 406. 5. Таїров М.М., Берсимбаев Р.И., Аргутинская С.В., Салганик Р.И. Клеточная локализация аденилатциклаза, стимулируемых гистамином и простагландином Е2, в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции. – Биохимия. – Т.48, вып. 6, 1983. – С. 1035–1041. 6. Batandier C., Leverve X., Fontaine E. Opening of the mitochondrial

permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 23. – P. 17197–17204. 7. Gellerich F.N., Trumbeckaite S., Muller T. et al. Energetic depression caused by mitochondrial dysfunction // Mol. Cell.

Biochem. – 2004. – Vol. 256/257. – P. 391–405. 8. Kowaltowski A.J., Castilho R.F., Vercesi A.E. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress // FEBS Letter. – 2001. – Vol. 495. – P. 12–15.

Надійшла до редколегії 22.04.08

УДК 579.69.620.193.8

Ю. Юмина, асп.,
І. Козлова, д-р. біол. наук,
Ж. Коптева, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ АРХІТЕКТОНІКИ БІОПЛІВКИ БАКТЕРІЙ-ДЕСТРУКТОРІВ, ЩО СФОРМОВАНА НА ПОВЕРХНІ ЗАХИСНОГО ПОКРИТТЯ

Досліджено архітектоніку моно- та бінарної біоплівки, утворених бактеріями деструкторами захисних покриттів *Pseudomonas pseudoalcaligenes* і *Arthrobacter flavescens*. Для дослідження структури біоплівки використовували метод конфокальної лазерної скануючої мікроскопії. Встановлено, що в базальній частині бінарної біоплівки, безпосередньо на поверхні бутілкаучукового шару покриття розташовуються бактерії роду *Rhodococcus*, що сприяють руйнуванню клеючої основи захисного покриття.

This article is devoted to architectonics research of mono- and binary biofilms formed by typical destructors of defense surfaces – *Pseudomonas pseudoalcaligenes* and *Rhodococcus erythropolis*. In investigation of biofilms structure was used confocal laser scanning microscopy. It was established that there are *Rhodococcus* sp. microorganisms in the basic part of binary biofilm, directly on the surface of butylcaoutchouc layer and these microorganisms are involved in destruction of defense surface's gluing basic.

Вступ. Мікроорганізми за умов контакту з твердими поверхнями здатні формувати біоплівки. Сформована біоплівка – це комплекс мікробних клітин і екстрацелюлярного матриксу, якому властива чітка архітектура будови, що забезпечує оптимальні умови живлення, росту й обміну генетичним матеріалом [3]. Багато важливих і техногенних систем зазнають впливу біоплівки. Біопшкодження пліткових та мастичних матеріалів, які застосовуються для антикорозійного захисту підземних споруд, є також наслідком взаємодії мікроорганізмів та їх поверхні і починається з адгезії [1].

У природних умовах біоплівка, як правило формується асоціацією бактерій, які належать до різних родів і видів [4]. Попередніми дослідженнями було встановлено, що бутілкаучуковий шар покриття "Полікен 980-25" був зруйнований асоціацією бактерій родів *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, що використовували бутілкаучук як джерело вуглецю [2].

Метою нашої роботи було дослідження архітектоніки біоплівок двох бактерій-деструкторів, які були виділені із пошкодженого захисного покриття.

Об'єкт та методи дослідження. Об'єктами досліджень були культури *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Arthrobacter flavescens*, виділених із зруйнованого клеючого шару захисного покриття "Полікен 980-25".

За культивування чистих і змішаних культур у середовищі Таусона вносили по 5 мл суспензії *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Arthrobacter flavescens*. Початковий титр для цих культур становив 10^8 кл/мл.

Формування біоплівки вивчали на захисному покритті "Полікен 980-25". З метою стерилізації, зразки покриття обробляли 76% етиловим спиртом, після чого піддавали дії УФ-променів протягом 20 хв. У флакони, що містили 300 мл стерильного середовища Таусона (контроль) та відповідну культуру бактерій дотримуючись правил асептики вносили попередньо підготовлені зразки покриття "Полікен 980-25". Культивування проводили за температури 28°C протягом 1, 7, 14, 21, 28 діб.

Після закінчення кожної експозиції зразки покриття виймали з культуральної рідини так щоб не пошкодити біоплівку, і досліджували за допомогою конфокального лазерного скануючого мікроскопу (CLSM Pascal 5, фірма "Carl Zeiss" Німеччина).

Для лазерної мікроскопії використовували нативні вологі зразки біоплівки на покритті. З урахуванням автолюмінесценції досліджуваних бактерій зразки мікроскопіювали за довжини хвилі лазерного випромінювання 488 нм.

З метою вивчення розташування клітин у екзополімерному матриці біоплівки застосовували сканування 10–25 шарів за товщини зрізу від 1,5 до 2 мкм.

Результати та їх обговорення. Мікроскопіювання за допомогою КЛСМ дало змогу спостерігати гетерогенність нативних плівок, визначити їх структуру в площинах ХУ і ХЗ, товщину біоплівки та також дослідити відмінності у співвідношенні клітин та екзополімеру у моно і бінарних біоплівках, сформованих на покритті.

В таблиці наведено дані щодо зміни товщини біоплівки моно- і бінарної культур в часі.

Таблиця 1. Динаміка формування біоплівки на поверхні захисного покриття

Варіант досліджу	Товщина біоплівки, мкм				
	1 доба	7 діб	14 діб	21 діб	28 діб
<i>P. sp</i>	15	16	18	22	15
<i>R. erythropolis</i>	24	30	26	25	28
<i>P.sp+R.erythropolis</i>	16	28	20	16	32

Як видно з таблиці 1, з часом товщина біоплівки має тенденцію зростати. Біоплівка *Pseudomonas sp* рівномірно зростає до 22 доби, після чого спостерігається її зменшення, можливо за рахунок часткового "сповзання", що спостерігається у зрілих біоплівках на 28 добу [5]. Товщина біоплівки у *Arthrobacter flavescens* більш потужна, ніж у *Pseudomonas sp*, досягає максимуму на

7 добу, після чого в незначній мірі зменшується і тримається до кінця експерименту в цих межах (28 мкм).

Для бінарної біоплівки характерним є також максимум товщини на 7 добу, після чого спостерігається ущільнення біоплівки внаслідок утворення конгломератів і зростання на 28 добу.

З рисунку 1 видно, що у *Pseudomonas pseudoalcaligenes* з 1–21 доби спостерігалась велика

кількість слизу, у культури *Arthrobacter flavescens* на першу добу кількість слизу була незначна. Починаючи з 7 доби у культурі *Arthrobacter flavescens* ми спостерігали накопичення слизу (рис. 1, г). У бінарній біоплівці

було виявлено велику кількість слизу починаючи з 1 доби інкубування, що можливо пов'язано з продукуванням слизу бактерій роду *Pseudomonas*.

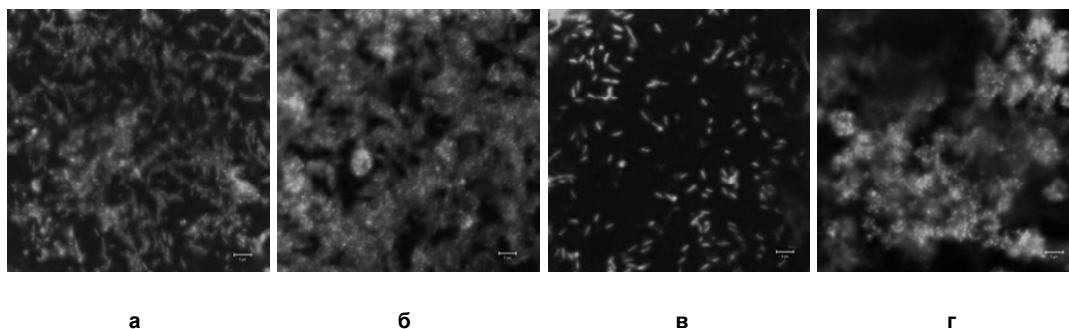


Рис. 1. Біоплівка чистої культури *Pseudomonas sp* (а – 1 доба, б – 7доба) та *Arthrobacter flavescens* (в – 1 доба, г – 7доба)

Дослідження розподілу бактерій у бінарній біоплівці дає нам змогу говорити про зміну домінантів. Так, на першу добу домінували бактерії роду *Pseudomonas*, клітини містилися у слизі утворюючи конгломерати, а бактерії роду *Rhodococcus* були виявлені у невеликій кількості, і розташовувались в базальній частині біоплі-

вки у вигляді шару (рис. 2, а). На 7 добу бактерії роду *Rhodococcus* починають утворювати скупчення. Співвідношення бактерій *Rhodococcus* і *Pseudomonas* приблизно 1:1. На 14 добу, у бінарній біоплівці домінує *Arthrobacter flavescens*.

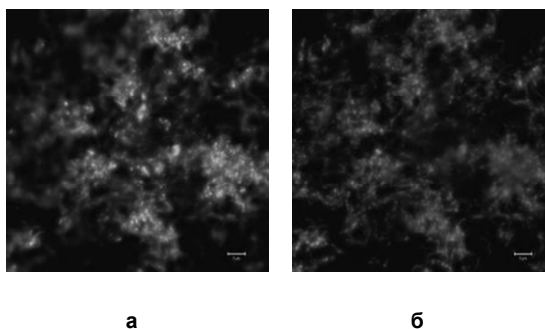


Рис. 2. Архітектура бінарної біоплівки (а – верхня частина біоплівки, б – базальна частина біоплівки)

Висновки. Вперше встановлено, що в базальній частині бінарної біоплівки розташовані вугледеньокисніючі бактерії роду *Rhodococcus*, що руйнують бутилкаучуковий шар захисного покриття. Під час дослідження біоплівки була встановлена надзвичайна гетерогенність. Біоплівка має велику кількість порожнеч та нерівний профіль.

1. Коптева Ж.П., Заніна В.В. Микроорганизмы- фактор биоповреждения изоляционных покрытий газопроводов // Биоповреждения и

методы оценки биостойкости материалов. – М.: Науч. Совет по биоповреждениям, Ин-т эволюц. Морфологии и экологии животных им. А.Н. Северцова, 1988. – С. 40–48. 2. Коптева Ж.П., Заніна В.В. Формування мікробних угруповань на поверхні захисних покриттів // Мікробіол. журн. – 2001. – 63, №2 – С. 3–9. 3. Hausner M., Wuertz S. // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – Vol. 65. – P. 3710–3713. 4. Lewandowski Z. Structure and function of bacterial biofilms // Biofilms: recent advances in their study and control / Ed. By L.V. Evans. – Haywood Acad. Publ. – 2000. – P. 2–17. 5. Sutherland J.W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework // Microbiol. – 2001. – 147. – P. 3–9.

Надійшла до редколегії 07.05.08

УДК 577.15.612.438.014

С. Гребіник, студ.,
І. Гринюк, канд. біол. наук.,
О. Матишевська, д-р біол. наук.

ЕКТО-АТФАЗНА АКТИВНІСТЬ ІЗОЛЬОВАНИХ ТИМОЦИТІВ ЩУРА

Оцінено екто-АТФазну активність тимоцитів щура, досліджено субстратну специфічність ензиму та залежність його активності від іонів Ca та Mg .

The rat thymocyte ecto-ATPase activity was estimated, and the enzyme substrate specificity as well as the dependence of its activity on Ca and Mg ions presence, were examined.

Вступ. Ектоаденозинтрифосфатаза [Е.С. 3.6.1.4 АТФ – фосфогідролаза] належить до ензимів, які розщеплюють позаклітинний АТФ у реакції гідролізу, що протікає з високою швидкістю без утворення проміжного фосфорильованого продукту. Хоча представники цього сімейства АТФаз описані досить давно, лише останнім часом стало зрозумілим, що вони відіграють важливу

роль у клітинах, плазматична мембрана яких містить P_2 -пуринорецептори (P_2X та P_2Y).

Фізіологічна роль екто-АТФаз залишається остаточно не з'ясованою. Існують дані, що вказують на участь ензиму не лише у метаболізмі позаклітинного АТФ та рециркуванні аденозину, але і у передачі пуринергічних сигналів. Оскільки більшість відомих антагоністів

© Гребіник С., Гринюк І., Матишевська О., 2008

P_2 -пуринорецепторів пригнічують екто-АТФазну активність [9], припускають, що ензим може зв'язуватись з P_2 -пуринорецепторами певних типів, або ж безпосередньо виконувати роль рецептора [8].

Екто-АТФазну активність виявлено у клітинах багатьох типів: гепатоцитах, міокардіоцитах, тромбоцитах, В-лімфоцитах, цитотоксичних Т-клітинах [4; 6; 7]. Дані щодо наявності екто-АТФази у тимоцитах є суперечливими. Згідно [7] у тимоцитах у стані спокою екто-АТФазна активність відсутня. З іншого боку, показано, що активність ензиму залежить від ступеню зрілості тимоцитів та виду тварин і виявляється у зрілих, стійких до дії глюкокортикоїдів тимоцитах миші та щура [2].

Метою роботи було оцінити рівень екто-АТФазної активності у ізольованих тимоцитах щура, дослідити субстратну специфічність ензиму та його чутливість до іонів Ca та Mg.

Матеріали і методи. У експериментах використано щурів лінії Вістар обох статей вагою 120–150 г. Тимус вилучали, відділяли від сполучної тканини та кровоносних судин і перетирали через чотири шари нейлонової сітки у буфері такого складу (ммоль/л): Na_2HPO_4 – 3, KCl – 5, NaCl – 120, $CaCl_2$ – 1, глюкоза – 10, Mg Cl_2 – 1, $NaHCO_3$ – 4, HEPES – 10, pH 7,4. Отриману суспензію центрифугували (600 g, 10 хв), а осад клітин ресуспендували до концентрації $2-5 \times 10^8$ кл/мл.

Кількість тимоцитів підраховували за допомогою світлового мікроскопу Biolam "ЛОМО" P12 у камері Горяєва з використанням 0,4 % розчину трипанового синього. Вміст життєздатних клітин у суспензії складав $97 \pm 2\%$.

Для визначення АТФазної активності тимоцити ($4 \cdot 10^6$ кл.) вносили у стандартне середовище інкубації, яке містило (ммоль/л): HEPES-трис (pH 7,4), -20, NaCl -120, KCl -5, ЕГТА -0,1, $MgCl_2$ або $CaCl_2$ -2. Реакцію ініціювали внесенням АТФ (1 ммоль/л), проби інкубували на водяній

бані при $37^\circ C$, реакцію зупиняли додаванням розчину, що містив 1,5 моль/л Na-ацетату, 3,7% формальдегід, 14% етанол, 5% ТХО кислоти. Проби центрифугували (1200g, 15хв), надосадову використовували для визначення кількості неорганічного фосфату на спектрофотометрі Scinco (Німеччина) при $\lambda=660nm$ [5].

При дослідженні субстратної специфічності ензиму у проби вносили відповідний нуклеозидфосфат у концентрації 1ммоль/л, а при дослідженні чутливості до катіонів – Ca^{2+} чи Mg^{2+} у відповідній концентрації на фоні 0,1 ммоль/л ЕГТА.

Як контроль на неферментативний гідроліз АТФ використовували пробу складу описаного вище, яка не містила клітин, а як контроль на вміст ендogenous неорганічного фосфату – пробу, що не містила АТФ.

Статистичну обробку даних проводили загальнопринятими методами варіаційної статистики. Розрахунки та побудова графіків проводилися на IBM PC з використанням спеціалізованих прикладних програм Excel та Origin.

Результати та їх обговорення. За інкубації тимоцитів упродовж 20 хв у стандартному середовищі без додавання двовалентних катіонів та у присутності 0,1ммоль/л ЕГТА спостерігається незначний рівень АТФазної активності (рис.1, крива 3). Внесення у середовище іонів Ca або Mg у концентрації 2ммоль/л призводить до швидкої стимуляції АТФазної активності – вже на 3-й хвилині інкубації кількість вивільненого неорганічного фосфату значно зростає. Крива залежності активності ензиму від часу є лінійною упродовж 10 хв, у подальшому реакція гідролізу уповільнюється. За присутності іонів Mg рівень ензиматичної активності був вищим, ніж за присутності іонів Ca (Рис.1, криві 1 та 2 відповідно).

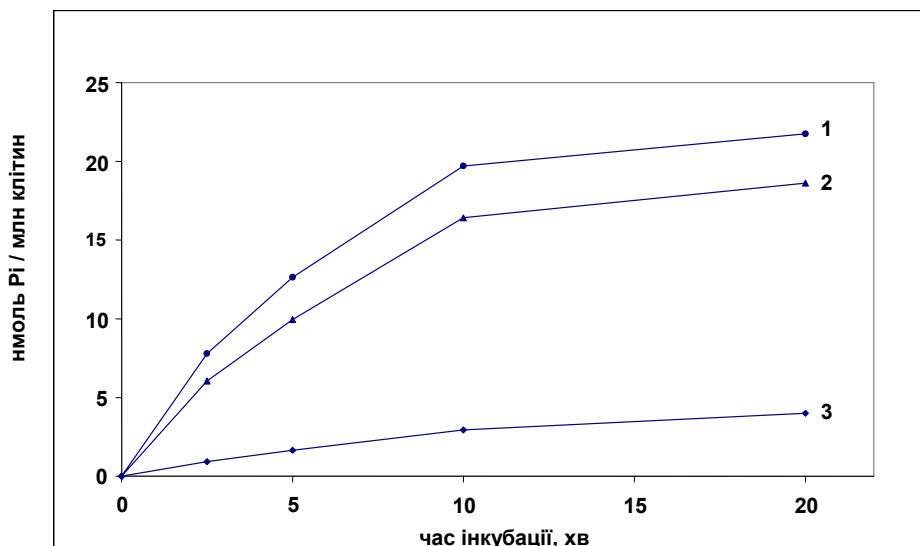


Рис. 1. Кінетика реакції гідролізу АТФ за присутності 2 мМ Mg^{2+} (1), 2 мМ Ca^{2+} (2) чи 1 мМ ЕГТА (3)

Оскільки, згідно результатів тесту з трипановим синім, інтактність клітин повністю зберігалась по закінченні 20-хвилинної інкубації, можна припустити, що стимульована іонами Mg та Ca реакція гідролізу здійснюється АТФазою, каталітичний центр якої розташований на зовнішньому боці плазматичної мембрани тимоцитів. Для підтвердження належності ензиму до екто-АТФаз досліджували деякі його властивості, проводячи реакцію упродовж 5 хв, тобто у режимі початкової швидкості ферментативної реакції.

Дані щодо субстратної специфічності досліджуваної АТФази представлено на рис. 2. Ферментативна активність, що стимулюється іонами Ca, так само, як і стимульована іонами Mg, є найвищою щодо АТФ. У той же час АДФ гідролізується зі швидкістю, що становить 37,3 та 35,5 % від швидкості гідролізу АТФ за присутності Mg^{2+} та Ca^{2+} відповідно, а такий продукт розщеплення АТФ, як АМФ, взагалі не використовується як субстрат фосфогідролазної реакції.

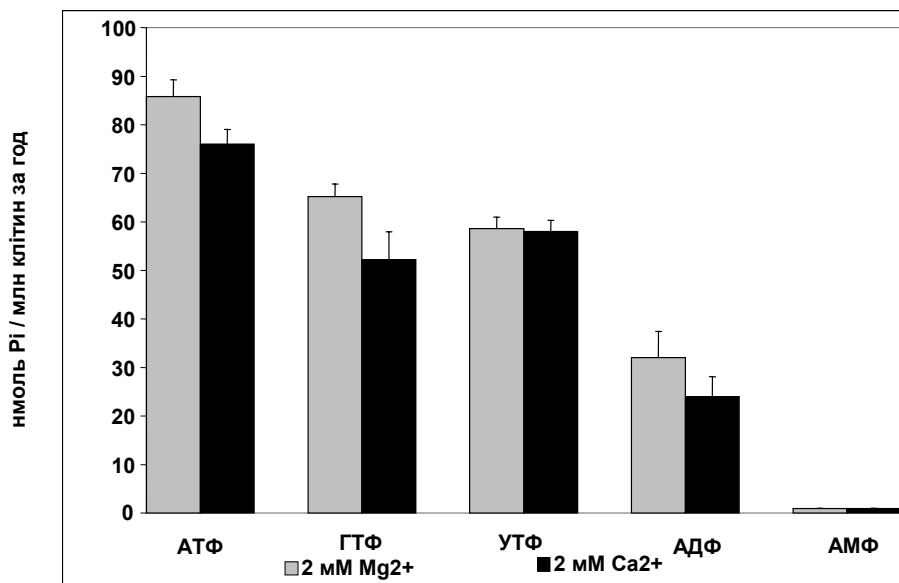


Рис. 2. Субстратна специфічність екто-АТФазної активності тимоцитів (концентрація нуклеозидфосфатів – 1 ммоль/л)

Специфічність АТФази щодо нуклеозидтрифосфатів є широкою – хоча рівень активності є найвищим у присутності АТФ, ензим здатен гідролізувати також ГТФ та УТФ, причому активаторами ферментативної реакції можуть виступати іони як Mg^{2+} , так і Ca^{2+} . Mg^{2+} -залежна активність дещо знижується у послідовності АТФ > ГТФ > УТФ. Ca^{2+} -залежна активність щодо ГТФ та УТФ є приблизно однаковою (68.5 та 76.3 % від активності у присутності АТФ). Отже, тимоцити здатні здійснювати гідроліз не лише позаклітинного АТФ, але й ГТФ та

УТФ, що свідчить про можливу участь екто-АТФази у регуляції відповіді клітин на їх дію як медіаторів.

Хоча екто-АТФази функціонують за доволі високих концентрацій Mg^{2+} та Ca^{2+} (приблизно 1 ммоль/л у позаклітинному середовищі), експресовані у плазматичній мембрані різних клітин ензими можуть виявляти різну чутливість до катіонів. Як видно з кривих залежності ензиматичної активності від концентрації катіонів у середовищі інкубації тимоцитів, за відсутності іонів Са екто-АТФазна активність стимулюється іонами Mg^{2+} , а за відсутності іонів Ca^{2+} – іонами Mg^{2+} (рис.3).

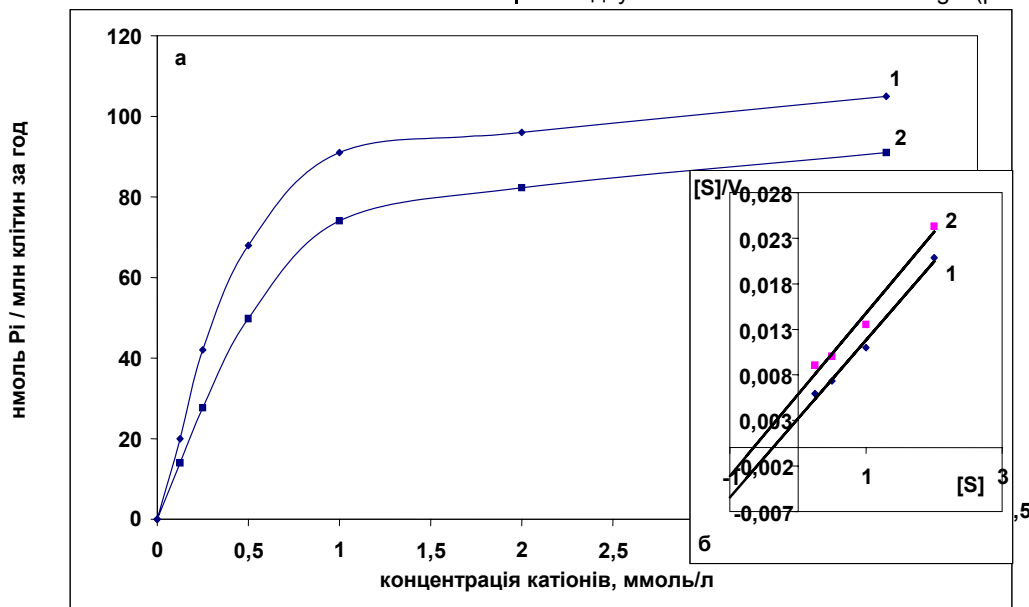


Рис. 3. Залежність екто-АТФазної активності тимоцитів від концентрації іонів Mg (1) і Ca (2) (а) Лінеаризація отриманих концентраційних кривих в координатах Хейнса (б)

Швидке, залежне від концентрації відповідного катіону зростання АТФазної активності, спостерігається у діапазоні концентрацій 0,125–1 ммоль/л, після чого крива виходить на плато. Отже, оптимальним для проявлення ензиматичної активності є діапазон 1–4 ммоль/л концентрацій катіонів. Для оцінки кінетичних

параметрів процесу гідролізу криві залежності ензиматичної активності від концентрації катіону було перебудовано у координатах V/V_{max} від S (де S – концентрація іонів Са чи Mg відповідно), що дало можливість розрахувати величини максимальної швидкості реакції V_{max}

та констант активації K_{Mg} та K_{Ca} , тобто оцінити спорідненість ензиму до цих катіонів.

За проведеними розрахунками було знайдено, що V_{max} реакції гідролізу за присутності обох катіонів є майже однаковою і складає 112 та 110 нмоль P_i / млн клітин за год для Mg^{2+} і Ca^{2+} відповідно, значення K_{Mg} становило 0,37 ммоль/л, а K_{Ca} – 0,65 ммоль/л. Ці параметри узгоджуються з літературними даними, за якими екто-АТФаза різних клітин проявляє низьку афінність до Ca^{2+} і Mg^{2+} (величина K_d складає приблизно 10^{-3} моль/л) на відміну Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -активованої АТФази ЕПР або плазматичної мембрани, афінність яких до кальцію є значно вищою (величина K_{Ca} лежить в діапазоні 10^{-6} моль/л) [8]. Отримані нами дані свідчать, що ензим може активуватись обома катіонами, проявляючи дещо вищу спорідненість до іонів Mg .

Отже, в результаті проведених досліджень було визначено, що даний фермент характеризується високою швидкістю гідролізу АТФ, широкою специфічністю до нуклеозидтрифосфатів, здатністю гідролізувати АДФ, але не АМФ, низькою афінністю до Ca^{2+} і Mg^{2+} . Отже за цими параметрами ензим може бути віднесений до екто-нуклеозидтрифосфатогідролаз.

Наявність екто-АТФази у тимоцитах щура ставить питання щодо фізіологічної ролі цього фермента. Оскільки було показано, що у тимоцитах щурів експресуються 7 субтипів рецепторів $P2X$ і 2 субтипи рецепторів $P2Y$ [1], однією з функцій екто-АТФази тимоцитів може бути участь у модифікації і термінації пуринергічних

сигналів шляхом гідролізу нуклеотидів (які можуть виступати лігандами до P_2 – пуринергічних рецепторів). Фермент може також бути задіяний у регуляції клітинного циклу і клітинної загибелі, оскільки АТФ, як агоніст до $P2$ рецепторів тимоцитів, може брати участь у процесах клітинної проліферації або індукувати апоптоз [1; 3]. Ще одна можлива функція – захист клітин там, де локальна концентрація АТФ може підвищуватись внаслідок специфічного вивільнення АТФ ефекторними клітинами, наприклад, цитолітичними Т-лімфоцитами, які секретиують АТФ після активації [4].

1. Glass R., Townsen-Nicolson A., Burnstock G. // Cell Tissue Res, May 1, 2000; 300(2): 295-306.
2. Hennighausen G., Hehl EM., Rychly J. Ecto-ATPase activity in rat and mouse thymocytes and cytotoxic effects of various chemical substances in vitro // Arch Toxicol Suppl, January 1, 1985; 8: 500-3.
3. Orrenius S., Jiang S., Kull B., Fredholm B. // Immunol Lett, March 1, 1996; 49(3): 197-201.
4. Plesner L. Ecto-ATPases: identities and functions // Int Rev Cytol, 1995; 158: 141-214.
5. Rathbun W., Betluch V. // anal Biochem, V.28. – p. 436-445, 1996.
6. Strobel R., Rosenberg M. Complementary DNA Cloning and Sequencing of the Chicken muscle Ecto-ATPase // 1 Ann. N. Y. Acad. Sci. 1993; 671:487-489.
7. Wang F., Guidotti G. CD39 Is an Ecto-(Ca²⁺,Mg²⁺)-ATPase // THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol. 271, No. 17, Issue of April 26, 1996. – pp. 9898-9901.
8. Ziegelhoffer A., Breier A., Dalla N.S. // Chem. Listy 94, 2000.
10. Ziganshin, AU., Zhiganshina, LE., Burnstock, DZh. Ecto-ATPases and receptors for ATP // Eksp Klin Farmakol, May 1, 1997; 60(3): 78-82.

Надійшла до редколегії 28.02.08

УДК 577.21

А. Драницина, канд. біол. наук,
Г. Телегесєв, канд. біол. наук,
І. Чумаченко, студ.,
С. Малюта, д-р біол. наук

МІКРОСАТЕЛІТНИЙ АНАЛІЗ У ПОПУЛЯЦІЯХ ПІНГВІНІВ ДЖЕНТУ (*PYGOSCELIS PAPUA*) ТА ПІНГВІНІВ АДЕЛІ (*P. ADELIAE*)

У статті представлено результати мікросателітного аналізу популяцій пінгвінів дженту та пінгвінів Аделі. Встановлено, що мікросателітні локуси AM12 та RM6 при аналізі популяцій пінгвінів дженту виявились абсолютно мономорфними, із лише одним детектованим локусом за кожним із маркерів. При вивченні мікросателітного локусу RM3 було виявлено 2 алелі: 221 п.н. і новий алель 217 п.н., та підтверджено належність пінгвінів дженту різних островів до одного підвиду (*Pygoscelis papua ellsworthii*). Отримано специфічні для міжвидових досліджень генетичні відстані для локусу RM3 та значні генетичні відстані для локусу RM6 між пінгвінами дженту та пінгвінами Аделі з 12 колоній Антарктики.

In the present paper the results of microsatellite analysis of Gentoo and Adelie penguin's populations are presented. AM12 and RM6 microsatellite loci in populations of Gentoo penguins were absolutely monomorphic with only one allele in both populations. RM3 demonstrated two alleles presented in this locus – 221 b.p. and the new allele – 217 b.p., which has not been described for RM3 to date. We also could confirm that these two populations belong to the same subspecies (*Pygoscelis papua ellsworthii*). The obtained genetic distances were specific for interspecies analyses (RM3 locus) and significant (RM6 locus) between Gentoo penguins and Adelie penguins from 12 colonies of Antarctica.

Вступ. Навколишнє середовище Антарктики характеризується екстремальними умовами, що змінюються в широких межах. З огляду на глобальне потепління, яке впливає на генетичну структуру популяцій рослин та тварин [1], загальну чисельність особин популяцій, межі ареалу тощо, дослідження структури антарктичних популяцій є важливим завданням [2]. Пінгвіни – важлива складова антарктичної екосистеми, і на сьогоднішній день дослідження їхньої біології – одна з актуальних проблем антарктичних досліджень міжнародних спільнот, у першу чергу це стосується проблем розповсюдження видів та їхньої генетичної мінливості [3]. І якщо деякі види пінгвінів (пінгвіни Аделі (*Pygoscelis adeliae*) тощо) уже досить непогано вивчені стосовно цього питання, то ослині пінгвіни – дженту (*Gentoo*) – або Папуа (*Pygoscelis papua*), які домінують в умовах Антарктичного півострова, практично не досліджені. Таксономічний статус пінгвінів дженту не є чітко визначеним. Деякі

автори визнають існування трьох підвидів (на основі морфометричних показників): південний (*Pygoscelis papua papua*), північний (*Pygoscelis papua ellsworthii*), до даного підвиду, вважається, належать особини пінгвінів проаналізованих популяцій о. Пітерманн та о. Лівінгстон [4], та східний (*Pygoscelis papua taeniata*) [5]. ДНК мікросателіти внаслідок високої варіабельності та селективної нейтральності є широковживаним знаряддям у популяційних та еволюційних дослідженнях [6]. Тому метою роботи було оцінити рівень поліморфізму пінгвінів за допомогою мікросателітних маркерів та визначити таксономічний статус пінгвінів дженту.

Об'єкт та методи досліджень. Зразки крові дженту були зібрані на острові Пітерманн – 65° 10' S та 64° 10' W, поблизу Української антарктичної станції "Академік Вернадський" (колишня британська "Фарадей", перейменована 6 лютого 1996 року), яка знаходиться на острові Галіндез – 65° 15' S та 64° 16' W, в районі півос-
© Драницина А., Телегесєв Г., Чумаченко І., Малюта С., 2008

трова Антарктичний; та острові Лівінгстон (поблизу Болгарської антарктичної станції "Святий Клімент Охридський", Південні Шетландські острови – 62° 38' 29" S та 60° 24' 53" W), українською командою під час 8 Антарктичної експедиції (антарктичне літо – грудень-лютий – 2003 року). Опис методичних процедур, проведених на пінгвінах дженту, розглянутий Комісією з питань біоетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, яка підтвердила, що матеріали дисертаційних досліджень не суперечать питанням біоетики (Протокол № 3, від 06 лютого 2007 року). Виділення ДНК відбувалося за 1) стандартною фенол – хлороформною екстракцією; та 2) за допомогою виділення ДНК із застосуванням NaCl. Для визначення кількості та якості ДНК у препаратах застосовували такі методи: попереднє визначення концентрації ДНК та її якості в агарозному гелі та спектрофотометричний.

Три мікросателіти: RM3, AM12 та RM6, ізольовані з геномної бібліотеки пінгвінів Аделі, проаналізовані на кожному із зразків ДНК пінгвінів двох островів: 115 зразків з о. Пітерманн та 102 з о. Лівінгстон, використовуючи послідовності праймерів, що були описані Роедером та співавторами [7]. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в 10 мкл реакційної суміші, що містила 100 нг геномної ДНК матриці, буфер для ПЛР (10 mM трис-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl ("Scientific Technologies", Болгарія)), по 250 мкМ кожного dNTP, по 2 pmoI кожного праймера (зокрема, прямий праймер був мічений флуоресцентним барвником Cy5 ("Scientific Technologies", Болгарія)), 2,25 mM MgCl₂ та 0,025 од. Taq ДНК полімерази ("Scientific Technologies", Болгарія) [5]. У реакціях було використано такі послідовності праймерів (виробництва "Amersham Pharmacia Biotech, Inc.", Швеція): RM3 – 5'-AATCAGGCTCCAAGGTCA; 5'-ATGCCAAGTGACACAAAGG; AM12 – 5'-AAAACCCCAACACAACAAAC; 5'-CCAAGAAGAGATTTGTGAG; RM6 – 5'-CAGGAGGCTTTGAGACAA; 5'-CTGTTTACATCCCGATGCA. Ампліфікацію фрагментів ДНК здійснювали на ампліфікаторі "TouchGene Gradient", "Teche" (Англія) за таких температурних умов: ініціююча денатурація 95 °C – 5хв; далі 35 циклів: денатурація ДНК 95 °C – 30 сек; гібридизація праймерів 61 °C – 30 сек. для RM3, 63 °C – 1 хв для AM12 та 64 °C – 30 сек. (RM6); добування ланцюга 72 °C – 1 хв. Після цього проводили добування ампліфікатів при 72 °C – 5 хв [5]. Візуалізацію продуктів ПЛР проводили в 5% поліакриламідному гелі із наступним фарбуванням сріблом. Розмір алелів ампліфікованих локусів встановлювали за денатуруючих умов із 7 М сечовиною в 6% поліакриламідному гелі, використовуючи сиквенатор "ALF Express", "Pharmacia LKB" (Швеція), при 2000 В, 70 мА та 45 Вт упродовж 180 хв шляхом порівняння з двома внутрішніми стандартами – 106 та 347 п.н. Виявлені мікросателітні локуси в популяціях пінгвінів дженту сиквенують на сиквенаторі "ABI Prism", "Perkin Elmer" (США) для встановлення мікросателітних повторів. Частоти алелів локусу RM3 обраховували простим підрахунком. Для порівняння розподілення генотипових частот алелів та порівняння значень виявленої та очікуваної гетерозиготності за Харді-Вайнбергом використовували критерій відповідності χ^2 із використанням програмного пакету GraphPad Prism 4.03 (GraphPad Software Inc., США). Кластерний аналіз генетичних відстаней (Fst) на основі частот алелів між проаналізованими пінгвінами дженту та особинами пінгвінами Аделі з 13 популяцій [7] проводили за допомогою пакету програм MVSP software 3.1 на основі відстаней Еуклідеана (Euclidean) [8]. Репрезентативність вибірок, яка була обрахована за допомогою програмного пакету GraphPad StatMate 1.01i (GraphPad Software Inc.,

США), мала потужність $P < 80\%$ (зважаючи на те, що наше дослідження було пілотним (проводилось вперше), таку потужність можна вважати прийнятною).

Результати досліджень та їх обговорення. При дослідженні локусу RM3 у пінгвінів о. Лівінгстон та о. Пітерманн виявлено два алелі: 221 та 217 п.н. Послідовність повтору із сиквенованого алеля – динуклеотид (CA)₁₁. Сиквеновані нами 177 п.н. локусу RM3:

1 aatcaggctc caaggctcagt tagatgcggt gacccacacat
caccaccacc atgcatacac

61 acacacacac acacacacacccc ataacaagga aaacaagaaa
agaagtatca gtctcacct

121 tacagaggtc agttacttag aagtgtagaa accctaaagc
ctttgtgtca ctgtcat

Дев'яносто із 102 особин пінгвінів дженту острова Лівінгстон були гомозиготами (221/221) [5]. Частота такого генотипу склала 0,882. Дванадцять птахів виявились гетерозиготами (221/217) із частотою генотипу 0,118. Алель 217 не був знайдений у гомозиготному стані. Частота алеля 221 була 0,941, а частота алеля 217 була 0,059. Виявлена гетерозиготність у вибірці птахів о. Лівінгстон, тобто частота гетерозиготних особин у популяції, склала 0,1176. Очікувана гетерозиготність була обрахована як 0,1110. Для даного локусу не виявлено відхилення від рівноваги Харді-Вайнберга ($\chi^2=0,042$, $df=1$, $p=0,85$). Дев'яносто шість із 115 особин пінгвінів дженту о. Пітерманн були гомозиготами (221/221). Частота такого генотипу склала 0,835. Вісімнадцять птахів виявились гетерозиготами (221/217) із частотою генотипу 0,157. Алель 217 був знайдений у гомозиготному стані (217/217) в одній особині пінгвінів дженту, не дивлячись на його низьку частоту трапляння в обстеженій групі пінгвінів. Частота такого генотипу становила 0,008. Частота алеля 221 була 0,913, а частота алеля 217 була 0,087. Виявлена гетерозиготність у вибірці птахів склала 0,1565. Очікувана гетерозиготність була 0,1588. Для даного локусу не виявлено відхилення від рівноваги Харді-Вайнберга і в популяції пінгвінів дженту о. Пітерманн ($\chi^2=0,0032$, $df=1$, $p=0,94$). Взагалі, розподіл частот алелів вірогідно не відрізнявся у двох проаналізованих популяціях ($\chi^2=0,75$, $df=1$, $p=0,39$).

У дослідженні, проведеному Роедером та співавторами на пінгвінах Аделі [7], було знайдено 6 алелів мікросателітного локусу RM3, розміром 219-231 п.н. У роботі Роедера та співавторів [7] так само, як і у нашому дослідженні, найбільша частота трапляння була в алеля 221 (0,772). Більша генетична варіація даного локусу в пінгвінів Аделі може бути поясненою більшою кількістю особин птахів у колоніях: 4000-150000 пар, що розмножуються, у порівнянні: 50-90 пар пінгвінів дженту з о. Лівінгстон, що розмножуються [9]). Така незначна кількість пар, що розмножуються, у популяції пінгвінів дженту о. Лівінгстон передбачає появу насиченого генофонду [5, 7]. Незважаючи на виявлення в нашій роботі лише двох алелів локусу RM3, важливим у ній є виявлення нового алеля – 217 п.н. Його виявлення у пінгвінів є важливим з огляду на відсутність до сьогодні відомостей про нього у особин пінгвінів дженту, ні в особин пінгвінів двох інших видів роду *Pygoscelis*: пінгвінів Аделі та бородатих пінгвінів [5, 7, 10]. Можливо, поява даного алеля є наслідком дії нового генетичного потоку генів, але це припущення не є надто вірогідним через невеликий обсяг досліджуваної колонії птахів о. Лівінгстон [9] та його тенденцію до зменшення, хоча популяція острова Пітерманн налічує біля 2000 пар, що розмножуються і, можливо, поява алеля 217 пояснюється дрейфом генів. Потрібно зважати, що пінгвінам притаманне явище стійкого

повернення до колишніх місць гніздування, що також виключає значний генетичний потік [7, 11, 12]. Найбільш вірогідно, появу алеля 217 можна пояснити дією двохступінчатого мутаційного процесу сусідніх алелів [11, 12], у той час як алель 221 є мажорним.

Отже, порівнюючи дослідження локусу RM3, проведені на пінгвінах дженту о. Лівінгстон та о. Пітерманн, можна зазначити, що при аналізі більшої групи птахів виявлено новий для пінгвінів алель 217 у гомозиготному стані. Також для популяції пінгвінів о. Пітерманн є характерними більші частоти алеля 217: 0,087 порівняно з 0,059 та вищі частоти гетерозиготного генотипу: 0,157 порівняно з 0,118. Це може бути поясненом більшим обсягом досліджуваної колонії птахів о. Пітерманн (більша кількість пар, що розмножуються).

На основі порівняння частот алелів між двома проведеними аналізами мікросателітного локусу RM3 на пінгвінах дженту о. Лівінгстон та пінгвінах Аделі (Роедер та співавтори [7]) було проведено кластерний аналіз.

Генетичні відстані між пінгвінами дженту цього острова та пінгвінами Аделі з 12 колоній Антарктики дорівнювали – $F_{st} > 0,2$, хоча між пінгвінами дженту та особинами пінгвінів Аделі, що мешкають на мисі Ройдс, було виявлено значно менше значення генетичної відстані – $F_{st} > 0,08$ внаслідок зближення значень частот алеля 221 у популяції пінгвінів дженту о. Пітерманн та колонії

птахів із мису Ройдс – 0,914 та 0,875 [7] відповідно. Можливо, така суттєва наближеність особин двох видів за частотою цього алелю може відображати не лише ідентичність походження локусу 221, а так звану гомоплазію, яка виникає через високу швидкість мутаційного процесу мікросателітів [7, 10-12]. Генетичні відстані між пінгвінами дженту острова Пітерманн та пінгвінами Аделі також із 12 колоній Антарктики дорівнювали – $0,2 > F_{st} > 0,16$. Але між пінгвінами дженту та особинами пінгвінів Аделі, що мешкають на мисі Ройдс, знов було виявлено значно менше значення генетичної відстані – $0,08 > F_{st} > 0,04$ внаслідок зближення значень частот алеля 221 в популяції пінгвінів дженту о. Пітерманн та колонії птахів із мису Ройдс – 0,939 та 0,875 [7] відповідно.

Загалом, генетичні відстані між пінгвінами дженту о. Пітерманн та о. Лівінгстон були наступними – $F_{st} < 0,04$, що підтверджує належність цих двох популяцій до одного й того самого підвиду [13]. Генетичні відстані між пінгвінами дженту двох островів та пінгвінами Аделі з 12 колоній Антарктики дорівнювали $F_{st} > 0,2$, що є характерним для міжвидових досліджень генетичної різноманітності [7, 10]. Однак між пінгвінами дженту двох островів та особинами пінгвінів Аделі, які мешкають на мисі Ройдс, також виявлено значно менше значення генетичної відстані – $F_{st} \approx 0,08$ (рис. 1).

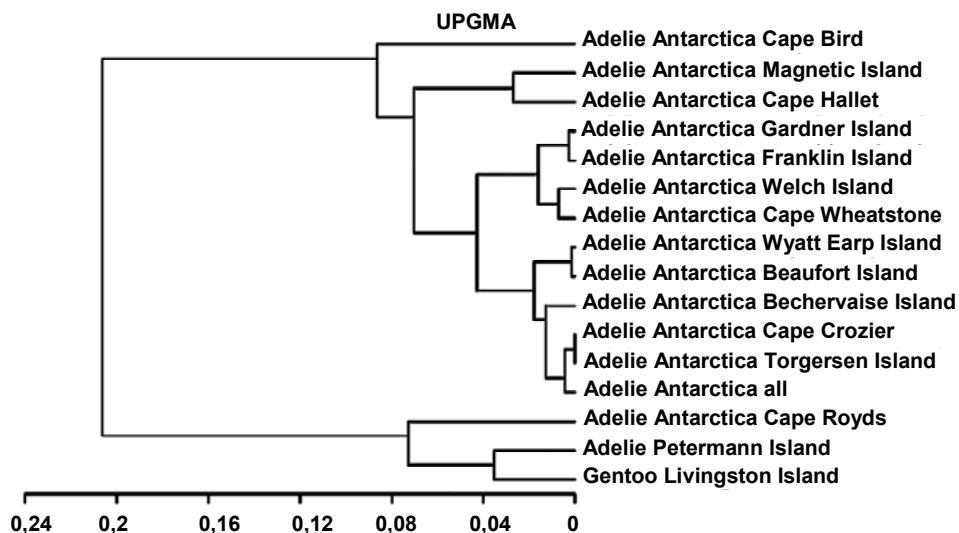


Рис. 1. Кластерний аналіз між популяціями пінгвінів дженту о. Лівінгстон, о. Пітерманн та колоніями пінгвінів Аделі з різних 13 районів Антарктики на основі порівняння частот мікросателітного локусу RM3

Примітка. Кластерний аналіз проведено за допомогою індексів генетичного підрозділення – F_{st} на основі відстаней Еуклідеана.

При аналізі мікросателітного локусу AM12 у пінгвінів Аделі (Роедер та співавтори [7]) виявлено 8 алелів, довжиною 140–154 п.н. (табл.). У нашій роботі, при дослідженні даного локусу у пінгвінів дженту о. Лівінгстон (102 особини) та о. Пітерманн (115 птахів), було знайдено лише один алель розмір якого, на жаль не було точно встановлено, проте за даними електрофореграм можна стверджувати про однаковий розмір проаналізованих алелів мікросателітного локусу AM12 в особин пінгвінів двох популяцій. Тому, через мономорфність даного локусу в популяціях пінгвінів дженту, можна стверджувати про не інформативність локусу AM12 при аналізі генетичного поліморфізму в межах виду *Pygoscelis papua*.

При дослідженні мікросателітного локусу RM6 на 217 пінгвінах дженту: 115 зразків – о. Пітерманн та 102 – о. Лівінгстон знайдено лише один алель розміром 168 п.н. Таким чином, частота трапляння даного локусу склала 100% для генофондів обох островів. Послідовність повтору із сиквенованого алеля – (GT)₆. Сиквенована нами послідовність локусу RM6 (168 п.н.):

```
1 caggaggctt tgagacaaga ctgtccttta ggcatgctgg
agcagatact gtatgcgtat
61 gtgtgtgtgt gtctgtgagt gctctgtgca gactacagat ttggtatga
agcaaaacaac
121 gtggcgggga gacactcca aatcagttac ctgcatcgga tgtaaaca
```

Потрібно зазначити, що встановлена нами послідовність локусу RM6 є ідентичною до запропонованої в

базі даних Genbank, проте відрізняється від запропонованої Роедером та іншими [7] – (CA)₁₀, можливо через сиквенування комплементарного ланцюга [5]. Номери послідовностей у GenBank: для RM3 – AF289546, для AM12 – AF131242, для RM6 – AF289547.

Роедер та співавтори [7] при аналізі даного локусу на пінгвінах Аделі виявили 6 алелів, довжиною 168–180 п.н. Мономорфний характер мікросателітного локусу RM6 був характерним і для інших видів пінгвінів: очкового (*Spheniscus demorsus*), Магеланового (*S. magellanicus*), Галапагоського (*S. mendiculus*), великого чубатого (*Eudyptes sclateri*), Снерського чубатого (*E. robustus*) та чубатого пінгвіна (*E. chrysecome*). Більш ніж один алель був знайдений у малого пінгвіна (*Eudyptula minor*) – 3 алелі, пінгвіна Вікторії або товсто-дзьобого (*Eudyptes pachyrrhynchus*) – 2 алелі та в прегарного пінгвіна (*Megadyptes antipodes*) – 2 алелі [10]. Слід зазначити, що, за Роедером, даний маркер не давав ампліфікатів під час ПЛР на зразках деяких видів пінгвінів: королівського (*Aptenodytes patagonica*) імператорського (*A. forsteri*) та Гумбольдтова пінгвіна (*S. humboldti*) [10]. На початку нашого аналізу мікросателітного локусу RM6 у популяціях пінгвінів дженту ми зустрілися з даною проблемою, але вона було успішно вирішена за рахунок багаточисельних процедур із підбору оптимальних умов проведення ПЛР. Мономорфізм даного локусу в популяціях пінгвінів дженту свідчить про неінформативність і мікросателітного маркера RM6 для генотипування та популяційного аналізу в межах виду *Pygoscelis papua*.

При порівнянні частот алелів між двома проведеними аналізами мікросателітного локусу RM6 на пінгвінах дженту о. Лівінгстон та пінгвінах Аделі (Роедер та співавтори [7]) проведено кластерний аналіз. Генетичні відстані між пінгвінами Аделі та пінгвінами дженту були значними: $1,5 > F_{st} > 1,25$, вони є вельми вищими для міжвидових досліджень генетичної різноманітності [7, 10, 14]. Дане явище можна пояснити, головним чином, тим, що домінантний алель (168 п.н.) у популяції пінгвінів дженту є одним із найбільш рідкісних у колоніях пінгвінів Аделі, із середньою частотою трапляння 0,002 [7, 10].

Таким чином розподіл алелів в двох мікросателітних локусах: AM12 та RM6 носив мономорфний характер і при цьому відрізнявся від розподілу алелів пінгвінів Аделі, в популяціях яких Роедером та співавторами [7] був виявлений поліморфний характер розподілу. Адже, враховуючи те, що пінгвіни дженту ведуть малорухомий спосіб життя і той факт, що репродуктивний розмір цих популяцій досить незначний, можна зробити припущення, що виявлення підвищеної частоти алеля, в даному випадку, може свідчити про існування "ефекта засновник", і що саме дрейф генів відіграв значну роль у цьому процесі.

Отже, у роботі було проаналізовано три мікросателіти: RM3, AM12 та RM6, ізольованих із геномної бібліотеки пінгвінів Аделі на кожному із зразків ДНК пінгвінів дженту двох островів: 115 зразків – о. Пітерманн та 102 – о. Лівінгстон. Було виявлено незначні рівні поліморфізму в усіх обстежених особин пінгвінів дженту о. Пітерманн та о. Лівінгстон. Локуси AM12 та RM6 виявились абсолютно мономорфними, із лише одним детектованим локусом за кожним із маркерів. При вивченні мікросателітного локусу RM3 виявлено 2 алелі, один з яких (алель 217) мав дуже низьку частоту трапляння в обох популяціях пінгвінів: 5,9% о. Лівінгстон та 8,7% о. Пітерманн. Враховуючи вищезазначене, можна зробити висновок про неінформативність перерахованих маркерів для вивчення генетичної мінливості різних популяцій пінгвінів дженту та про гомогенність генетичної

структури досліджуваних популяцій. Але виявлення алеля 217 локусу RM3 у пінгвінів дженту, як уже зазначалось, є важливим з огляду на відсутність до сьогодні відомостей про нього.

Порівнюючи одержані значення F_{st} (локус RM3) для популяцій птахів ($F_{st} < 0,04$) двох островів, можна підтвердити належність даних популяцій до одного підвиду (*Pygoscelis papua ellsworthi*) [13]. Із іншого боку, виявлені відмінності в частотах алелів за трьома мікросателітними локусами між пінгвінами дженту у даній роботі та пінгвінами Аделі [7, 10] показують придатність мікросателітів RM3, AM12 та RM6 для дослідження генетичного поліморфізму на міжвидовому рівні в роді *Pygoscelis*. На основі отриманих значних генетичних відстаней ($1,5 > F_{st} > 1,25$) [14] між проаналізованими 13 популяціями пінгвінів Аделі та популяціями пінгвінів дженту двох островів за локусом RM6 можна навіть поставити деякі питання щодо традиційної таксономії (заснованої лише на анатомічних та поведінкових особливостях [9]) видів у даному роді.

Також, потрібно зазначити, що при аналізі генетичної мінливості між особинами пінгвінів двох зазначених видів за мікросателітним маркером RM3 було виявлено малі міжвидові генетичні відстані – $F_{st} \approx 0,08$ внаслідок зближення значень частот алеля 221 популяції пінгвінів дженту двох островів та колонії пінгвінів Аделі з мису Ройдс [7]. Розглядається питання про не лише ідентичність походження локусу 221, а про можливість присутності явища гомоплазії [7, 11, 12].

Застосування більш поліморфних та інформативних мікросателітних маркерів для вивчення генетичної структури пінгвінів дженту (що, у свою чергу, потребує створення бібліотеки генів пінгвінів даного виду) допоможе вивчати генетичні зв'язки у роді *Pygoscelis* та стане в пригоді, щоб з'ясувати, чи викликана гомогенність у популяціях пінгвінів дженту пізньою дивергенцією даного виду або іншими причинами відповідно до таксономічної класифікації [5].

Висновки. 1. Аналіз популяцій пінгвінів дженту за мікросателітними локусами (RM3, AM12 та RM6) виявив незначні рівні поліморфізму в усіх обстежених особин пінгвінів дженту о. Пітерманн та о. Лівінгстон, що свідчить про гомогенність генетичної структури досліджуваних популяцій та неінформативність перерахованих маркерів для вивчення генетичної мінливості різних популяцій пінгвінів дженту.

2. Локуси AM12 та RM6 виявились абсолютно мономорфними, із лише одним детектованим локусом за кожним із маркерів.

3. При вивченні мікросателітного локусу RM3 у пінгвінів дженту було виявлено 2 алелі: 221 п.н. і новий алель 217 п.н., та підтверджено належність особин пінгвінів дженту різних островів до одного підвиду (*Pygoscelis papua ellsworthi*), ($F_{st} < 0,04$)).

4. Отримано характерні для міжвидових досліджень генетичні відстані для локусу RM3 ($F_{st} > 0,2$) та значні генетичні відстані для локусу RM6 ($1,5 > F_{st} > 1,25$) між пінгвінами дженту та пінгвінами Аделі з 12 колоній Антарктики, що свідчить про придатність мікросателітів RM3, AM12 та RM6 для дослідження генетичного поліморфізму на міжвидовому рівні в роді *Pygoscelis*.

Автори висловлюють подяку В.Ф. Безрукову, А. Савову та А. Метчевій за люб'язно надані зразки крові пінгвінів дженту, а також Д. Ламберту за представлену інформацію.

1. Schmittner A. Decline of the marine ecosystem caused by a reduction in the Atlantic overturning circulation // Nature. – 2005. – Vol. 434, № 7033. – P. 628–633. 2. deYoung B., Heath M., Werner F., Chai F., Megrey B.,

onfray P. Challenges of modeling ocean basin ecosystems // Science. – 2004. – Vol. 304, № 5676. – P. 1463–1466. 3. Ritchie P.A., Lambert D.M. A repeat complex in the mitochondrial control region of Adelie penguins from Antarctica // Genome. – 2000. – Vol. 43, № 4. – P. 613–618. 4. Zentindjev P., Metcheva R., Savov A., Yankov Y., Ludvig A., Lieckfeldt D. Polymorphism of the population in Gentoo penguins (*Pygoscelis papua* Aves: Sphenisciformes) from Livingston Island, South Shetlands // Bulgarian Antarctic Research. Life Science. – 2006. – Vol. 5, № 4. – P. 1–8. 5. Trakiiska E., Bichev S., Telegeev G., Dybkov M., Bezrukov V., Jankov J., Savov A. Study of three DNA microsatellite markers in *Pygoscelis papua* Penguins (Aves: Sphenisciformes) from the Livingston Island // Acta zoologica bulgarica. – 2005. – Vol. 57, № 3. – P. 333–340. 6. Neef B.D., Gross M.R. Microsatellite evolution in vertebrates: influence from AC dinucleotide repeats // Int. J. of Org. Evolution. – 2001. – Vol. 55, № 9. – P. 1717–1733. 7. Roeder A.D., Marshall R.K., Mitchelson A.J., Visagathilagar T., Ritchie P.A., Love D.R., Pakai T.J., McPartlan H.C., Murray N.D., Robinson N.A., Kerry K.R., Lambert D.M. Gene flow on the ice: genetic differentiation among Adelie penguin colonies around Antarctica // Mol. Ecol. – 2001. – Vol. 10, № 7. – P. 1645–1656. 8. Bahulika R.A.,

Stanculescu D., Preston C.A., Baldwin I.T. ISSR and AFLP analysis of the temporal and spatial population structure of the post-fire annual, *Nicotiana attenuata*, in SW Utah // BMC Ecol. – 2004. – Vol. 4, – P. 12. 9. Williams T.D. The Penguins. – Oxford: Oxford University Press, 1995. – P. 56–122. 10. Roeder A.D., Ritchie P.A., Lambert D. New DNA markers for penguins // Conserv. Genetics. – 2002. – Vol. 3, № 3. – P. 341–344. 11. Shepherd L.D., Lambert D.M. Mutational bias in penguin microsatellite DNA // J. Hered. – 2005. – Vol. 96, № 5. – P. 566–571. 12. Shepherd L.D., Millar C.D., Ballard G., Ainley D.G., Wilson P.R. Microevolution and mega-icebergs in the Antarctic // Proc. Nat. Acad. Sci. – 2005. – Vol. 102, № 46. – P. 16717–16722. 13. Savov A.S., Telegeev G.D., Bichev S.N., Trakiiska E.S., Dybkov M.V., Metcheva R., Vachev B., Legeyda A.S., Bezrukov V.F. Sex identification of Gentoo penguins using PCR with specific primers // Second Ukrainian Antarctic Meeting: Antarctic Peninsula: key region for environment change study – Kyiv (Ukraine), 2004. – P. 166. 14. Amaral J.M., Simoes A.L., De Jong D. Allele frequencies and genetic diversity in two groups of wild tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigratus*) living in an urban forest fragment // Genet. Mol. Res. – 2005. – Vol. 4, № 4. – P. 832–838.

Надійшла до редколегії 20.01.08

УДК 576.858

Ю. Рудь, асп.,
Л. Бучацький, д-р біол. наук, проф.

ІРИДОВІРУСИ РИБ

Іридовіруси – великі, ДНК-вмісні віруси, які ізолювані від комах, риб, амфібії та рептилій. Всі відомі іридовіруси риб належать до трьох родів: *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* і *Megalocytivirus* і родини *Iridoviridae*. Велика кількість іридовірусів риб, про які повідомлялось в літературі, є маловивченими, тому поки що вони не класифіковані. В цій статті розглянуті найпоширеніші іридовіруси, які спричиняють інфекції різноманітних видів риб.

Iridoviruses are large double-stranded DNA viruses which are isolated from insects, fish, amphibians and reptiles. Fish iridoviruses belong to the following three genera: *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* and *Megalocytivirus* family *Iridoviridae*. A large number of fish iridoviruses, that have been reported in literature, are insufficiently studied and consequently they are not classified. In this paper the most widespread iridoviruses which cause infections in various fish species are dealt with.

Вступ. За останні 10–15 років в умовах аквакультури та в природних водоймах було ідентифіковано велику кількість іридовірусів риб. Ізоляція цих вірусів тісно пов'язана із збільшенням обсягів ведення світової аквакультури. В умовах аквакультури іридовіруси спричиняють масову загибель риб і наносять великі збитки промислового рибництва.

Значна кількість іридовірусів риб, про які є повідомлення в літературі, поки що не класифіковані. Для їх класифікації необхідно дослідити біологічні властивості нових ізолятів, їх відмінності від іридовірусів інших пойкилотермних тварин, які мешкають у воді.

Класифікація іридовірусів риб. Іридовіруси – це крупні, ікосаедричні, цитоплазматичні ДНК-вмісні віруси тварин [1].

За даними Міжнародного комітету по таксономії вірусів (ICTV) до складу родини *Iridoviridae* входить 5 родів: *Iridovirus*, *Chloridovirus*, *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* і *Megalocytivirus* [2].

Віруси риб належать до трьох родів: *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* і *Megalocytivirus* (Табл. 1). До цього часу багато нових іридовірусів ще недостатньо вивчені, не класифіковані і вважаються емерджентними (віруси, які з'явилися нещодавно, від англ. emerging). В даний час в багатьох вірусологічних лабораторіях світу проводиться ідентифікація цих вірусів, яка включає вивчення фізико-хімічних властивостей віріонів, аналіз послідовностей їх ДНК та розробку діагностикумів.

Таблиця 1. Іридовіруси риб

Організм		Вірус	Походження	Посилання
Рід <i>Lymphocystivirus</i>				
Білий морський окунь	<i>Lates calcarifer</i>	Lymphocystivirus disease virus (LCDV)	Австралія	Pearce et al., 1990
Рід <i>Ranavirus</i>				
Окунь	<i>Perca fluviatilis</i>	Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) (Red-fin perch virus)	Австралія	Langdon et al., 1986
Форель	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) (Rainbow trout virus)	Австралія	Langdon et al., 1986
Судак	<i>Stizostedion lucioperca</i>	Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV)	Фінляндія	Tapiovaara et al., 1998
Сом	<i>Ictalurus melas</i>	European Catfish Virus (ECV)	Франція	Pozet et al., 1992
Сом європейський	<i>Silurus glanis</i>	European Sheatfish Virus (ESV)	Німеччина	Ahne et al., 1989
Великоротий окунь	<i>Micropterus salmonides</i>	Largemouth bass virus (LMBV)	США	Plumb et al., 1996
Гуппі	<i>Poecilia reticulata</i>	Guppy virus (GV)	США	Hedrick & McDowell, 1995
Риба-доктор	<i>Labroides dimidiatus</i>	Doctorfish virus (DFV)	США	Hedrick & McDowell, 1995
Групер	<i>Epinephelus tauvina</i>	Singapore grouper iridovirus (SGIV)	Сінгапур	Chua et al., 1994
Рід <i>Megalocytivirus</i>				
Морський лясц	<i>Pagrus major</i>	Red Sea bream iridovirus (RSIV)	Японія	Inouye et al., 1992
Морський окунь	<i>Lateolabrax sp.</i>	Sea bass iridovirus (SBIV)	Японія	Nakajima and Sorimachi, 1995
Гурами	<i>Colisa lalia</i>	Dwarf gourami iridovirus (DGIV)	Австралія	Anderson et al., 1993
Китайський окунь	<i>Sinipercha chutisi</i>	Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV)	Китай	He et al., 2000
Групер	<i>Epinephelus sp.</i>	Taiwan grouper iridovirus (TGIV)	Тайвань	Chao et al., 1997

Продовження табл. 1

Організм		Вірус	Походження	Посилання
Не класифіковані іридовіруси				
Тріска	<i>Maccullochella peelii</i>	Murray cod iridovirus (MCIV)	Австралія	Lancaster <i>et al.</i> , 2003
Короп	<i>Cyprinus carpio</i>	Common carp iridovirus, (CCIV)	Росія	Попкова, Щелкунов (1978)
Карась	<i>Carassius auratus</i>	Goldfish virus (GFV-1) (GFV-2)	США	Murphy <i>et al.</i> , 1995; Berry <i>et al.</i> , 1983.
Осетр	<i>Acipenser transmontanus</i>	White sturgeon iridovirus (WSIV)	США	Hedrick <i>et al.</i> , 1992
Колюшка	<i>Gasterostelus aculeatus</i>	Stickleback virus (SBV)	США	Mao <i>et al.</i> , 1999.
Камбала	<i>Pleuronectes platessa</i>	Erythrocytic necrosis virus (ENV)	Австралія	(Hyatt unpub.)

Рід *Lymphocystivirus*. До складу роду *Lymphocystivirus* входять такі віруси: *Lymphocystivirus disease virus 1* (LCDV-1) (Flounder lymphocystivirus disease virus) та *Lymphocystivirus disease virus 2* (LCDV-2) (*Dab lymphocystivirus disease virus*).

LCDV-1. Віріони сферичної форми, 200–230 нм в діаметрі, з ікосаедричним капсидом. Віріони лімфоцистіс-вірусів мають зовнішню ліпідну оболонку та внутрішню ліпідну мембрану. Внутрішня ліпідна мембрана локалізована між двома білковими оболонками. Геном представлений лінійною, двохланцюговою молекулою ДНК, яка вміщує 102 600 пар нуклеотидів. Геном несеґментований, містить 22% метильованого цитозину. Вміст Г+Ц пар становить 29,1%. Молекулярна маса головного капсидного білку (Major capsid protein, MCP) становить 51,4 kDa. До складу MCP входить 459 амінокислот. Вірус чутливий до ефіру і гліцерину, інфекційний титр вірусу знижується при pH = 3,0, але його інфекційність не знижується при заморожуванні-відтаненні та ультразвуковій обробці протягом 30–90 сек. Інфекційність вірусу може довго зберігатися при t = 4 °C або t = –70 °C. При t = 56 °C вірус інактивується частково через 30 хв, і повністю через 60 хв. Особливо довго вірус зберігається у ліофілізованому стані. Навіть через 13 років зберігання при температурі 20 ± 2 °C ліофілізований вірус зберігає свою інфекційність на 32%. Вірус культивується при температурі 21 °C в культурі клітин BF-2 [3].

На даний момент лімфоцистоз описаний у більш ніж 100 видів морських і прісноводних риб. Інфекція супроводжується утворенням незначних пошкоджень у вигляді гіпертрофії клітин шкіри та плавників. У результаті цього на поверхні тіла риб, особливо на плавниках, з'являються дрібні пухлини у вигляді вузликів. Ці пухлини мають вигляд бородавок. Із розвитком захворювання при сильному ураженні ці бородавки вкривають всю поверхню тіла риб. Кожен вузлик представляє собою окрему епітеліальну клітину, розміри якої інколи сягають 2 мм. Гігантські пухлинні клітини можна спостерігати у риб через 7–9 місяців після зараження. Такі гіпертрофовані клітини не діляться, з часом вони лопаються, пошкоджена шкіра зарубцюється, а уражена риба продовжує жити, перетворюючись при цьому в джерело вірусної інфекції.

Рід *Ranavirus*. До іридовірусів роду *Ranavirus* належать такі віруси: Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) (ізоляти RTV і RFPV), European sheatfish virus (ESV), European catfish virus (ECV), Santee-Cooper ranavirus (Largemouth bass virus, LMBV), doctor fish virus (DFV), guppy virus 6, (GV-6), Singapore grouper iridovirus (SGIV).

EHNV вперше був виділений в Австралії під час епізоотії у окуня *Perca fluviatilis* [4]. Існує два ізоляти цього вірусу – RTV (rainbow trout virus), що був виділений від форелі та RFPV (redfin perch virus), що був виділений від окуня. EHNV – ікосаедричний, цитоплазматичний, ДНК-вмісний вірус. Віріони сферичної форми, діамет-

ром 147–187 нм. Віріон складається з зовнішньої ліпідної оболонки, капсиду, внутрішньої ліпідної мембрани та ДНК. Внутрішня ліпідна мембрана локалізована між білковими оболонками. Геном несеґментований, представлений двохланцюговою ДНК до складу якої входить 170 000 пар нуклеотидів. Геном складає 11–18% маси віріона. Вміст Г+Ц пар становить 53%. ДНК сильно метильована (25%) по сайту CpG. Вірус чутливий до ефіру, хлороформу, дезоксіхлорату натрію та фосфоліпази А. Вірус втрачає інфекційність при pH 2-3 та при t = 50 °C, але стійкий до заморожування. Вірус культивується в перевивних культурах клітин BF-2 та CHSE-214 при температурі 24 °C. Ультраструктура EHNV схожа з іридовірусом амфібій (Bohle iridovirus, BIV).

На даний момент EHNV описаний у 13 видів риб. Хвороба, яку спричиняє EHNV, характеризується некрозом печінки, селезінки, нирок та шлунково-кишкового тракту. Показано [5], що інкубаційний період становить 11 днів при температурі 19–21 °C. При нижчих температурах інкубаційний період набагато довший, а при температурі нижче 12 °C ознаки хвороби не проявляються. EHNV вірулентний для риб вагою до 20 г, але не викликає смертність у риби вагою 50 г. Персистуючий EHNV виділяється з клінічно здорової форелі та окуня.

ESV – ікосаедричний, цитоплазматичний ДНК-вмісний вірус, ізолюваний в Німеччині під час епізоотії у мальків сома в умовах аквакультури [6]. Вірус сферичної форми діаметром 125–135 нм. Вірус чутливий до хлороформу. ESV культивується в перевивних культурах клітин BF-2, RTG-2 і FHM при температурі 20–30 °C. ЦПД характеризується округленням клітин та наявністю цитоплазматичних включень.

ESV призводить до 100% смертності мальків сома. Інкубаційний період вірусу складає 8 діб. У всіх випадках спостерігаються кровотечі на шкірі та некроз в печінці, підшлунковій залозі, шлунково-кишковому тракту, нирках. Вірус передається горизонтально через воду. Патологічна картина у мальків сома нагадує ознаки, що відмічаються при хворобах, пов'язаних з іридовірусом окуня (EHNV) [4].

ECV – це цитоплазматичний з ікосаедричною симетрією ДНК-вмісний вірус. Діаметр віріонів становить 150–160 нм. Вірус чутливий до хлороформу. ECV культивується в культурах клітин EPC. ECV за морфологічними та фізико-хімічними властивостями подібний до ESV та EHNV [7].

Хвороба характеризується високою смертністю (до 100%). На поверхні шкіри і плавниках спостерігаються крововиливи, а в печінці, селезінці та нирках – набряк і некроз.

LMBV – вірус, що уражує великоротого окуня *Micropterus salmoides*. Це цитоплазматичний з ікосаедричною симетрією вірус розміром 132–145 нм. Вірус культивується в культурі клітин FHM при температурі 30 °C і призводить до появи ЦПД через 48 год після інюкуляції [8].

Під час хвороби, викликаной цим вірусом, риба втрачає рівновагу, має збільшений плавальний міхур яскраво червоного кольору і тримається біля поверхні води. Вірус виділяється з усіх органів експериментально інфікованого окуня на 8 день. В місцях пошкодження та ін'єкції розвиваються некротичні запалення.

Молекулярна характеристика LMBV показала, що цей вірус має багато спільних ознак з двома іншими іридовірусами, що інфікують акваріумні види риб: guppy virus (GV) і doctordfish virus (DFV), але чітко відрізняється від вірусу жаби FV3 [9].

GV та **DFV** – віруси, що були виділені від гуппі *Poecilia reticulata* та риби-доктора *Labroides dimidiatus* [10]. Це цитоплазматичні, ікосаедричні ДНК-віруси з ліпідною оболонкою. Діаметр віріонів складає 160–170 нм. Віруси культивуються в перевивних культурах клітин BF-2, CCO і EPC. В кожній лінії клітин вірусні інфекційні титри становлять 10^8 TCID₅₀/мл. Віріони мають подібну морфологію з вірусами ESV і EHNV. Захворювання характеризується некрозом в печінці і нирках.

SGIV вперше був виділений в Сінгапурі під час епізоотії у групера *Epinephelus tauvina* в умовах аквакультури [11]. SGIV – це ікосаедричний, цитоплазматичний, ДНК-вмісний вірус. Вірусна частинка складається з зовнішньої ліпідної оболонки, внутрішнього білкового капсиду, внутрішньої ліпідної оболонки та ДНК. Діаметр віріонів становить 155–175 нм, діаметр нуклеокапсиду – 95 нм. Геном представлений лінійною, двохланцюговою ДНК, яка містить 140 131 пару нуклеотидів. До складу віріонів входить 26 білків. Молекулярна маса головного капсидного білку становить 49 kDa. Вірус чутливий до ефіру, втрачає свою інфекційність при pH = 3 та при t = 55 °C. Вірус культивується в культурі клітин GP при температурі 25 °C. ЦПД спостерігається через 24 год після інфікування і характеризується округленням клітин з наявністю базofilічних включень. Повна дегенерація моношару настає через 96 год.

SGIV викликає системні інфекції у мальків групера та спричиняє смертність, що сягає 90%. Захворювання характеризується некрозом селезінки, нирок та зябер.

Рід Megalocytivirus. До роду *Megalocytivirus* належать такі віруси: Red Sea bream iridovirus (RSIV), Sea bass iridovirus (SBIV), Dwarf gourami iridovirus (DGIV), Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) та Taiwan grouper iridovirus (TGIV).

Це цитоплазматичні, ікосаедричні віруси діаметром 140–200 нм. Віріони мають зовнішню ліпідну оболонку та внутрішню ліпідну мембрану. Геном представлений лінійною, двохланцюговою молекулою ДНК, яка вміщує 135 000 – 303 000 пар нуклеотидів. ДНК сильно метильована. Віріони довгий час зберігаються у воді при температурі 4 °C. Віруси чутливі до ефіру, хлороформу, дезоксіхлорату натрію та ультрафіолету. Всі віруси інактивуються при температурі 55 °C протягом 15–30 хвилин та при pH = 3.

RSIV – викликає епізоотії у морського ляща в умовах аквакультури [12]. Це ікосаедричний, цитоплазматичний ДНК-вмісний вірус діаметром 120–150 нм. Нуклеокапсид розміром 75–80 нм. Геном представлений лінійною, двохланцюговою ДНК, до складу якої входить 112 415 пар нуклеотидів. ДНК складає 12–16% від маси віріона. Вірус культивується в перевивних культурах клітин BF-2 при температурі 25 °C. Поліклональні АТ до RSIV реагують з ESV- та EHNV-інфікованими клітинами, натомість моноклональні АТ до RSIV реагують лише з RSIV-інфікованими клітинами.

При захворюванні ляща спостерігаються некротичні осередки в зябрах, нирках, серці, печінці і селезінці. Клітини характеризуються збільшенням або фрагментованим

ядром та включеннями в цитоплазмі. RSIV спричиняє смертність, що становить 50–90% протягом 2-ох місяців.

DGIV вперше виділений від акваріумної рибки гурами *Colisa lalia* [13]. Це сферичні, цитоплазматичні ДНК-вмісні віруси з зовнішньою ліпідною оболонкою. Розмір нуклеїда становить 81 ± 10 нм, розмір віріона – 130–156 нм. DGIV не культивується в перевивних культурах клітин.

У інфікованій риби спостерігається некроз в нирках, селезінці та підшлунковій залозі.

ISKNV – вперше був виділений під час епізоотії у китайського окуня *Siniperca chuatsi* [14]. Це цитоплазматичний з ікосаедричною симетрією ДНК-вмісний вірус, діаметром 165–180 нм. Геном представлений лінійною, двохланцюговою молекулою ДНК, яка вміщує 111 362 пари нуклеотидів. Вміст Г+Ц пар становить 54,8%. Головний капсидний білок та АТФаза складаються з 454 та 239 амінокислотних залишків відповідно. Вірус культивується в перевивних культурах клітин BF-2 та GE при температурі 25 °C.

ISKNV спричиняє масову загибель риби як в природних водоймах, так і в умовах аквакультури при температурі вище, ніж 20 °C. Під час захворювання спостерігаються некротичні запалення в селезінці, нирках, зябрах та кишково-шлунковому тракті. Інфіковані клітини характеризуються збільшенням розміром з наявністю цитоплазматичних включень.

TGIV – це цитоплазматичний, ікосаедричний, ДНК-вмісний вірус діаметром 160–180 нм [15]. Вірус уражує групера *Epinephelus* sp. та спричиняє смертність, що сягає 60–80% у молоді і 30% у старшої вікової групи. Вірус не культивується на перевивних культурах клітин. Ультраструктура TGIV схожа з ISKNV. Специфічна послідовність генів MCP та АТФази TGIV і ISKNV ідентичні.

TGIV виділяється з нирок, селезінки, зябер, печінки та кишківника. Уражені тканини характеризуються великими клітинами з наявністю в них базofilічних та еозинофілних включень. В ядрах спостерігається скупчення гетерохроматину, що локалізується біля ядерної мембрани. В цитоплазмі спостерігається велика кількість ендосом, а мітохондрії набувають кулястої форми.

Утворення кілець і дисків електронно-щільного матеріалу під час формування віріонів TGIV в цитоплазмі, також є характерним для *Nereis iridescent virus* (NIV) або *Iridovirus Type-27, IV27*), що уражує морського черва *Nereis diversicolor*. TGIV та NIV мають подібну морфологію і розмір (160–180 нм). Можливо, вірус, що подібний до TGIV, може існувати в різних видах морських тварин, а морський черв є природним резервуаром для вірусу.

Не класифіковані іридовіруси риб. **Murray cod iridovirus (MCIV)** – викликає епізоотії у тріски в умовах аквакультури [16]. Це ікосаедричний ДНК-вмісний вірус. Віріони локалізуються в цитоплазмі. Діаметр віріонів варіює з 132 до 165 нм. Вірус не культивується в перевивних культурах клітин. Патологічні зміни характеризуються осередками некрозу в печінці, нирках, селезінці та зябрах. Вірусна морфологія і гістопатологічні зміни тканин характерні для групи іридовірусів риб.

Показано високу гомологію (99.95%) генів головного білка капсиду та АТФази (понад 4527 п.н.) між MCIV, DGIV та ISKNV. Вважається [17], що іридовірус, який викликає епізоотії у тріски, походить з тропічної Азії і розповсюдився завдяки торгівлі промисловими або акваріумними видами риб.

White sturgeon iridovirus (WSIV) вперше був виділений у осетра *Acipenser transmontanus* в США [18]. Це цитоплазматичний ДНК-вмісний вірус з зовнішньою ліпідною оболонкою. Віріони ікосаедричної форми розміром 260–270 нм. Вірус культивується в перевивних культурах клітин WSS-2 при температурі 15–20 °C.

При захворюванні у осетрів спостерігається обширне почервоніння і крововиливи на шкірі і плавниках. В кишковому тракті присутні ознаки гострого запалення. Клітини зябер характеризуються значною кількістю базofilних, дрібних гранул в цитоплазмі. Прилеглі епітеліальні клітини стиснуті, з ознаками вибіркової гіперплазії, дисплазії. У деяких інфікованих клітинах спостерігаються зруйновані ядра. Вірус може персистувати в організмі осетра без явних ознак хвороби.

Common carp iridovirus (CCIV) спричиняє широко розповсюджену хворобу – жаберний некроз коропа. Вірус ікосаедричної форми діаметром 200–210 нм. Вірус культивується в перевивних культурах клітин EPC та FHM при температурі 28 °C. ЦПД характеризується округлими, базofilними, збільшеного розміру (в 2–3 рази) клітинами з вклученнями в ядрі. Вірусний матеріал виділяється з зябер та нирок.

Було показано [19], що зниження вірулентності вірусу залежить від кількості пасажів. ЦПД не спостерігали на 5–7 пассажах у випадку вірусного матеріалу виділеного з нирок і на 10–11 пассажах у випадку вірусного матеріалу із зябер. При перших пассажах дегенерація моношару наступала через 24–48 год, тоді як в останніх пассажах – через 7–9 дб.

Erythrocytic necrosis virus (ENV) – викликає вірусний еритроцитарний некроз (VEN). Віріони мають ікосаедричну форму, їх розмір 140–360 нм. Вірус не розмножується в культурах клітин. Вірус інфікує багато видів риб, зокрема камбалу, тріску, кету, горбушу, форель та інші. У інфікованої риби спостерігаються ознаки анемії, що супроводжується поблідінням зябер і внутрішніх органів. Відомості про масову смертність інфікованих риб відсутні. Можливо, існує декілька типів цього виду вірусу, який спричиняє хворобу, оскільки було ідентифіковано декілька різних за розміром віріонів. Потенційна важливість для аквакультури полягає в тому, що цей іридовірус збільшує чутливість риби до інших патогенів.

Goldfish virus (GFV-1, GFV-2) – цитоплазматичний вірус з ікосаедричною симетрією. Вірус не має зовнішньої ліпідної оболонки. Геном представлений кільцевою молекулою ДНК довжиною 200 000 п.н. ДНК містить метильований цитозин. GFV – не культивується в перевивних культурах клітин. Вірус спричиняє системні захворювання в умовах аквакультури. В природних водоймах епізоотії не спостерігались. Паталогічна картина характеризується некротичними запаленнями зябер, нирок, селезінки, кишково-шлункового тракту. На поверхні шкіри присутні крововиливи. Смертність сягає 80% [20].

Порівняння іридовірусів риб і амфібій. Іридовіруси риб – EHN, ECV, ESV, амфібій – Bohle iridovirus (BIV), вірусу жаби 3 (FV3) та рептилій – вірус Wamena (WV) морфологічно і антигенно дуже подібні між собою.

В результаті вивчення послідовності гену головного білка капсиду (MCP) RFPV, RTV, BIV та WV, було показано [21], що специфічні ділянки ДНК RFPV і RTV ідентичні між собою та чітко відрізняються від специфічних послідовностей ДНК BIV і WV. Відмінності в зразках ампліфікованих ділянок між EHN, BIV і WV є основою швидкого диференціювання цих вірусів від ESV/ECV і FV3/GV.

Досліджуючи інфекційність EHN, ESV, ECV та FV3, було показано [22], що жоден з досліджуваних вірусів не виявився патогенним для окуня *Perca fluviatilis*. У судака *Stizostedion lucioperca* спостерігали високу смертність, спричинену EHN (83% при $t = 12^{\circ}\text{C}$ і 98% при $t = 22^{\circ}\text{C}$) та ESV (53% при $t = 12^{\circ}\text{C}$ і 64% при $t = 22^{\circ}\text{C}$). Звертається увага на те, що FV3 не патогенний для досліджуваних видів риб.

Досліджуючи дев'ять іридовірусів, виділених від риб, рептилій та амфібій, було встановлено [23], що ідентичність іридовірусів залежить від їх географічного походження (ізолювані з однієї географічної області віруси подібні між собою, тоді як віруси з різних географічних регіонів виявилися не ідентичними). Використовуючи праймери, комплементарні до консервативного MCP, було успішно ампліфіковано специфічну послідовність ДНК усіх дев'яти ізолятів. Було доведено, що віруси групуються згідно їх географічному і таксономічному (тобто амфібія або риба) походженню. Відмінності між специфічними ділянками геному були незначними. Загалом, було показано, що область MCP консервативна для різних ізолятів іридовірусів риб і амфібій [24].

Мао et al. (1999) повідомляють про ізоляцію ідентичних іридовірусів з колюшки (SBV) і жаби *Rana aurora* (TV2). Використовуючи ендонуклеази HindIII і XbaI, було з'ясовано, що ділянки ДНК SBV і TV2 були ідентичні між собою і чітко відрізнялися від FV3. Натомість, специфічні фрагменти ДНК (близько 500 нуклеотидів) консервативної області MCP ізолюваних вірусів SBV та TV2 були ідентичні між собою і з FV3. Підсумовуючи ці результати є підстави стверджувати що іридовіруси природно інфікують тварин, що належать до різних таксономічних класів, а також, що риба може бути резервуаром для вірусів амфібій, а амфібії резервуаром для вірусів риб [25].

Ahne et al. (1998) проводили порівняльні дослідження європейських ізолятів іридовірусів риб ESV і ECV, та іридовірусу жаби REIR (*Rana esculenta* iridovirus), з іридовірусом окуня EHN, ізолюваного в Австралії та з FV-3, ізолюваного в США. Всі вірусні ізоляти, як було доведено, є подібні за морфологією і розмірами. В той час, як специфічні ділянки ДНК європейських іридовірусів риб були подібні (рестрикція BamHI), вони чітко відрізнялися від EHN, REIR і FV-3 з Австралії і США [26].

Останнім часом було ідентифіковано велику кількість іридовірусів, що викликають епізоотії у риб в природних водоймах та в умовах аквакультури. На даний момент багато нових іридовірусів ще недостатньо вивчені і тому поки що не класифіковані. Тоді як іридовіруси, що належить до роду *Lymphocystisvirus*, викликають розвиток гіпертрофованих клітин, інші, що належить до родів *Ranavirus* і *Megalocytivirus*, викликають системні інфекції у риб, пов'язані з високою захворюваністю і смертністю. Передбачається, що амфібії, можливо, діють як переносники і поширюють іридовіруси між окремими видами риб. Необхідно більше інформації щодо біологічних властивостей та фізико-хімічних характеристик нових ізолятів, їх відмінності від іридовірусів інших пойкилотермних тварин, які мешкають у воді. Вивчення властивостей віріонів, їх інфекційності і патогенності дасть змогу оцінити потенціал розповсюдження іридовірусів між різними видами і типами хазяїв.

1. Бучацкий Л.П. Иридовирусы. – Киев: Вища школа. Изд-во при Киев. ун-те, 1981. – 120 с. 2. Chinchar, V. G., Essbauer, S., He, J.G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Seligy, V. & Williams, T. (2005). Family Iridoviridae. In Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – pp. 150–162. Edited by C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger & L. A. Ball. San Diego: Elsevier/Academic Press. 3. Pearce M., Humphrey J.D., Hyatt A.D., Williams L.M. Lymphocystis disease in captive barramundi *Lates calcarifer*. Australian Veterinary Journal. – 1990. – 67. – P. 144–145. 4. Langdon J., Humphrey J., Williams L., et al. First virus isolation from Australian fish: An iridovirus-like pathogen from redbfin perch, *Perca fluviatilis*. Journal of Fish Diseases. – 1986. – 9. – P. 263–268. 5. Langdon J., Humphrey J., Williams L. Outbreaks of an EHN-like iridovirus in cultured rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in Australia. Journal of Fish Diseases. – 1998. – 11. – P. 93–96. 6. Ahne W., Ogawa M., Fischer-Scherl T., et al. Pathomorphological alterations in sheatfish fry *Silurus glanis* experimentally infected with an iridovirus-like agent. Dis. aquat. Org. – 1990. – Vol. 9. – P. 187–191. 7. Pozet F., Morand M., Moussa A., et al. Isolation and preliminary characterisation of a pathogenic

icosahedral deoxyribovirus from the catfish *Ictalurus melas*. Diseases of Aquatic Organisms. – 1992. – 14. – P. 35–42. 8. Plumb J., Zilberg D. The lethal dose of largemouth bass virus in juvenile largemouth bass and the comparative susceptibility of striped bass. J. Aquat Anim Health. – 1999. – 11. – P. 246–252. 9. Mao J., Wang J., Chinchar G., et al. Molecular characterization of a ranavirus isolated from largemouth bass *Micropterus salmoides*. Dis. Aquat. Org. – 1999. – 37. – P. 107–114. 10. Hedrick R., McDowell T. Properties of Iridoviruses from ornamental fish. Veterinary research, 1995. – 26. – P. 423–427. 11. Chao C., Pang V. An outbreak of an iridovirus-like infection in cultured grouper (*Epinephelus* spp.) in Taiwan. J. Chin Soc Vet Sci. – 1997. – 23. – P. 411–422. 12. Inouye K., Yamano K., Maeno Y., et al. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. Fish Pathology. – 1992. – 27. – P. 19–27. 13. Anderson I.G., Prior H.C., Rodwell B.J., et al. Iridovirus-like virions in imported dwarf gourami (*Colisa lalia*) with systemic amoebiasis. Australian Veterinary Journal. – 1993. – 70. – P. 66–67. 14. He J.G., Wang S.P., Zeng K., et al. Systemic disease caused by an iridovirus-like agent in cultured mandarin fish, *Siniperca chuatsi* (Basilewsky), in China. Journal of Fish Diseases. – 2000. – 23. – P. 219–222. 15. Chua F., Ng M., Ng K., et al. Investigation of outbreaks of a novel disease, 'Sleepy Grouper Disease', affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. J. Fish Dis. – 1994. – 17. – P. 417–427. 16. Lancaster M., Williamson M., Schroen C. Iridovirus-associated mortality in farmed Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). Aust Vet J. – 2003. Vol 81, No 10 October. 17. Go J., Lancaster M., Deece K. et al. The molecular epidemiology of iridovirus in Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) and dwarf gourami (*Colisa lalia*) from distant biogeographical regions suggests a link between trade in ornamental fish and emerging iridoviral

diseases. Mol Cell Probes. – 2006. – Jun-Aug, 20(3-4). – P. 212–22. 18. Hedrick, R.P., McDowell, T.S., Ahne, W., et al. Properties of three iridovirus-like agents associated with systemic infections of fish. Diseases of Aquatic Organisms. – 1992. – 13. – P. 203–209. 19. Попкова Т.И., Щелкунов И.С. Выделение вируса от карпов, больных жаберным некрозом. ВНИИПРХ Рыб. хоз. – 1978. – № 4. – С. 34–38. 20. Berry E.S., Shea T.B., Galiks J. Two iridoviruses isolates from *Carassius auratus*. Journal of Fish Diseases. – 1983. – 6. – P. 501–510. 21. Hyatt A., Gould A., Zupanovic Z., et al. Comparative studies of piscine and amphibian iridoviruses. Archives of Virology. – 2000. – 145. – P. 301–31. 22. Jensen B., Ariel E. Experimental studies of *Rana*-virus infection in redfin perch (*Perca fluviatilis*) and pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). 13th International Conference of fish and shellfish diseases, 17–21 September 2007 Grado, Italy. Book of abstracts. – P. 94. 23. Mao J., Hedrick R., Chinchar V. Molecular characterization, sequence analysis, and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. Virology. – 1997. – Mar, 3,229(1). – P. 212–20. 24. Marsh I., Whittington R., O'Rourke B. et al. Rapid differentiation of Australian, European and American ranaviruses based on variation in major capsid protein gene sequence. Mol Cell Probes. – 2002. Apr, 16(2). – P. 137–51. 25. Mao J., Green D., Fellers G. Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish. Virus Res. – 1999, Sep, 63(1-2). – P. 45–52. 26. Ahne W., Bearzotti M., Bremont M. Comparison of European systemic piscine and amphibian iridoviruses with epizootic haematopoietic necrosis virus and frog virus 3. Zentralbl Veterinarmed B. – 1998. – Aug, 45(6). – P. 373–83.

Надійшла до редколегії 31.01.08

УДК 595.773.4

I. Козерецька, канд. біол. наук,
В. Костогриз, асп.

ПОШУК ГЕНІВ-КАНДИДАТІВ НОВОЇ МУТАЦІЇ *CURLED-LIKE* У *DROSOPHILA VIRILIS*

Проведено пошук генів-кандидатів, які відповідають за планарність крила у *Drosophila virilis* з використанням геномних послідовностей *Drosophila melanogaster*. Встановлено нуклеотидну послідовність у геномі *Drosophila melanogaster*, яка містить нової ген-ортолог, порушення якого у *Drosophila virilis* призводить до мутантного фенотипу "загорнуті догори крила".

Using the genome sequence of *Drosophila melanogaster* we performed the screening of genes which can be responsible for wing planarity of *Drosophila virilis*. The nucleotide sequence of *Drosophila melanogaster* genome which contains gene-ortholog of *Drosophila virilis* was determined.

Вступ. Інтерес до вивчення мутацій, гени яких відповідають за розвиток крила дрозофіл, пов'язаний з тим, що механізми морфогенезу є еволюційно консервативними, а отже сигнальні системи клітинної диференціації й специфікації, які беруть участь у цих процесах, є спільними для багатьох систематичних груп тварин [1]. На сьогоднішній день крило дрозофіл є класичною експериментальною моделлю для вивчення механізмів закладки й росту органів багатоклітинних організмів [2].

Загалом сьогодні відомо 373 окремих гена, які беруть участь у формуванні жилок крила *Drosophila melanogaster*. Більшість цих генів (більше 60%) є компонентами відомого сигнальних шляхів [3]. Однак, дуже мало відомо про них й сигнальних шляхи, які впливають на планарність крила дрозофіл.

Метою цієї роботи був пошук відповідної нуклеотидної послідовності нової мутації *curl-like* (*curl*: 2-6.0) у *Drosophila virilis*.

Матеріали та методи досліджень. Робота з пошуку генів кандидатів у *D. melanogaster*, порушення яких могли б призводити до появи мутацій подібних *curl D. virilis* проводилася з використанням геномних послідовностей *D. melanogaster*, оскільки процес розшифровки геному *D. virilis* ще не закінчений, і відповідних геномних послідовностей цього модельного об'єкту ще немає у вільному доступі [4].

Результати та їх обговорення. Ген *curl D. virilis* розташований у проксимальній частині 2-ї хромосоми на відстані 39 сМ від гена *Delta*. Мутація характеризується нормальною життєздатністю, є рецесивною. Мутантний фенотип характеризується закрученими догори та розставленими під кутом 30° крилами. Ступінь закрученості

крил імаго мутантної лінії варіює від майже рівного крила з невеликим підняттям його дистальної частини догори до дуже сильного, при якому дистальний край крила торкається крилової пластинки ближче до місця її прикріплення до тораксу [5, 6].

Ще однією фенотиповою особливістю мутантного крилового фенотипу є наявність складок, які можна спостерігати в мутантних особин, як під стереоскопічним мікроскопом, так і на постійних препаратах крил. Мутантні особини характеризуються порушенням орієнтації постскутелярних щетинок, які на відміну від дикого типу часто перехрещені, або ж спрямовані в різні сторони. Для тораксу мутантних особин характерною є певна пігментційна варіація, яка проявляється у вигляді чергування світло-коричневих поздовжніх смуг [7].

На основі порівнянь мутантних фенотипів вдалося встановити щонайменше дев'ять генів *D. melanogaster*, порушення яких призводить до прояву фенотипу "закручені догори крила", а саме *curled* (*cu*: 3-50), *Curled blistered* (*Cb*:1-13), *Curled 3* (*Cu*: 3-66.0), *curvi* (*cui*: 2-23.4), *curl* (*curl*: 2-60), *Curl* (*Cu*: 2-54.6), *curled on X* (*cu*: X-1-?), *Curly* (*Cy*: 2-6.1), та *Upturned* (*U*: 2-70).

Наведемо детальну характеристику вищезгаданих генів:

Ген *cu* є домінуючим, для нього описано 7 рецесивних алелів (*cu*¹, *cu*^{100.69}, *cu*^{100.384}, *cu*^{300.215}, *cu*^{5J}, *cu*^{FW}, *cu*²). Мутантні особини характеризуються закрученими у проксимально-дистальному напрямку крилами. Мутантним фенотипу притаманні схрещені постскутелярні щетинки, а також наявність темного пігменту тораксу. Молекулярна функція гену – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Cb* рецесивний, має один алель *Cb*¹ (мутанти особи характеризуються закрученими догори крилами, в присутності *px^{unspecified}* в гомозиготі крила стають пухирчастими), фенотипово проявляється у вигляді закручених догори крил на фоні порушень адгезії поверхні крила. Пігмент тораксу – дикого типу. Порушення у розвитку щетинок не спостерігається. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Su-3* рецесивний, має один алель (*Su-3*¹), мутація летальна в гомозиготному стані, спричиняє розвиток закручених догори у формі пергаменту крил. Пігмент тораксу – не визначений. Постскутеллярні щетинки – дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *cu1* домінуючий, має один алель (*cu1*¹), характеризується наявністю загнutoї догори тільки дистальної половини пластинки крила. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *curl* домінуючий, має один алель (*curl*¹), фенотипово характеризується наявністю закручених догори крил. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *cu-X* домінуючий, має один алель (*cu-X*¹), характеризується наявністю закручених догори крил. Фенотип однаково добре виражений у самців з або без Y-хромосоми. Фенотип ніколи не проявляється в гомозиготних самках. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Алель дикого типу гена *U* рецесивний, має три алелі (*U*¹, *U*²⁰, *U*²). Фенотип характеризується закрученими догори крилами як у *Su*¹, але крила темні й воскові. Мутація летальна в рецесивному стані, характеризується наявністю дефектного пігменту очей. Постскутеллярні щетинки – схрещені. Пігмент торакса є темнішим в порівнянні з диким типом. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Su* рецесивний, має двадцять шість алелів (*Su*^{66.14}, *Su*^{66.5}, *Su*^{67.3}, *Su*¹², *Su*¹³, *Su*^M, *Su*²¹, *Su*²⁵, *Su*^{T16}, *Su*^{T18}, *Su*^{T25}, *Su*^{T31}, *Su*^{T32}, *Su*^{T37}, *Su*^{T38}, *Su*^{T43}, *Su*^{T51}, *Su*^{T61}, *Su*^{T62}, *Su*^{drv1}, *Su*^{unspecified}, *Su*^{Rev76}, *Su*^{rv11}, *Su*^{rv27}, *Su*^{rv67}). Фенотип характеризується наявністю закручених догори крил подібно до *cu*, але з властивим викривленням. Мутації летальні в гомозиготному стані, але іноді можуть проявлятися у вигляді карликовості із значними видозмінами крила, що є формальною особливістю розходження відносно *cu*. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Su* рецесивний, має сім алелів (*Su*¹, *Su*², *Su*³, *Su*⁵⁴, *Su*⁵⁷, *Su*⁷⁵, *Su*^A). Фенотип подібний до *Su*, але відрізняється більш викривленими крилами, які є непрозорими й сірватими. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена. [4]

Отже, мутація *curl D. virilis* відносно наведених вище характеристик генів *D. melanogaster*, фенотипово відповідає тільки гену *cu*.

Крім того, ще одним фактом на користь нашого висновку є виконаний Whiting J.H. et al. аналіз із використанням гібридизації *in situ*, який показав, що ділянка 85DE-97EF третьої хромосоми *D. melanogaster*, в якій розташований ген *cu* є гомологічною до проксимальної ділянки другої хромосоми *D. virilis* [8], в якій за результатами рекомбінаційного тесту і знаходиться ген *curled-like* [].

Отже, це дає нам підстави зробити гіпотетичне припущення про те, що дані гени є ортологами.

Границі ділянки 85DE-97EF 3 хромосоми *D. melanogaster*, в якій розташована крилова мутація *cu*, були визначені за даними FlyBase [4]. Нуклеотидна послідовність визначеної хромосомної ділянки була отримана з геномної бази даних DroSpeGe [9], в якій вказано, що послідовність містить 6 генів-кандидатів: 1) CG6629 (FBgn0037860), характерною є сукцинатдегідрогеназна активність (синтез сукцинату), впливає на процеси мітохондріального електронно-транспортного ланцюга, контролює метаболізм сукцинату, бере участь у циклі трикарбонових кислот, кінцевими продуктами метаболізму є: сукцинат-дегідрогеназний комплекс, С-мембранний білок; 2) CG33698 (FBgn0053698), молекулярна функція є невідомою, біологічний процес – невідомий, кінцевий продукт – поліпептид; 3) CG4706 (FBgn0037862), характерною є аконітат-гідратазна активність, здійснює біосинтез амінокислот, бере участь у циклі трикарбонових кислот, синтезі аконітатгідратази (аконітази), кутикули, відіграє роль в апоптозі [10]; 4) *Ugt86Dc* (FBgn0040257), 5) *Ugt86Dd* (FBgn0040256), 6) *Ugt86Di* (FBgn0040251) – для них характерною є глюкуронозилтрансферазна активність. Продукти стимулюють захисні реакції, приймають участь в метаболізмі полісахаридів та у виведенні токсинів з клітин, здійснюють вплив на метаболізм стероїдних сполук, синтезують UDP-глюкуронозилтрансферазу.

В літературі, ми не знайшли жодної інформації, яка б дозволила зробити висновок про роль цих генів в морфогенезі крила [4].

Отже ці 6 CG-генів можна гіпотетично розділити на 4 групи, відповідно до ймовірності преналежності саме досліджуваному локусу. До першої групи можна віднести ген CG4706 (FBgn0037862), тому що приймаючи участь в синтезі аконітази, відповідно, може впливати на апоптоз клітин міжжилкового простору, який відбувається в *Drosophila* в перші години вилуплення імаго; до другої – CG6629 (FBgn0037860), тому, що він здійснює вплив на синтез трансмембранних білків, а отже може впливати на адгезію поверхонь крила *Drosophila*; до третьої – гени *Ugt86Dc* (FBgn0040257), *Ugt86Dd* (FBgn0040256), *Ugt86Di* (FBgn0040251), тому, що вони приймають участь у синтезі полісахаридів із стероїдних сполук, які є компонентами кутикулярних структур у *Drosophila*, відповідно до четвертої – ген *Ugt86Di* (FBgn0040251), оскільки невідомість його функції не дозволяє виключити його роль в процесах морфогенезу крила.

Висновки. Отже, в результаті пошуку генів-кандидатів мутації *curl-like (curl: 2-6.0) D. virilis*, було встановлено нуклеотидну послідовність в геномі *D. melanogaster*, що містить відповідний ген-ортолог. Визначення нуклеотидних послідовностей конкретного гену-кандидату, потребує подальших досліджень.

1. Garsia-Bellido A. and de Celis J.F. Developmental genetics of the venation pattern of *Drosophila* // Annu. Rev. Genet. – 1992. – Vol. 26. – P. 275–302.
2. Albagli O, Pelczar H. Myc and cell competition in *Drosophila*. // Med Sci – 2006. – Vol. 22, №8-9. – P. 695.
3. Monlar C. et al. A Gain-of-Function Screen Identifying Genes Required for Vein Formation in the *Drosophila melanogaster* Wing // Genetics. – 2006. – Vol. 174. – P. 1635–1659.
4. <http://flybase.bio.indiana.edu/>.
5. Середа С.В., Козерецька І.А. Нова curled-like мутація *Drosophila virilis* // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія – 2007. – прийнято до друку.
6. Середа С., Козерецька І. Нова curled-like мутація *Drosophila virilis* // Шевченківська весна. Матер. міжнародн. наук. конф., Київ, 2007. – К., 2007.
7. Костоєрич В.П., Аналіз мутантов *curl Drosophila virilis* с асимметричным распределением складок кутикулы на дорзальной поверхности пластинки крыла. // – 2007. – прийнято до друку.
8. 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.
9. <http://insects.eugenes.org/DroSpeGe/>.
10. Vermooy, S. Y., et al. (2000). Cell death regulation in *Drosophila*: conservation of mechanism and unique insights. J. Cell Bio. 150: F69–76.

УДК.577.3

Д. Ноздренко, канд. біол. наук,
М. Макачук, д-р біол. наук,
Л. Шеремет, інж.

РЕАКЦІЯ КАМБАЛОПОДІБНОГО М'ЯЗУ ЩУРА НА СТУПІНЧАТУ МОДУЛЬОВАНУ СТИМУЛЯЦІЮ

Досліджено процес скорочення камбаловидного м'язу щура викликаного модульованою стимуляцією. Показано, що стійкі гістерезисні зміни сили м'язу, що виражаються в її збільшенні під час попереднього подовження й зменшенні при вкороченні, приводять до розбіжностей встановлення рівноважної довжини м'яза залежно від передісторії її руху.

The contractility of rat salens muscle induced by modulating stimulation taking into account nonlinear properties of muscle shortening and dynamics of contractile muscle elements was investigated. It was shown that stable hysteretic changes of muscle force led to ambiguous establishment equilibrium muscle length in dependence of movement prehistory.

Вступ. Аналіз механізмів які лежать в основі керування рухами, традиційно відносяться до фундаментальних проблем фізіології та біофізики м'язів. На сучасному етапі у наукових досліджень досить плідно розвиваються напрямки, які пов'язані із з'ясуванням механізмів центральної регуляції довільних рухових актів.

Слід зазначити, що в багатьох роботах (1–4), присвячених аналізу рухової системи, нерідко не приділяються належна увага обліку біомеханічних компонентів рухових реакцій. У тих експериментах, де оцінка центральних процесів регуляції руху зв'язується з реальними часовими параметрами рухового акту, можливі принципові помилки, засновані на недостатньому знанні м'язової динаміки. Незважаючи на досить тривалу історію в дослідженні динаміки м'язового скорочення, сучасні уявлення з цього питання багато в чому залишаються неповними. Через обмеженість методичних можливостей, аж до останнього часу, коли в практику експерименту почали входити сервокеровані механостимулятори, всі дослідження м'язової динаміки в основному проводились у двох найпростіших режимах – ізометричному та ізотонічному. Внаслідок виразності й різноманіття нелінійних ефектів у м'язі цього виявилось недостатньо для встановлення кількісних закономірностей скорочення м'яза в реальних ситуаціях, коли можуть змінюватися як самі центральні команди так і зовнішні силові впливи. Крім того, дослідження за умов методичних обмежень, які вказувались вище, привело до того, що дотепер слабо вивчений зв'язок між м'язовою динамікою й динамічними властивостями формування пропріоцептивної активності і її перетворення на рівні центральних нейронів. Все це істотно ускладнює розуміння фізіологічних процесів, що лежать в основі керування рухом.

Методика. Експерименти, що представлені в роботі, виконані на дорослих щурах масою від 0,2 до 0,3 кг. В експериментах проводили контроль артеріального тиску, що вимірювався відкритим способом через канюлю. У ході попередньої підготовки до експерименту анестезію здійснювали внутрішньочеревинним введенням нембутала (40 мг/кг). Стандартна підготовка містила в собі препарування й канюліровання (для введення фармпрепаратів і для виміру тиску), трахеотомію, ламінектомію на рівні поперекового відділу спинного мозку. Для підготовки до використання модульованої стимуляції еферентів у сегментах L7-S, робили перерізання вентральних корінців безпосередньо в місцях їхнього виходу зі спинного мозку.

Зміну сили вимірювали за допомогою чотирьох тензорезисторів, наклеєних із двох сторін на сталеву пластину й включених у мостову вимірювальну схему. Довжину м'яза визначали прецизійним потенціометричним датчиком, рухлива частина якого була механічно жорстко зв'язана з піддослідним м'язом.

Результати та обговорення. Дослідження гістерезисних ефектів традиційно проводиться при повільних змі-

нах довжини м'язу. Певний інтерес представляє порівняння зусиль, які розвиває м'яз під час швидких та повільних змін його довжини. З цією метою ми співставляли зусилля при ступінчастій та пірамідальній зміні довжини за однакової амплітуди подразнення (рисунк 1, 2). Реакція м'язу на ступінчасту зміну довжини складалась з вираженої динамічної компоненти та наступного переходу до нового рівня сили. Слід відмітити що час спаду динамічного компоненту був більше в випадках вкорочення м'язу, що відповідає асиметрії часового плину перехідних процесів зовнішнє навантаження – довжина м'язу.

Як видно з рисунку 1, гістерезисні ефекти характеризуються вираженою післядією при повільних змінах довжини та тривалому утриманні досягнутого рівноважного стану, час переходу зусилля до нового рівня після закінчення руху тримав 6–7 секунд і більше.

Встановлені значення сили при ступінчатих змінах довжини майже у всіх випадках відрізнялись від екстремальних зусиль в відповідних фазах зміни довжини при пірамідальній стимуляції. Ця різниця була чітко виражена в фазах подовження, при цьому м'яз розвивав більше зусилля під час повільної зміни довжини.

Як видно з отриманих результатів, динамічні властивості м'язу істотно модифікується рухом, вони змінюються при переході від укорочення до подовження й досить слабо залежать частоти еферентної стимуляції. Причиною розбіжності значень довжини в скорочувальних процесах подовження й укорочення може бути залишковий прояв гістерезисних ефектів в активному м'язі. Гістерезис можна спостерігати при повільному подовженні й укороченні активного м'язу.

Вертикальними лініями показано початок та кінець модульованої стимуляції, вертикальною пунктирною лінією показано початок постійного рівня модульованого стимуляційного сигналу, Δ стим. – загальна тривалість модульованого стимуляційного сигналу; const Δ стим. – постійний рівень модульованого стимуляційного сигналу, Δ довж. – загальне скорочення камбалоподібного м'язу щура відповідно до Δ стим., const Δ довж. – скорочення камбалоподібного м'язу щура відповідно до const Δ стим., L – контроль – контроль зміни довжини (ізометричний режим скорочення), P – контроль – контроль постійного рівня навантаження (ізотонічний режим скорочення), 1р, 2р, 3р – різні рівні прикладеного зовнішнього механічного навантаження.

Отже, показані гістерезисна зміна сили м'язу яка полягала в її збільшенні при попередньому подовженні та зменшенні при скороченні приводили до розбіжності в встановлення рівноважної довжини м'язу залежно від передісторії руху. В цьому випадку можна стверджувати, що гістерезисні ефекти будуть відігравати суттєву роль в випадках встановлення рівноважного значення суглобного кута в кінцівці тварини.

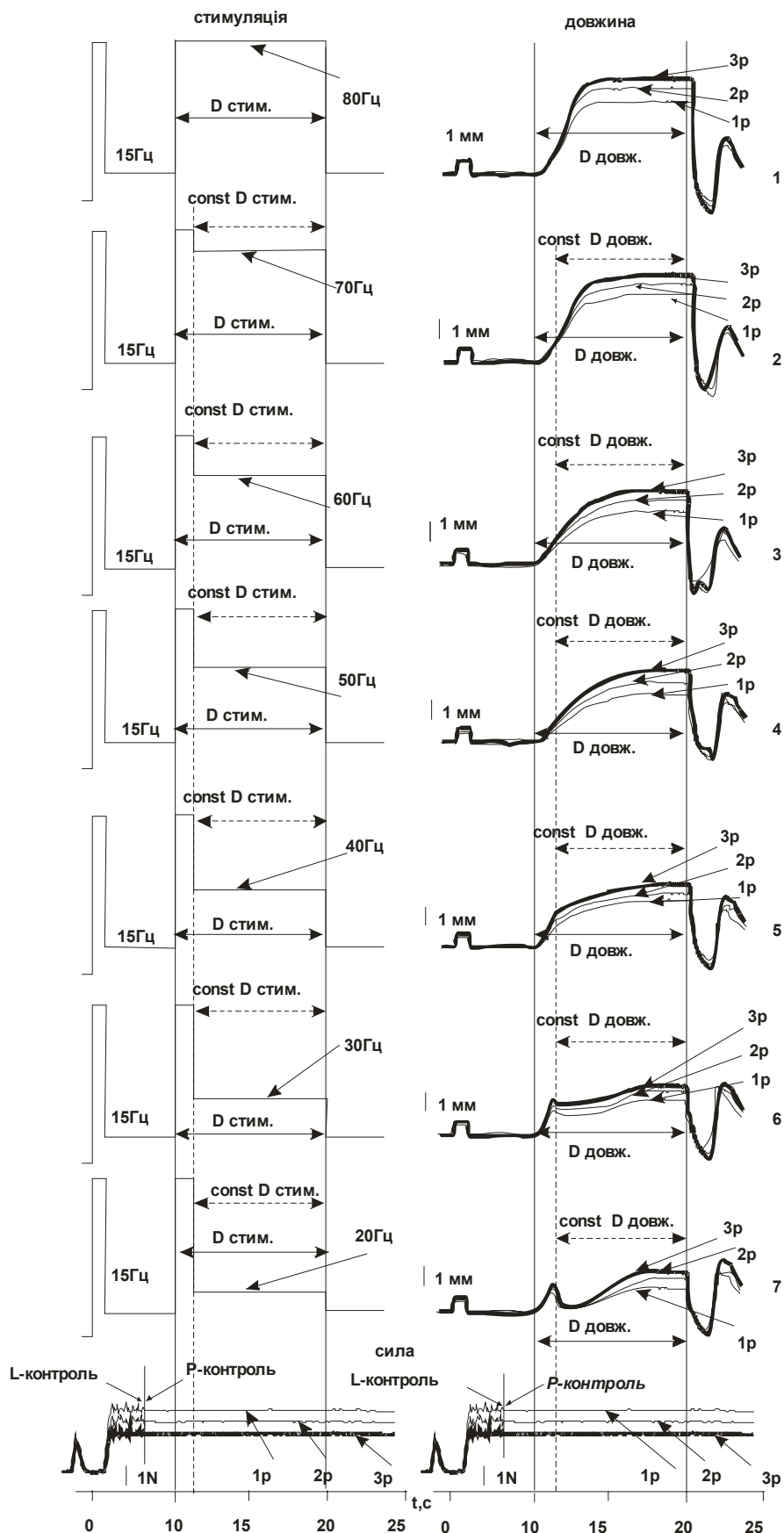


Рис. 1. Реакція камбалоподібного м'язу щура на ступінчасту модульовану стимуляцію

1. Edgley S.A., Lemor R.N. Experiments using transcranial magnetic brain stimulation in man could reveal important new mechanisms in motor control // J. Physiol. 1999 Dec 15;521 Pt 3:565. 2. Edman K.A. Myofibrillar fatigue versus failure of activation // Adv. Exp. Med. Biol. – 1995. – V. 384. – P. 29–43. 3. Enoka R.M., Stuart D.G. Neurobiology of muscle fatigue // J. Appl. Physiol. – 1992. – V.72. – P. 1631–1648. 4. Tal'nov A.M.,

Cherkassky V.L., Kostyukov A.I. Movement-related and steady state electromyographic activity of human elbow flexors in slow transition movements between two equilibrium states // Neuroscience – 1997. – V.79, №3. – P. 923–933.

Надійшла до редколегії 13.04.08

УДК 616.45-001.1/3 + 612.44 + 612.438

Л. Пазюк, канд. біол. наук,
М. Дзержинський, д-р біол. наук,
Н. Олексієнко, канд. біол. наук,
Н. Бузинська, канд. біол. наук

РЕАКЦІЯ ТИМУСА ТА ГІПОТАЛАМО-ТИРЕОЇДНОЇ СИСТЕМИ НА ХОЛОДОВИЙ СТРЕС ЗА УЧАСТЮ АДРЕНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Гістофізіологічними, морфометричними, статистичними методами досліджено реакцію тимуса, щитовидної залози, гіпоталамуса і гіпофіза птахів одномісячного віку на хронічне охолодження та участь в цих процесах α -адренорецепторів головного мозку. В експерименті використовували 2-годинне щоденне охолодження птахів при температурі -18°C на тлі введення фармакологічних препаратів (мезатон, празозин) протягом 3-х, 7-и та 14-и днів дослідження. Встановлено, що α -адренергічні системи головного мозку залучаються до реакції адаптації птахів на охолодження, справляючи стимулюючий вплив на тиреоїдну систему і тимус, і тим самим підвищуючи резистентність організму до дії стресорів.

It was researched of 1-month old chicken thymus, thyroid gland, hypothalamus and pituitary gland reaction on chronic cooling by histophysiological, morphometric and statistic methods. It was researched the role of brain α -adrenoreceptors in that processes. For 3-, 7- and 14 days the birds were treated (mesaton or prazosin) and cooling at -18°C for 2 hours a day. It was shown that brain α -adrenergic system play the role in cool adaptation reaction and stimulate thymus, thyroid system. In that way the anti-stress resistance of bird was increased.

Вступ. Тимус є центральним лімфоїдним органом, який володіє ендокринною функцією. Існують експериментальні дані, що підтверджують наявність нейроендокринної регуляції тимуса, зокрема функцій ретикулоепітеліоцитів та диференціації тимоцитів [8, 7, 3]. В свою чергу тимусектомія порушує функції аденогіпофіза та впливає на адренергічні структури мозку і гіпоталамус [6]. Доведено, що підвищені рівні кортикостероїдів надирників викликають інволюцію тимуса, однак базальні рівні кортикостероїдів мають позитивний вплив на розвиток тимоцитів [5]. При дії на організм надзвичайно сильних подразників реакція тимуса описана як акцидентальна інволюція, що проявляється масовою міграцією лімфоцитів до кровотоку, апоптозом тимоцитів і зміною гістоструктури тимуса: атрофією, зникненням чіткої межі між зонами часточок тимуса, розростанням сполучної тканини і як результат зниженням імунітету [2, 4, 9]. В свою чергу, нами показано, що на холодний стрес зокрема активується функція щитовидної залози у птахів [1]. Ось тому ми вирішили порівняти вплив хронічного охолодження на розвиток адаптаційної реакції тимуса та гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи птахів й участь в цих процесах α -адренорецепторів головного мозку.

Об'єкт та методи досліджень. Дослід проводили на статевонедозрілих самцях курей (*Gallus domesticus*) кросу HyLine (Голландія) одномісячного віку, яких щодобово по 2 год охолоджували у морозильній шафі при температурі -18°C на тлі введення фармакологічних препаратів протягом 3-х, 7-и та 14-и днів дослідження. Птахи контрольної серії одержували по 1 мл чистого 0,9% розчину хлориду натрію. У другій серії дослідження птахам внутрішньом'язово вводили в дозі 0,07 мг на 100 г маси тіла мезатон (фенілефрин) – активатор постсинаптичних α_1 -адренорецепторів. Птахи третьої серії дослідження перорально отримували празозин (піперазин) в дозі 0,03 мг на 100 г маси тіла, який є α_1 – адреноблокатором.

Наприкінці дослідів птахів усіх груп декапітували. Аденогіпофізи та тимуси фіксували у рідині Буена, а щитовидні залози – у 10% розчині формаліну. Далі матеріал обробляли традиційними гістологічними методами. Зрізи щитовидних залоз та тимуса завтовшки 5–6 мкм забарвлювали гематоксиліном Бюмера та еозинном. Зрізи аденогіпофізів – паральдегідфуксином та метиленовим синім.

Морфометричні вимірювання діаметру ядер тиреотропоцитів аденогіпофіза (мкм), висоти тиреоїдного епітелію (мкм) та внутрішнього діаметру фолікулів щито-

видної залози (мкм) проводили за допомогою окуляр-мікрометра МОВ-1-15^х на світловому мікроскопі. Визначення площі кіркової та мозкової зон часточок тимуса та щільності тимоцитів проводили за допомогою установки System Microscope з відеокамерою Olympus BX 41 hystem, обладнаного цифровою фотокамерою Camedia C-5050 zoom і програмним забезпеченням Olympus DP 80 FT 3.2 на базі комп'ютера Pentium 4 з операційною системою Windows XP. Обробку мікрофотографій гістологічних препаратів отриманих на цифровому аналізаторі проводили за допомогою програми Medical Image Analyser (Version 1.0 (c) 2000 Powered by Ander).

Рівень тироксину у плазмі крові піддослідних птахів визначали імуноферментним методом за допомогою стандартного набору "Тироїд ІФА-тироксин" (Росія).

Статистичну обробку даних здійснювали за t-критерієм Ст'юдента з використанням програмного забезпечення STATISTICA for Windows 5.0.

Результати та їх обговорення. Спостереження показали, що у птахів, яким вводили мезатон і проводили 2-годинне охолодження протягом 3-х днів морфометричні зміни у тимусі були несуттєвими. Розмір кіркової та мозкової зон часточки тимуса та висота тироцитів не відрізнялись від аналогічних показників у контрольній серії (табл. 1). Але встановлено, що вірогідно зменшувалась щільність тимоцитів в кірковій зоні до $23,19 \pm 0,27$ (у контролі – $24,87 \pm 0,21$), що свідчить про виселення їх до мозкового шару і, в цілому, із тимусу і може трактуватися як реакція на стрес.

На гістологічних препаратах фолікули щитовидних залоз цієї серії заповнені світлим колоїдом, який по периферії містив в собі резорбційні вакуолі на відміну від контролю. Тиреоїдний епітелій набував кубічної форми і його висота була на рівні контрольних показників. При цьому виявлено підвищений рівень тироксину в крові – $21,72 \pm 0,28$ нмоль/л ($p \leq 0,05$). Отже можна констатувати, що синтетичні процеси у щитовидній залозі суттєво не змінювались, але посилювались процеси виведення гормонів у кров на тлі помірного його синтезу в тироцитах оскільки вони відіграють терморегуляторну роль в організмі.

За принципом зворотних зв'язків можна пояснити реакцію тиреотропоцитів аденогіпофіза, що проявлялася вірогідним зменшенням діаметру ядер до $4,73 \pm 0,30$ мкм. Аналогічні зміни були у нейроцитах ПВЯ гіпоталамуса піддослідних тварин, середній розмір діаметру ядер цих нейронів вірогідно зменшувався до $7,24 \pm 0,07$ мкм порівняно із контролем ($7,69 \pm 0,08$ мкм).

Таблиця 1. Морфологічні показники гіпофізарно-тиреоїдної системи і тимуса птахів в різних серіях дослідів

Серії дослідів	Площа перерізу часточки тимуса (мкм ²)		Щитовидна залоза		Діаметр ядер тиро-тропоцитів аденогіпо-фіза (мкм)
	Кіркова зона	Мозкова зона	Висота тироцитів (мкм)	Тироксин (нмоль/л)	
3 дні охолодження					
Контроль	182,74±1,24	191,82±1,59	5,78±0,06	20,85±0,10	5,02±0,45
Мезатон	180,85±1,49	192,00±1,32	5,80±0,05	21,72±0,28*	4,73±0,30*
Празозин	183,77±2,53	191,65±2,46	5,24±0,06*	21,37±0,32	5,00±0,58
7 днів охолодження					
Контроль	184,80±2,97	194,40±2,34	5,88±0,06	21,30±0,55	4,70±0,08
Мезатон	244,10±3,57*	256,11±4,02*	6,58±0,09*	23,04±0,56*	4,44±0,09*
Празозин	189,50±2,37	191,30±2,10	4,62±0,05*	22,85±0,46	4,45±0,05*
14 днів охолодження					
Контроль	189,32±2,80	202,34±2,87	6,12±0,06	23,20±0,40	4,81±0,41
Мезатон	195,25±3,40*	210,51±3,86*	7,32±0,09*	27,45±0,15*	4,50±0,43*
Празозин	191 20±2 75	193 20±3 10	5 94±0 67	24 36±1 41	4 48±0 45*

*- різниця між контрольною та піддослідними групами вірогідна при $p \leq 0,05$

Як ми й очікували блокада α -адренорецепторів празозином протягом 3-х днів приводила до зниження висоти тироцитів щитовидної залози до $5,24 \pm 0,06$ мкм ($p \leq 0,05$), що набували переважно плоскої форми, при цьому інтрафолікулярний колоїд у фолікулах ущільнювався. Однак рівень тироксину в крові не відрізнявся від показників контрольної групи (табл. 1). Але все ж таки можна констатувати, що щитовидна залоза перебувала у стані зниженої секреторної активності з пригніченим синтезом та посиленням депонуванням гормонів у порожнині фолікулів.

При цьому не відрізнялись від аналогічних показників площа перерізу кіркової та мозкової зон часточок тимуса, хоча вірогідно зростала щільність тимоцитів мозкової зони до $15,06 \pm 0,27$ (у контролі – $14,04 \pm 0,27$), що ймовірно свідчить про процеси виселення тимоцитів кіркової зони тільки у мозковий шар часточки тимуса.

При морфологічному дослідженні розміри ядер тироцитів аденгоіпофіза та нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса не змінювались. У цій ділянці переважали темнозбарвлені нейрони, які депонували нейросекреторну субстанцію у перикаріонах та відростках, тобто ці ознаки свідчили про суттєве зниження процесів виведення нейрогормонів у кров.

Таким чином, якщо при 3-денному охолодженні на тлі введення α -адреноміметика мезатону спостерігали деякі перші ознаки посилення функції тимуса та тироїдної системи на хронічне охолодження, тоді як при блокаді празозином прояви адаптаційної реакції на дію низької температури майже не відрізнялись від контрольної серії, але мали протилежну тенденцію порівняно з серією дослідів при введенні мезатона.

У наступній серії дослідів, коли птахів охолоджували до 7-и днів і вводили мезатон, спостерігали водночас підвищення функціональної активності як тимуса, так і щитовидної залози.

При аналізі гістологічних препаратів тимуса виявлено вірогідне збільшення площі перерізу кіркової і мозкової зон часточки тимуса (табл. 1). Ці дані підтверджувались вірогідним збільшенням щільності тимоцитів у кірковій та мозковій зоні часточки тимуса відповідно до $28,03 \pm 0,39$ ($26,22 \pm 0,32$ – у контролі) та до $16,98 \pm 0,27$ ($14,95 \pm 0,29$ – у контролі). Таким чином, отримані результати свідчать про посилення процесів проліферації попередників Т-лімфоцитів з подальшою диференціацією у корі та виселенням їх до мозкової зони часточки тимуса, що в свою чергу є відповіддю на стрес.

У складі паренхіми щитовидної залози цих птахів нами були виявлені фолікули із світло забарвленим, розрідженим колоїдом, у складі якого містилися великі резорбційні вакуолі. Ці фолікули були виселені тиро-

цитами кубічної та призматичної форми, висота яких по відношенню до контролю вірогідно збільшувалася і становила $6,58 \pm 0,09$ мкм. Рівень тироксину в плазмі крові також виявився високим порівняно з контролем і складав $23,04 \pm 0,56$ нмоль/л, тоді як в контролі становив $21,30 \pm 0,55$ нмоль/л.

Аналіз реакції нейросекреторних клітин у ділянці ПВЯ гіпоталамуса дозволив виявити ознаки зниження функціональної активності, хоча популяція цих клітин мала світлозбарвлену цитоплазму, в якій був відсутній нейросекреторний матеріал, що вказувало на активні процеси виведення гормонів. За даними морфометричних вимірювань діаметр ядер нейроцитів ПВЯ зменшувався до $7,34 \pm 0,07$ мкм ($p \leq 0,05$; у контролі – $7,78 \pm 0,08$ мкм). Аналогічні зміни виявлені і в тироцитозитах аденгоіпофіза. Такий ефект можна вважати цілком виправданим, оскільки функція щитовидної залози була підвищеною і за принципом негативних зворотних зв'язків саме нейроцити ПВЯ гіпоталамуса й тироцитозити аденгоіпофіза як центральні ланки нейрогуморальної регуляції реагували зниженням своєї секреторної активності.

Напроти, у птахів на 7 день гіпотермії з ін'єкціями блокатора адренорецепторів празозину, у щитовидній залозі спостерігали ще більш помітні морфологічні зміни, які свідчили про зниження її функції: висота тироцитів вірогідно зменшувалася і складала $4,62 \pm 0,05$ мкм (табл. 1); внутрішньофолікулярний колоїд був досить щільний та не мав резорбційних вакуолей. Водночас концентрація тироксину була на рівні контрольних показників. Наведені дані свідчили про суттєве пригнічення синтетичної активності щитовидної залози, тоді як процеси виведення гормонів майже не змінювались.

При цьому не виявлено суттєвих змін в тимусі за площею перерізу зон часточки, які були наближені до показників контролю (табл. 1). Але щільність тимоцитів у мозковій зоні продовжувала вірогідно збільшуватись до $16,82 \pm 0,24$ проти $14,95 \pm 0,29$ у контролі, що свідчить про виселення зрілих тимоцитів із кіркової зони до мозкової зони часточки.

На зрізах аденгоіпофізів цієї серії дослідів тироцитозити мали вигляд помірно синтезуючих клітин із незначною кількістю гранул та ядром, розмір якого вірогідно зменшувався до $4,45 \pm 0,05$ мкм. При цьому схожі зміни відбулися в нейроцитах ПВЯ гіпоталамуса, розмір їх ядер становив $7,12 \pm 0,09$ мкм ($7,78 \pm 0,08$ мкм – у контролі).

Підсумовуючи наведені дані можна констатувати про поглиблення адаптаційної реакції гіпоталамо-тиреоїдної системи і тимуса на хронічне охолодження протягом 7-и днів на тлі введення α -адреноміметика мезатону, що дозволяє припустити участь α -адренергічної системи мозку в стресорних реакціях.

Виявлена активація функціонального стану тимуса та щитовидної залози на хронічне охолодження сприяє підвищенню резистентності організму до дії низьких температур. При цьому одержані дані дослідів з блокадою α -адренорецепторів празозином переважно свідчили про гальмування реакції на охолодження, що, в свою чергу, доповнюють зроблене нами припущення.

Птахам наступної серії вводили α -адреноміметик мезатон на тлі 14-денних охолоджень. Встановлено, що тимус цих птахів складався із часточок, в яких площа перерізу кіркової та мозкової речовини залишалася вірогідно збільшеною як на 7-й день, так і на 14-й день охолодження порівняно з контрольними значеннями (табл. 1). Ці дані узгоджуються із достовірним зростанням щільності тимоцитів кіркової зони тимуса до $29,47 \pm 0,31$ у порівнянні з контролем – $26,66 \pm 0,30$, що говорить про подальшу інтенсифікацію процесів розмноження тимусзалежних лімфоцитів.

При цьому в щитовидній залозі птахів виявлені фолікули, що вистелені тироцитами переважно призматичної форми, а їхня висота досягала найбільших у нашому досліді значень – $7,32 \pm 0,09$ мкм ($p < 0,05$). У цитоплазмі виявляли секреторні гранули і крупні ядра в центральній частині клітини. Колоїд був однорідної консистенції, помірно забарвлений, містив в собі численні резорбційні вакуолі. При цьому рівень тироксину досягав високих значень $27,45 \pm 0,15$ нмоль/л проти $23,20 \pm 0,40$ нмоль/л у контролі. Отже щитовидна залоза під час 14-денного охолодження на тлі мезатону перебувала у стані високого функціонального напруження.

Разом з тим активність тиреотропоцитів аденогіпофіза знижувалась, що підтверджується вірогідним зменшенням діаметру ядер тиреотропоцитів до $4,50 \pm 0,43$ мкм, тоді як у контролі $4,81 \pm 0,41$ мкм. У цитоплазмі спостерігалось значно знижувалась, і клітини набували більш рожевого відтінку, що свідчило про зменшення продукції гормону.

За даними морфометричних підрахунків діаметр ядер нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса не відрізнявся від контролю і складав $6,63 \pm 0,09$ мкм. Тут переважно виявлялися нейрони, що накопичували в цитоплазмі значну кількість нейросекреторних гранул, тобто мале місце пригнічення процесів виведення нейросекрету. Як і в попередніх серіях реакція гіпоталамо-гіпофізарної системи є результатом впливу високих концентрацій тироксину в крові піддослідних птахів.

Напроти, у серії дослідів з 14-денним охолодженням в поєднанні з адренолітиком празозином встановлено, що щитовидна залоза складена фолікулами, які вистелені плоскими та кубічними тироцитами. При цьому спостерігали досить щільний інтрафолікулярний колоїд без резорбційних вакуолей, що вказує на посилення процесів депонування тиреоїдних гормонів в середині фолікулів.

При цьому на гістологічних препаратах тимуса нами не виявлено суттєвих змін за розмірами зон часточок тимуса порівняно з попередніми серіями (табл. 1). Однак як на 3-й і 7-й дні охолодження, так і на 14-й день, щільність Т-лімфоцитів в мозковій зоні тимуса вірогідно збільшувалась, тобто продовжувалось виселення зрілих тимоцитів до мозкової зони.

Одержані дані про секреторну активність тиреотропоцитів аденогіпофіза свідчили про зниження їх функції: діаметр їх ядер вірогідно зменшувався до $4,48 \pm 0,45$ мкм порівняно з контролем.

Аналогічні зміни відзначали у ділянці ПВЯ гіпоталамуса. Встановлено, що діаметр ядер цих нейроцитів вірогідно зменшувався до $6,14 \pm 0,07$ мкм проти $6,37 \pm 0,09$ мкм у контролі. Нейросекреторні клітини ПВЯ належали до темнозабарвлених нейроцитів, що характеризувались як зниженим синтезом, так і виведенням нейрогормонів.

Отже, у віддалені терміни охолодження на тлі введення α -адреноміметика мезатону (14-й день) функція тимуса посилювалась, що свідчить про пригнічення проявів акцидентальної інволюції тимуса у відповідь на холодний стрес. При цьому також значно підвищувалась секреторна активність щитовидної залози. Блокада α -адренорецепторів празозином на 14-й день охолодження була менш ефективною порівняно з іншими термінами охолодження.

Висновки. При стимуляції α -адренорецепторів мезатоном на тлі хронічного охолодження посилювалась функція тимуса, що проявлялось в збільшенні площі перерізу його часточок та щільності тимоцитів. Водночас значно підвищувалась біосинтетична активність щитовидної залози, що корелювало із зниженням активності тиреотропоцитів аденогіпофіза та нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса за принципом негативних зворотних зв'язків. Блокада α -адренорецепторів празозином на тлі гіпотермії не викликала суттєвих морфологічних змін в тимусі, але посилювалось виселення тимоцитів до мозкової зони часточки тимуса. При цьому знижувалась синтетична активність у тироцитах щитовидної залози, пригнічувалась тиреотропна функція аденогіпофіза й активність нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса. α -адренергічні системи головного мозку залучаються до реакції адаптації птахів на охолодження, справляючи стимулюючий вплив на нейроендокринну систему та пригнічуючи прояви акцидентальної інволюції тимуса. Підвищення функціональної активності нейроімунноендокринної системи посилює резистентність організму до дії стресорів.

1. Олексієнко Н.В., Пазюк Л.М., Бузинська Н.О., Держинський М.Е. Зміна гістофізіології щитоподібної залози під впливом адренергічних та холінергічних систем на тлі гіпотермії // Ендокринологія. – 2004. – Т.9. – № 1. – С. 101–105. 2. Футорный С.М., Позур В.К. Состояние иммунной системы под влиянием стресса // Иммунология та алергология. – 2005. – N 1. – С. 48–52. 3. Haeryfar S.M., Berczi I. The thymus and the acute phase response // Cell Mol Biol. – 2001. – Vol. 47. – № 1. – P. 145–156. 4. Hatanaka K., Ikegaya H., Takase I., Kobayashi M., Iwase H., Yoshida K. Immobilization stress-induced thymocyte apoptosis in rats // Life Sci. – 2001. – Vol. 69. – N 2. – P. 155–165. 5. Jordal M., Pazirandeh A., Okret S. Different roles for glucocorticoids in thymocyte homeostasis? // Trends Immunol. – 2004. – Vol. 25, N 11. – P. 595–600. 6. Kinoshita Y., Hato F. Cellular and molecular interactions of thymus with endocrine organs and nervous system. // Cell Mol Biol. – 2001. – Vol. 47. – N 1. – P. 103–117. 7. Marcovic L. Interaction involving the thymus and the hypothalamus-pituitary axis, immunomodulation by hormones // Srp Arh Celok Lek. – 2004. – Vol. 132. – N 5-6. – P. 187–193. 8. Savino W., Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology // Endocr Rev. – 2000. – Vol. 21, N 4. – P. 412–443. 9. Zivkovic I., Rakin A., Petrovic-Djergovic D., Miljkovic B., Micic M. The effects of chronic stress on thymus innervation in the adult rat // Acta Histochem. – 2005. – Vol. 106, N 6. – P. 449–458.

Надійшла до редколегії 28.03.08

ФОРМУВАННЯ АДАПТИВНИХ РЕАКЦІЙ РОСЛИН НА РАННІХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Проведено порівняльний аналіз неспецифічних реакцій різних видів рослин та досліджено адаптивні реакції рослин озимої пшениці та сої за дії йонів Pb^{2+} на ранніх етапах онтогенезу. Показано, що проростки сої виявилися більш толерантними до дії токсиканта.

The comparative analysis of nonspecific reactions of different plant species (winter wheat and Soya bean) was showed. Adaptive reactions these plants upon lead ions actions on the early phases of ontogenesis was study. It is shown that Soya bean germs appeared more tolerant to the lead ions action.

Вступ. Однією з найактуальніших проблем сучасної фітофізіології є дослідження адаптивних реакцій рослинного організму до дії токсикантів різної хімічної природи. Одним із найбільш розповсюджених токсикантів з високим ступенем фітотоксичності є свинець. Згідно сучасних уявлень реакція рослин на дію йонів свинцю проявляється в різноманітних фізіолого-біохімічних змінах, спрямованих на формування механізмів фізіологічної адаптації до надлишку токсиканта [6]. Метою нашої роботи було дослідити адаптивні реакції різних видів рослин за дії свинцевого навантаження для оцінки їх стійкості до даного полутанта.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктами дослідження були рослини озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Поліська 90 та сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Устя. Рослини вирощували протягом 3 діб у термостаті за температури 24°C. Потім проростки переносили на розчини $Pb(NO_3)_2$ у концентраціях 0,5 мМ та експонували впродовж 6, 12, 24, 48 та 96 год. Контрольні рослини вирощували на дистильованій воді.

Вміст хлорофілів та каротиноїдів визначали спектрофотометрично [7]. Сумарну активність пероксидази визначали за методом Бояркіна [3]. Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за кількістю малонового діальдегіду (МДА) на основі реакції з 2-тіобарбітуровою кисло-

тою [9] у модифікації Андрєєвої [1]. Активність антиоксидантних ферментів визначали за активністю СОД і каталази. Вміст сульфоліпіду визначали за методом Кіна [10]. Біологічна повторність дослідів 3-4 кратна, аналітична 9-ти кратна. Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики [4].

Результати та їх обговорення. Отримані дані показали, що обробка рослин озимої пшениці 0,5 М розчином $Pb(NO_3)_2$ призводила до висихання корінців і загибелі 50% проростків, тоді як рослини сої виявилися більш толерантними до даного важкого металу.

Одним із найбільш чутливих фізіологічних процесів до дії важких металів є фотосинтез. Зниження концентрації хлорофілів у листках рослин може бути біоіндикаторною ознакою забруднення навколишнього середовища, оскільки воно відмічено для різних токсикантів [2, 5]. Аналіз вмісту фотосинтетично активних пігментів показав, що за дії токсиканта у проростках пшениці і сої спостерігається зниження сумарного вмісту хлорофілів. Наразі у проростках озимої пшениці на 48 годину експозиції відмічено зниження вмісту хлорофілу а на 22% та суми хлорофілів на 9%, тоді як хлорофіл в виявився толерантним до дії важкого металу і його вміст збільшився на 13% проти контролю (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст пластидних пігментів у листках рослин пшениці за дії йонів свинцю

Час експозиції	6 год	24 год	48 год
Вміст хлорофілу а (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,516±0,012	0,648±0,039	0,629±0,032
Дослід (-S)	0,508±0,021	0,720±0,014	0,565±0,041
Вміст хлорофілу b (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,232±0,013	0,252±0,009	0,244±0,012
Дослід (-S)	0,223±0,010	0,246±0,011	0,258±0,010
Вміст суми хлорофілів a+b (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,748±0,010	0,900±0,012	0,873±0,030
Дослід (-S)	0,731±0,010	0,966±0,017	0,823±0,010
Вміст каротиноїдів (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,193±0,008	0,212±0,001	0,219±0,006
Дослід (-S)	0,216±0,002	0,226±0,003	0,229±0,019

Зниження вмісту хлорофілу а свідчить про зниження фотосинтетичної активності в проростках пшениці, так як відомо, що хлорофіл а є основним компонентом світлопоглинаючого комплексу хлоропластів. Слід зазначити, що збільшення вмісту хлорофілу в слід розгляда-

ти не як просте його накопичення, а як переважання синтезу над руйнуванням. У той же час у проростках сої вміст хлорофілу а знижувався на 23%, хлорофілу в – на 27%, сумарний вміст хлорофілів – на 25%, вміст каротиноїдів – на 35% проти контрольних рослин (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст пластидних пігментів у листках рослин сої за дії йонів свинцю

Час експозиції	6 год	24 год	48 год
Вміст хлорофілу а (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,616±0,003	0,848±0,041	0,829±0,026
Дослід (-S)	0,608±0,008	0,960±0,013	0,635±0,035
Вміст хлорофілу b (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,232±0,012	0,372±0,003	0,300±0,027
Дослід (-S)	0,199±0,006	0,322±0,004	0,217±0,007

Закінчення табл. 2

Час експозиції	6 год	24 год	48 год
Вміст суми хлорофілів <i>a+b</i> (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,848±0,004	1,217±0,038	1,129±0,053
Дослід (-S)	0,800±0,011	1,282±0,009	0,852±0,041
Вміст каротиноїдів (мг/г сирової речовини)			
Контроль (-S)	0,375±0,018	0,289±0,009	0,225±0,006
Дослід (-S)	0,431±0,021	0,291±0,011	0,147±0,019

На відміну від рослин сої у проростках озимої пшениці за дії свинцю спостерігається збільшення вмісту каротиноїдів на 17%, що є адаптивною реакцією рослинної клітини до надлишку токсиканта.

Відомо, що ферменти класу оксидоредуктаз є чутливими маркерами стресового стану рослин за дії різних стресових факторів. Аналіз динаміки активності цих ферментів у проростках пшениці показав, що на 48 год експозиції спостерігається зростання в 2,9 рази активності пероксидази і в 2,3 рази зниження активності каталази. Зниження активності каталази може бути обумовлено як інактивацією ферменту свинцем, так і пригніченням білкового синтезу внаслідок підвищеної генерації O_2 [8]. На 96 год експозиції відбувається стабілізація ферментних систем і їх активність у дослідних і контрольних рослин достовірно не відрізняється.

На відміну від рослин пшениці у проростках сої вже на 6 годину експозиції відмічено зростання активності каталази на 24%, вмісту МДА на 14% і пригнічення СОД на 12%. Ймовірно інтенсивне зростання O_2 є наслідком руйнування захисної системи клітини, про що свідчить пригнічення активності СОД. Також зменшення активності каталази та СОД може вказувати на зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в напрямку посилення генерації активних форм кисню та залучення їх до окиснення ліпідів мембран. На 24 та експозиції відзначено тенденцію до зниження активності каталази на 13% та аніонного ліпиду мембран хлоропластів СХДГ на 46%. Наразі на 24 та 48 години експозиції відмічено тенденцію до зменшення вмісту МДА на 12% та 21% відповідно (рис. 1), що свідчить про розвиток деструктивних процесів у мембранах.

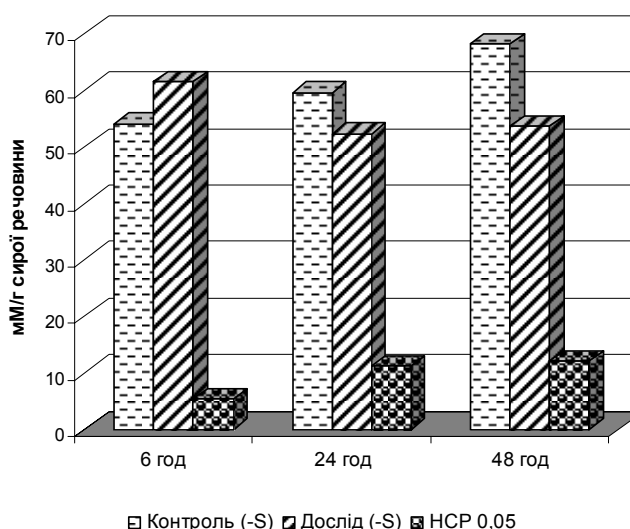


Рис. 1. Вміст МДА за дії йонів свинцю у листках сої

Таким чином детальне дослідження фізіологічної адаптації рослин пшениці та сої до дії свинцевого навантаження вказує на її неспецифічність, що на нашу думку обумовлено відносною еволюційною новизною даного чинника, а також наявністю механізмів преадаптацій, які забезпечують стійкість рослин до широкого спектру токсикантів.

1. Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. – М.: Наука, 1988. – 128 с. 2. Бессонова В.П. Влияние тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат, интенсивность фотосинтеза Чины душистой *Lathyrus odoratus*. – Днепропетровск: Изд-во Днепропетровского государственного университета, 1990. – 10 с. 3. Бояркин А.Н. Колориметрическое определение активности перокси-

дазы // Биохимия. – 1961. – Т. 16, № 2. – С. 252–254. 4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 352 с. 5. Коршиков И.И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. – К.: Наук. думка, 1996. – 238 с. 6. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. – 2001. – Т. 48. – № 4. – С. 606–630. 7. Arnon D. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris* // J. Plant Physiology. – 1949. – Vol. 24. – P. 1–15. 8. Fridovich I. Superoxide anion radical, superoxide dismutases and related matters // J. Biol. Chemistry. – 1997. – Vol. 272. – P. 18515–18517. 9. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. – 1968. – Vol. 125, № 1. – P. 189–198. 10. Kean E. A rapid sensitive spectrophotometric method for quantitative determination of sulfatides // J. Lipid Research. – 1968. – Vol. 9, № 3. – P. 319–329.

Надійшла до редколегії 11.04.08

УДК 538

О. Гаркуша, канд. фіз.-мат. наук,
Г. Багацька, інж. I кат.,
О. Радченко, канд. біол. наук,
С. Махно, канд. фіз.-мат. наук

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ МІЛІМЕТРОВОГО ДІАПАЗОНУ НА ДРІЖДЖОВІ КЛІТИНИ

Встановлено частотно-селективний характер впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону на дріжджові клітини: в широкому діапазоні частот відбувається пригнічення, а на частотах 40 та 47,5 ГГц – стимуляція процесів їх життєдіяльності. Показано, що при опроміненні відбувається зміна регуляторних процесів клітини, це проявляється у збільшенні ступеня гідрофільності клітинної стінки.

Frequency-selective character of the low-intensive electromagnetic radiation influence on yeast cells is determined, the process oppression is occurred in wide range of frequencies, and the process stimulation of its vital functions is occurred in frequencies of 40 and 47,5 GHz. It is shown that the cell regulator process change takes place during the radiation, it is displayed in increasing of the cell capsule hydrophily.

Вступ. Інтенсивний розвиток радіо- й електрокомунікацій та інших електронних засобів призводить до значного "електромагнітного забруднення" навколишнього середовища. На сьогоднішній день достовірно встановлено залежність процесів життєдіяльності живих істот різних рівнів організації від тривалого електромагнітного опромінювання. Тому виникає закономірний інтерес до виявлення механізмів впливу на біосередовище та людину неіонізуючого низькоінтенсивного (до 2 мВт/см²) електромагнітного випромінювання (НЕМВ) [1, 2]. Оскільки мікроорганізми широко розповсюджені у природі і складають основу еколого-біологічних ланок у функціонуванні біосфери, вивчення впливу НЕМВ радіочастотного діапазону на фізіологічні показники мікроорганізмів є актуальним і має як теоретичне значення для з'ясування механізмів впливу НЕМВ на біологічні організми, так і практичне – для використання результатів досліджень у біотехнологічних виробництвах та для охорони навколишнього середовища і здоров'я людини.

Метою роботи є встановлення закономірностей впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання на фізіологічні показники клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Об'єкт та методи досліджень. Для досліджень використовували промислові дегідратовані хлібопекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* фірми "Ozmayra Sanayi A.S." (Саф-момент). Сухі клітини дріжджів були агреговані в конгломерати розміром близько 0,5-1 мм, вкриті регідратантом, містили в своєму складі необхідну для збереження життєдіяльності кількість води (близько 5-10 % за масою).

При дослідженні активності дріжджових клітин у живому середовищі вимірювались швидкості газовиділення від часу одночасно чотирьох суспензій: дві містили опромінені на певній частоті дріжджі та дві контрольні. Суспензії готувались наступним чином: у скляну стерильну пробірку наливали 10 мл 2,5% розчину сахарози змішували з 0,2 г сухих дріжджів, перемішували до отримання рівномірної консистенції.

Для дослідження впливу НЕМВ НЗВЧ діапазону на швидкість газовиділення (V) дріжджовими суспензіями проводилось на установці на основі генератора Г4-141. Вихідна потужність випромінювання складала 0,2 мВт/см², контролювалась за допомогою приладу МЗ-22. Зразки сухих дріжджів опромінювались протягом 1 год в діапазоні частот 38 – 48 ГГц з кроком 0,5 ГГц.

При побудові частотної залежності брали відношення відповідних значень швидкості газовиділення від часу для суспензій, що містили опромінені дріжджі до контрольних для 1 год. експерименту. Рівень 100% відповідає контрольним значенням швидкості газовиділення.

Нами запропонована методика контролю швидкості газовиділення, як характеристики життєдіяльності дріжджів. Принцип дії установки для контролю швидкості газоутворення суспензіями дріжджів: виділений суспензією дріжджів газ CO₂ по скляній трубці поступає в "барбатор" і виходить назовні через рідину (електроліт). При проходженні повз електроди газ розриває електричне коло, що замикається через рідину. В результаті в блоці узгодження виробляються імпульси, що через інтерфейс подаються на персональний комп'ютер. Подальша обробка результатів відбувається за допомогою розроблених програм. Одночасно працює 4 ідентичних канали.

Вивчення процесів змочування проводилось методом диференціальної мікрокалориметрії. температурна чутливість якого – 5·10⁻⁴ К. Похибка методу становить ±2%. Досліджувались зразки масою 50 мг, визначалась інтегральна теплота змочування. Досліди проводились за кімнатних температур.

Результати та їх обговорення. Експериментально були отримані залежності швидкості газовиділення від часу. З рис. 1 видно, що НЕМВ з частотою 40 ГГц підвищувало активність суспензій *Saccharomyces cerevisiae* по відношенню до неопромінених на ~30%, а на частоті 44 ГГц активність дріжджових суспензій пригнічувалась на 20%.

Відомо, що в результаті НЕМВ відбувається перерозподіл активності між ключовими ферментами циклу Кребса, топографічні та структурні зміни поверхні клітинних стінок, зменшення проникності цитоплазматичних мембран [3]. Одним з можливих механізмів зміни активності клітин живих організмів після опромінення НЕМВ вказується зміна конфігурації білкових молекул, з яких складається клітинна стінка. Під впливом випромінювання на основі білкових молекул формуються підструктури, в яких одна з резонансних частот співпадає з частотою акустоелектричної хвилі, що розповсюджується по мембрані. Таким чином, зовнішнє випромінювання певної частоти може синхронізувати (підсилити) або пригнічувати ці процеси [4].

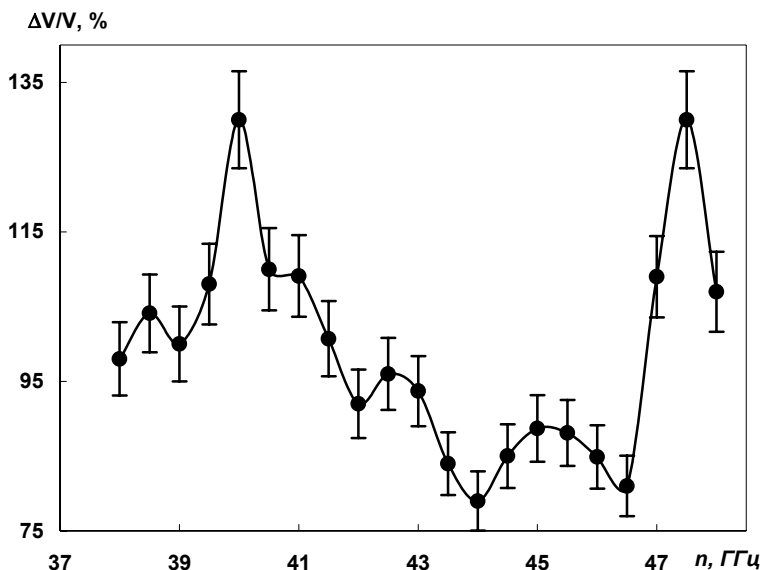


Рис. 1. Частотна залежність відносної швидкості газовиділення ($\Delta V/V$) суспензіями *Saccharomyces cerevisiae*

Перевірити дану гіпотезу можна за допомогою підходу, який дозволить характеризувати інтенсивність молекулярної взаємодії речовини, з якої складається клітинна оболонка з іншою речовиною, наприклад, водою. Поверхневі явища, що виникають при взаємодії твердих тіл з водою вивчаються давно [5], тому існує цілий ряд методів вивчення цих процесів.

Гідрофільність поверхні твердих тіл оцінюють за інтенсивністю молекулярної взаємодії речовини з водою. Для систем, що набухають у воді застосовують спосіб оцінки гідрофільності [6] по відношенню інтегральної теплоти змочування до кількості води, сорбованої матеріалом. Змочування може бути обумовлене не тільки міжмолекулярною взаємодією, але й утворенням хімічних зв'язків, розчинів у поверхневому шарі контактуючих речовин, а також дифузійними процесами. Зв'язана вода при цьому поводить себе однаково як для живих, так і для неживих об'єктів. Відмінність гідратованої дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) від будь-якого гідратованого силікату (цеоліту, аеросилу, силікагелю), полягає лише в тому, що радикально змінюється конформація подвійної або одинарної спіралі, тоді як перетворення в цеолітній воді і навіть її повне видалення мало або зовсім не позначається на стані силікатного полімерного каркасу та деяких білків [7, 8]. Дослідження ефектів, що супроводжують процеси гідратації органічних сполук проведені в роботі [6] підтверджують ідентичність механізмів дифузії молекул води, яка входить до складу гідратованих поверхонь твердих тіл і біологічних макромолекул та їх агрегатів.

Було проведено порівняння теплового ефекту змочування опромінених та неопромінених регідратованих дріжджів. Відомо, що розчинність у воді вуглекислого газу, активність дріжджових клітин та ін. суттєвим чином залежать від зовнішніх чинників: температури навколишнього середовища, вологості повітря, атмосферного тиску тощо. Тому, з метою підвищення точності дослідження, кожного разу проводились вимірювання теплоти змочування для чотирьох зразків: двох опромінених на певній частоті та двох контрольних.

Експериментально було отримано залежності інтегральної теплоти змочування від часу. Встановлено, що енергія виділена в процесі змочування складає близько $0,3 \cdot 10^{-3}$ Дж/г. Незначні теплоти змочування сухих дріжджів,

можна пояснити тим, що взаємодія молекул води з активними центрами клітинної оболонки (ОН-групами), відбувається лише із зовнішнім манніановим проміжним шаром з підвищеним вмістом білка (манніан – складний полімер маннози, знаходиться головним чином в зовнішніх шарах клітинної стінки). На рис. 2 представлена залежність відносної зміни теплоти змочування опромінених дріжджів від частоти низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання. Залежність побудована на основі розрахунків площ під кривими екзотермічного ефекту змочування дріжджів для опромінених на певній частоті та контрольних. Рівень 100% відповідає контрольним значенням.

Ця залежність свідчить про те, що питома теплота змочування для дріжджів, опромінених на частоті 47,5 ГГц перевищує відповідні значення для неопромінених дріжджів у 1,5 рази, а для частоти 47 ГГц навпаки менше за контрольні у 1,4 рази.

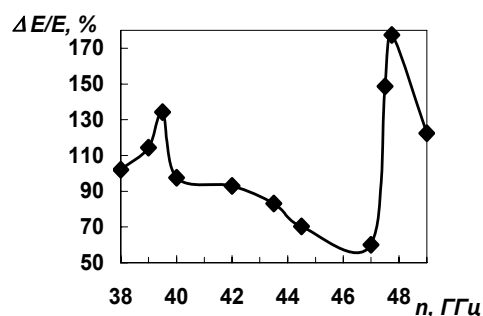


Рис. 2. Залежність відносної теплоти змочування ($\Delta E/E$) регідратованих дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* від частоти опромінювання

Одержана залежність має подібний характер добре узгоджується з експериментальною частотною залежністю відносної швидкості газовиділення (рис. 1).

Висновки. Було показано, що фізіологічна активність *Saccharomyces cerevisiae* нелінійно залежить від частоти НЕМВ. В широкому діапазоні частот відбувалося пригнічення процесів газоутворення дріжджовими клітинами. З іншого боку на частотах 40 та 47,5 ГГц спостерігалася стимуляція процесу бродіння, що свідчить про

наявність частотно-селективного механізму впливу низькоінтенсивного міліметрового ЕМВ на живі організми. Показано, що при опроміненні зростала ступінь гідрофільності клітинної стінки.

1. Shchorbatov Y., Shakhbazov V., Gorobets N., Kiyko V., Zhuravleva L., Navrotskaya V. The influence of electromagnetic radiation of millimeter and centimeter range on human epithelial cells // 10 th International Crimean Conference, 2000. 2. Mazurenko R., Garkusha O., Makhno S. Bioeffective influence of the low intensive electromagnetic radiation on highly organized system // V Международны симпозиум "Актуальные проблемы биофи-

зической медицины" Материалы международного симпозиума. – К, 2007. 3. Войчук С.И., Подгорский В.С., Громозова Е.Н. Влияние радиочастотного электромагнитного излучения на физиологические особенности *Saccharomyces cerevisiae* УКМ Y-517 // Микробиол. журн. – 2004. – Т. 66, №3. – С. 51-57. 4. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. – М., 1991. 5. Поверхностные пленки воды в дисперсных структурах / Под ред. Е.Д. Щукина. – М., 1988. 6. Вода в полимерах: Пер. с англ. / Под ред. Роуланда. – М., 1984. 7. Дерягин Б.В., Чураев Н.В. Смачивающие пленки. – М., 1984. 8. Евстратова К.И., Купина Н.А., Малахова Е.Е. Физическая и коллоидная химия / Под ред. К.И. Евстратовой. – М., 1990.

Надійшла до редколегії 23.03.08

УДК: 616.33-002.44-092+616-008.831

А. Рахметов, студ.,
О. Короткий, асп.,
Л. Кот, канд. біол. наук,
О. Богданова, канд. біол. наук

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИНАХ СЕЛЕЗІНКИ ТА ТИМУСУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ ШЛУНКА

Досліджено активність ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази в лімфоїдних клітинах тимусу та селезінки щурів з експериментальними стрес-індукованими виразковими ураженнями шлунка протягом п'яти діб після стресового впливу. Встановлено зниження супероксиддисмутазної активності у лімфоцитах селезінки та тимусу у більш віддалені терміни досліджень. Показано зменшення каталазної активності в клітинах тимусу на початкових етапах регенераційного процесу, та зростання ферментативної активності в кінцеві терміни досліджень. В спленоцитах спостерігалось підвищення каталазної активності на п'яту добу після стресового впливу. Встановлено пригнічення глутатіонпероксидазної активності відразу після стресового впливу в клітинах тимусу та активація ферменту на п'яту добу в лімфоцитах селезінки у тварин з експериментальною виразкою.

Activities of antioxidant enzymes – superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in spleen and thymus cells of rats with experimental stomach ulcer were investigated at once and during five days after. A decrease in superoxide dismutase activity in lymphocytes of spleen and thymus were established at late stages of investigation. Catalase activity inhibited at the beginning of ulcer healing and increased during regeneration in thymus cells. In splenocytes catalase activity increased only on fifth day after damage influence. A decrease in glutathione peroxidase activity in thymus cells immediately after stressing and an increase in the parameter in splenocytes on fifth day were observed.

Вступ. Одним із провідних факторів, які пригнічують захисні властивості слизової оболонки шлунка, є активація перекисного окиснення ліпідів мембран, обумовлена порушенням механізмів використання кисню в дихальному ланцюзі та накопиченням його активних форм. На противагу цьому відбувається мобілізація резервів фізіологічної антиоксидантної системи клітин. Співвідношення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів і функціонування антиоксидантної системи визначає антиоксидантний статус клітин і тканин. Увага дослідників приділяється вивченню ролі системи антиоксидантного захисту в знешкодженні вільних радикалів кисню за умов фізіологічних і патологічних станів організму [1, 2].

Як показали результати досліджень останніх років [3], у виникненні і розвитку виразкового захворювання значну роль відіграє аутоімунний компонент. Формування імунної відповіді тісно пов'язано зі змінами вільнорадикальних реакцій і станом антиоксидантної системи в компонентах крові. Показана участь вільнорадикальних продуктів в реалізації кілерної функції лімфоцитів, антимікробного захисту фагоцитів, а також у розвитку імуносупресії при їх гіперактивації [5]. Встановлений протективний вплив антиоксидантів на імунологічну реактивність [4, 5]. Визначена відповідність динаміки вільнорадикальних процесів в лімфоцитах з динамікою імунної відповіді на антигени [5]. Припускається, що на всіх етапах імунного реагування вільні радикали та їх похідні здійснюють регуляторну функцію та можуть сприяти пригніченню або активації імунних реакцій за рахунок двох головних механізмів: зміни стану клітинних мембран і прямої інгібуючої дії на синтез ДНК. На сьогодні питання особливостей вільнорадикальних процесів і антиоксидантної стійкості в імуннокомпетент-

них клітинах за умов розвитку та загоєння виразкових уражень шлунка інтенсивно вивчається. Нами було досліджено активність ферментів антиоксидантного захисту в лімфоїдних клітинах селезінки та тимусу щурів з експериментальною моделлю виразки.

Об'єкт та методи досліджень. У досліді використували нелінійних білих щурів масою 200–230 г. Для отримання нейродистрофічних уражень шлунка застосовували модель холодового стресу, яку створювали витримуванням іммобілізованих тварин протягом 3,5 год за температури 4°C. Тварин декапітували через 40 хв після стресового впливу та протягом наступних 1–5 діб. Визначення супероксиддисмутазної активності проводили згідно [6] та виражали в Ум.од. $\cdot (mg \times h)^{-1}$, визначення каталазної активності проводили згідно рекомендацій в роботі [7] і виражали у мкмоль $H_2O_2 \cdot (mg \times h)^{-1}$, активність глутатіонпероксидази визначали за накопиченням окисненого глутатіону [8].

Результати та їх обговорення. У сучасних дослідженнях патогенезу виразкового захворювання одним з актуальних питань є вивчення механізмів загоєння виразки, в основі якого лежать процеси регенерації слизової оболонки шлунка, що визначає перебіг хвороби в цілому. Останніми роками об'єктом особливої уваги дослідників став імунологічний аспект регуляції процесів фізіологічної і репаративної регенерації слизової оболонки шлунка (СОШ). Клінічні і експериментальні дані дозволяють стверджувати, що репаративна регенерація тісно пов'язана з системою імуногенезу, в якій взаємодіють практично всі її компоненти.

Особлива увага приділяється вивченню особливостей клітинної ланки імунного захисту, зокрема лімфоїдних клітин, за умов виразкової хвороби. Лімфоцити мають широкий спектр факторів антиоксидантного захис-

© Рахметов А., Короткий О., Кот Л., Богданова О., 2008

ту, основними з яких є ферменти – каталаза, супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза, які регулюють рівень активних метаболітів кисню. СОД каталізує дисмутацію аніон-радикалу кисню в пероксид водню. Регуляція внутрішньоклітинного вмісту H_2O_2 здійснюється каталазою та глутатіонпероксидазою.

Оскільки СОД є ключовою ланкою антиоксидантного захисту організму, яка здійснює перший метаболічний етап знешкодження супероксидного аніон-радикалу, нами було досліджено активність цього ферменту в клітинах селезінки та тимусу щурів за умов експериментальної моделі стресової виразки шлунка.

У ході досліджень у клітинах селезінки було показано зниження супероксиддисмутази активності в 1,5 рази порівняно з контрольними значеннями лише на п'яту добу після стресу (табл.). З літературних даних відомо, що зміни активності СОД в деякій мірі залежать від локалізації виразки [9]. Найістотніше зниження ферментативної активності було зареєстровано в сироватці крові у хворих з ускладненими формами виразково-

го захворювання. У динаміці лікування відмічалась поступова нормалізація активності СОД [10].

Дослідження супероксиддисмутази активності в клітинах тимусу дозволили встановити значне пригнічення ферментативної активності: в 4 рази через 40 хв після стресового впливу, в 2,5 рази на третю добу і в 2 рази на п'яту добу по відношенню до контрольних значень. Такі зміни активності СОД у спленоцитах та тимоцитах можуть бути пов'язані з більш вираженою чутливістю Т-клітин до розвитку виразкових уражень шлунка. Так у дослідженнях [12] було показано зменшення абсолютної та відносної кількості Т-лімфоцитів, а також зниження їх функціональної активності, при чому, дані щодо активності В-лімфоцитів суперечливі, спостерігається як зниження так і підвищення їх кількості [10].

У попередніх дослідженнях нами встановлено, що рівень супероксиддисмутази активності в клітинах слизової шлунка щурів на четверту та п'яту добу після стресу був підвищеним порівняно з контрольними значеннями [13].

Таблиця. Активність ферментів антиоксидантної системи в лімфоїдних клітинах селезінки та тимусу за умов експериментальної виразки ($M \pm m$, $n=6$)

Експериментальний стан тварин	Доба після виразкоутворення					
	0	1	2	3	4	5
Селезінка						
супероксиддисмутаза активність						
контроль	1,21 $\pm$ 0,15					
виразка шлунка	1,35 $\pm$ 0,8	1,05 $\pm$ 0,16	1,92 $\pm$ 1,0	1,42 $\pm$ 0,46	1,49 $\pm$ 0,72	0,80 $\pm$ 0,16*
каталазна активність						
контроль	7,87 $\pm$ 0,7					
виразка шлунка	5,93 $\pm$ 0,09*	10,08 $\pm$ 1,99	7,39 $\pm$ 1,94	7,04 $\pm$ 2,63	7,17 $\pm$ 2,05	17,92 $\pm$ 6,44*
глутатіонпероксидаза активність						
контроль	0,78 $\pm$ 0,14					
виразка шлунка	0,75 $\pm$ 0,35	1,21 $\pm$ 0,93	1,41 $\pm$ 0,94	0,64 $\pm$ 0,46	0,84 $\pm$ 0,55	1,07 $\pm$ 0,31*
Тимус						
супероксиддисмутаза активність						
контроль	1,06 $\pm$ 0,13					
виразка шлунка	0,28 $\pm$ 0,06*	0,63 $\pm$ 0,41	0,66 $\pm$ 0,39	0,44 $\pm$ 0,19*	0,68 $\pm$ 0,40	0,59 $\pm$ 0,11*
каталазна активність						
контроль	1,36 $\pm$ 0,15					
виразка шлунка	1,26 $\pm$ 0,63	1,39 $\pm$ 1,10	1,33 $\pm$ 0,74	0,78 $\pm$ 0,21*	2,58 $\pm$ 0,32*	2,22 $\pm$ 1,39
глутатіонпероксидаза активність						
контроль	0,69 $\pm$ 0,14					
виразка шлунка	0,29 $\pm$ 0,22*	0,67 $\pm$ 0,66	0,74 $\pm$ 0,42	0,59 $\pm$ 0,31	0,65 $\pm$ 0,06	0,72 $\pm$ 0,28

*- $p \leq 0,05$ по відношенню до контролю

Багато експериментальних досліджень присвячено питанню участі каталази у розвитку уражень СОШ [2, 16]. Оскільки зміна каталазної активності є однією з ключових ланок специфічних сигнальних каскадів, що стимулюються внаслідок оксидативного стресу в умовах ульцерогенезу, нами було досліджено активність цього ферменту за умов експериментальної моделі виразки.

У ході досліджень в спленоцитах дослідних тварин встановлено зниження каталазної активності порівняно з контрольними значеннями на 25% через 40 хв після впливу стресового чинника та підвищення в 2,5 рази на п'яту добу. Активність каталази в клітинах тимусу знижувалась на третю добу в 1,8 рази, тоді як на четверту добу зростала в 2 рази порівняно з контролем. Відомо, що більша ступінь зниження активності каталази в сироватці крові спостерігається у фазі загострення виразкового захворювання у хворих з тривалим виразковим анамнезом [3].

Зниження каталазної активності супроводжує порушення всмоктування в шлунок; також активність каталази знижена в сироватці крові хворих на виразку шлунка [3]. Окремі дослідження показують, що при первинному обстеженні хворих на виразку шлунка активність

СОД та каталази в сироватці крові була нижча порівняно зі здоровими людьми [10], що відповідає отриманим нами результатам щодо зниження каталазної активності у перші терміни після утворення виразки. Підвищення активності каталази у більш віддалені терміни дослідження може бути спричинено фосфорилюванням нереперторними тирозinovими протеїніназами, які активуються за умов оксидативного стресу.

У попередніх дослідженнях каталазної активності в клітинах СОШ тварин з аналогічною експериментальною моделлю було встановлено, що активність ферменту зростала відразу після дії стресового фактора та на другу добу порівняно з контролем; на першу добу після стресу спостерігалось зниження ферментативної активності. В подальшому активність каталази не змінювалась і залишалась у межах контрольних значень [13].

В клінічних та експериментальних дослідженнях показано, що виразкова хвороба шлунка супроводжується значними змінами в глутатіоновій системі [14]. Глутатіонпероксидаза є однією з найчутливіших ланок регуляції антиоксидантного захисту в клітинах СОШ за умов патологічних станів. Цей селен-вмісний фермент здійснює утилізацію H_2O_2 та інших гідропероксидів водню,

окиснюючи відновлений глутатіон, таким чином, захищає клітини від окисдаивних пошкоджень.

Встановлено, що відразу після впливу стресового фактора у лімфоїдних клітинах селезінки щурів зміни глутатіонпероксидазної активності спостерігались лише на п'яту добу: відбувалось підвищення активності на 37% по відношенню до контролю. У тимоцитах відразу після формування виразок глутатіонпероксидазна активність знижувалась у 2,4 рази порівняно з контрольними значеннями. Відомо, що активність цього ферменту є чутливим показником різних патологічних станів. Інгібування глутатіонпероксидази відбувається за умов багатьох патологій, та свідчить про виснаження цієї ланки антирадикального захисту, накопичення продуктів розпаду та токсинів. Це підтверджується даними літератури про оксидативну інактивацію пероксидази клітин активними формами кисню під час стрес-індукованого ульцерогенезу [15].

Зниження глутатіонпероксидазної активності в тимоцитах відразу після зняття стресового фактора може свідчити про високу чутливість нездорілих Т-клітин тимусу до подібного чинника. Нормалізація активності глутатіонпероксидази у подальшому в тимоцитах та активація її на п'яту добу у спленоцитах характеризує функціональний стан антиоксидантної системи в цих клітинах як активний.

У попередніх дослідженнях було встановлено зниження глутатіонпероксидазної активності в 2,3 рази в клітинах СОШ тварин з аналогічними виразковими ураженнями. Слід зазначити, що вже через добу після стресового впливу значення активності глутатіонпероксидази досягали контрольного рівня та залишалися такими на другу-четверту добу. На п'яту добу спостерігалось вторинне зниження ферментативної активності в 3,3 рази [13].

Аналіз отриманих нами результатів показав відсутність співпадіння між змінами досліджуваних показників у клітинах СОШ та лімфоїдних органів, що свідчить про різні механізми впливу розвитку виразкової патології на ці об'єкти.

Таким чином нами встановлено, що в тимоцитах порушення функціонування антиоксидантної системи характеризувалось більш вираженим інгібуванням супероксиддисмутази активності, ніж в В та Т-клітинах се-

лезінки, що, можливо, спричинює зниження їх відносної та абсолютної кількості за умов розвитку виразкових уражень шлунка. Зміни каталазної активності в лімфоцитах тимусу та селезінки були однаково спрямовані за таких умов. Значне зменшення глутатіонпероксидазної активності у клітинах тимусу відразу після виразкоутворення також може свідчити про більшу уразливість цих клітин до дії стресового фактору.

1. Ковальова В.А. Вплив пероксидації ліпідів на стан мембран клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки: Автореф. дис. ...канд. біол. наук: 03.00.04 / КНУ імені Тараса Шевченка. – К., 2005. – 20 с.
2. Bendich A. Role of antioxidant in maintenance of immune function // Natural antioxidants in human health and disease / Ed. Balz. Frei. – New York, London, Tokyo: Press, 1994. – P. 447–467.
3. Tandon R., Khanna H.D., Dorababu M., Goel R.K. Oxidative stress and antioxidants status in peptic ulcer and gastric carcinoma // Indian J. Physiol. Pharmacol. – 2004. – Vol. 48, № 1. – P. 115–118.
4. Афонина Г.Б., Борд-рнос В.Г. Роль свободнорадикального окисления липидов мембран лимфоцитов в развитии иммунологической недостаточности и ее коррекция альфа-токоферолом // Иммунология. – 1990. – №5. – С. 33–35.
5. Grepo F.A. Modulation of lymphocytes function by oxidative stress // Cellular adaptation to oxidative stress: Ann. 2 winter Conf. Hivermales, France, 1995. – P. 16.
6. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутази. // Вопросы мед. химии. – №3. – С. 1–2.
7. Корольюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарева В.И. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16–17.
8. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. – 1990. – №8. – С. 19–20.
9. Вилков Г.А., Локтионова А.А., Лукаш П.М. // Всесоюзный съезд гастроэнтерологов. 3-й: Тез. докл. – М.; Л. 1984. – Т. 2. – С. 174–175.
10. Русаков В.И., Бубнова В.И. Уровень клеточной ферментной антиоксидантной защиты у больных язвенной болезнью желудка // Тер. арх. – 1983. – № 2. – С. 530–531.
11. Мягкова Л. П., Алекперов Р. Т. Состояние иммунной системы и репаративные процессы при язвенной болезни // Клин. мед. – 1991. – № 8. – С. 26–30.
12. Крышень В. П., Шамионкова Т. П. Клинико-иммунологические сопоставления у больных язвенной болезнью // Врачеб. дело. – 1986. – № 1. – С. 54–57.
13. Кузьменко Л.И., Рахметов А.Д., Богданова О.В., Дробинская О.В., Остапенко Л.И. Система антиоксидантного захисту в клітинах слизової оболонки шлунка щурів у динаміці розвитку та загострення стрес-індукованих виразкових уражень // Фізика живого. – 2007. – V. 15. – №1. – Р. 83–88.
14. Успенский В. М. Вашенков В. М., Луценко Л. Д., Семенов В. В. Состояние клеточного иммунитета у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с неблагоприятным течением // Тер. арх. – 1983. – №2. – С. 18–21.
15. Мурзагалин Д. К., Рябоконь Г. Е., Берлина С. Е. Некоторые иммунные сдвиги у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки // Сов. мед. – 1983. – № 11. – С. 13–16.

Надійшла до редакції 10.06.08

УДК 504.054:574.3

О. Абдулєва, канд. біол. наук,
Н. Карпенко, канд. біол. наук,
О. Сенчило, пров. інж.

ОБГРУНТУВАННЯ "ЧОРНОГО СПИСКУ" ЗАГРОЗЛИВИХ ДЛЯ БІОРИЗНОМАНІТТА ІНВАЗІЙНИХ ВИДІВ РОСЛИН УКРАЇНИ

Проведено аналіз адвентивної фракції флори України. Наведено список чужинних видів з високою інвазійною спроможністю і загрозливих для збереження біорізноманіття України ("чорний список").

An analyze of alien part of Ukrainian flora was made. The list of alien species with a high invasive ability and of high threat for biodiversity conservation in Ukraine ("black list") was given.

Вступ. Одним з аспектів антропогенного перетворення рослинного покриву є його адвентизація – насичення чужинними елементами, які потенційно виступають загрозою для місцевого природного біорізноманіття, особливого того, що є вразливим. Середній показник індексу адвентизації по території України – 13%, з амплітудою коливань у різних регіональних флорах 6–17% [2, 4]. Аналогічні показники вказуються і для суміжних з Україною країн [1, 7, 12, 15]. Вздовж великих річок частка чужинних видів звичайно збільшується – 8,6–18,3% (найбільший показник на Дунаї, найменший – на Південному Бузі), оскільки долини рік є сприятливими

коридорами для проникнення і закріплення фітоінвазій. Більшість чужинних рослин, які проникають на територію України, в першу чергу швидко освоюють антропогенно трансформовані місцезростання і ландшафти, стаючи злісними бур'янами: так, серед 944 видів польових бур'янів флори України 511 (або 54 %) є чужинними [4].

Попередньо видами з високою інвазійною спроможністю у складі адвентивної флори України вже визнані 95 видів рослин [5]. Однак, далеко не усі з них є однаково загрозливими для природного біорізноманіття.

Існує міжнародна практика, за якою загрозливі інвазійні рослини, які агресивно захоплюють і змінюють при-

© Абдулєва О., Карпенко Н., Сенчило О., 2008

родні та штучні місцезростання, популяції яких спостерігаються в численних локалітетах і шкідливий вплив яких остаточно доведений, заносяться до так званого "чорного списку". За міжнародними рекомендаціями, слід розробляти спеціальні програми з контролю і обмеження поширення та використання таких рослин у будь-яких ландшафтах. Для України "чорний список" не наводився.

Об'єкт та методи досліджень. При дослідженні адвентивної фракції (чужинних рослин) флори України була використана класифікація ступенів натуралізації чужинних рослин за J. Kornas [11], J. Holub, V. Jirasek [10], Richardson et al. [16] та В.В. Протопоповою [4].

Різноманітність та поширеність чужинних та інвазійних видів рослин у Європі наведені за Проектом документу Ради Європи [8] та регіональними списками – тривожних агріофітів Центральної Європи [12], чужинних Східної Європи [1], Чехії [15], Польщі [7], інвазійних Угорщини [9], а також за переліком фітоінвазій України [5].

Карантинні види України наведені за "Переліком регульованих шкідливих організмів" [3].

Назви видів подані за номенклатурним зведенням С.К. Черепанова [6] та уточнені за зведенням С.Л. Мосякіна і М.М. Федорончука [14].

Результати та їх обговорення. Проаналізувавши списки чужинних видів рослин регіональних флор Європи, ми дійшли висновку, що адвентивна (чужинна) флора України найбільш подібна до таких у сусідніх країнах, в першу чергу, у Чехії та Польщі. У чеських джерелах

список чужинних видів особливо детально проаналізований на предмет поширеності чужинних рослин в антропогенно трансформованих та природних типах місцезростань. Так, із 1378 чужинних таксонів у Чехії (біля 35% флори) 1047 є неофітами, тобто частка чужинних рослин, які поширилися за останні століття у чеській флорі, – 25% [15]. Спільних з Україною інвазійних чи з високою інвазійною спроможністю видів – 52. Ще біля 60 видів є спільними тривожними для обох флор. Загалом подібність чужинної флори Чехії та України складає 625 спільних таксонів. Ще біля 200 таксонів чеської чужинної флори – гібридогенного походження або підвиди, не всіма визнані.

Нагадаємо, що у флорі України відомо 650–800 адвентивних видів [2, 4]. Враховуючи, що більше 200 адвентивних для Східної та Центральної Європи видів вважаються у флорі України природними компонентами, а також, що біля 200 наведених чужинних таксонів є гібридогенного походження або внутрішньовидовими таксонами, які не всіма систематиками визнаються, потенціал для фітоінвазій в Україні (як, зрештою, і в інших європейських країнах) надзвичайний, інакше, ще біля 500 чужинних таксонів регіональних флор Європи на даний час не відомі для України.

Перелік чужинних видів, які ми пропонуємо визнати небезпечними інвазійними на території України та включити до "чорного списку", складається з 4-х груп, обґрунтованих 4-ма критеріями (табл. 1):

Таблиця 1. Розподіл загрозливих інвазійних видів рослин України за групами

Групи інвазійних рослин "чорного списку"	Критерії відбору видів до "чорного списку"			
	Належність до "чорного" списку Європи	Належність до списку фітоінвазій України	Успішна натуралізація/експансія в Україні	Широка екологічна амплітуда, розширення екологічного ареалу
Перша	+	+	+	+
Друга	+		+	+
Третя		+	+	+
Четверта			+	+

Перша група (16 видів) – це види, включені до "чорного списку" всієї Європи [8] та, одночасно, до списку фітоінвазій України [5], такі, що успішно натуралізувались в Україні та проходять стадію експансії на нові території і в нові типи місцезростань: *Acer negundo* L., *Acroptilon repens* (L.) DC. (карантинний), *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, *Ambrosia artemisiifolia* L. (карантинний), *Amorpha fruticosa* L., *Azolla filliculoides* Lam., *Bidens frondosa* L., *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald. (карантинний), *Echinocystis lobata* (Misch.) Torr. et A. Gray., *Grindelia squarrosa* (Pursh.) Dunal., *Helianthus tuberosus* L., *Heracleum mantegazzianum* Sommier et Levier, *Iva xanthiifolia* Nutt. (*Cyclachaena xanthiifolia* (Nutt.) Fresen), *Padus serotina* (Ehrh.) Ag., *Reynoutria japonica* Houtt. (*Fallopia japonica* (Houtt.) Ronse Decraene), *Solidago canadensis* L.

Друга група (7 видів) – це види, включені до "чорного списку" всієї Європи [8], які успішно натуралізувались в Україні та проводять експансію на нові території і в нові типи місцезростань і для яких характерна широка екологічна амплітуда: *Elodea canadensis* Michx., *Elodea nuttallii* (Planch.) St. John., *Impatiens glandulifera* Royle, *Reynoutria x bohemica* Chrtek et Chrtkova (*R. japonica* x *R. sachalinensis*), *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt ex Maxim.) Nakai, *Robinia pseudoacacia* L., *Solidago serotinoidea* A. Löve et D. Löve (*S. gigantea* Ait.).

Третя група (21 вид) – відібрані нами зі списку фітоінвазій України [5] види, які успішно натуралізувались і проводять експансію на нові території і в нові типи місцезростань в Україні і для яких характерна широка екологічна амплітуда: *Amaranthus albus* L., *Amaranthus blitoides* S. Watson, *Amaranthus powellii* S. Watson (*Amaranthus bracteatus* Uline & W.L. Bray; *A. retroflexus* Linnaeus var. *powellii* (S. Watson) B. Boivin), *Amaranthus retroflexus* L., *Anisantha tectorum* (L.) Nevski, *Artemisia*

annua L., *Asclepias syriaca* L., *Azolla caroliniana* Willd., *Cannabis ruderalis* Janisch., *Cardaria draba* (L.) Desv., *Centaurea diffusa* Lam., *Conyza canadensis* (L.) Cronq., *Cuscuta campestris* Yunck. (карантинний), *Elaeagnus angustifolia* L., *Galinsoga ciliata* (Rafin) Blake (*Galinsoga urticifolia* (Kunth) Benth.), *Galinsoga parviflora* Cav., *Helianthus subcanescens* (A. Gray) E.E. Wats., *Impatiens parviflora* DC., *Phalacrolooma annuum* (L.) Dumort., *Phalacrolooma septentrionale* (Fernald. et Wiegand) Tsvelev, *Xanthium albinum* (Widder) H. Scholz.

Четверта група (2 види) включає види, які успішно натуралізувались в Україні та проводять експансію на нові території і в нові типи місцезростань і для яких характерна широка екологічна амплітуда: *Parthenocissus inserta* (A. Kern) Fritsch, *Xanthium spinosum* L. Незважаючи на відповідність лише 2-м з 4-х критеріїв стосовно цих видів рослин, ми вважаємо доцільним їхнє включення до "чорного списку".

Виділені нами види за походженням – переважно з Північної Америки, частіше її східної частини (південно-східної, північно-східної та власне східної), на другому місці за чисельністю видів – донорські ареали Східної Азії (Японія, Корея, Китай). Окремі випадки – рослини, занесені з тропічної і субтропічної Америки та Кавказу.

Ми вважаємо недоцільним розглядати в якості інвазійних організмів, щодо яких необхідно здійснювати заходи боротьби, такі групи чужинних видів рослин:

1) види-археофіти (занесені на територію України у середні віки). Сьогодні важко визначити цілі, методи, та й взагалі доцільність боротьби з такими видами, як *Acorus calamus* L., *Artemisia absinthium* L., *Ballota nigra* L. s.l., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. і подібні;

2) види, походження яких пов'язане з флористичними областями та флорами, близькородними з фло-

рою України. Так, у природній флорі України її міграційна частка насичена древніми середземноморськими, ірано-туранськими і європейськими елементами. Відповідно, жоден чужинний вид, пов'язаний походженням з цими флористичними областями, не може розглядатись інвазійним, доки не доведена його відповідність найважливішим критеріям інвазійності: шкодочинності та/або високому ризику загрози для природного біорізноманіття, природних екосистем, економіки, здоров'я людини, а також забруднення місцевого біорізноманіття через гібридизацію. Тим більше, що відомо: чим ближче споріднений з місцевою флорою чужинний елемент, тим нижчий рівень ризику інвазії цього елемента на даній території, і навпаки, чим більш екзотичним є чужинний організм для місцевого біорізноманіття, тим більші шанси першого на успішну інвазію. З цих міркувань ми не розглядаємо як компоненти "чорного списку" такі адвентивні види, як: *Bupleurum fruticosum* L., *Carduus acanthoides* L., *Diplotaxis tenuifolia* (L.) DC, *Sisymbrium loeselii* L., *Vicia villosa* Roth. та подібні середземноморські і близькі до них елементи.

Нагадаємо, що у звіті Міжнародного Інституту з європейської політики в галузі навколишнього середовища (Institute for European Environmental Policy), підготовленому стосовно чужинних видів для Європейської комісії з європейської політики у 2006 р. [13], рекомендується формувати такі "чорні списки" видів, що означали б заборону ввезення цих видів до Європейського співтовариства, надаючи перевагу тим видам, які становлять високий ризик інвазії і можуть здійснювати негативний вплив на збереження біорізноманіття у даному регіоні.

Якщо проаналізувати ступінь натуралізації інвазійних рослин пропонованого "чорного списку", то не менше 32 видів можна охарактеризувати як такі, у яких популяції вже натуралізувались у напівприродних та природних типах місцезростань та рослинних угрупованнях, істотно збільшують там свою чисельність і щільність та здійснюють трансформуючий вплив на останні.

Висновки. Сьогодні, на наш погляд, "чорний список" чужинних інвазійних рослин України може включати 46 видів квіткових рослин, які чинять визначений негативний вплив на збереження біорізноманіття в регіоні і завезення, свідоме розмноження і поширення яких, відповідно до Глобальної Стратегії боротьби з інвазійними видами, мають бути заборонені. З цього переліку 23 – з

"чорного списку" всієї Європи [8], 37 – зі списку фітоінвазій України [5], 2 – пропонуються нами. "Чорний список" повинен стати основою для системи менеджменту інвазій вищих рослин в Україні – заходів контролю, обмеження та запобігання подальшому поширенню та власне боротьби різними методами. 8 видів зі списку фітоінвазій України (*Asclepias syriaca*, *Centaurea diffusa*, *Coryza canadensis*, *Elaeagnus angustifolia*, *Helianthus subcanescens*, *Impatiens parviflora*, *Phalacrologium annuum*, *Xanthium albinum*), а також *Parthenocissus inserta* поведуть себе як небезпечні інвазійні види також у сусідніх з Україною державах і за показниками інвазійної спроможності заслуговують на статус небезпечних у всій Європі та на додаткове включення до "чорного списку" Європи.

1. Адвентивные виды растений Восточной Европы. – <http://www.sevin.ru/invasive/>. 2. Бурда Р.И. Антропогенная трансформация флоры. – К.: Наук. думка, 1991. – 168 с. 3. Про затвердження Переліку регульованих шкідливих організмів. – Наказ Міністерства аграрної політики України № 1300/13174 від 29.11.2006 р. // Офіційний вісник України. – К., 2006, №50. – С. 209–215. 4. Протопопова В.В. Синантропная флора Украины и пути ее развития. – К.: Наук. думка, 1991. – 204 с. 5. Протопопова В.В., Мосякин С.П., Шевера М.В. Фітоінвазії в Україні як загроза біорізноманіттю: сучасний стан і завдання на майбутнє. – К.: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, 2002. – 32 с. 6. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР. – Л.: Наука, 1981. – 510 с. 7. Alien plants in Poland. – <http://www.iop.krakow.pl/ias/list.asp>. 8. Assessment of existing lists of invasive alien species for Europe, with particular focus on species entering Europe through trade, and proposed responses. Draft // Prepared by mr Piero Genovesi and mr Riccardo Scalera. – Convention on the conservation of european wildlife and natural habitats (t-pvs/inf (2007) 2). – For 26–29 november 2007. 9. Biológiai inváziók Magyarországon. – Özönövények / Mihály B., Botta-Dukát Z. (Szerk.). – Budapest: Természeti Bűvár Alapítvány Kiadó, 2004. – 408 old. 10. Holub J. & Jiršek V. Zur Vereinheitlichung der Terminologie in der Phytogeographie. – Folia Geobot. Phytotax. – 1967. – 2, №69. – 113 s. 11. Kornas J. Wpływ człowieka i jego gospodarki na szatę roślinną Polski-Flora synantropijna // Szata roślinna Polski. – Warszawa, 1959. – 1. – S. 87–125. 12. Lohmeyer W. & Sukopp H. // Agriophyten in der Vegetation Mitteleuropas. Schr. Reihe Vegetationskunde. – 1992. – 25, №1–P. 185. 13. Miller C., Kettunen M., Shine C. Scope options for EU action on invasive alien species (IAS). Final report for the European Commission. Institute for European Environmental Policy (IEEP). – Brussels, Belgium, 2006. – 109 pp. 14. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine: A nomenclatural checklist. – Kiev, 1999. – 346 pp. 15. Pysek P., Sadlo Y., Mandak B. Catalogue of alien plants of the Czech Republic // Preslia. – Praha, 2002. – 74. – S. 97–186. 16. Richardson D.M., Pysek P., Rejmanek M., Barbour M.G., Panetta F.D., West C.J. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions // Diversity and distribution. – 2000. – V. 6. – P. 93–107.

Надійшла до редколегії 10.10.08

А. Косенко, д-р біол. наук,
Л. Остапченко, д-р біол. наук,
М. Колбун, акад.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ІНФОРМАЦІЙНО-ХВИЛЬОВОЇ ТЕРАПІЇ З МЕТОЮ ДІАГНОСТИКИ І ЛІКУВАННЯ ДЕЯКИХ ХВОРОБ СТУДЕНТІВ

Інформаційно-хвильова терапія є методом, що керує електромагнітним гомеостазом організму. Відновлюючи електромагнітні параметри всіх елементів, дезорганізованих патологічними процесами, ця терапія має загальнозміцнюючий вплив на функціональну взаємодію організму і зовнішнього середовища, що проявляється оптимізацією електромагнітного поля всього організму.

Information-wave therapy is a method that adjusts electromagnetic homeostasis of human body. Recovering all the electromagnetic parameters of elements (that are disorganized by the pathological processes), this therapy has an overall strengthening effect on the functional relationship of a body and an environment that results in optimization of the electromagnetic field of the whole body.

Продемонстровано ефективність застосування інформаційно-хвильової терапії /ІХТ/ у студентів. Метод мікрохвильової резонансної діагностики і корекції функціональних змін ми застосовували у 20 спортсменів. Зараз вже доведено, що в основі патології багатьох видів лежить порушення резонансу електромагнітних частот в функціональних системах організму. З метою діагностики і лікування ряду захворювань ми викорис-

товували прилад "ІХТ Поріг". Використання ІХТ дозволило провести діагностику та лікування ряду патологічних процесів у студентів. Практика використання ІХТ підтвердила її імунорегуючу дію та дію, що підвищує резистентність організму. ІХТ є методом, що керує його електромагнітним гомеостазом (М. Д. Колбун). Відновлюючи електромагнітні параметри всіх елементів, дезорганізованих патологічними процесами, виявляє перш

за все загальнозмичуючий вплив на функціональну взаємодію між організмом і зовнішнім середовищем, що виявляється в оптимізації електромагнітного поля всього організму. Вплив ІХТ на біологічно активні точки та існування зворотного зв'язку з організмом у вигляді сенсорної відповіді дає можливість проводити діагностику, корекцію та лікування не тільки основного захворювання, а також інших змін в організмі. Метою впливу ІХТ на організм є не безпосередня дія на конкретні прояви хвороби, а відновлення власної інформаційно-керуючої системи організму, що забезпечує життєдіяльність. За своєю складністю та ефективністю ця система керування не може дорівнюватися будь-яким штучним засобам дії на організм. Саме цим визначається незвичайно висока ефективність [1] підтримання життєдіяльності самим організмом. Відновлення інформаційно-керуючої системи організму за порушення її функціонування для медицини може давати більший ефект, ніж будь-які штучні засоби для діагностики та терапії. Щодо ІХ діагностики, то всупереч традиційній, об'єктом якої є виявлення того, яка хвороба є в конкретного хворого, об'єктом ІХ діагностики є безпосереднє визначення оптимальної для конкретного хворого ІХТ терапії. При цьому спрощуючою обставиною є те, що основним засобом і для діагностики, і для терапії є опромінення енергією електромагнітних коливань ІХ діапазону [2]. ІХТ і діагностика є ланками загального ланцюга, природно продовжують одне одного, що має велике значення, а також можуть застосовуватись для лікування багатьох захворювань [3]. Важливим для корекції і терапії є перший сеанс, який одночасно є діагностичним. Впливаючи на точки (хе-гу і дзу-сан-лі) можна виявити, які зміни є в організмі, що необхідно для вибору рецептури їх видалення. Ця експрес-діагностика вказує не тільки на розвинену патологію, але й на ту, що тільки починає розвиватись. Дослідження проводили в розслабленому лежачому положенні. Під час першого сеансу відмічають сенсорні реакції, які виникають в цілому організмі слідкують за появою сенсорного відгуку з організму з патологічним процесом. Такі реакції характеризуються зменшенням болю, відчуттям тепла, "повзання комашок", розслабленням, відчуттям полегшення в усьому тілі, сонливостю. Це дає можливість з'ясувати місце патології та позначити рецептуру дії на БАТ. На протязі сеансу доцільно використати вплив на 3-4 точки БАТ. Сенсорна відповідь залежить від стану людини, вона може змінюватись. Зменшення сенсорної реакції вважається позитивним знаком лікування. Довжина одного сеансу 20-25 хвилин, курс лікування чи корекції 5-10 сеансів. Повторити курс можна через місяць. Процедури корекції та лікування приємні та безболісні. Шляхом індивідуального вибору впливів ультраслабких імпульсів електромагнітних хвиль на БАТ здійснюється корекція електромагнітного поля організму, що сприяє гармонізації загальної енергетики та нормалізації всіх фізіологічних систем: імунної, ендокринної, психоемоційної.

Вплив міліметрових хвиль низької інтенсивності та існування зворотного зв'язку з організмом у вигляді сенсорної відповіді дає змогу проводити корекцію і лікування не лише основної хвороби, а й інших патологічних процесів. Впливу піддаються всі органи одночасно. Ми лікуємо організм стимулюючи його саморегуляцію, мобілізуючи його резерви. В своїх дослідженнях з метою діагностики та лікування деяких хвороб ми використовували, як джерело ЕМІ, прилад ІХТ "Порог", спектральна щільність потужності яких становить величину $10^{-18} - 10^{-19}$ Вт Гц см² в широкому діапазоні частот від 30 ГГц до субміліметрового діапазону, розроблений акад. М. Д. Колбуном.

Метод ІХТ застосовувався нами для посттравматичної реабілітації студентів, що отримали травми під час тренувань й під час змагань. Проведена у десяти студентів терапія показала високий знеболюючий та протизапальний ефект вже після 1-2 процедур. У осіб хворих остеохондрозом больовий синдром пом'якшувався після першого сеансу ІХТ, а на четвертому-п'ятому сеансі зовсім зникав. У осіб хворих на гіпертонічну хворобу курс лікування складав 3-5 сеансів, що проводились щоденно шляхом впливу на такі акупунктури: E-36; GL-11; F-2; TR-5; MC-6; VB-20. Після впливу на ці точки спостерігалось зниження артеріального тиску вже під час першого сеансу. Сенсорні реакції виявлялися в зникненні головного болю, шуму у вухах, поліпшенні самопочуття, відчуття полегшення в голові, сонливості. Стійка стабілізація артеріального тиску, нормалізація показників гемодинаміки наступала на 3-5 сеанси. Курс лікування осіб з вегетативно-судинною дистонією не перевищував 4-6 сеансів. Зникнення клінічних симптомів вегетативно-судинних порушень головного мозку і покращення стану, починаючи з першого сеансу лікування, наступало паралельно з покращенням показників центральної та церебральної гемодинаміки. Використовувались акупунктурні точки впливу: VG-20; VG-13; C-3; MC-6; V-13; E-36.

Досвід лікування виразкової хвороби дванадцятипалої кишки і шлунка у 20 студентів вказує на високу ефективність методу ІХТ. Курс ІХТ складався з 5-8 щоденних 30-хвилинних сеансів. Критерієм ефективності дії ІХТ була загальна і місцева сенсорна реакція пацієнта у відповідь. Місцева реакція виявлялась відчуттям в епігастральній ділянці, зникненням больового синдрому і диспептичних явищ. Загальна реакція виявлялась в почутті комфорту, заспокоєнні, сонливості. Для лікування виразкової хвороби частіш за все використовували точки: E-36; GL-4; VG-4; VC-13; VC-14; LT-87; LT-88. У хворих на гепатохолецистит використовували точки: E-36; F-13; F-14; VB-24. У хворих бронхообструктивним синдромом (бронхіальна астма, хронічний бронхіт) діяли на 3-4 точки: GL-4; E-36; P-2; VC-22; VC-17; VG-25, а також точки алергії за Фолем і точки наднирника: TR-1; AP-13. Найбільш ефективним метод ІХТ виявився при лікуванні захворювань серцево-судинної системи, а також у хворих з неврологічними скаргами. Покращення стану хворих з порушеннями серцево-судинної системи характеризується послабленням приступів ядухи, пов'язаних з болями в ділянці серця, що віддають в ліву руку, ділянку шиї, а також болів в ділянці серця, починаючи з 2-го – 4-го сеансів дії ІХТ. Зникнення цих скарг спостерігається з 4-5 сеансів ІХТ. Для зняття болів, пов'язаних з порушенням роботи серцево-судинної системи використовували точки акупунктури: E-36; GL-4; VC-15; MC-6; C-8; V-15; P-4.

З метою лікування хворих з неврологічними скаргами діяли ІХТ на точки E-36; GL-4; VG-20; VB-20; V-60; VB-22; V-10. Знімати головний біль вдавалось на 4-5 сеанси ІХТ. Слід відзначити, що ІХТ одночасно із зняттям больових станів справляє загальнозмичуючу дію на весь організм.

Інформаційно-хвильова терапія /ІХТ/ вперше запропонована і розроблена на Україні у працях М. Д. Колбуна у 1985-1990 роках [4], це новий напрямок в медицині, який ґрунтується на принципі інформаційно-хвильового дистанційного обміну між живою матерією різних рівнів організації (від клітини до цілісного організму) та зовнішнім середовищем. ІХТ призначена для безмедикаментозної, безконтактної корекції порушень фізіологічного стану людини при різних захворюваннях шляхом впливу електромагнітного випромінювання

/EMВ/ на біологічно активні точки, зони або області на поверхні тіла. З позиції сучасної електро- та квантової динаміки, всі фізичні об'єкти, в тому числі жива матерія, генерують та випромінюють електромагнітні хвилі в широкому діапазоні частот – від статичних і електромагнітних полів до елементарних часток, що виникають та існують дуже короткий проміжок часу. Але і в цей момент вони вступають в взаємодію з оточуючим середовищем та ініціювати різноманітні квантові стани, хімічні реакції та утворення органічних сполук, що беруть участь в підтриманні життєдіяльності організму. В технології ІХТ проведено пошук такої взаємодії між параметрами випромінювання та функціональним станом людини, яка є не тільки не шкідливою для здоров'я або хворої людини, але може бути засобом для профілактики та лікування захворювань [5-6]. При цьому відновлення електромагнітного гомеостазу /ЕМГ/ здійснюється самим організмом людини, його автоматичною інформаційно-пошуковою діяльністю з оптимізації вибору параметрів електромагнітних сигналів із зовнішнього середовища, в тому числі і штучно створених пристроїв ІХТ.

Існуючі гіпотези механізмів дії ЕМВ на організм людини та інші біологічні об'єкти ґрунтуються на тій концепції, що кожен із діапазонів ЕМВ, який досягає поверхні Землі, зіграв певну роль в еволюції живої природи і продовжує брати участь у процесах життєдіяльності. Людина ж є найскладнішим продуктом цієї еволюції. Організм людини, як біологічний об'єкт, являє собою складний, високо організований комплекс функціонально пов'язаних структурних одиниць клітин, тканин, органів та систем, взаємодія яких забезпечує життєдіяльність в мінливих і, нерідко, аномальних умовах. З'являється все більше прихильників гіпотези, згідно з якою ЕМВ в біологічних системах відіграє регуляторну та інформаційну роль. В цьому аспекті людський організм можна розглядати як складну інформаційну систему, що складається з великої кількості біологічно активних точок і зон, які є датчиками та приймачами інформації. Його не можна відокремити від внутрішніх та зовнішніх полів, де, крім біологічно активних точок, кожен орган, кожна функціональна система включає в себе інфор-

маційні, керуючі, виконавчі та контролюючі елементи, чим і досягається прямий та зворотний зв'язки. Інформаційний вплив на організм, синхронізуючий інформаційно-хвильові функції клітин та відновлюючий процеси саморегуляції хворого організму з допомогою ІХТ, названий (М. Д. Колбуном 1990р.) "електромагнітною гомеопатією" за аналогією з наднизькими дозами ліків: у гомеопатії. При місцевому, безконтактному впливі на точки акупунктури, або інші біологічно активні зони, ІХТ має загальний вплив на весь організм на рівні структурно-функціональних одиниць, клітин, призводячи до корекції порушень, викликаних патологічним прогнозом та позитивно впливаючи на супутні захворювання. Усуває дизгормоноз, розлади діяльності нервової системи, порушення ферментативних і біоенергетичних процесів, чинить імунореґулюючий вплив.

Особливостями медико-біологічних ефектів ІХТ є: лікування багатьох захворювань, підвищення працездатності, резистентності і адаптивних можливостей, викликаних не руйнуванням патогенетичних механізмів хвороби, а оптимізацією і підсиленням саногенних процесів в організмі. ІХТ являється екологічно чистою медичною технологією, характеризується універсальністю щодо лікування, профілактики та реабілітації, нешкідливістю і високою ефективністю, дозволяє лікування в режимі монотерапії, скорочує строки лікування в 2 рази.

1. Девятков Н.Д., Голант М.Б. О перспективах использования электромагнитных излучений мм диапазона в качестве высокоинформативного средства получения данных о специфических прогнозах в живых организмах // Письма в журнале теоретической физики. – 1985. – Т.12, Вып. 5. – С. 228-290. 2. Девятков Н. Д., Голант М.Б., Беркий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности // Радио и связь. – 1991. – 168 с. 3. Девятков Н.Д., Голант М.Б. Миллиметровые излучения живых организмов – высокоэффективное средство медицинской диагностики // Письма в ЖТФ. – 1986. – Т.12, Вып. 5 – С. 288-291. 4. Колбун Н.Д. Информационно-волновая терапия. Научно-практическое руководство // Киев Укр. энциклопедия. – 1993. – С. 304. 5. Лиманский Ю.П., Колбун Н.Д. Теоретические основы информационно-энергетической медицины. Теория и практика информационно-волновой терапии. – Киев, 1996. – С. 19-29. 6. Лиманский Ю.П. Гипотеза о точках акупунктуры, как полимодальных рецепторах экцептивной чувствительности // Физиол. Журн. 1990. – Т. 36, №5. – С. 115-121.

Надійшла до редколегії

УДК 577.152.151

Т. Хілько, канд. біол. наук,
О. Тищенко, д-р біол. наук,
І. Якубцова, пров. інж.,
Т. Преображенська, канд. біол. наук

ВИДІЛЕННЯ ЯДНК З КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ

Розроблений метод виділення яДНК з клітин слизової оболонки шлунка щурів.

It is elaborated the method of isolation of nDNA out of rat gastric mucosa cells.

Вступ. Головними задачами нової галузі медицини – молекулярної медицини є пізнання причин виникнення, механізмів розвитку захворювань, розробка методів профілактики, діагностики і лікування захворювань, що відбуваються на молекулярному та клітинному рівнях. Таким чином отримання яДНК у неушкоджені нати́вному стані є актуальним.

Об'єкт і методи досліджень. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій про проведення медично-біологічних досліджень з використанням тварин згідно Європейської конвенції.

Дослідження проводили на нелінійних щурах-самцях масою 200-240 г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію.

Щурів декапітували, на холоді препарували шлунок, видаляли клітини слизової оболонки шлунку (СОШ). Для виділення ядер з клітин слизової оболонки шлунку

використовували частково модифікований метод, описаний Ісаковим Б.К. і Айтхожимим М.М. [1]. Всі маніпуляції виконували при 4 °С. Тканини СОШ витримували у діетилловому ефірі протягом 1 хв., потім промивали та далі гомогенізували у буфері, який містить 0,025 М КСІ, 0,005 М Mg(CH₂COO)₂, 0,1 mM PMSF, 0,005 М β-меркаптоетанол, 0,02 М триетаноламін, рН 7,5, 0,25 М сахарозу. Буфер застосовували в об'ємі, що складав 5–10 мл на 1 г тканини. Гомогенат фільтрували через один шар нейлонової тканини і чотири шари тканини Miracloth (Calbiochem, USA), а потім нашаровували на ступінчастий концентраційний градієнт гліцерину, який займав третину центрифужної пробірки і складався з рівних об'ємів 50% і 80%-го гліцерину, приготовленого на основі буфера для гомогенізації. Суміш центрифугували при 800g протягом 15хв на центрифугу К-23Д (Германія). Фракцію, збагачену ядрами у вузькій зоні над © Хілько Т., Тищенко О., Якубцова І., Преображенська Т., 2008

80% гліцерином, повторно очищували в 50–80%-му градієнті гліцерину. Ядра концентрували центрифугуванням при 800g протягом 15хв, потім осад ядер промивали 3-5 разів буфером для гомогенізації, який містить нонідет Р-40 і 50%-ний гліцерин, за тих же умов центрифугування. Якість препаратів ядер контролювали за допомогою мікроскопа Amplival (Carl Zeiss, Германия). Ядра фарбували ацетоорсеїном та підраховували у камері Горяєва за формулою:

$$K=4\,000 \times 1\,000 \text{ Я} / 80,$$

де **К** – кількість ядер в 1мл, **Я** – кількість ядер у 16-ти квадратах за діагоналлю камери.

Ядерну ДНК виділяли згідно модифікованому нами методу [2]. Суспензію ядер осаджували за допомогою центрифугування при 10000g 5хв на мікрофузіTM (Beckman), далі осад ядер ресуспендували у лізуючому буфері, який містить 0,1 М Трис-НCl, рН 7,5, 0,012 М EDTA, 0,15 М NaCl, 1%-й ДСН. В середовище інкубації додавали протеїнказу К до кінцевої концентрації 200 мкг/мл і інкубували 1год при 37°C. Депротейнізацію проводили сумішшю фенол:хлороформ (1:1) до зникнення інтерфази. Нуклеїнові кислоти осаджували етанолом (2,5 об'єму) при – 20°C. Осад розчиняли у ТЕ буфері, додавали NaCl та РНК-азу А до кінцевих концентрацій 0,5 М і 100 мкг/мл, відповідно, та інкубували 1 год при 37°C, після чого здійснювали депротейнізацію та осаджували ДНК 2,5 об'ємами 96%-го етанолу при – 20°C.

Електрофорез ядерної ДНК проводили в 0,8%- та 1,7%-ному агарозному гелі, що містив 0,5 мкг/мл бромистого етидію в 1хTBE [3, 4] при напруженості 3–4 в/см протягом 5 год. В якості маркерів молекулярних мас застосовували DRgest II (Pharmacia) та RangeRulerTM 200 bp DNA Ladder Plus ("Fermentas", Литва). Спектр фрагментів ДНК оцінювали за допомогою Total Lab.

В роботі використовували РНКазу А, протеїнказу К, сахарозу, агарозу, бромистий етидй, тріс-НCl, EDTA, β-меркаптоетанол, додецилсульфат натрію (ДСН), нонідет Р-40, PMSF ("Serva", Германия), решта реактивів вітчизняного виробництва.

Результати та їх обговорення. Для об'єктивного аналізу рівня полімерності яДНК важливе значення має отримання неушкоджених ядер без цитоплазматичних домішків. В наших дослідженнях найбільш ефективним виявився метод, ключове положення в якому займає концентрація ядер у вузькій зоні між 50–80% ним гліцерином. Введення нами повторної процедури нашарування суспензії ядер на гліцериновий ступінчастий градієнт дозволило суттєво підвищити ступень очищення ядер від цитоплазматичних домішків та клітинного детрита. Крім того запропонований нами підхід мав суттєві переваги в порівнянні з раніше дослідженими методами використання градієнту сахарози, також значно збільшувався і вихід неушкоджених ядер. При цьому їх кількість складала $4,9 \times 10^8$ ядер на 1 г тканини. Ступінь чистоти ядерної ДНК визначали спектрофотометрично. Відношення оптичної густини ($O.D_{260} : O.D_{280} = 1,7 - 1,9$; $O.D_{260} : O.D_{230} = 2,3$).

1. Методы молекулярной биологии, биохимии и биотехнологии растений. Отв. ред. Айтхожин М.А., Дошанов Х.И. – Алма-Ата: Наука, 1988. – 168с. 2. Paul A., Ferl R. Assays for studying chromatin structure // Plant Mol.Biol.Manual. – 1988. – В 2. – Р. 1-11. 3. Транскрипция и трансляция. Методы: Пер с англ./ Под ред. Б.Хейчса и С.Хиггинса. – М.: Мир, 1987, 400 с. 4. Yoshida A., Shao R.-G., Pommier Y. Assessment of DNA damage in apoptosis. // Apoptosis. A practical approach. – OXFORD university press. – 1999. – Р. 41-55.

Надійшла до редколегії 12.09.08

Наукове видання



ВІСНИК

КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуски 52-53

Друкується за авторською 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 23.04.09. Формат 60x84^{1/8}. Вид. № 11. Гарнітура Arial. Папір офсетний.
Друк офсетний. Наклад 500. Ум. друк. арк. 20,0. Зам. № 29-4821.

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