

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.

Для 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.; В.С. Мартинюк, д-р біол. наук, доц. 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	03187, 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

Ноздренко Д., Ганчурін В., Сорока В., Мельничук О. Залежність довжини вкорочення камбалоподібного м'язу щура від швидкості наростання частоти стимуляції	4
Філімонова Н., Макачук М., Мірошник Т., Качуріна К. Взаємозв'язки між показниками асоціативної і оперативної пам'яті у жінок та чоловіків	6
Дворченко К., Савко У., Остапченко Л. Окисне фосфорилування в мітохондріях гепатоцитів щурів за умов виразкових уражень шлунка	10
Ноздренко Д., Руксенас О., Мірошніченко М. Вплив температури на дотетанічну ділянку скорочення поодиноких волокон <i>m. tibialis</i> жаби	11
Грінченко О., Гушинець Г., Весельський С., Янчук П. Таурин посилює шлункову секрецію, стимульовану гістаміном	12
Терехов А., Янчук П. Вплив гістаміну на кисневий баланс печінки	14
Вишневська А., Ковальова В., Остапченко Л. Вміст продуктів перекисації ліпідів у клітинах підшлункової залози за умов експериментальної виразки шлунка у щурів	16
Локтєва Р. Оцінка взаємозв'язку показників ефекту Струпа з показниками психофізіологічних функцій людини	17
Руденко Я., Ковальова В. Морфологічні та біохімічні аспекти виразкової хвороби шлунка	18
Григор'єва О., Даценко О., Березовська М. Особливості фотолюмінесценції водоростей відділів <i>Chlorophyta</i> та <i>Xanthophyta</i>	22
Чернінський А., Собіщанський С., Крижанівський С., Піскорська Н. Електрофізіологічні кореляти процесів семантичного аналізу людиною зорових стимулів	23
Христова Т., Мусієнко М. Зародження фітофізіологічних досліджень у новоросійському університеті	25
Малиновська І., Домбровська І. Чисельність і фізіологічна активність мікроорганізмів сірого лісового ґрунту постпірогенних ділянок мало- та багаторічного перелогу	29
Березовська М. Використання водоростей в якості тест-об'єктів для оцінки забруднення природного середовища біхроматом калію	32
Волошина Н. Дослідження дезінвазійної дії нанобіокомпозиту на збудник трихостронгілозу кролів	33
Остапченко Л., Чайка В., Лаврова К., Компанець І. Вплив індукторів інтерферону на активність 2',5'-олігоаденілатсинтетази в лімфоцитах щурів за умов дії трансформованого середовища	34
Радіонов Д., Андрієвський А., Козерецька І. Аналіз активності изоформ естераз у <i>Drosophila melanogaster</i> из природных популяций Украины	36
Андрійчук Е., Семчук Л., Ромашев С. Получение мутантных фагов с широким спектром литической активности	38
Смоля А., Панюта О., Паршикова Т. Вивчення особливостей структури і функцій оболонки рослинної клітини англійською мовою	40
Пацко О., Паршикова Т. Формування ефективних асоціацій азотфіксуючих бактерій і синьозелених водоростей	43
Трохимець В. Еколого-фауністична характеристика літорального зоопланктону правого берега середньої частини Олександрійського водосховища	45
Короткий О., Пилипенко С., Цирюк О., Остапченко Л., Берегова Т. Вплив мультипробіотиків на вміст інтерферону-гамма в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності	47
Волошина Н., Кілючицький П., Каплуненко В., Косінов М. Наукове обґрунтування механізму овоцидної дії наночасток олова	50
Пахомова А., Говоруха Т., Решетнік Є., Коваленко О., Макачук М. Вплив кверцетину на умовну реакцію в Т-подібному лабіринті та на рівень перекисного окислення ліпідів в мозку й печінці алкоголізованих щурів	53
Дворченко К., Сенін С., Савченко О., Степанов Ю. Спектр жирних кислот ліпідів ядерної фракції слизової оболонки шлунка щурів за умов етанолової виразки	55
Торгало Є., Гайда Л., Остапченко Л. Вплив кверцетину та ліпофлавонолу на рівень відновленого глутатіону за умов експериментального геморагічного інсульту	57
Львова О., Кошова О., Верьовка С. Вплив денатураційних чинників на процеси глікації гемоглобіну людини	59

CONTENTS

Nozdrenko D., Ganchurin V., Soroka V., Melnichuk O. Dependence of rat salens muscle shortening length on velocity of increment stimulative frequency	4
Filimonova N., Makarchuk M., Miroshnik T., Kachurina K. Interrelations between parameters associative and operative memory at women and men	6
Dvorshchenko K., Savko U., Ostapchenko L. Oxidative phosphorylation in mitochondria of rat hepatocytes at ulcer lesions of stomach	10
Nozdrenko D., Ruksenas O., Miroshnichenko M. Temperature effect on pretetanic phase of frog <i>m.tibialis</i> single fibres shortening	11
Grinchenko O., Gushinets G., Veselskiy S., Yanchuk P. Taurine increase the gastric secretion, stimulated by histamine	12
Terehov A., Yanchuk P. Effect of histamine on the liver oxygen balance	14
Vyshnevskaya A., Kovalova V., Ostapchnko L. Lipid peroxidation products content of pancreas cells under experimental ulceration in rats	16
Loktyeva R. The estimate of connection Stroop's signs effect with signs of the human psychophysiological functions	17
Rudenko I., Kovalyova V. Morphological and biochemical aspects of stomach ulceration	18
Grygorieva O., Dacenko O., Berezovs'ka M. The luminescence features of algae of <i>Chlorophyta</i> and <i>Xanthophyta</i> divisions	22
Cherninsky A., Sobischansky S., Kryzhanovskiy S., Piskorska N. Electrophysiological correlates of semantic analysis of visual stimuli in humans	23
Христова Т., Мусієнко М. Зародження фітофізіологічних досліджень у новоросійському університеті	25
Malinowska I., Dombrowska I. Quantity and physiology activity of microorganisms of grey forest soil of postpyrogenic area of short-period lea and long-term lea	29
Berezovs'ka M. Use of algae as a test-object for the $K_2Cr_2O_7$ environment pollution estimation	32
Voloshyna N. Research of desinvasion action of nanobyokompozyt on exciter of trykhostrongyl'oz crawls	33
Ostapchenko L., Chayka V., Lavrova K., Kompanets I. Influence of interferon inducers on 2',5'-oligoadenylate-synthetase activity in rats lymphocytes under the transformed environment action	34
Radionov D., Andrievsky A., Kozeretska I. Analysis of activity of the esterase isoforms in <i>Drosophila melanogaster</i> from natural populations of Ukraine	36
Andriychuk E., Semchuk L., Romashev S. Respectively of mutant phages with the wide spectrum of lityc activity	38
Smolay A., Panyta O., Parshikova T. The study of peculiarities of the structure and functions of the plant cell wall	40
Patsko O., Parshikova T. The formation of effective composition of nitrogen-fixing bacteria and cyanobacteria	43
Trokhymets V. Ecological and faunistic informations about litoral zooplankton from the right coast of the Oleksandrivsk reservoir's middle part	45
Korotkuy O., Pulupenko O., Curyk O., Ostapchenko L., Beregova T. The influence of multiprobitotics on the interferon-gamma level in the blood serum in the rats in conditions of long-term hypoacidity	47
Voloshyna N., Kilochytskij P., Kaplunenko V., Kosinov M. Scientific substantiation of the action mechanism of nanopasts of tin for desinvasion	50
Pakhomova A., Govorukha T., Reshetnik E., Kovalenko O., Makarchuk M. The influence of the quercetin on the conditional response in the complex T-similar labyrinth and the rate of lipid peroxidation in brain and liver tissues of rats have chronic alcoholic intoxication	53
Dvorshchenko C., Senin S., Savchenuk O., Stepanov Yu. Spectrum of fatty acids of lipids of nucleus fraction of rat stomach mucosa at ethanol ulcer	55
Torgalo E., Gayda L., Ostapchenko L. Quercetin and lipoflavone effect on glutathione content under the experimental model of hemorrhage apoplexy	57
Lvova O., Kowova O., Verjovka S. The effect of denaturing factors on the non-enzymatic glycosylation of human haemoglobin	59

ЗАЛЕЖНІСТЬ ДОВЖИНИ ВКОРОЧЕННЯ КАМБАЛОПОДІБНОГО М'ЯЗУ ЩУРА ВІД ШВИДКОСТІ НАРОСТАННЯ ЧАСТОТИ СТИМУЛЯЦІЇ

Продемонстроване явище гістерезису м'язового скорочення на кривих залежностей сила-стимуляція. Нелінійність протікання різних фаз скорочення свідчить про асиметрію роботи скорочувального апарату. Припускається, що при реалізації даних рухів і утриманні цільового положення в механічній активності м'язів присутні складові, не керовані моторною командою.

Hysteresis phenomenon of muscle contractility was demonstrated on force-stimulation graphic. Nonlinearity of different phases of muscle shortening showed asymmetry of contractile apparatus performance as a result of movement prehistory. Suggested that uncontrollable by motor command components are present in mechanical muscle activity.

Вступ. М'яз – є найбільш інерційним елементом рухливої системи, тому його динаміка в значній мірі забезпечує властивість реальних рухів. Виходячи з численних експериментальних даних не виникає сумнівів що динаміка м'язового скорочення є суттєво нелінійною, що обумовлено на сам перед гістерезисом м'язового скорочення котрий в деяких випадках викликає розбіжності при встановленні рівноважної довжини м'язу (1, 2, 3,). Ця властивість м'язу в деякій мірі враховується та компенсується на рівні ЦНС, зокрема при функціонуванні найпростіших спінальних рефлексів центральні нервові команди збільшують швидкість руху (4). В той же час питання про співвідношення нелінійних властивостей м'язу та еферентних сигналів і закономірності перетворення еферентної активності центральних нейронів в динамічний компонент м'язового скорочення залишається відкритим. Все це ставить під сумнів, правило однозначної залежності між основними макропараметрами руху і обумовлює актуальність подальших досліджень механізмів керування рухами.

Адекватна теоретична інтерпретація принципів центрального контролю моторної активності стає можливою лише на основі точних вимірів на простих моделях із максимальними обмеженнями кількості змінних величин. У зв'язку з цим ми обрали об'єктом досліджень відносно повільні (небалистичні), лінійні рухи з наступним утриманням досягнутого положення.

Об'єкт та методи досліджень. Експерименти, виконані на дорослих щурах масою від 0,2 до 0,3кг. При підготовці до експерименту анестезію здійснювали внутрішньочеревинним введенням нембутала (40 мг/кг). Стандартна підготовка включала препарування й канюліровання (для введення фармапрепаратів) і (для виміру тиску), трахеотомію, ламінектомію на рівні поперекового відділу спинного мозку. У ході дослідів, для підготовки до використання модульованої стимуляції еферентів у сегментах L7-S, вентральні корінці перерізуали безпосередньо в місця їхнього виходу зі спинного мозку. Зміну сили виміряли за допомогою чотирьох тензорезисторів, наклеєних із двох сторін на сталеву пластину й включених у мостову вимірювальну схему. Вимірювання довжини м'язу здійснювали прецизійним потенціометричним датчиком.

Результати та їх обговорення. Для виявлення нелінійних ефектів м'язового скорочення на фазах утримання рівноважного стаціонарного стану в залежності від зміни частоти імпульсації еферентних подразників на дотетанічній ділянці скорочення ми використали таку форму модульованого стимуляційного сигналу при аналізі котрого можна було б порівняти встановлені рівноважні рівні скорочення на двох ділянках стаціонарного еферентного подразнення, що мають різну передісторію зміни напрямку руху при підході до аналізованої нами стаціонарної ділянки. З рисунку 1 видно що на фоні попереднього ізотонічного вкорочення розвиток подальшого руху в тому самому напрямку, але вже викликаного підвищенням частоти стимуляції еферентів проходив майже без вповільнення. При зміні часу дотетанічного аферентного подразнення напрямок частотно викликаного руху реалізовувався переходом від однієї статичної характеристики до другої, а безпосередній рух самого м'язу при цьому уповільнювався.

Відмітимо що в описаних режимах м'язового скорочення при переході до зменшення частоти стимуляції еферентів було яскраво виражено вповільнення розвитку динамічних реакцій м'язового скорочення: збільшення сили скорочення м'язу в ізометричних умовах та зменшення сили скорочення при ізотонії. На рисунку видно що подовження м'язу, пов'язане зі зменшенням стимуляційного подразнення, починалось з помітно меншим запізнюванням. Слід відмітити що скорочення часу початку руху було також зафіксовано при використанні для стимуляційного подразнення сигналів більш складної форми.

Таким чином нелінійні ефекти м'язового скорочення які пов'язані з гістерезисом проявляються в динаміці зміни м'язової довжини подібним, чином як при змінах зовнішнього навантаження, так і в умовах перебудови частоти стимуляції еферентів. Ця подібність визначається, на нашу думку, залежністю молекулярних механізмів м'язового скорочення від напрямку зміни довжини м'язу (вкорочення чи подовження).

З отриманих даних можна стверджувати, що гістерезисні ефекти післядії приводять до того, що жорсткість і пов'язані з нею параметри механічного стану м'язу – піддатливість і швидкість зміни довжини, істотно залежать від передісторії руху.

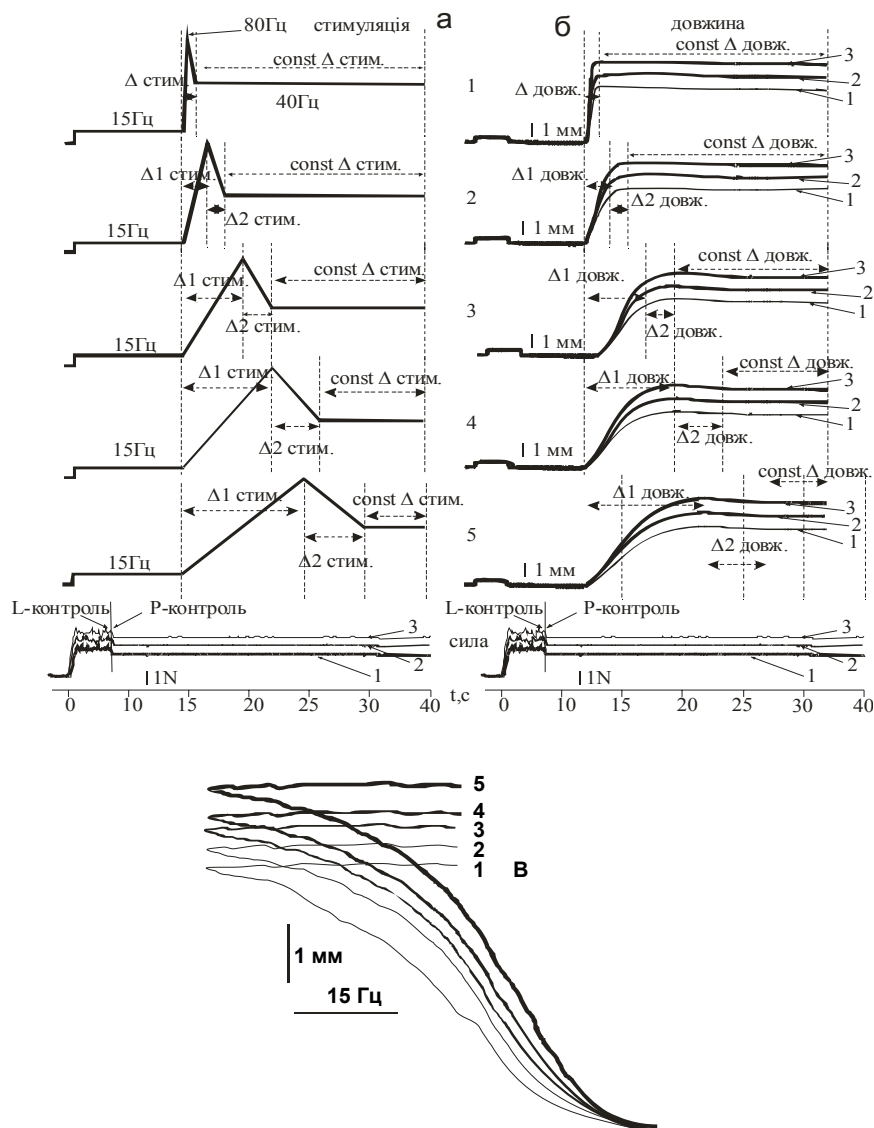


Рис. 1 а,б – зміни довжини скорочення камбаловидного м'язу щура залежно від часу досягнення максимального рівня модульованої стимуляції при різних рівнях прикладеного зовнішнього навантаження.

в – залежності зміни довжини скорочення м'язу від розвинутої сили при різних рівнях прикладеного зовнішнього навантаження, та різних рівнів частоти стимуляційного сигналу. 1, 2, 3, 4, 5 – різні швидкості наростання стимуляції

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 камбало видного м'язу щура відповідно до Δ стим., const Δ довж. – скорочення камбало видного 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), 1, 2, 3 – різні рівні прикладеного зовнішнього механічного навантаження.

Враховуючи ці данні важко припустити, що абсолютна величина переміщення може бути задана ЦНС у вигляді рівня еферентної активності, що надходить до м'язів. Це також підтверджується даними, отриманими на нейронах моторної кори (5), згідно яким активність пірамідних нейронів слабо виявляла пряму кореляцію з величиною переміщення. Подібні реакції спостерігались і на рівні мотонейронів спинного мозку (6), що посилюють рухові команди безпосередньо до м'язів.

На нашу думку, продемонстроване явище гістерезису на кривих залежностей сила-стимуляція, пов'язане з асиметрією генерації сили скорочення саме на післятетанічних ділянках, і здійснюється внаслідок спрацювання різних молекулярних компонентів в елементах скорочувального апарату м'язу на різних фазах скорочення.

Отже, продемонстрована нелінійність протікання різних фаз скорочення показує асиметрію роботи скорочувального апарату внаслідок наявності передісторії руху. На підставі отриманих даних можна зробити висновок про те, що при скороченні м'язового волокна з нативного стану спокою, включаються більш складні молекулярні механізми скорочення порівняно зі скороченням початим зі стану попередньої напруги волокна. Розбіжності в значеннях приросту сили, що спостерігались нами, говорять про наявність складних молекулярних механізмів, на післятетанічних ділянках скорочення. При цьому необхідна наявність постійного міцного зв'язку між активними й м'язовими протофібрилами саме на ділянках скорочення, які відповідають генерації сили у фазах динамічної невідновленості. Можливість такого постійного міцного зв'язку може забезпечувати робота двох голівок міозину по черзі.

1. Мірошниченко Н.С., Ноздренко Д.Н., Залоіло І.А. // Динаміка скорочення ізолюваного м'язового волокна жаби при високочастотній модульованій стимуляції. – Фізика живого. – 2002. – 10, №1. – С. 41-48.
2. Мірошниченко М.С., Ноздренко Д. М Прилуцький Ю.І., Шут А.Н. // Влияние температуры на динамику мышечного сокращения скелетного волокна лягушки, вызванного модулированной электростимуляцией. Фізика живого – 2005 р., Vol. 13, No.1. – С 71-781. 3. 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. 923-9331. 4. Kostyukov A. I., Korchak O. E. // Length changes of the cat soleus muscle under frequency-modulated distributed stimulation of efferents in isotony. – Neuroscience. – 1998. – 82, №3. – P. 943-955.
5. Ноздренко Д.Н., Тальнов А.Н. // Реакції нейронів первинної моторної кори кішки при переході передньої лапи з одного рівноважного положення в інший. // Фізіологічний журнал. Том 48, №2, 2002 р. с. 57-58.
6. Kostyukov A.I. // Muscle hysteresis and movement control: a theoretical study Neuroscience. – 1998. – Mar 83(1). – P.303-20.

Надійшла до редколегії 27.05.09

УДК 612.82/83; 612.821

Н. Філімонова, канд. фіз.-мат. наук, М. Макачук, д-р біол. наук,
Т. Мірошник, канд. біол. наук, К. Качуріна, студ.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ МІЖ ПОКАЗНИКАМИ АСОЦІАТИВНОЇ І ОПЕРАТИВНОЇ ПАМ'ЯТІ У ЖІНОК ТА ЧОЛОВІКІВ

Розроблено комп'ютерний аналог відомих психологічних методик дослідження асоціативної пам'яті людини. Показано, що комп'ютерний тест асоціативної пам'яті за схожістю є валідним при співвідношенні 1 правильне слово до 3 "шумових". Тест асоціативної пам'яті складається з наступних субтестів: асоціації за схожістю (режим тренування); асоціації за схожістю; асоціації за контрастом; асоціації за суміжністю за часом; асоціації за суміжністю за простором та створення асоціативних пар (нелогічні асоціації). Показано, що структура кореляційних взаємозв'язків між показниками оперативної механічної та асоціативної пам'яті є різною у жінок і чоловіків. У чоловіків спостерігається функціональна система оперативної пам'яті на цифри, літери і геометричні фігури. У той же час у жінок така система є тільки на цифри і літери, а оперативна пам'ять на геометричні фігури взаємопов'язана з асоціативною пам'яттю. У чоловіків пам'ять на цифри і літери взаємопов'язана з асоціативною пам'яттю за суміжністю та нелогічними асоціаціями. У жінок функціональна система асоціативної пам'яті є більш широкою і різноманітною. Можливо саме наявність взаємозв'язків між різними функціональними системами, їх менша спеціалізованість є поясненням наявності більш широкої норми реакції у жінок, ніж у чоловіків.

The computer analogue of known psychologic procedures of research of associative memory of the person is developed. It is shown, that the computer test of associative memory on similarity is valid at an interrelation 1 correct word to 3 noise words. Tecm associative memory consists of following subtests: associations on similarity (a training mode), associations on similarity, associations on contrast, associations on a contiguity on space, association on a contiguity on time and building of associative pairs (not logic associations). It is shown, that structure of correlation interrelations between parameters of mechanical and associative memory different at women and men. At men the functional system of operative memory on numbers, letters and geometrical figures is observed. At the same time, at women such system is only on numbers and letters, and operative memory on geometrical figures is interconnected with associative memory. At men memory on numbers and letters is interconnected with associative memory on a contiguity and not logic associations. At women the functional system of associative memory is wider and various. Presence of interrelations between different functional systems is probable, their smaller specialization is an explanation of presence of wider reaction norm at women, than at men.

Вступ. Дослідження когнітивних стилів та їх впливу на різноманітні сторони поведінки людини є одним із найперспективніших напрямків вивчення індивідуальних особливостей особистості. Пам'ять – це когнітивний процес, який являє собою систему впізнання, запам'ятовування, збереження, відновлення та забування здобутого досвіду. Перші спроби науково пояснити феномен пам'яті на психологічному рівні були зроблені асоціативним напрямом психології. Центральним в асоціативній психології є поняття асоціації, що означає зв'язок, поєднання. Під асоціацією розуміється відображення у свідомості людини взаємозв'язку між предметами, явищами дійсності і психічних сприйняття, відчуттями, руховими актами, представленнями і т.д. Механізм асоціації полягає в установленні зв'язку між враженнями, що одночасно виникають у свідомості. Асоціації, як правило, з'являються без активного сприйняття. Залежно від умов, необхідних для їх утворення, асоціації поділяють на такі типи: за схожістю, суміжністю, контрастом та творчі (нелогічні, утворені асоціації) [1-2]. Асоціація за схожістю спостерігається тоді, коли в мозку відображаються зв'язки між предметами, схожими у певному відношенні. Асоціація за суміжністю – це відображення в мозку людини зв'язків між предметами та явищами, які йдуть один за одним у часі (суміжність у часі) або перебувають поряд один з одним у просторі (суміжність у просторі). Асоціації за суміжністю виникають при згадуванні подій, свідком яких була людина, при заучуванні навчального матеріалу тощо. Асоціація за контрастом утворюється при відображенні в мозку людини предметів та явищ об'єктивної дійсності, що пов'язані між собою протилежними ознаками (високий-

низький, швидкий-повільний, веселий-сумний) [1-2]. Крім того, людина має здібність створювати сполучення або об'єднання, які відрізняються від усього, що він будь-коли дійсно переживав (творчі асоціації) [2-3]. Генерування асоціацій ґрунтується на швидкій реакції на слово-подразник. Подібна реакція є глибоко індивідуальною і залежить від інтелекту людини, його темпераменту, умов, психофізіологічного стану і т.д. [3].

Крім того, відомо, що швидкість переробки інформації людиною є функцією обсягу короткочасної пам'яті. Короткочасна пам'ять характеризується відносно коротким часом зберігання інформації (до 30 с), яка губиться по мірі дії часового фактора або через надходження нової інформації, і невеликою кількістю відтворюваних елементів [4]. Як правило, при дослідженні короткочасної пам'яті основним питанням є питання її обсягу. Розроблено комп'ютерні тести визначення обсягу короткочасної пам'яті на цифри, літери та геометричні фігури [5]. Відкритим є питання – чи пов'язані показники механічної оперативної пам'яті з показниками асоціативної пам'яті людини? Для дослідження цієї проблеми було створено комп'ютерний аналог психологічних методик дослідження асоціативної пам'яті людини та проведено комп'ютерне тестування як механічної оперативної, так і асоціативної пам'яті обстежуваних.

Об'єкт та методи досліджень. Метою роботи було створити комп'ютерний аналог відомих психологічних методик дослідження асоціативної пам'яті людини. За класичною методикою обстежуваному пред'являються 15 пар слів з інтервалом 5 с. Після чого через 1 хв. зачитуються перші слова цих пар. Впродовж 10 с обстежувани записують друге слово пари [6]. Визначається

показник ER(контроль) – точність асоціативної пам'яті як відношення кількості помилок до кількості тестових слів. Безпосередній комп'ютерний аналог цієї методики призводить до певних проблем. А саме – на результат тестування впливають навички володіння клавіатурою обстежуваним (в комп'ютерному тестуванні ми визначали і час відповіді) і наявність помилок у словах. Тому запропоновано наступний аналог класичної методики: на екрані монітора обстежуваному пред'являлись 15 пар слів, які він повинен був запам'ятати за 40 с. Через 1 хв. після того, як слова згаснуть, у верхньому прямокутнику послідовно з'являлись перші слова пар. Завдання обстежуваного – не більше, ніж за 60с знайти номер слова, що відповідає парі, набрати цей номер на клавіатурі і натиснути клавішу "ENTER". Але постає питання: скільки повинно бути слів, з яких необхідно вибрати правильне слово. Було розроблено наступні варіанти комп'ютерного тестування: асоціації за схожістю (2) – вибір правильного слова з кількості слів, де крім правильних слів до кожного з них додано ще по два слова (всього 45 слів); асоціації за схожістю (3) – вибір правильного слова з кількості слів, де крім правильних слів до кожного з них додано ще по три слова (всього 60 слів); асоціації за схожістю (4) – вибір правильного слова з кількості слів, де крім правильних слів до кожного з них додано ще по чотири слова (всього 75 слів). Режим одночасного пред'явлення всіх пар було обрано в зв'язку з тим, що літери, цифри і геометричні фігури в тестах оперативної пам'яті також пред'являлись одночасно, а не послідовно [5]. Тому результати тестувань можуть бути порівняні між собою.

В проведеному дослідженні брали участь 50 обстежуваних обох статей віком 18-21 років. Тестування проводилось за наступною схемою: першою була усна класична методика асоціативної пам'яті за схожістю, а далі – послідовно, асоціації за схожістю (2), асоціації за схожістю (3) та асоціації за схожістю (4). За вказаними комп'ютерними тестами та класичною методикою у обстежуваних визначалась відносна кількість помилок ER(2), ER(3), ER(4) та ER(контроль) – кількість помилок, поділена на кількість пред'явлених пар слів.

За критерієм Шапіро-Вілка розподіли ER(2), ER(3), ER(4) та ER(контроль) статистично значущо відрізнялись від нормального ($p < 0,05$), взаємозв'язки між показниками досліджувались за коефіцієнтом кореляції Спірмена: r_s (ER(2) і ER(контроль)) = 0,44 ($p = 0,001$); r_s (ER(3) і ER(контроль)) = 0,62 ($p = 0,002$); r_s (ER(4) і ER(контроль)) = 0,43 ($p = 0,001$). Таким чином, можна стверджувати, що саме комп'ютерний тест асоціативної пам'яті за схожістю (3), тобто при співвідношенні (1) правильне слово до 3 "шумових" є валідним, бо коефіцієнт кореляції вказує на наявність лінійного зв'язку між результатами цього тесту та класичного психологічного тесту асоціативної пам'яті за схожістю. Але залишилось питання: чи є валідним комп'ютерний тест асоціативної пам'яті за схожістю (3) сам по собі, або тільки після походження попереднього тестування. Тому було проведено додаткове дослідження, в якому взяли участь 61 обстежуваний обох статей віком 17-22 років. У обстежуваних за класичною методикою та за комп'ютерним тестом асоціативної пам'яті за схожістю (3) визначали показники ER(3) і ER(контроль). Оскільки за критерієм Ліліфора розподіл показників ER(3) і ER(контроль) статистично значущо відрізнявся від нормального ($p < 0,01$), визначали коефіцієнт кореляції між цими показниками за методом Спірмена $r_s = 0,24$. За цим результатом комп'ютерний тест асоціативної пам'яті за схожістю (3) не є валідним, оскільки коефіцієнт кореляції Спірмена результатів цього тесту з результатами класич-

ної методики дорівнює $r_s = 0,24$. Звідси випливає, що комп'ютерний тест асоціативної пам'яті за схожістю (3) є валідним тільки після проведення попереднього тренувального комп'ютерного тесту. Однак більш уважний аналіз даних показав, що медіана і квартилі ER(3) і в першій серії досліджень і в другій становили 0,13 [0,07; 0,2] відносно кільк. помилок, в той час, як медіана і квартилі ER(контроль) в першій серії становили 0,13 [0,07; 0,27] відносно кільк. помилок, а в другій – 0,06 [0; 0,13] відносно кільк. помилок. Ці факти можна пояснити тим, що перша серія досліджень проводилась на біологічному факультеті, а друга – в межах літньої практики в Каневському заповіднику. Дослідження показали, що усна методика може залежати від умов її проведення, в той час, як комп'ютерний тест виявився абсолютно стійким до змін умов проведення тестування. Таким чином, попереднє тренування не є обов'язковим перед проведенням комп'ютерного тесту асоціативної пам'яті.

В основній серії досліджень брали участь 63 студента біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка обох статей (30 жінок і 33 чоловіка) у віці 20 ± 2 роки. Кожний обстежуваний послідовно проходив наступні комп'ютерні субтести: тест визначення оперативної пам'яті на літери (8-10 хв.), на цифри (10-13 хв.), на геометричні фігури (10-13 хв.) і тест асоціативної пам'яті (10-15 хв.). Тест асоціативної пам'яті складався з наступних субтестів: **асоціації за схожістю (режим тренування)** – асоціації за схожістю (2) (пред'являлись наступні 15 пар слів: чоботи – взуття; голос – співати; шкіра – зморшка; вчитель – урок; дуб – дерево; свято – дарунок; знання – книга; вечір – зорі; лікар – пацієнт; молоко – сметана; костюм – краватка; художник – картина; рука – палець; спортсмен – тренер; телевизор – фільм. Слово, що відповідає першому слову пари треба було вибрати серед 45 наступних, які були розташовані у випадковому порядку: взуття; черевики; кросівки; співати; пісня; говорити; зморшка; обличчя; бородавка; урок; вчити; учень; дерево; лист; крона; дарунок; гість; вітати; книга; читати; учений; зорі; місяць; темрява; пацієнт; лікувати; терапевт; сметана; корова; масло; краватка; піджак; брюки; картина; пензлик; малювати; палець; рукавиці; долоня; тренер; змагання; чемпіон; фільм; новини; екран); **асоціації за схожістю** (аналогічно, пред'являлись наступні 15 пар слів: сонце – світити; ніс – ніздрі; кохання – поцілунок; журналіст – газета; дитина – баньки; обід – борщ; волосся – зачіска; вчений – наука; птах – крило; шлунок – їжа; земля – орати; дорога – асфальт; річка – болото; директор – школа; квітка – троянда. Слово, що відповідає першому слову пари треба вибрати серед 60 наступних: світити; промінь; тепло; літо; ніздрі; нежити; нюхати; запах; поцілунок; почуття; вірність; весілля; газета; стаття; друкувати; репортаж; батьки; малюк; годувати; мати; борщ; суп; вечеря; сніданок; зачіска; перукар; коса; стригти; наука; винахід; інститут; експеримент; крило; голуб; пір'я; літати; їжа; травлення; їсти; кишечник; орати; сіяти; поле; рости; асфальт; їхати; перехрестя; автомобіль; болото; озеро; човен; берег; школа; учень; кабінет; вчитель; троянда; букет; клумба; тюльпан); **асоціації за контрастом** (пред'являлись наступні 15 пар слів: день-ніч; ранок-вечір; сонце-місяць; холод-спека; втіха-журба; кохання-ненависть; вірність-зрада; друг-ворог; радість-сум; низький-високий; товстий-тонкий; щедрий-жадібний; ніжний-грубий; пізній-ранній; молодий-старий. Слово, що відповідає першому слову пари треба вибрати серед 60 наступних: ніч; північ; темін; світанок; вечір; рання; пізно; сутінки; місяць; луна; зірка; зоря; спека; прохолода; духота; тепло; журба; горе; біда; щастя; ненависть; любов; лют;

зневага; зрада; омана; відданість; надійність; ворог; неприязнь; товариш; приятель; сум; печаль; веселість; туга; високий; великий; маленький; здоровий; тонкий; вузький; широкий; повний; жадібний; добрий; скупий; злий; грубий; сердитий; добрий; лагідний; ранній; початковий; кінцевий; вранішній; старий; малий; старший; дорослий); **асоціації за суміжністю за часом** (За 40 с треба було запам'ятати 8 слів у вказаній послідовності. Через 1 с після того, як ці слова згасали, на екрані з'являлись слова, серед яких треба було знайти тестові слова і розташувати їх у відповідній послідовності, набравши на клавіатурі відповідні номери не більше, ніж за 60 с. Пред'являлись слова: рік; місяць; тиждень; день; ранок; обід; вечір; ніч, які треба було знайти серед наступних 32 слів, які було розташовано у випадковому порядку: рік; місяць; тиждень; день; ранок; обід; вечір; ніч; століття; декада; квартал; півріччя; полудень; хвилина; світанок; мить; полуденок; вечеря; зоря; доба; епоха; ера; хвилина; п'ятиріччя; захід; вічність; секунда; минуле; майбутнє; час; північ; квартал); **асоціації за суміжністю за простором** (аналогічно, пред'являлись слова: університет; деканат; факультет; кафедра; аудиторія; кабінет; лабораторія; коридор, які треба було знайти серед наступних 32 слів: університет; деканат; факультет; кафедра; аудиторія; кабінет; лабораторія; коридор; горище; канцелярія; бухгалтерія; каса; гардероб; поверх; ректорат; музей; комора; ліфт; балкон; бібліотека; клас; обсерваторія; зал; сходи; вестибюль; кімната; їдальня; хол; льох; відділ; корпус; буфет) та **створення асоціативних пар (нелогічні асоціації)** (пред'являлись наступні 15 пар слів: компас-клей; дзвінок-стріла; синиця-сестра; мухомор-диван; сандалі-чайник; чашка-газета; пилка-суп; виделка-квітка; сосиска-моло; футбол-понеділок; біфштекс-пісок; кінь-ліжко; качка-туман; монета-айсберг; трикутник-сміх. Слово, що відповідає першому слову пари треба вибрати серед 60 наступних: клей; крем; клуч; стріла; дзвоник; стрілка; стрілок; сестра; горобець; птиця; тітка; диван; гриб; ліжко; дивина; чайник; чоботи; сундук; туплі; газета; журнал; ложка; чаша; суп; борщ; палка; сокира; квітка; троянда; тарілка; ніж; мило; ковбаса; шампунь; м'ясо; понеділок; вівторок; бейсбол; неділя; пісок; сандвіч; каміння; котлета; ліжко; королева; диван; софа; туман; тачка; півень; дурман; айсберг; карета; лід; гривня; сміх; квадрат; плач; сльози). Визначались точність при створенні асоціативних пар – відносна кількість помилок (кількість помилок / кількість тестових слів) і середній час відповідей при створенні асоціативних пар (с). В тестах оперативної пам'яті обчислювались показники розвитку короточасної зорової

пам'яті на літери, цифри і геометричні фігури – це комплексний показник, який враховує кількість помилок та середній час відповіді, та показник точності пам'яті (відносна кількість помилок).

Результати та їх обговорення. Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2001). Оскільки розподіл практично всіх параметрів за критерієм Шапіро – Вілка був відмінний від нормального ($p < 0,05$), взаємозв'язки між показниками досліджувались за коефіцієнтом кореляції Спірмена r_s .

Аналіз отриманих даних проводився окремо для жінок і чоловіків. Це пов'язано з тим, що виходячи з еволюційної теорії статі [7], можна припустити, що відповідні функціональні системи [8], які виявляються наявними кореляційними зв'язками, по-різному проявляються у жінок і чоловіків. За еволюційною теорією вид для більшої стабільності і захисту від шкідливого впливу повинен бути "далі" від середовища, а для отримання корисної інформації про те, як треба змінюватись – "ближче" до середовища. Дві статі по-різному приймають участь в цих двох потоках інформації: генеративному (передача генетичної інформації від покоління до покоління, з минулого в майбутнє) і екологічному (інформації від середовища, з теперішнього в майбутнє). Більш тісний зв'язок чоловічої статі із середовищем забезпечується більшим значенням його фенотипової дисперсії порівняно з жіночою статтю. Вузька норма реакції чоловічої статі примушує чоловіків піддатися інтенсивному відбору, тому чоловіки передають наступному поколінню лише вузьку частину вихідного спектру генотипів, які максимально відповідають умовам середовища в даний момент. Більш широка норма реакції жіночої статі дозволяє їй за рахунок модифікаційної пластичності покинути зони відбору, зберегти та передати нащадкам весь спектр вихідних генотипів [7]. Цей загальний підхід ми запровадимо для аналізу відмінностей між жінками і чоловіками у функціональних системах оперативної, асоціативної пам'яті та взаємозв'язків між ними.

Кореляційний аналіз виявив, що кількість взаємозв'язків між показниками оперативної пам'яті у чоловіків більша ($n = 11$), ніж у жінок ($n = 3$) (Табл.), причому за рахунок наявності зв'язків саме з оперативною пам'яттю на геометричні фігури, які у жінок відсутні. Це може знайти пояснення в рамках еволюційної теорії статі, де показано, що оскільки у чоловіків більше іпсвіолоком, в них краще розвинена стереоскопія і є більш успішною робота із геометричними об'єктами [7]. Можна припустити, що ця властивість еволюційно є більш новою і тому у жінок ще не об'єднана в єдину систему оперативної пам'яті.

Таблиця 1. Кореляційні взаємозв'язки між асоціативною та оперативною пам'яттю

Кореляційні взаємозв'язки між показниками пам'яті у жінок ($n = 30$)		
Показники оперативної пам'яті	r_s	Рівень значущості
Пам'ять на літери (комплексний показник) і Пам'ять на цифри (комплексний показник)	0,51	0,00
Пам'ять на літери (точність) і Пам'ять на цифри (точність)	0,42	0,02
Пам'ять на цифри (комплексний показник) і Пам'ять на цифри (точність)	-0,36	0,05
Показники асоціативної пам'яті		
Асоціативна пам'ять за суміжністю у просторі (час) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі (час)	0,58	0,00
Асоціативна пам'ять (тренування)(час) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(час)	0,55	0,00
Асоціативна пам'ять(тренування)(час) і Асоціативна пам'ять за схожістю (точність)	0,49	0,01
Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(час) і Асоціативна пам'ять за контрастом(час)	0,48	0,01
Асоціативна пам'ять (тренування) (точність) і Асоціативна пам'ять за контрастом(точність)	0,45	0,02
Асоціативна пам'ять за схожістю(час) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(точність)	0,45	0,02
Асоціативна пам'ять (тренування) (час) і Асоціативна пам'ять нелогічна(час)	0,44	0,02
Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(час) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(точність)	0,44	0,02
Асоціативна пам'ять за схожістю(точність) і Асоціативна пам'ять нелогічна(час)	0,43	0,02
Асоціативна пам'ять за схожістю(час) і Асоціативна пам'ять за схожістю(точність)	0,42	0,03
Асоціативна пам'ять (тренування) (точність) і Асоціативна пам'ять за схожістю(час)	-0,40	0,03
Асоціативна пам'ять за суміжністю у просторі(час) і Асоціативна пам'ять за контрастом(час)	0,38	0,05

Закінчення табл. 1

Показники асоціативної та оперативної пам'яті		
Пам'ять на цифри(точність) і Асоціативна пам'ять нелогічна (точність)	0,52	0,00
Пам'ять на геометричні фігури(комплексний показник) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у просторі(час)	0,54	0,02
Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(час)	0,53	0,02
Пам'ять на літери (точність) і Асоціативна пам'ять нелогічна(час)	-0,42	0,03
Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник) і Асоціативна пам'ять за контрастом(час)	0,50	0,03
Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник) і Асоціативна пам'ять за контрастом (точність)	0,48	0,04
Пам'ять на цифри(комплексний показник) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у просторі (точність)	-0,38	0,05
Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі (точність)	0,45	0,05
Кореляційні взаємозв'язки між показниками пам'яті у чоловіків (n = 33)		
Показники оперативної пам'яті		
Пам'ять на літери(комплексний показник)і Пам'ять на літери(точність)	-0,51	0,00
Пам'ять на літери(комплексний показник)і Пам'ять на цифри(комплексний показник)	0,50	0,00
Пам'ять на цифри(точність) і Пам'ять на геометричні фігури (точність)	0,57	0,01
Пам'ять на літери(точність) і Пам'ять на цифри(точність)	0,41	0,02
Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник) і Пам'ять на геометричні фігури (точність)	-0,51	0,02
Пам'ять на цифри(комплексний показник)і Пам'ять на цифри(точність)	-0,38	0,03
Пам'ять на літери(точність) і Пам'ять на геометричні фігури (точність)	0,47	0,04
Пам'ять на літери(комплексний показник) і Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник)	0,47	0,04
Пам'ять на цифри(комплексний показник) і Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник)	0,46	0,04
Пам'ять на літери(комплексний показник)і Пам'ять на геометричні фігури (точність)	-0,44	0,05
Пам'ять на літери(точність) і Пам'ять на геометричні фігури (комплексний показник)	-0,44	0,05
Показники асоціативної пам'яті		
Асоціативна пам'ять нелогічна (точність) і Асоціативна пам'ять за схожістю(точність)	0,49	0,00
Асоціативна пам'ять за контрастом(точність) і Асоціативна пам'ять нелогічна (точність)	0,49	0,00
Асоціативна пам'ять за контрастом(точність) і Асоціативна пам'ять за контрастом(час)	0,30	0,02
Асоціативна пам'ять за контрастом(точність) і Асоціативна пам'ять за схожістю(точність)	0,38	0,03
Показники асоціативної та оперативної пам'яті		
Пам'ять на літери (точність) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(час)	-0,46	0,01
Пам'ять на цифри (точність) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у часі(час)	-0,39	0,03
Пам'ять на цифри (точність) і Асоціативна пам'ять (тренування) (точність)	0,38	0,04
Пам'ять на цифри (точність) і Асоціативна пам'ять нелогічна (час)	-0,36	0,04
Пам'ять на літери (комплексний показник) і Асоціативна пам'ять за суміжністю у просторі (точність)	-0,36	0,04
Пам'ять на літери(комплексний показник) і Асоціативна пам'ять (тренування) (точність)	-0,37	0,04

У той же час, можна припустити, що асоціативна пам'ять є більш стародавньою, бо кількість взаємозв'язків у жінок є більшою ($n = 12$), ніж у чоловіків ($n = 4$), причому у чоловіків виявлено більше взаємозв'язків між асоціативною пам'яттю за контрастом і нелогічною (тобто коли вимагається створення нових асоціацій). У жінок виявлено взаємозв'язки асоціативної пам'яті з показниками режиму тренування, які відсутні у чоловіків. Режим тренування, можливо, виявляє початковий рівень уваги, зосередженості, який у жінок пов'язаний з показниками пам'яті (на відміну від чоловіків). В подальшому ми плануємо дослідити взаємозв'язки уваги і пам'яті у жінок і чоловіків. Треба зазначити, що у жінок більше взаємозв'язків між показниками оперативної механічної та асоціативної пам'яті, ніж у чоловіків. У чоловіків оперативна пам'ять на геометричні фігури взаємопов'язана з оперативною пам'яттю на цифри і літери, у той же час у жінок, оперативна пам'ять на геометричні фігури взаємопов'язана з асоціативною пам'яттю за суміжністю у просторі, часі і за контрастом. У чоловіків спостерігається більше кореляційних взаємозв'язків між показниками оперативної пам'яті на цифри і літери і показниками асоціативної пам'яті.

Висновки. Розроблено комп'ютерний аналог відомих психологічних методик дослідження асоціативної пам'яті людини. Показано, що комп'ютерний тест асоціативної пам'яті за схожістю є валідним при співвідношенні 1 правильне слово до 3 "шумових", при цьому коефіцієнт кореляції вказує на наявність лінійного зв'язку між результатами цього тесту та класичного психологічного тесту асоціативної пам'яті за схожістю. Тест асоціативної пам'яті складається з наступних суб-

тестів: асоціації за схожістю (режим тренування); асоціації за схожістю; асоціації за контрастом; асоціації за суміжністю за часом; асоціації за суміжністю за простором та створення асоціативних пар (нелогічні асоціації). Структура кореляційних взаємозв'язків між показниками оперативної механічної та асоціативної пам'яті є різною у жінок і чоловіків. У чоловіків спостерігається функціональна система оперативної пам'яті на цифри, літери і геометричні фігури. У той же час у жінок така система є тільки на цифри і літери, а оперативна пам'ять на геометричні фігури взаємопов'язана з асоціативною пам'яттю. У чоловіків пам'ять на цифри і літери взаємопов'язана з асоціативною пам'яттю за суміжністю та нелогічними асоціаціями. У жінок функціональна система асоціативної пам'яті є більш широкою і різноманітною. Можливо саме наявність взаємозв'язків між різними функціональними системами, їх менша спеціалізованість є поясненням наявності більш широкої норми реакції у жінок, ніж у чоловіків.

1. Бэн А. Психология // Основные направления психологии в классических трудах. Ассоциативная психология. Эббингауз Г. Очерк психологии. Бэн А. Психология. – М.: ООО "Изд-во АСТ – ЛТД", 1998. – С. 362 – 544.
2. Столяренко Л.Д. Основы психологии. – Ростов-на-Дону : Изд-во "Феникс", 1966. – 290 с.
3. Дружинин В.Н. Эксперимент в психологии. – М.: "ИНФРА", 1997. – 140с.
4. Дружинин В.Н. Экспериментальная психология. – М.: ИНФРА-М, 1997. – 255с.
5. Філімонова Н.Б., Куценко Т.В., Макачук М.Ю. Особливості обробки зорової вербальної та невербальної інформації в оперативній пам'яті людини // Фізика живого – 2006 – Т. 14. – № 3. – С. 75 – 86.
6. Хрестоматия по психологии. – М.: Изд-во Моск. ун-в-та, 1977. – 270 с.
7. Геодакян В. А. Теория дифференциации полов в проблемах человека // Человек в системе наук. – М., 1989. – С. 171-189.
8. Анохин П.К. Узловые вопросы теории функциональной системы. – М.: Наука, 1980. – 196 с.

Надійшла до редколегії 21.01.09

УДК 577.121.7:612.353

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

ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ В МІТОХОНДРІЯХ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВИРАЗКОВИХ УРАЖЕНЬ ШЛУНКА

Показано, що за умов стресової та етанолової експериментальних моделях виразки шлунка в мітохондріях печінки щурів відбувається роз'єднання процесів окиснення та фосфорилювання та зниження їх енергопродуктивності.

It is shown, that at stress and ethanol experimental models of stomach ulcer in liver mitochondria of rats there is disconnection of processes of oxidation and phosphorylation and their reduction of energy production.

Вступ. Актуальною проблемою сучасної гастроентерології є підвищення захворюваності та розповсюдження патології органів травної системи [5]. На сьогоднішній день виразкова хвороба шлунка є поширеним захворюванням органів травлення. Із цієї хвороби виділяють групу гострих симптоматичних виразок, утворення яких пов'язано з впливом на організм людини певного етіологічного фактору (стрес, алкоголь тощо).

Крім шлунка у патологічний процес залучаються інші органи травної системи, серед яких важливе місце займає печінка. Оскільки печінка є центральним органом хімічного гомеостазу, де створюється єдиний обмінний та енергетичний пул для метаболізму білків, вуглеводів та жирів, вона потребує великої кількості енергії для протікання всіх обмінних процесів. Основним джерелом енергії є процеси аеробного окиснення циклу Кребса та аденозиннуклеотиди, утворення яких відбувається в мітохондріях гепатоцитів [2].

Ключовим біоенергетичним процесом в гепатоцитах є окисне фосфорилювання, яке відбувається на внутрішній мембрані мітохондрій. Виникнення мітохондріальної дисфункції є важливим механізмом у розвитку патологічних змін печінки, оскільки гепатоцити є дуже чутливими клітинами до нестачі АТФ, що пов'язано з наявністю в них активного метаболізму.

Тому **метою роботи** було оцінити функціональний стан мітохондрій гепатоцитів щурів за умов експериментальної виразки шлунка.

Матеріали і методи. Досліди проводили на білих щурах лінії Вістар вагою 180-200 г. Для моделювання етанолової моделі виразки шлунка використовували загальноприйнятий метод (щурам перорально вводили 1мл 80% етанолу і через годину декапітували) [8]. Для створення стресової виразки шлунка використовували модель іммобілізаційного водоіммерсійного холодового стресу [9]. Гепатоцити отримували неферментативним

шляхом [3]. Мітохондрії виділяли згідно методу [4] при температурі таючого льоду. Дихання мітохондрій в різних метаболічних станах вивчали полярографічним методом [6]. В якості субстрату окиснення використовували янтарну кислоту в концентрації 5 мМ. АДФ додавали в пробу в кількості 266 нмоль. Вміст білка в кожній пробі визначали за методом Лоурі [7]. Із хроноамперограм розраховували швидкості дихання до внесення АДФ (V_2), в присутності АДФ (V_3) та після вичерпання АДФ (V_4) в $\text{нАт O}_2/(\text{хв} \cdot \text{мг білка})^{-1}$, а також відношення V_3/V_4 – дихальний контроль за Чансом (ДКЧ) і АДФ/О – ступінь спряження дихання та окисного фосфорилювання.

Результати та їх обговорення. При дослідженні функціонального стану мітохондрій гепатоцитів встановлено, що за умов впливу стресового фактору зростала швидкість дихання на 23% по відношенню до контрольних мітохондрій (табл. 1). Інтенсивність мітохондріального окиснення під час фосфорилювання екзогенного АДФ достовірно знижувалась на 11,5%. Швидкість дихання у стані спокою (V_4) зростала на 80% відносно контролю.

При дії етилового спирту спостерігалось статистично значиме зниження швидкості дихання мітохондрій гепатоцитів – на 19%. Також на 42% по відношенню до контролю зменшувалась інтенсивність дихання мітохондрій у фосфорилюючому стані. При цьому при вичерпанні АДФ у стані V_4 швидкість дихання зростала на 15%.

Коефіцієнт дихального контролю Чанса в мітохондріях печінки щурів був знижений на 52% за умов обох експериментальних моделей виразки шлунка. Енергопродуктивність мітохондрій гепатоцитів зменшувалась відносно контролю при стресовій і етаноловій моделях виразки шлунка. Так, коефіцієнт $[\text{АДФ}]/[\text{О}]$ при дії стресу знижувався на 31%, а за умов дії етанолу – на 18%.

Таблиця 1. Залежність впливу ульцерогенних факторів на параметри функціонального стану мітохондрій гепатоцитів щурів

Група тварин	контроль	стрес	етанол
Досліджуваний параметр			
Швидкість дихання V_2 , нАт $\text{O}_2/(\text{хв} \cdot \text{мг білка})$	$20,68 \pm 1,75$	$25,41 \pm 2,12$	$16,82 \pm 1,28$
Швидкість дихання V_3 , нАт $\text{O}_2/(\text{хв} \cdot \text{мг білка})$	$49,84 \pm 3,28$	$44,13 \pm 2,15$	$28,96 \pm 2,59$
Швидкість дихання V_4 , нАт $\text{O}_2/(\text{хв} \cdot \text{мг білка})$	$15,52 \pm 1,06$	$27,92 \pm 2,26$	$17,83 \pm 1,21$
ДКЧ	$3,32 \pm 0,31$	$1,58 \pm 0,13$	$1,61 \pm 0,06$
$[\text{АДФ}]/[\text{О}]$	$1,76 \pm 0,09$	$1,21 \pm 0,06$	$1,45 \pm 0,07$

*- $p < 0,05$ щодо контролю

Отримані результати експериментальних досліджень свідчать, що за умов як стресової, так і етанолової моделі виразки шлунка в мітохондріях гепатоцитів щурів відбувається роз'єднання процесів окиснення та фосфорилювання, яке призводить до виникнення енергетично-

го дефіциту в клітині та зростанню утворення активних кисневих метаболітів. В свою чергу інтенсифікація продукції кисневих радикалів активує реакції перекисного окиснення ліпідів, продукти якого можуть призвести до модифікації ліпідів, білків та ДНК клітини [2].

Висновки. Таким чином, при дії таких ульцерогенних чинників, як стрес та етанол, в гепатоцитах спостерігається мітохондріальна дисфункція, яка спряжена з порушенням енергетичного обміну та внутрішньоклітинним окисним стресом з утворенням надмірної кількості активних форм кисню.

1. Гепатоцит. Функционально-метаболические свойства / И.В. Гулак, А.М. Дудченко, В.В. Зайцев и др. – М.: Наука, 1985. – 270 с. 2. Матюшин Б.Н., Логинов А.С. Активные формы кислорода: цитотоксическое действие и методические подходы к лабораторному контролю при поражениях печени // Клинич. лабор. диагност. – 1996. – №4. – С. 51-53. 3. 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. 4. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – 1989. – Изд-во Моск. Универ. – С. 406. 5. Харченко Н.В. Деякі проблеми сучасної гастроентерології // Укр. мед. часопис. – 2003. – №5(37). – С. 68-74. 6. Chance B., Williams G.R. The respiratory chain and oxidative phosphorylation. – Adv. Enzymol. – 1956. – Vol. 17. – P. 65-134. 7. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randal R.I. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol.193, №1. – P.265-275. 8. Mosnier P., Rayssiguier Y., Motta C. et.al. Effect of ethanol on rat gastric surfactant: a fluorescence polarization study // Gastroenterology. – 1993. – Vol. 104. – P. 179 – 184. 9. Takagi K. and Okabe S. The effects of drugs on the production and recovery process of the stress ulcer // J. Pharmacol. – 1968. – Vol. 18. – P. 9 – 18.

Надійшла до редколегії 22.04.09

УДК.577.3

Д. Ноздренко, канд. біол. наук, О. Руксенас, д-р біол. наук, М. Мірошніченко, д-р біол. наук

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА ДОТЕТАНІЧНУ ДІЛЯНКУ СКОРОЧЕННЯ ПООДИНОКИХ ВОЛОКОН *M. TIBIALIS* ЖАБИ

Досліджено процес розвитку сили скорочення м'язового волокна при зміні температури омиваючого розчину. Показана асиметрія часового плину дотетанічної ділянки скорочення яка виявляє виражену температурну залежність досягнення рівноважного стаціонарного стану.

The process of skeletal muscle fiber force development during the solution temperature changes was investigated. We showed that time duration of undertetanic contraction stage to the equilibrium stationary state depends of the temperature.

Вступ. Дослідження скорочення міофобрил скелетного м'язу [1] та динаміки скорочення поодиноких м'язових волокон жаби в умовах модульованої електростимуляції наростаючої частоти (залежність "сила скорочення – приріст частоти еферентної стимуляції") свідчить про виражений нелінійний характер скорочення [2, 3]. Метою цієї роботи було дослідження динамічних параметрів скорочення м'язового волокна жаби при зміні температури омиваючого розчину з урахуванням нелінійних властивостей м'язового скорочення.

Об'єкт та методи досліджень. 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 режимів (в межах від 5⁰С до 15⁰С) у камері, використовували пристрій, змонтований на основі охолоджуючого кристалу та зворотної термопари. Зміну сили реєстрували тензодатчиком з підсилювачем, а зміну довжини препарату – прецизійним потенціометром, створеним на основі електромагнітного двигуна, до складу якого входив двигун (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 м'язу. Кожна з наведених на рисунках кривих є результатом усереднення серії з 10-ти аналогічних експериментів. Статистичну обробку даних проводили методами варіаційної статистики з використанням t – критерію Стюдента. Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Криві генерації сили, отримані під впливом модульованого стимулюючого сигналу з частотою, що змінювалась від 0 до

30 Гц, при різних температурах омиваючого розчину, наведені на рисунках 1, 2.

На першому етапі лінійного наростання стимулюючого сигналу спостерігався швидкий приріст сили скорочення м'язового волокна, характер якого протягом близько 1000 мс після поодиноких скорочень практично не залежав від температури омиваючого розчину. Слід зазначити, що при утриманні максимального значення сили протягом 500 мс характер посттетанічної ділянки практично залишався незмінним. З цього випливає, що незалежно від температури омиваючого розчину жорсткість м'язового волокна зменшувалась або збільшувалась зі зміною напрямку руху (збільшення або зменшення довжини волокна) рис. 2. Часове запізнення $\Delta t_3 - \Delta t_1$ лінійно зменшувалось з підвищенням температури омиваючого розчину. Відмітимо, що часовий плин приросту сили у випадку збільшення часу генерації максимальної сили (мал. 1,а), зменшувався незалежно від температури. Слід зазначити, що в першому випадку м'язове волокно генерувало максимальну силу на часовій ділянці, яка відповідала зменшенню частоти стимулюючого сигналу (Δt_2), а в другому (рис. 2,а) – максимальна сила відповідала ділянці максимальної частоти стимуляції, що генерувалась близько 400 мс. При цьому часові ділянки Δt_3 в обох випадках були практично однакові.

Таким чином, зниження температури омиваючого розчину викликає зміни в динаміці генерації сили на дотетанічній ділянці, що виявляється в збільшенні часу досягнення максимальної сили незалежно від характеру і частотних характеристик еферентного стимулюючого сигналу. У той же час, загальна силова продуктивність на ділянках, які відповідають як генерації максимальної, так і післятетанічної сили, при зниженні температури омиваючого розчину мала тенденцію до плавного зменшення. У даному випадку фактично спостерігалася явно виражена часова асиметрія встановлення рівноважного стаціонарного стану залежно від температури, що виявляється на ділянках зростання сили, і залежить від напрямку попереднього руху.

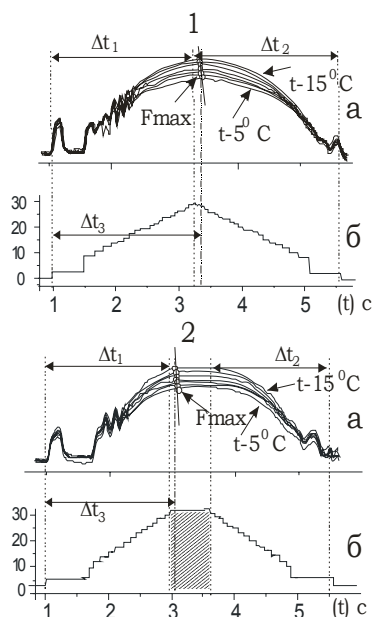


Рис.1, 2. Зміни сили скорочення м'язового волокна при застосуванні модульованого стимулюючого сигналу з частотою, що змінювалась від 0 до 30Гц, і змінної температури омиваючого розчину від 5°C до 15°C.
 (а) – криві зміни сили скорочення м'язового волокна.
 (б) – часове розгортання прикладеної електричної стимуляції.
 □_{t1} – час досягнення максимальної частоти стимулюючих імпульсів при наростаючому характері стимуляційного сигналу. □_{t2} – час зменшення частоти стимуляції від максимального значення 30 Гц до 0 Гц, □_{t3} – усереднений час досягнення силою максимального значення. Вертикальними лініями показані межі завершення зростаючих і початку спадаючих частот стимуляційного сигналу. На кривих зміни сили скорочення м'язового волокна (рис. 1, 2 а), час досягнення максимального значення м'язової відповіді для кожної з застосованих температур омиваючого розчину позначені кільцями через які проведена пряма. Стрілками показані криві зміни силових параметрів волокна при найбільшій (15°C) і найменшій (5°C) температурі омиваючого розчину. Заштрихована область (рис. 2) відповідає періоду утримання максимальної частоти стимулюючого сигналу.
 При застосуванні стимулюючого сигналу з утриманням максимальної частоти (рис. 2,б), час досягнення максимальної

УДК 612.33+612.015.13

сили відповідав ділянці максимальної частоти стимуляції, що генерувалась протягом не більш 100 мс. Слід зазначити, що в даному випадку зменшення ділянки Δt_3 швидше за все викликано збільшенням швидкості наростання стимулюючого сигналу. Очевидно цим можна пояснити незначні часові розбіжності ділянок Δt_3 . Зі збільшенням частоти подразнення, розходження в часі встановлення рівноважного стаціонарного стану при зниженні температури, менш виражені, у той же час загальна генерація силової продуктивності м'язового волокна зменшується. У даному випадку в умовах стимуляційного сигналу максимально наближеного по частотних характеристиках до пула активності мотонейрона, розходження за часом Δt_3 незалежно від температури розчину істотно зменшується.

Слід відмітити що за даних умов стимуляційного сигналу тривалість утримання рівноважного стаціонарного стану відповідала саме ділянкам в періоді лінійного спаду стимуляції. Таким чином, утримання стаціонарної ділянки скорочення значно перевищувало по часу генерацію максимальної частоти подразника. Можна вважати, що запізнення виходу скорочення на стаціонарний рівень компенсується більш тривалим утриманням цього рівня на ділянках лінійного зменшення частоти стимуляції, це в свою чергу веде до залежності швидкості вкорочення не тільки від частоти стимуляції і швидкості її приросту на дотетанічних ділянках, а і швидкості зменшення частоти подразнюючого стимулу.

Отже, часовий перебіг дотетанічної ділянки скорочення поодиноких волокон *m.tibialis* жаби *Rana temporaria* виявляє виражену температурну залежність досягнення рівноважного стаціонарного стану переважно при менших частотах еферентного подразника порівняно з частотою відповідних мотонейронів (25-30Гц).

1. Shimamoto Y., Kono F., Suzuki M., Ishiwata S. // Nonlinear Force-Length Relationship in the ADP-Induced Contraction of Skeletal Myofibrils. – Biophys. J. – 2007. – 93, N12. – Р. 4330-4341. 2. Мірошніченко Н.С., Ноздренко Д.Н., Залоїло І.А. // Динаміка скорочення ізолюваного м'язового волокна жаби при високочастотній модульованій стимуляції. – Фізика живого. – 2002. – 10, №1. – С. 41-48. 3. Мірошніченко Н.С., Ноздренко Д.Н., Прилуцький Ю.І., Шут А.Н. // Влияние температуры на динамику мышечного сокращения скелетного волокна лягушки, вызванного модулированной электростимуляцией. – Фізика живого – 2005 р., Vol. 13, No.1. – С. 71-78.

Надійшла до редколегії 23.02.09

О. Грінченко, асп., Г. Гушинець, канд. біол. наук,
 С. Весельський, д-р біол. наук, П. Янчук, д-р біол. наук

ТАУРИН ПОСИЛЮЄ ШЛУНКОВУ СЕКРЕЦІЮ, СТИМУЛЬОВАНУ ГІСТАМІНОМ

У хронічних дослідів на собаках з фістулами шлунка вивчали вплив амінокислоти таурин на рівень шлункової секреції та хімічний склад шлункового соку. Встановлено, що перорально застосований таурин в дозі 1,2-1,4 мг/кг маси тіла тварини не змінював базальної секреції, однак підсилював шлункову секрецію, стимульовану гістаміном. В цих дослідженнях таурин збільшував вміст соляної кислоти, пепсину і загального білка в шлунковому соці.

In chronic experiments on the dogs with gastric fistulas the influences of amino acid taurine on the level of the gastric secretion and chemical composition of gastric juice were investigated. It was found, that perorally administrated taurine in dose 1,2-1,4 mg/kg the masses of animal body did not alter basal secretion, but increased the gastric secretion stimulated by histamine. In these experiments taurine increased the contents of gastric acid, pepsine and total proteins in the gastric juice.

Вступ. Відомо, що в регуляції діяльності органів шлунково-кишкового тракту, крім нервової системи і гастроінтестинальних поліпептидних регуляторів, важливу роль відіграють амінокислоти [3, 10]. Разом з тим, багато питань стосовно участі амінокислот в регуляції функцій травної системи не піддавались глибокій експериментальній розробці. Відомості літератури щодо впливу амінокислот на секреторну діяльність шлунка недостатні і мають суперечливий характер. До цього часу не здійснено порівняння ефектів амінокислот на шлункову секрецію і не вивчені їх механізми. З'ясування механізму дії парентерально введених амінокислот становить певний інтерес як для дослідників, так і кліні-

цистів, що безпосередньо застосовують парентеральне харчування хворих. Розкриття такого механізму дозволить цілеспрямовано впливати на ефекти, що виникають при застосуванні амінокислот чи їх сумішей, і в необхідних випадках дасть можливість вибору препаратів або з допомогою відповідних фармакологічних засобів послаблювати їх дію на функції травної системи. Великий інтерес біохіміків та фізіологів викликає амінокислота таурин [7]. Ця хімічно стабільна природна сполука тривалий час вважалась метаболічно інертною і розглядалась як кінцевий продукт обміну амінокислот, що містять сірку [9]. Однак, в останні роки показана пряма участь таурину в деяких фізіологічних та патологічних

© Грінченко О., Гушинець Г., Весельський С., Янчук П., 2009

них процесах, що дозволило поставити його в один ряд з важливими біологічно активними речовинами [4, 8]. Дані літератури свідчать про вплив таурину на структури центральної нервової системи [6], імпульсну активність нейронів різних зон головного мозку й інотропний вплив цієї амінокислоти на серцевий м'яз. Також встановлено важливе значення таурину в функціонуванні фоторецепторних клітин сітківки. Великий спектр фізіологічних впливів таурину призвів до використання його в клініці, зокрема при лікуванні епілепсії. Таурин є високостабільною сполукою, що практично не катаболізується в організмі. Незважаючи на те, що ця амінокислота не входить до складу білкових молекул, за виключенням деяких простих пептидів, вона виявлена практично у всіх тканинах організму, причому в деяких з них у відносно високих концентраціях. Найбільша кількість таурину виявлена в збудливих тканинах – ЦНС, серцевому і скелетних м'язах, ендокринній тканині. Особливе місце займають ефекти таурину на секреторні клітини, де його вміст співвідноситься з концентрацією в нервових і м'язових тканинах [5]. Тому метою наших досліджень було вивчити вплив таурину на шлункову секрецію.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проводились на голодних собаках з фістулами шлунка по В.Басову в умовах хронічного експерименту. Тварин брали в дослід після 18-годинної харчової депривації при лужній реакції шлункового вмісту. Секреторну діяльність шлунка стимулювали гістаміном (0,05 мг/кг маси тіла тварини, підшкірно). Шлунковий сік збирали кожні 15 хвилин впродовж 75–120 хвилин спостереження. Вимірювали об'єм кожної проби шлункового соку в мл, визначали в ньому концентрацію вільної соляної кислоти в титрувальних одиницях [1] і концентрацію пепсину та загального білка в мг [2] з послідовним розрахунком дебітів зазначених складових. Спроби без застосування таурину слугували за контроль. Вплив амінокислоти на базальну та стимульовану шлункову секрецію вивчали в досліді з пероральним застосуванням таурину (1,2–1,4 мг/кг маси тіла тварини) за 14 годин до початку експерименту (період виведення близько 30 годин). Отримані цифрові дані статистично обробляли за допомогою пакету прикладних програм "Statistica" з урахуванням t-критерію Стюдента, оскільки всі дані мали нормальний розподіл при перевірці за тестом Шапіро-Уїлка. Статистично достовірними вважалися результати при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Дослідження, проведені нами, засвідчили, що секреторна реакція шлункових залоз собак під впливом таурину без застосування гістаміну практично не відрізнялась від такої без використання амінокислоти. Підчас досліді спостерігалось лише виділення слизу лужної реакції. Згідно даних літератури, характер впливів на секреторні залози шлунка визначається двома типами нервово-гуморальних впливів: пусковими і коригуючими. Пускові механізми переводять залози зі стану функціонального спокою в стан секреторної активності, коригуючі – змінюють рівень секреторної діяльності функціонуючих залоз. Отже, наші результати свідчать про те, що амінокислота таурин не здійснює пускових впливів на шлункову секрецію.

Перш ніж досліджувати рівень шлункової секреції і хімічний склад соку під спільним впливом амінокислоти таурин і стимулятора шлункової секреції гістаміну, ми з'ясували, як змінюється інтенсивність секреції соку у тварин, яким підшкірно вводили гістамін, що і слугувало нам контролем. В результаті проведених дослідів були отримані наступні дані. Встановлено, що гістамін стимулював секреторну активність шлункових залоз у піддослідних собак. Сік починав виділятися на 7–8 хвилині після введення гістаміну. Об'єм шлункового соку, зібраного за перші п'ятнадцять хвилин досліді, становив $13,2 \pm 2,0$ мл. Максимальною секреція була на 16–30 і 31–45 хвилинах спостереження і становила відповідно $24,1 \pm 2,2$ і $20,4 \pm 1,9$ мл. На 76–90 хвилині досліді об'єм секретованого шлункового соку становив $8,3 \pm 2,1$ мл. В наступному 15-хвилинному проміжку досліді секреція шлункового соку різко зменшувалась і через деякий час повністю припинялась. В сумі за дослід об'єм виділеного шлункового соку складав $88,0 \pm 8,2$ мл. В цих дослідіх змінювався і хімічний склад шлункового соку. Так, у тварин в контрольних спробах дебіт вільної соляної кислоти в соці був максимальним на 16–30 і 31–45 хвилинах спостереження та складав $2,6 \pm 0,2$ і $2,5 \pm 0,3$ ммоль/л, а наприкінці досліді зменшувався. Дебіт вільної соляної кислоти за весь час досліді становив $10,2 \pm 1,3$ ммоль/л. Максимальна кількість пепсину виявлялась на 1–15 і 16–30 хвилинах досліді і дорівнювала $6,5 \pm 1,5$ і $7,9 \pm 1,1$ мг відповідно. Наприкінці першої години експерименту кількість ферменту в соці зменшилась до $3,3 \pm 0,8$ мг. Починаючи з 61-ої хвилини і до кінця досліді відмічалось збільшення кількості пепсину в соці. В сумі за дослід дебіт пепсину складав $19,3 \pm 4,2$ мг. Вміст загального білка в шлунковому соці контрольних спроб був дещо підвищеним першу годину досліді (максимальним таке підвищення було в першій пробі і становило $25,5 \pm 5,3$ мг), після чого його рівень знижувався. В сумі за дослід дебіт загального білка в соці становив $55,0 \pm 6,8$ мг.

Як засвідчили наші дослідження, введення гістаміну на фоні дії таурину, коли секреція шлункового соку була відсутня, не змінювало тривалості латентного періоду секреторної реакції шлункових залоз на введення гістаміну. Пероральне застосування таурину впливає на шлункову секрецію, стимульовану гістаміном. Про це свідчить значно більша порівняно з контролем секреція шлункового соку, котра спостерігається впродовж 2,0–2,5 годин після введення собакам гістаміну на фоні дії таурину (Таблиця 1).

Так, таурин впродовж всього досліді підвищував рівень шлункової секреції, стимульованої гістаміном. Від початку експерименту секреторна реакція шлункових залоз поступово зростає і найбільша кількість шлункового соку відмічається через 30 хвилин з моменту введення гістаміну. В пробах, зібраних на 16–30 і 31–45 хвилинах досліді, рівень шлункової секреції на гістамін під впливом таурину підвищувався на 56,1% ($p < 0,05$) і 71,8% ($p < 0,01$) відповідно. Після цього секреторна реакція поступово знижувалась.

Таблиця 1. Зміни показників гістамінової шлункової секреції на таурин у відсотках, $n=28$

Час, хвилини	Об'єм соку	Дебіт вільної НСІ	Дебіт пепсину	Дебіт загального білка
1-15	83,9	163,2	170,1	17,8
16-30	56,1*	91,7**	108,6	38,4
31-45	71,8**	98,0**	143,7	5,6
46-60	103,0**	67,4*	159,2*	13,1
61-75	43,8	72,7	11,6	99,4
76-90	71,0	49,0	29,2	126,0*
91-105	22,9	53,1	25,3	45,5

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ щодо дослідів на гістамін.

Таурин подовжував тривалість секреторної відповіді залоз шлунка на гістамін. Отже, в сумі за дослід під

впливом таурину об'єм шлункового соку в середньому збільшився на 84,7% ($p < 0,001$) щодо контрольних зна-

чень. Гіперсекреторна реакція шлункових залоз собак під впливом таурину супроводжувалась підвищенням у соці дебітів соляної кислоти, пепсину і загального білка. Так, дебіт соляної кислоти в соці тварин при дії амінокислоти зростав вже в першій п'ятнадцятихвилинній пробі після введення стимулятора секреції і перевищував контрольні значення до закінчення досліджу. На 16-30, 31-45 і 46-60 хвилинах спостереження він перевищував контрольні показники на 91,7% ($p < 0,01$), 98% ($p < 0,01\%$) і 67,4% ($p < 0,05$) відповідно. Всього за час дослідження дебіт соляної кислоти в соці підвищився на 109,4% ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Подібно до динаміки змін об'єму шлункового соку і дебіту соляної кислоти змінювався і дебіт пепсину. Зміни вмісту ферменту в шлунковому секреті у собак впродовж досліджу мали чітку спрямованість до підвищення. Більшою мірою збільшення дебіту пепсину спостерігалось в першу годину дослідження. На 46-60 хвилинні спостереження показник збільшувався на 159,2% ($p < 0,05$) щодо контролю. В наступних пробах вміст пепсину зменшувався. За час всього експерименту дебіт пепсину збільшився на 248,4% ($p < 0,01$) порівняно з контролем. Вміст загального білка на фоні дії таурину в секреті був підвищеним впродовж досліджу. В сумі за дослід його вміст в секреті зріс на 77,7% ($p < 0,05$) від контрольного рівня. Таким чином, при стимуляції секреції гістаміном, таурин збільшував в сумі за дослід продукцію шлункового соку на 84,7% ($p < 0,001$), дебіт соляної кислоти на 109,4% ($p < 0,001$), пепсину на 248,4% ($p < 0,01$), загального білка на 77,7% ($p < 0,05$). Аналізуючи отримані нами дані, можна припустити, що вплив амінокислоти таурин на шлункову секрецію має опосередкований характер і може здійснюватись із залученням як нервових, так і гуморальних чинників, які беруть участь у регуляції

шлункової секреції і реалізації коригуючих впливів на секреторну діяльність шлунка в організмі.

Висновки. Амінокислота таурин відіграє важливу роль в механізмах регуляції шлункової секреції у собак, змінюючи об'єм і хімічний склад шлункового соку. Таурин впливає на функціональний стан шлункових залоз, підвищуючи рівень шлункової секреції, стимульованої гістаміном. При цьому в шлунковому соці збільшується вміст соляної кислоти, пепсину і загального білка. Таурин не здійснює пускових впливів на шлункову секрецію поза періодом травлення і є модулюючим фактором в механізмах регуляції стимульованої секреторної діяльності шлунка.

1. Валенкевич В.Н. Методические разработки по функциональным методам исследования желудка и кишки. – Л., 1978. – 31с. 2. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. Под ред. Акад. С.Е. Северина. – М.: Высшая школа, 1980. – 271с. 3. Busque S.M., Kerstetter J.E., Geibel J.P. et al. L-type amino acids stimulate gastric acid secretion by activation of the calcium-sensing receptor in parietal cells // AJP: Gastrointest. Liver Physiol. – 2005. – Vol.289, №4. – P.G664-G669. 4. Gavrovskaja L.K., Ryzhova O.V., Safonova A.F. et al. Effect of taurine and thiocitidine on carbohydrate metabolism and the antioxidant system in rats with experimental diabetes // Eksp. Klin. Farmacol. – 2008. – Vol.71, №3. – P.34-35. 5. Kim S.J., Ramesh C., Gupta H. et al. Taurine-diabetes interaction: from involvement to protection // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2007. – Vol.21, №3-4. – P.63-77. 6. Kozlowski D.J., Chen Z., Zhuang L., Fei Y.J. et al. Molecular characterization and expression pattern of taurine transporter in zebrafish during embryogenesis // Life Sci. – 2008. – Vol.82, №19-20. – P.1004-1011. 7. Liao X.B., Zhou X.M., Li J.M. et al. Taurine inhibits osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells via the ERK pathway // Amino Acids. – 2008. – Vol.34, №4. – P.525-530. 8. Oja S.S., Saransaari P. Pharmacology of taurine // Proc. West Pharmacol. Soc. – 2007. – Vol.50. – P.8-15. 9. Rakotoambinina B., Marks L., Badran A.M., Igliski F. et al. Taurine kinetics assessed using $[1,2-^{13}\text{C}_2]\text{taurine}$ in healthy adult humans // AJP: Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol.287. – P.E255-P.E262. 10. Uneyama H., Nijima A., San Gabriel A. et al. Luminal amino acid sensing in the rat gastric mucosa // AJP: Gastrointest. Liver Physiol. – 2006. – Vol.291, №6. – P.G1163-G1170.

Надійшла до редколегії 12.03.09

УДК 612.018 : 612.351.5 + 612.26

А. Терехов, інж. І кат.,
П. Янчук, д-р біол. наук

ВПЛИВ ГІСТАМІНУ НА КИСНЕВИЙ БАЛАНС ПЕЧІНКИ

В гострих досліджах у наркотизованих щурів гістамін звужує ворітні судини печінки, зменшуючи її кровопостачання, і одночасно пригнічує тканинне дихання в органі, при цьому рівень напруги кисню в ньому майже не змінюється. Вплив гістаміну на тканинне дихання печінки реалізується через H_1 -рецептори.

In acute experiments on anesthetized rats was shown, that histamine constricts portal vessels of the liver, reduces blood flow in the liver, suppresses tissue respiration in this organ. Thus the level of the pressure of oxygen in the liver might grow. Influence histamine on tissue respiration is realized through H_1 -receptors.

Вступ. Гуморальні фактори відіграють важливу роль у регуляції кровообігу печінки. Завдяки адекватному постачанню з кров'ю кисню енергетичного та пластичного матеріалу до функціональних елементів печінки підтримується її висока метаболічна активність. Одним із чинників, який викликає специфічні вазомоторні ефекти в печінці є гістамін. Він утворюється за рахунок декарбоксілювання гістидину ферментом гістидиндекарбоксілазою. Гістамін є фізіологічним регулятором тканинного й імунологічного гомеостазу, слугує універсальним індуктором місцевих процесів, медіатором нервового збудження. Основним депо гістаміну є базофіли і тучні клітини, дещо менший вміст його у тромбоцитах. У останніх гістамін знаходиться у незв'язаному стані, тоді як у тканинах і плазмі крові – у зв'язаному. Виділення гістаміну може бути обумовлене імунологічними та іншими (неспецифічними) механізмами [5].

При внутрішньопортальному введенні гістамін, діючи через специфічні H_1 -рецептори, зменшує локальний кровотік у печінці собак і підвищує ворітний тиск на фоні зниження системного артеріального тиску [4, 7]. Такі зміни печінкової гемодинаміки, на думку авторів, виникають пасивно і є, можливо, результатом порушення відтоку

крові з печінки внаслідок звуження сфінктерів печінкових вен і не викликані активними вазомоторними реакціями артеріальних і ворітних судин печінки [2]. Як наслідок, відбувається перерозподіл внутрішньопечінкового кровотоку та зменшення доставки до гепатоцитів кисню. Подібні висновки робили й інші дослідники [9, 10]. Нашою метою було з'ясувати, яким чином діє гістамін на рівень напруги кисню в печінці та на її тканинне дихання.

Об'єкт та методи дослідження. Робота виконувалась в гострих досліджах на 32 білих лабораторних щурах, масою 200–300 г. Тварин наркотизували шляхом внутрішньобрюшинного введення розчину уретану (1 г/кг).

У піддослідних щурів реєстрували системний артеріальний тиск (САТ) та тиск у ворітній вені (ТВВ). Для цього проводили катетеризацію однієї із загальних сонних артерій та ворітної вени (ВВ). Катетер у ВВ використовували також і для внутрішньопортального введення досліджуваних препаратів. Вільні кінці катетерів під'єднували до датчиків електроманометра ЕМТ-31 (Швеція), за допомогою якого вимірювали тиск у ворітній вені та сонній артерії.

Напругу кисню (pO_2) у печінці щурів вимірювали полярографом LP-9 (Чехія) у хроноамперометричному ре-

жимі при фіксованій напрузі – 0,6 В, використовуючи 2-3 покритих скло платинових (індикаторних) електроди відкритого типу, розташованих у різних ділянках печінки. Як індеферентний електрод використовували стандартний каломельний електрод КФК-3.1М. Калібрували електроди за методикою В. Березовського [1]. Усі показники записували на осцилографі Н071.6М.

Споживання кисню печінкою оцінювали за величиною коефіцієнта швидкості споживання кисню (К), розрахованого за швидкістю падіння напруги кисню в паренхімі печінки під час півхвилинної оклюзії ворітної вени та печінкової артерії [6, 8].

Впродовж досліду у щурів за допомогою електротермометра ТПЕМ-1 внутрішньоректально вимірювали температуру тіла і підтримували її на рівні $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ за допомогою електрообігрівача.

У дослідженнях використовували препарати, які вводили внутрішньопортально через гілку однієї із брижових вен чи безпосередньо у ворітну вену, в дозах: гістамін 8 мкг/кг (Acros Organics, New Jersey, USA), блокатор H_1 -рецепторів тавегіл 25 мкг/кг, адреналін 5мкг/кг (ХВХФО "Здоров'я").

Результати, отримані у дослідженнях, представляли у вигляді середніх значень (М) та відхилень від середнього ($\pm m$). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою аналітичного пакета STATISTICA, використовуючи t-критерій Ст'юдента для результатів, що мали нормальний розподіл, та критерій Вілкоксона для даних, які не мали нормального розподілу. Статистично вірогідними вважали результати із рівнем значущості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Внутрішньопортальне введення гістаміну в дозі 8 мкг/кг викликало підвищення тиску у ворітній вені на 26,7% (від $4,5 \pm 0,4$ мм. рт. ст. до $5,7 \pm 0,6$ мм. рт. ст., $p < 0,01$) та зниження системного артеріального тиску на 39,8% (від $81 \pm 10,94$ мм. рт. ст. до $48,6 \pm 12,97$ мм. рт. ст. $p < 0,05$). На-

пруга кисню в печінці при цьому зменшувалася на 9,5 % (від $21,7 \pm 7,18$ до $19,6 \pm 7,31$ мм. рт. ст.; $p > 0,05$) (рис. 1).

Вихідне значення коефіцієнта споживання кисню печінкою у піддослідних щурів становило $2,62 \pm 0,85 \cdot 10^{-2}$. При внутрішньопортальному введенні гістаміну (8 мкг/кг) коефіцієнт знижувався до $1,75 \pm 0,65 \cdot 10^{-2}$ тобто на 33,25 % ($p < 0,01$).

Часові параметри реакцій системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (ТВВ) та напруги кисню в печінці майже збігалися. Відновлення реакцій також відбувалось майже водночас. Це свідчить про одночасну дію гістаміну як на тонус судин печінки, так і на кисневий баланс органа.

Нас зацікавило питання, а яким чином реалізується дія гістаміну на споживання кисню залозою. Розрізняють три підгрупи гістамінових (H) рецепторів: H_1 -, H_2 - і H_3 -рецептори. Внутрішньопортальне введення блокатора H_1 -рецепторів тавегілу (25 мкг/кг) зумовлювало повне усунення реакцій тканинного дихання в печінці на гістамін. Так вихідне значення К становило $2,23 \pm 1,0 \cdot 10^{-2}$. Після введення гістаміну на фоні дії тавегілу К дорівнював $2,34 \pm 1,08 \cdot 10^{-2}$, що було навіть на 5,6% більше вихідного рівня, але ці зміни були не вірогідні (рис. 2).

Особливістю кровопостачання печінки є подвійне забезпечення її кров'ю із ворітної вени та печінкової артерії. По ворітній вені до печінки надходить 70-90% від загальної кількості крові, що притікає до органа, а решта – по печінковій артерії [3], хоча ці значення можуть ще більше варіювати в залежності від виду тварин і фізіологічного стану організму. Артеріальна кров насичена киснем на 94-97 %, тоді як кров у ворітній вені – лише на 35-60%. Та, незважаючи на те, що рівень оксигенації портальної крові істотно нижчий, ніж артеріальної, більший об'єм крові, що постачається до печінки по ворітній вені, виявляється вирішальним для забезпечення органа киснем [1]. А тому, зазвичай, зменшення кровотоку в печінці супроводжується зниженням рівня pO_2 в ній.

САТ, мм рт. ст.



pO_2 мм рт. ст.



ТВВ, мм рт. ст.



Рис. 1. Запис змін системного артеріального (САТ) та ворітного (ТВВ) тисків і напруги кисню печінки у відповідь на внутрішньопортальне введення гістаміну (8 мкг/кг)

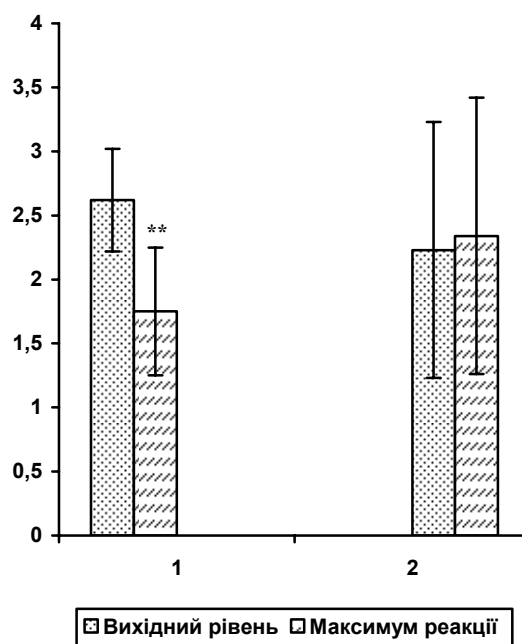


Рис. 2. Вплив внутрішньопортального введення гістаміну (8мкг/кг) на коефіцієнт споживання кисню печінкою до (1) і після (2) блокади H_1 -рецепторів тавегілом (25 мкг/кг)
** – $p < 0,01$

Як засвідчили результати досліджень, проведених нами [2] та іншими дослідниками раніше [7], внутрішньопортальне введення гістаміну одночасно із підвищенням тиску у ворітних судинах зумовлює зменшення кровонаповнення печінки. Але, як засвідчили наші нішні дослідження, гістамін майже не змінює рівень pO_2 в печінці, хоча викликає такі ж само зміни САТ і Твв, як і у попередній серії дослідів. Це спонукало нас до припущення, про можливість пригнічення споживання кисню печінкою під впливом гістаміну. Що, зрештою, і було підтверджено нашими експериментами, результати яких представлені у цій роботі.

Висновки. Внутрішньопортальне введення гістаміну зумовлює звуження ворітних судин печінки, завдяки чому постачання кисню до її функціональних елементів зменшується. Водночас гістамін пригнічує споживання кисню печінкою, як наслідок рівень напруги кисню в ній майже не змінюється. Вплив гістаміну на тканинне дихання печінки реалізується через H_1 -рецептори.

УДК 577.391:311

1. Березовский В.А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. – К., 1975. 2. Комаренко В.І., Терехов А.А., Воробьова А.П., Янчук П.І. Дослідження ролі H_1 -рецепторів у реакціях ворітних судин печінки щурів на гістамін // Вісник черкаського університету. – 2008. – Вип. 128. – С. 54-58. 3. Парин В.В., Меерсон Ф.З. Очерки клинической физиологии кровообращения. – М., 1964. 4. Подгорная Л.А., Чеишвили А.П. Влияние гистамина на локальный кровоток в печени // Проблемы физиологии гипоталамуса. – 1991. – Вып. 9. – С. 151 – 158. 5. Сергеев Ю.В., Новиков П.Д. Опыт применения современных антигистаминных средств в дерматологической практике // Иммунопатология, аллергология, инфектология, N2-2001, с.56-63. 6. Цибенко В.А., Егорова Л. С., Михайлова Н.В. и др. Нейрогенный контроль окислительного метаболизма в печени // Физиол. журн. им. Сеченова. – 1988. -№ 5. – С. 737-745. 7. Цибенко В.А., Янчук П.И., Симоненко П.Н. Применение импедансной плетизмографии для изучения депонирующей функции печени в остром эксперименте // Физиол. журн. – 1984. – Т.30, № 6. – С.756-758. 8. Эпштейн И.М. Прижизненное определение константы скорости потребления кислорода тканями // Митохондрии. Структура и функции в норме и патологии. – М., 1971.-С. 3-8. 9. Lauth W.W., Legare D.J. Effect of histamine, norepinephrine, and nerves on vascular pressures in dog liver // Am. J. Physiol. – 1987. – Vol. 252, Pt 1. – P. 472-478. 10. Rothe C.F., Maass-Moreno R. Hepatic venular resistance responses to norepinephrine, isoproterenol, adenosine, histamine, and ACh in rabbits // Am. J. Physiol. – 1998. – Vol. 274, Pt 2. – P. 777-785.

Надійшла до редколегії 12.03.09

А. Вишневська, студ., В. Ковальова, канд. біол. наук,
Б. Цудзевич, проф.

ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДАЦІЇ ЛІПІДІВ У КЛІТИНАХ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ ШЛУНКА У ЩУРІВ

Встановлено, що при експериментальних моделях виразки шлунка у щурів (етаноловій та стресовій) зростає вміст продуктів пероксидації ліпідів у клітинах підшлункової залози, що свідчить про активацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів не тільки у клітинах слизової оболонки шлунка, але і в інших органах.

It was determined, that lipid peroxidation products content in pancreas cells was increased under ethanol and stress experimental ulceration in rats. These data clarify activation of free radical lipid peroxidation processes not only in gastric mucosal cells, but also in other organs.

Вступ. На сьогоднішній день існує багато несприятливих факторів, що спричиняють хвороби травної системи, зокрема, виразкової хвороби шлунка, що являє собою хронічне захворювання, яке супроводжується появою виразкових дефектів слизової оболонки шлунка. Розвиток виразкової хвороби впливає на інші органи та системи органів, такі як печінка, підшлункова залоза, товста кишка тощо.

При морфологічному вивченні цих органів виявлені істотні зміни. Так, мікроскопічним дослідженням середовища в біопсованій тканині печінки у хворих хронічною виразковою хворобою були виявлені виражені патологічні зміни: жирова й білкова дистрофія, гіперхромазії й поліморфізм печінкових клітин. Зустрічалися вакуолізовані групи клітин, з проявами осередкової дегенерації. Периваскулярний простір був розширений і заповнений еозинофільною рідиною. Відзначена проліферація купферовських клітин [1].

При морфологічному вивченні пунктів підшлункової залози у хворих з виразковою хворобою шлунка спостерігалися різні патологічні процеси. Було відзначено надлишкове розростання сполучної тканини в паренхімі залози з ділянками склерозу й атрофії часток, ліпоматоз і круглоклітинна інфільтрація.

При пенетрації виразки в підшлункову залозу було відзначено деструкції й виражені фіброзно-дистрофічні процеси. При стенозі привратника в паренхімі залози виявлялися дифузійні розростання сполучної тканини з одночасною атрофією залозистих ацинусів, ліпоматозом, склероліпоматозом і круглоклітинною інфільтрацією. Під час загострення виразкової хвороби було відзначено явища набряку, дрібні крововиливи й ділянки некрозу паренхіматозних органів [2]. Морфологічні зміни в печінці

й підшлунковій залозі розвиваються вже на ранніх стадіях захворювання виразковою хворобою шлунка.

Тривалий перебіг захворювання і його ускладнення призводять до більш вираженої патологічної перебудови печінки й підшлункової залози. Розвиток дистрофічних процесів у печінці й підшлунковій залозі при виразковій хворобі потребує проведення специфічної терапії.

Метою даної роботи було визначити вміст продуктів пероксидації ліпідів (шифових основ, дієнових кон'югатів та ТБК-активних сполук) в клітинах підшлункової залози за умов експериментальної виразки шлунка у щурів (етанолової та стресової).

Об'єкти та методи дослідження. Дослідження проводили на щурах лінії Вістар обох статей масою 130-150г. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію. За добу проведення дослідів щури мали доступ лише до води. Стресову модель виразки створювали за методом іммобілізаційного стресу, в модифікації С.Д.Гройсмана та Т.Г.Каревіної, а етанолову за методом Окабе [3]. Клітини підшлункової залози отримували перетиранням її через нейлонову сітку у фізіологічний розчин. Вміст продуктів пероксидації ліпідів визначали спектрофотометричним та флуориметричним методами. Всі показники перераховували на 1 мг білка. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію t за Стюдентом (р).

Результати та їх обговорення. Активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів супроводжується накопиченням продуктів ПОЛ, що пошкоджують структуру мембран епітеліальних клітин та впливають на стан вбудованих у них мембранних комплексів [4].

Інтенсивність пероксидного окиснення (ПО) контролюється системами антиоксидантного захисту, які підтримують вміст продуктів вільнорадикального окиснення у клі-

тинах на безпечному рівні. Стаціонарний рівень ПО є наслідком протидії про- та антиоксидантних стимулів.

У реальних умовах життєдіяльності постійно зберігається небезпека зсуву рівноваги за рахунок активації ПОЛ. Порушення, що виникає у роботі органів та систем супроводжується підсиленням окиснювальних процесів, але завдяки буферним властивостям антиоксидантних систем при нетривалому підсиленні ПОЛ блокується і не проявляється. Але в разі тривалого стану напруження резервна потужність систем недостатня для повної компенсації підсиленого ПОЛ, відбуваються

зміни на користь прооксидантних факторів і окиснювальна деструкція впливає на патологічний процес.

В результаті наших досліджень було встановлено, що за умов розвитку етанолової виразки рівень первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів) зростає в 1,3 рази, кінцевих продуктів (шифових основ) у 1,4 рази, а у тварин, з виразковими ушкодженнями, що викликані стресом вміст продуктів ПОЛ збільшився у 2 та у 1,5 рази відповідно (табл. 1). Підвищені показники вмісту шифових основ вказують на тяжкі ураження клітини.

Таблиця 1. Вміст продуктів пероксидації ліпідів в клітинах підшлункової залози ($M \pm m$; $n=10$)

Групи тварин	Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	Шифові основи, ум. од.
контроль	251,1 $\pm$ 23,9	3,1 $\pm$ 0,2
етанол	337,2 $\pm$ 30,5*	4,2 $\pm$ 0,3*
стрес	520,8 $\pm$ 48,7*	4,5 $\pm$ 0,3*

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

Встановлено, що в клітинах підшлункової залози зростає вміст ТБК-активних сполук. Вміст малонового діальдегіду (МДА) за умов етанолової моделі зростає у 1,2 ра-

зи, а стресової – у 1,3. Спонтанне накопичення, Fe^{2+} +аск.-залежне накопичення МДА та ADP^{+} НАДН $^{+}$ - залежне накопичення МДА достовірно не змінювались (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст ТБК-активних сполук в клітинах підшлункової залози ($M \pm m$; $n=10$)

Групи тварин	Вміст МДА, нмоль/мг білка	Спонтанне накопичення МДА, нмоль/мг білка	Fe^{2+} +аск.-залежне накоп. МДА, нмоль/мг білка	ADP^{+} НАДН $^{+}$ - залежне накоп. МДА, нмоль/мг білка
контроль	130,3 $\pm$ 12,9	178,2 $\pm$ 16,7	226,6 $\pm$ 22,4	324,8 $\pm$ 32,0
етанол	155,4 $\pm$ 15,4*	199,4 $\pm$ 18,5	253,9 $\pm$ 23,9	363,8 $\pm$ 34,3
стрес	179,2 $\pm$ 16,9*	191,9 $\pm$ 18,7	276,5 $\pm$ 26,5	327,7 $\pm$ 30,9

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

Висновки. На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що при експериментальних моделях виразки (етанолової та стресової) відбувається активація ПОЛ в клітинах підшлункової залози, що супроводжується підвищенням вмісту продуктів пероксидації ліпідів.

1. Азаров Г.В. Соколов Л.К. Гуленков С.И. Особенности клинко – эндоскопической диагностики в условиях диспансеризации. Рос. Журнал гастроэнтеролог. 1995. – т 5. – с 50-53. 2. Климов П.К. Функциональные взаимосвязи в пищеварительной системе. – Л., 1976. 3. Справочник практического врача по гастроэнтерологии // Под ред. академика РАМН профессора В.Т. Ивашкина, заслуженного деятеля науки РФ профессора С.И. Рапопорта. – М.: Советский спорт, 1999. – 432 с. 4. Коротко Г.Г. Фаустов Л.А. Функциональные и морфологические аспекты язвенной болезни. – Краснодар, 2002. – С.154-158.

Надійшла до редколегії 05.06.09

УДК:612.821:612.6.05

Р. Локтєва, канд. біол. наук

ОЦІНКА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ ПОКАЗНИКІВ ЕФЕКТУ СТРУПА З ПОКАЗНИКАМИ ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ ЛЮДИНИ

Встановлено, що показники ефекту Струпа достовірно корелюють як з функціональною рухливістю нервових процесів, так і з точністю реакції на рухомий об'єкт, які, в свою чергу, достовірно корелюють між собою. Отже, взаємозв'язок показників ефекту Струпа з показниками психофізіологічних функцій існує.

Shown that effect Stroop's signs statistically correlated so with functional agility of nervous system, so with reaction precision on the motive object, which, in it turn, statistically correlated with each other. Therefore, it's connection between effect Stroop's signs and human psychophysiological indexes.

Вступ. Явище ефекту Струпа було відкрито у 30-х роках минулого століття [4]. Його вивчення набуває особливої актуальності зважаючи на те, що дослідження саме цього феномену дає можливість дослідити фізіологічні механізми функціональної асиметрії мозку, оцінити діяльність I-ої та II-ої сигнальних систем та одночасну їхню роботу, оскільки в кожному такому подразнику поєднується і вербальна, і невербальна інформація. Даний ефект полягає у тому, що при пред'явленні слів, які означають той чи інший колір при співпаданні кольору і його назви (наприклад, слово "Червоний" пред'являється червоним кольором), швидкість сенсомоторної реакції на такий подразник є вищою, ніж при пред'явленні слова, значення і колір якого не співпадають (наприклад, слово "Червоний" – білим кольором). Цей феномен пізніше отримав назву "ефектом

Струпа" (ЕС) на честь автора цього відкриття. Слід зауважити, що автор винаходу та його послідовники вивчали цей феномен за латентними періодами викликанних потенціалів головного мозку [4]. На кафедрі фізіології людини і тварин розроблена спеціальна комп'ютерна програма, яка дозволяє дослідити ефект Струпа за латентними періодами сенсомоторних реакцій лівою та правою руками [2]. Тому метою даної роботи було проаналізувати ефект Струпа за допомогою цієї комп'ютерної програми та знайти взаємозв'язки з деякими показниками психофізіологічних функцій людини.

Об'єкт і методи дослідження. У 62 практично здорових осіб віком 18-25 років обох статей за спеціально створеною на кафедрі фізіології людини і тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка комп'ютерною програмою [2] визначали показники

© Локтєва Р., 2009

ЕС: латентні періоди (ЛП) сенсомоторних реакцій (мс) при пред'явленні: 1 – словесного подразника відповідного значення (СВЗ), 2 – словесного подразника протилежного значення (СПЗ); кількість помилок (у %) при реакції на 1 – словесний подразник відповідного значення (КП_{СВЗ}), 2 – словесний подразник протилежного значення (КП_{СПЗ}), що може свідчити про працездатність головного мозку при пред'явленні даних стимулів. За цією ж програмою визначали наступні психофізіологічні показники: функціональну рухливість нервових процесів (ФРНП, мс); коефіцієнт сили нервової системи (КСНС, відн. од.); працездатність головного мозку (ПГМ, % помилок); точність реакції на рухомий об'єкт (ТРРО, відн.од.). Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакету програм "STATISTICA" [1]. Розподіл даних досліджувався на нормальність за допомогою критерію Ліліфора. Оскільки частина даних розподілена ненормально, то всі величини представлені у вигляді медіани, верхнього та нижнього квартилю, мінімального та максимального значення. Для встановлення кореляційних зв'язків між показниками використовували коефіцієнт кореляції Спірмана, оскільки частина даних розподілена ненормально [3].

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що середні значення реакції відповіді на СВЗ були меншими, ніж на СПЗ (530,5 [491;575] мс та 575 [505;621] мс відповідно). Це говорить про те, що у разі поєднання першо- та другосигнального подразників, які співпадають, реакція людини стає швидшою. Навпаки, коли вербальний та невербальний подразники не співпадають, людина повільніше реагує на словесний подразник протилежного значення, що узгоджується з даними інших авторів [4, 5].

Застосування кореляційного аналізу виявило, що швидкість реакції як на СПЗ, так і на СВЗ достовірно корелює з функціональною рухливістю нервових процесів ($r=0,30$ та $r=0,31$ відповідно; $p=0,016$). Отже, чим вища рухливість нервових процесів у людини, тим швидше вона реагує на словесні подразники як відповідно, так і протилежного значення.

Нами також виявлена слабка достовірна кореляційна залежність показників ефекту Струпа з точністю реакції на рухомий об'єкт, причому дані кореляційного аналізу для СВЗ та СПЗ співпадають ($r=0,25$; $p=0,05$), що

вказує на зв'язок між ефектом Струпа та врівноваженістю нервових процесів людини. Це дало змогу припустити, що ТРРО також пов'язана з рухливістю нервових процесів. А виявлена нами наявність хоч і слабого, але достовірного кореляційного зв'язку між ФРНП та ТРРО ($r=0,24$; $p=0,05$) підтвердила зроблений нами висновок. Рис.1 наочно відображає взаємозв'язок психофізіологічних показників з показниками ефекту Струпа.

Таким чином, результати нашого дослідження показали, що існує взаємозв'язок показників ефекту Струпа та психофізіологічних функцій людини.

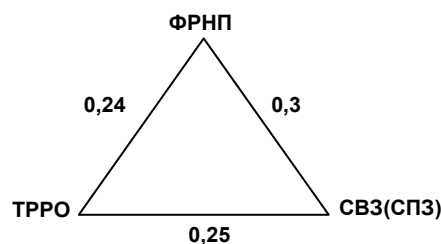


Рис.1. Потрійна кореляційна залежність між точністю реакції на рухомий об'єкт (ТРРО), функціональною рухливістю нервових процесів (ФРНП) та показниками ефекту Струпа – словесним подразником відповідного (СВЗ) та протилежного (СПЗ) значення

Висновки. Встановлено, що показники ефекту Струпа достовірно корелюють як з функціональною рухливістю нервових процесів, так і з точністю реакції на рухомий об'єкт, які, в свою чергу, достовірно корелюють між собою. Отже, взаємозв'язок показників ефекту Струпа з показниками психофізіологічних функцій існує.

1. Боровиков В.П. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. – СПб: Питер, 2003. – 688 с. 2. Костенко С.С., Локтева Р.К. Оцінка діяльності першої та другої сигнальних систем людини // Вісник КНУ ім. Т. Шевченка. – 2000. – Вип.32. – С. 31-34. 3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с. 4. Atkinson C. M., Drysdale K.A., Fulham W.R. Event-related potentials to Stroop and reverse Stroop stimuli // Int. J. Psychophysiology. – 2002. – Vol.6. – P.1-6. 5. Virzi R., Egeth S. Neuropsychological Model of the Stroop Effect // Cognitive brain research. – 2004. – Vol.17, № 4. – P. 10-16.

Надійшла до редколегії 25.05.09

УДК 577.155:617

Я. Руденко, студ.,
В. Ковальова, канд. біол. наук

МОРФОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ ШЛУНКА

В статті розкриті сучасні погляди на виразкову хворобу шлунка, її причини та патогенез. Висвітлені біохімічні, морфологічні та функціональні аспекти цієї хвороби. Доведено, що виразкова хвороба шлунку є системним захворюванням, що зумовлює порушення всього організму.

This article illustrates modern views on the stomach ulceration, its causes and pathogenesis. Biochemical, morphological and functional aspects of this disease have been described. In this article is shown that stomach ulcer is a systemic disease which causes violations in the whole organism.

Виразкова хвороба шлунка – хронічне рецидивуюче захворювання, при якому в результаті порушень нервових і гуморальних механізмів в шлунку або дванадцятипалій кишці утворюється виразка (рідше дві виразки і більше). Ця хвороба є дуже поширеною в світі. За різними літературними даними вона вражає від 1% до 15% населення. На сьогоднішній день виразка шлунка розглядається як передраковий стан. Хоча багато дослідників скептично відносяться до можливості малигнізації виразок, більшість хірургів є прихильниками теорії злоякісності, приводячи дані про малигнізацію 10-20% хронічних виразок шлунка. В продовж останніх років спостерігається збільшення кількості пацієнтів, які

страждають як на виразкову хворобу, так і на початкові форми раку шлунка. Так чи інакше, хворих з виразкою шлунка включають в групу ризику стосовно можливості розвитку раку. Рак шлунка в свою чергу відноситься до однієї з найчастіших злоякісних неоплазій у всьому світі. В Україні рак шлунка залишається одним з найпоширеніших пухлинних захворювань. Щорічно в країні виявляється 16–17 тисяч хворих з цією патологією. До сьогодні достеменно не зрозумілими залишаються ті біохімічні та функціональні зміни на рівні клітин, органу та організму в цілому, що викликають ті морфологічні порушення, які ми вважаємо виразковою хворобою. Поки що не розроблено методики лікування яка б могла

© Руденко Я., Ковальова В., 2009

ефективно лікувати виразку, не переводити її в хронічну та не мати при цьому високого ризику малігнізації запалення слизової оболонки шлунка, що розвивається при виразці. Є нагальна потреба в дослідженні цієї хвороби, зважаючи на те, що лише в Україні загалом нараховується понад 4 мільйони пацієнтів з виразковою хворобою шлунка і дванадцятипалої кишки [1].

Під час обговорення етіології виразкової хвороби беруть до уваги ряд факторів, які, як прийнято вважати, сприяють розвитку хвороби та її загостренню:

- 1) тривале або часто повторюване нервово-емоційне перенапруження (стрес);
- 2) генетична схильність, у тому числі стійке підвищення кислотності шлункового соку, що залежить від конституції людини;
- 3) наявність хронічного гастриту, дуоденіту, функціональних порушень шлунка й дванадцятипалої кишки гіперстенічного типу (передвиразковий стан);
- 4) порушення режиму харчування;
- 5) паління;
- 6) вживання алкогольних напоїв, деяких лікарських засобів, у тому числі нестероїдних протизапальних препаратів (NSAID) (ацетилсаліцилова кислота, бутадіон, індометацин та ін.) [2].

Морфологічним субстратом виразкової хвороби є хронічна рецидивуюча виразка. До місцевих механізмів виразкоутворення у тканинах шлунка відносять зниження захисного слизового бар'єра в результаті запалення слизової оболонки шлунка (СОШ), порушення слизоутворення, регенерації покривного епітелію, кровообігу й локального синтезу простагландинів. Також сприяють виразкоутворенню уповільнення й нерегулярність евакуації шлункового вмісту, тривалий антральний стаз хімуса, дуоденогастральний рефлюкс із зворотним плином жовчних кислот і ізолецитинів, що руйнують слизовий бар'єр і викликають утворення виразкового дефекту під впливом пепсину.

Виразкоутворення в пілородуоденальній слизовій оболонці (СО) пов'язують з тривалою гіперпродукцією соляної кислоти і пептичним протеолізмом, обумовленим гіперваготонією, гіпергастринемією та гіперплазією головних залоз шлунка, гастродуоденальною дисмоторією, неефективною нейтралізацією вмісту шлунка мукоїдними субстанціями й лужним компонентом дванадцятипалої кишки, тривалим локальним закисленням пілородуоденального середовища. Вірогідність розвитку виразкової хвороби підвищується при поселенні в шлунку *HELICOBACTER PYLORI* [3].

Серед гормональних факторів мають важливе значення розлади діяльності гіпофізарно-наднирничкової системи й функції статевих гормонів, а також порушення утворення гормонів травної системи (гастрину, секретину, ентерогастрону, холицистокініну – панкреозиміну та ін.), порушення обміну гістаміну й серотоніну, під впливом яких різко зростає активність кислотно-пептичного фактора. Певну роль відіграють спадкові конституціональні фактори (спадкова схильність зустрічається серед хворих на виразкову хворобу в 15-40% випадків) [1].

В своєму розвитку виразка проходить стан ерозії, гострої виразки, та хронічної виразки, тому ці ураження розглядають як послідовні стадії розвитку виразкової хвороби [1]. В розвитку виразки та переході її в хронічну виділяють 3 основних фактори: 1) вегетативний – нервовий фактор, що призводить до порушення секреторних та моторних функцій шлунку; 2) дія цього ж фактора на судинну систему спричинює неправильне її функціонування, що призводить до виникнення зони деструкції в слизовій оболонці шлунка (СОШ) 3) пептичний фактор завершує формування виразки, погіршує її регенерацію, відіграє провідну роль у розвитку ускладнень.

Під некротичними масами розташоване дно гострої виразки, утворене м'язовим шаром, іноді серозною оболонкою. Воно забарвлене в брудно-сірий або чорний колір завдяки домішкам солянокислого гематину. В самій зоні дна м'язовий шар може бути дуже сильно пошкоджений, або навіть зовсім зруйнований [7]. Тоді можуть розвиватися такі ускладнення, як кровотеча, прорив стінки або проникнення (пенетрація) у навколишні органи й тканини.

Процес розвитку гострої виразки найчастіше закінчується самозагоєнням, що супроводжується слабовираженою тенденцією до розвитку сполучної тканини. Відбувається поступове заповнення виразкового кратера грануляційною тканиною. Вона вкривається епітелієм, що походить з країв виразки. В процесі регенерації можуть утворюватись рубці зірчатої або лінійної форми. Іноді рубець не утворюється і тоді місце колишньої виразки встановити важко. Загоєння виразок малої кривизни шлунка (навіть так званих "гігантських виразок") відбувається легше, ніж виразок привратника й дванадцятипалої кишки. В разі порушення репаративних процесів розвивається хронічна виразка.

Хронічна виразка шлунка буває, звичайно, одинична. Для таких виразок характерна овальна або округла форма і розміри від декількох міліметрів до 5-6 см. Пошкодження проникає в стінку шлунка на різну глибину, доходячи іноді до серозного шару. Дно виразки гладеньке, іноді гранулярне, краї валикоподібно підняті, щільні, оmozолені (кальозна виразка). Край виразки, повернутий до стравоходу, часто нахилений під від'ємним кутом і слизова оболонка нависає над дефектом. Край, що повернутий до привратника, пологий, має вигляд тераси, сходи якої утворені шарами стінки – слизовою оболонкою, підслизовим і м'язовим шарами. Такий вигляд країв пояснюється зсувом шарів при перистальтиці шлунка, що йде від стравоходу до привратника. Серозна оболонка в області виразки зазвичай потовщена, може бути спаяна з прилеглими органами – печінкою, підшлунковою залозою, сальником, поперечно-ободовою кишкою. Дно виразки складається з декількох шарів: поверхневого фіброзно-некротичного, фіброзного, грануляційного й сполучнотканинного. Значні зміни мають місце в судинах, що розташовуються в зоні виразки: потовщення стінок, гіаліноз і облітерація. Це погіршує трофіку тканин та їх здатність до загоєння дефекту. Різні зміни виявляються також у нервових волокнах, що розташовані навколо виразки. У зоні власне шлункових залоз (в області дна шлунка) переважають зміни, характерні для хронічного гастриту, у дистальних відділах шлунка нерідко виявляються ознаки атрофічного гастриту з явищами кишкової метapлазії. Гістологічна картина хронічної виразки шлунка в різні періоди перебігу виразкової хвороби змінюється. У період ремісії в краях виразки розвивається рубцева тканина. Слизова оболонка по краях потовщена, гіперплазована. В області дна помітно пошкоджений м'язовий шар і сполучну рубцеву тканину, причому дно виразки може бути вкрито тонким шаром епітелію. У рубцевій тканині багато судин (артерії, вени) з потовщеними стінками. У багатьох судинах просвіти звужені або облітеровані за рахунок проліферації клітин інтими (ендоваскуліт) або розростання сполучної тканини. На самому дні виразки можна побачити судини, що кровоточать або затромбовані. Крововтрати відбуваються переважно з артерій (вінцеві шлунка, селезінкова, гастродуоденальна). Для вен шлунка характерний профілактичний тромбоз, тому крововтрати із них практично не відбуваються. Відбуваються дистрофічні зміни й розпад нервових волокон і гангліозних клітин. Іноді в дні виразки серед рубцевої тканини спостерігається розростання нервових волокон за типом ампутаційних невром. У період загострення

виразкової хвороби в області дна й країв виразки з'являється широка зона фібриноїдного некрозу. На поверхні некротичних мас розташовується фібринозно-гнійний або гнійний ексудат. Зону некрозу обмежує грануляційна тканина з більшою кількістю тонкостінних судин і клітин, серед яких багато еозинофілів. Глибше, під грануляційною тканиною, розташована грубоволокниста рубцева тканина [1, 3].

Про загострення виразки свідчать не тільки ексудативно-некротичні зміни, але й фібриноїдні зміни стінок судин, відбуваються тяжкі деструктивні зміни (дегенерація і некробіоз) судини знаходяться в стані значного кровонаповнення, що супроводжується утворенням тромбів у їхніх просвітах. Має місце стаз капілярів, мукоїдне й фібриноїдне набрякання рубцевої тканини в дні виразки, загальний набряк строми. Таким чином, загострення виразкової хвороби навіть за умов успішного загоєння веде до посилення рубцевих змін у шлунку й збільшує порушення трофіки його тканин, у тому числі й новоутвореної рубцевої тканини, яка при черговому загостренні виразкової хвороби легко руйнується. Виявляються розростання нервових волокон в області виразки. В її краях відзначається гіперплазія й дисплазія проліферуючого епітелію. Хімічне пошкодження сенсорних нейронів негативно відображається на гоєнніх хронічних виразок [4]. В ході запально-спаєчного процесу може утворюватися пухлиноподібний інфільтрат, настільки схожий на злоякісні пухлиноподібні новоутворення, що може викликати діагностичні помилки під час операції. Характерні зміни при виразковій хворобі спостерігаються також у зонах, віддалених від виразки [1, 3]. При виразковій хворобі з локалізацією виразки в шлунку в антральному відділі й в області країв виразки в порівнянні з нормою зростає лімфоїдно-кишкова інфільтрація власної пластинки, збільшується число клітин, що секретують переважно IgG. Скупчення таких же клітин виявлено в сполучній тканині дна виразки. Тобто при виразковій хворобі шлунка збільшується активність імунної системи. Це викликано антигенними властивостями продуктів розпаду дна виразки, вірусів і мікроорганізмів, а також утворенням аутоантитіл. При дуоденальних виразках в СОШ відбувається гіперплазія власне шлункових залоз, збільшується кількість головних гранулоцитів, а також майже вдвічі, порівняно з нормою, збільшується кількість парієтальних гранулоцитів. Встановлено, що поряд з гіперплазією залоз відбувається їх прискорена диференціація. Як наслідок, збільшується кількість зрілих функціонально-активних HCl-секреторних клітин. У хворих з дуоденальною виразкою відзначають також гіперплазію клітин, що продукують гастрин, кількість яких майже вдвічі вище, ніж при виразці шлунка.

Гістологічні й гістохімічні особливості СОШ залежать від форми захворювання (гостра або хронічна виразка), а вираженість цих змін зростає при тривалому хронічному розвитку захворювання, особливо у хворих з частими загостреннями виразкової хвороби. Розлади тканинного метаболізму проявляються порушенням вмісту й розподілу в епітеліальних й сполучнотканинних структурах слизової тіла шлунка кислих і нейтральних мукополісахаридів, білково-ліпоїдних комплексів, нуклеїнових кислот (РНК і ДНК), кальцію.

В слизовій оболонці навколо самої виразки зазвичай виявляються зміни, що характеризують структурну перебудову шлунка [3]. Ці зміни включають в себе як атрофічні, так і регенераційні процеси у вигляді локального або дифузного потовщення слизової. Була відмічена гіперплазія залозистих трубок, великі епітеліальні клітини, що містилися в собі мукоїдні гранули. Відмічена постійна і досить виражена лейкоцитарна інфільтрація. Це свідчить про активне секретотворення. Клітини, що розташовані в зоні країв виразки мало диференційова-

ні, їх тип важко визначити. Вважають, що це є ознакою посиленої регенерації. У всіх зонах СОШ спостерігаються дистрофічні й некробіотичні процеси та порушення гемомікроциркуляції.

Відзначені також дистрофічні зміни клітин СОШ: у поверхневому епітелії й додаткових клітинах спостерігається зниження вмісту секреторних гранул, набрякання й розпад мітохондрій. У головних клітинах з'являються лізосоми й своєрідні вакуолі, що виникли в результаті лізису частини цитоплазми. Характерний також інтенсивний розвиток структур, що беруть участь у секреторному процесі (при підвищеній кислотності): збільшення зимогенних і мукоїдних гранул у головних і мукоїдних клітинах, інтенсивний розвиток апарату Гольджі, везикулярних пухирців, мітохондрій і мікроворсинок в обкладкових клітинах. Спостерігається збільшення різних за електронною щільністю гранул в клітинах, що продукують гастрин [1].

Мають місце дегенеративні й деструктивні зміни в органелах, такі як набряк та зміна кількості і форми мітохондрій, часто з проявами мікронекрозу, особливо в мітохондріях головних, мукоїдних клітин фібробластів; злищування рибосом з мембран гранулярного ЕПР, поява аутофагічних вакуоль, цитолізом, а також значна вакуолізація клітин слизової пластинки. Частіше, порівняно з нормою, зустрічаються плазматичні клітини й різко змінені фібробласти з розширеними цистернами гранулярного ЕПР й округлими вакуолями, вкритими гранулярним ретикуломом. Навколо таких клітин, а іноді й всередині них, утворюються колагеноподібні структури. Відмічена загальна мукоїдизація СОШ.

Отже, має місце порушення в енергоутворюючій і білоксинтетичній системах. Значні порушення структури судинної стінки створюють умови для розвитку явищ підвищеної проникності. Тобто наявні глибокі дистрофічні зміни в СОШ.

На відміну від морфологічних, цитологічних і гістологічних змін при виразці, біохімічний механізм розвитку цих змін залишається ще досі погано вивченим. Попередніми дослідженнями з'ясовано, що в клітинах СОШ відбуваються всі ті зміни, які характерні для запалення будь-якої тканини. При аспіриновій, стресовій та етаноловій моделях виразки шлунка у щурів провідним фактором виразкоутворення вважається пероксидація ліпідів а порушення ліпопероксидного гомеостазу в цілому обумовлене виснаженням антиоксидантної системи. Виявлені зміни ліпідного складу плазматичних мембран клітин СОШ, які свідчать про пошкодження структури мембран, призводять до порушення її функцій, а саме до зміни активності мембранозв'язаних ферментів та порушення в системі функціонування циклонуклеотидзалежних, Ca^{2+} -фосфоліпідзалежних та тирозинових протеїназ. Ці зміни різнонаправлені за різних умов виразок, що, можливо, пов'язано зі змінами функціонування Са-поліфосфоінзитидного та аденілатциклазного месенджерних каскадів. Встановлено, що тирозинової протеїнази є чутливим ланцюгом в каскадах трансдукції сигналів та відіграють провідну роль в інтеграції зовнішніх і внутрішніх стимулів при виразкоутворенні. Виявлено позитивний вплив на показники досліджуваної системи біологічно-активних речовин (сквалену і меланіну). На підставі експериментальних результатів запропоновано їх використання як основи при розробці фармакологічних препаратів для комплексного лікування та профілактики виразкової хвороби [5].

Проводилися дослідження, що вивчали біохімічні зміни на тканинному рівні, в СОШ. Загалом. Так, було встановлено збільшення вмісту N-ацетилнейрамінової кислоти, гексоз зв'язаних з білками, кислотних глюкозаміногліканів, сіалових кислот та фукоз в СОШ та сироватці крові з одночасним зростанням протеолітичної

ферментативної активності в них [6]. Неколагенові білки та протеолітичні ферменти мають важливе значення в забезпеченні опору слизової оболонки шлунка та в механізмах розвитку стресової виразки [6].

При утворенні стресових виразок відзначені зміни складу шлункового слизу вільної і повної кислотності та небілкового сульфгідрильного вмісту. Виявлено, що надлишкова продукція NO посилює розвиток виразки. При стресових виразках також відзначена підвищена продукція шлункового соку з нормальною кислотністю [6]. Стать тварин при експериментальному виразкоутворенні не впливає на перебіг хвороби. Простагландин, синтезований циклооксигеназою-1 має важливе значення у підтриманні цілісності СОШ. Вивільнення під час стимуляції капсаїцин-чутливих аферентних волокон таких нейротрансмітерів як кальцитонін-генетично подібний білок (calcitonin gene-related peptide (CGRP)) та наступна інтенсифікація руху крові в СОШ запобігають пошкодженню тканин шлунка. [4]. Капсаїцин уповільнює кислотну секрецію, стимулює основну, секрецію слизу та дуже сильно стимулює кровообіг в СОШ що запобігає виникненню і покращує гоєння виразок [7]. Гідролізат колагену (РНС) що складається переважно з коротких пептидів, покращує стабільність СОШ проти дії ультрогенних факторів.

Малігнізація (перетворення на злоякісну пухлину) хронічної виразки шлунка зустрічається в 10-25% випадків; перехід хронічної виразки дванадцятипалої кишки в рак – досить рідкісне явище.

Ряд авторів схилиються до теорії потенційної злоякісності всіх шлункових виразок. Поряд з цим, деякі дослідники висловлюють думку про те, що виразки шлунка взагалі не малігнізуються, а мова йде про вчасно не розпізнану первинно-виразкову форму раку. Окремі автори вважають, що виникнення раку шлунка на тлі виразки шлунка є сумнівним. Виявлення хронічного атрофічного гастриту з вираженою дисплазією шлункового чи метapлазованого епітелію вимагає ретельного обстеження хворих на предмет виключення співіснуючого раннього раку шлунка. Також, стосовно шлунка, передраковими захворюваннями прийнято вважати хронічний гастрит, хронічну виразку, поліпи, оперований шлунок (стан після резекції шлунка), перніциозну анемію, хворобу Менетріє. Загальновизнано, що дисплазія епітелію слизової оболонки шлунка є передраковим станом. Після виникнення, виразка стає патологічним вогнищем, що підтримує аферентним шляхом розвиток хвороби в цілому й дистрофічні зміни у СО гастродуоденальної зони зокрема, сприяє хронічному перебігу хвороби, залученню до патологічного процесу інших органів і систем організму.

Отже, виразкова хвороба є системним захворюванням, яке не обмежується локальним деструктивним процесом в С.О.Ш., а обумовлює порушення регулюючих систем всього організму. Анатомо-фізіологічний зв'язок шлунка з оточуючими його органами є причиною залучення в патологічний процес печінки, підшлункової залози, серцево судинної, імунної та нервової системи. На сьогоднішній день прийнято вважати, що виразка формується через біохімічні порушення в клітинах, а саме пошкодження системи захисту від вільних радикалів. Такі порушення зумовлені загальним погіршенням трофіки тканин шлунку (судинні патології), які в свою чергу викликані порушенням регуляції з боку нервової системи. Ці порушення виникають внаслідок перевантажень, стресів, поганого і нерегулярного харчу-

вання – тобто нездорового та неправильного способу життя. Тому відповідно акценти в лікуванні виразкової хвороби мають бути зроблені на комплексні ліки, такі що мають антиоксидантні та загально зміцнюючі властивості, тобто покращують стан організму в цілому.

На сьогоднішній день увага наукової спільноти стосовно біохімічних процесів в клітинах СОШ при виразці шлунка прикута переважно до змін що виникають в мембранах. Описуються механізми ПОЛ, зміни в будові і функціях власне плазматичної мембрани, мембрани мітохондрій і різних мембранозв'язаних компонентів. Але дуже мало інформації зібрано стосовно змін генетичного апарату клітини при окисному стресі, що відбувається при виразці, а також значення цих змін в утворенні, розвитку та загоєнні виразки. Адже виникнення виразкової хвороби може починатися на рівні порушення нормальної генної експресії що може бути пов'язане з початком вірусної або бактеріальної генної експресії. Є припущення, що рак шлунка це генетичне захворювання, пов'язане з синтезом специфічних ферментів, наприклад фосфатидилінозитол 3-кінази (phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)) та експресією певних генів, наприклад *PTEN* tumour suppressor gene [8].

Відомо, що окисний стрес має місце при таких хворобах, як анорексія, хвороба Альцгеймера, астма, атеросклероз, ревматоїдний артрит, хвороба Паркінсона та багатьох інших патологіях. Окисне пошкодження ДНК призводить до соматичних мутацій клітини, що мають важливе значення в розвитку канцерогенезу. В процесі окисного стресу задіяна дуже велика кількість генів, як тих, продукти яких генерують активні форми кисню, так і тих, що кодують ферменти антиоксидантного захисту [2]. Пошкодження, зміни, та навіть нормальні варіації в будові генів, що кодують ферменти антиоксидантного захисту значно впливає на експресію та активність цих ферментів і, як наслідок, на рівень захисту організму від окисного стресу. Одним із показників окисного стресу є надзвичайна чутливість виділених клітин до агентів, що генерують вільні радикали, а також підвищення рівня білків теплового шоку та простагландину E2 [9]. Окисний стрес, який має місце при виразці, впливає на генетичний апарат клітини і спричиняє його пошкодження. Як наслідок, клітина сильно змінюється, її діяльність порушується і вона в решті-решт може загинути або дати початок пухлині [2, 10].

1. Jainu M, Devi CS, Gastroprotective action of *Cissus Quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. // Chem. Biol. Interact. 2006 Jul 10; 161(3):262-70. Epub 2006 2. Коротко Г.Г., Фаустов Л.А. Функціональні і морфологічні аспекти виразкової хвороби – К: 2002 с 108, 126. 3. Ермолаєв І. А. Назаров В.Е. Рухлякова Н.В. Діагностика і лікування виразкової хвороби, ускладненої стенозом: Монографія // Деан 2006
4. Evangelista S. Role of sensory neurons in restitution and healing of gastric ulcers. // Curr Pharm Des. 2006;12(23): p 2977-84 5. Ковальова В.А. Вплив пероксидації ліпідів на стан мембран клітин слизової оболонки шлунку за умов експериментальної виразки. // "Київський університет" 2005: 18с.
6. Skrypnik IM Biochemical mechanism of ulcer development under stressful conditions. // Ukr. Biochem. Journal 2001 Jan-Feb; 73(1): p 110-4
7. Satyanarayana MN. Capsaicin and gastric ulcers, // Crit Rev Food Sci Nutr. 2006;46(4): p 275-328 8. Abraham P. Nitro-Arginine Methyl Ester, a Non-Selective Inhibitor of Nitric Oxide Synthase Reduces Ibuprofen-Induced Gastric Mucosal Injury in the Rat, // Digestive Diseases and Sciences, Vol. 50, No. 9 (September 2005), p. 1632-1640 9. Chang XR, Peng L, Yi SX, Peng Y, Yan J/ Association of high expression in rat gastric mucosal heat shock protein 70 induced by moxibustion pretreatment with protection against stress injury // World J Gastroenterol. 2007 Aug 28; 13(32): p 4355-9. 10. Michael M. Vilenchik and Alfred G. Knudson. Endogenous DNA double-strand breaks: Production, fidelity of repair, and induction of cancer, // PNAS October 28, 2003 vol. 100 no. 22 p 12871-12876.

Надійшла до редколегії 28.05.09

УДК 577.4:538.56

О. Григор'єва, канд. біол. наук, О. Даценко, канд. фіз.-мат. наук,
М. Березовська, канд. біол. наукОСОБЛИВОСТІ ФОТОЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ ВОДОРОСТЕЙ
ВІДДІЛІВ *CHLOROPHYTA* ТА *XANTHOPHYTA*

У статті розглядаються результати дослідження фотолюмінесценції ґрунтових водоростей відділів *Chlorophyta* та *Xanthophyta*. Проводиться порівняльний аналіз основних спектральних характеристик водоростей. Розглядається спроба їх використання для визначення таксономічної належності водоростей.

The photoluminescence of soil algae of *Chlorophyta* and *Xanthophyta* were investigated. The comparative analysis of the main spectral characteristics was carried out. The attempt of using them for the determination of algae's taxonomic attribute was considered.

Вступ. Вивчення спектральних особливостей організмів надає більш повну інформацію про досліджувані об'єкти та може бути застосовано для вирішення різноманітних наукових питань. Оскільки люмінесцентний метод має своє застосування у таксономії, ми вирішили перевірити його ефективність саме для визначення належності близьких за морфологічними ознаками водоростей до певного відділу.

Відомо, що для ідентифікації водоростей використовують порівняльно-морфологічні, цитологічні, молекулярні методи, які потребують багато часу. Особливі труднощі виникають при визначенні деяких представників відділів *Chlorophyta* і *Xanthophyta*, оскільки зелені та жовто-зелені водорості дуже схожі за морфологічними ознаками. У першу чергу, важливо визначити, до якого саме з цих відділів належить досліджувана водорість, оскільки такі дані значно полегшують ідентифікацію досліджуваного об'єкту до виду.

Завдання роботи полягали у дослідженні спектральних характеристик водоростей відділів *Chlorophyta* і *Xanthophyta* та перевірці можливості застосування люмінесцентного методу для визначення належності цих водоростей до певного відділу.

Об'єкт та методи досліджень. У експерименті були задіяні штами ґрунтових водоростей відділів *Chlorophyta* і *Xanthophyta*, які утримуються у Альгологічній Колекції Київського національного університету на кафедрі ботаніки. Культури в колекції є альгологічно чистими. Штами підтримуються в скляних пробірках з ватно-марлевими пробками на агаризованому (1.5%) поживному середовищі Болда (1N BBM) [2].

Серед представників зелених водоростей були вибрані такі види, як *Klebsormidium flaccidum* (Kützinger) Silva, Mattox et Blackwell, *Klebsormidium cf. bilatum* Lokhorst, *Klebsormidium montanum* (Skuja) Watanabe, *Klebsormidium subtilissimum* (Rabenhorst) Silva, Mattox et Blackwell, *Chlamydomonas* sp., *Bracteacoccus minor* (Chodat) Petrová та *Chlorella vulgaris* Beijerinck. Серед жовто-зелених було досліджено *Tribonema ulotrichoides*

Pascher, *Tribonema* sp., *Tribonema viride* Pascher, *Ellipsoidion parvum* Reisinger, *Bumilleriopsis filiformes* Vischer та *Heterococcus* sp.

Збудження фотолюмінесценції відбувалося випромінюванням азотного лазера ИЛГИ-503, довжина хвилі збудження становила 337нм при середній потужності 1.7 мВт. Вимірювання проводилося за температури рідкого азоту, оскільки за цих умов ефективність люмінесценції вища.

Хоча в спектрах чітко проявлялися дві основні смуги, форма спектра дозволяла припустити наявність додаткової малоінтенсивної довгохвильової смуги. Тож у ході роботи кожен спектр був описаний трьома гауссовими кривими. Відповідні обрахунки проводилися в стандартній програмі Microcal Origin 7.0. Аналізу підлягали дві основні смуги, при цьому брали до уваги положення їх максимумів λ_1 і λ_2 , відношення інтенсивностей короткохвильової та довгохвильової смуг у максимумах I_1/I_2 та ширина кожної смуги на половині її висоти $\delta_{1,2}$, вираховували також різницю положень максимумів $\Delta\lambda$.

Результати та їх обговорення. Оскільки спектри певних видів досліджених нами водоростей дуже подібні, особливо у межах родини, для полегшення рисунка на ньому подано графіки лише двох представників з відділу *Chlorophyta* – *K. flaccidum* та *Chlamydomonas* sp., і двох із відділу *Xanthophyta* – *T. viride* та *El. parvum*. Як видно на рис.1 та з табл.1, досліджувані об'єкти люмінесцюють у червоній області спектра з максимумами в області довжин хвиль $\lambda_1 = 682\div 690$ нм та $\lambda_2 = 708\div 728$ нм. В [1] зазначено, що смуга в області 685÷692нм відповідає хлорофілу а фотосистеми ФСII, тоді як смуга з максимумом в інтервалі 714÷726нм – належить ФСІ і є складною. Найвищий пік фотолюмінесценції жовто-зеленої водорості *Heterococcus* sp. розмістився у найбільш короткохвильовій області – $\lambda = 709\pm 1$ нм; така довжина хвилі виходить за межі інтервалу, зазначеного попередніми дослідниками [1].

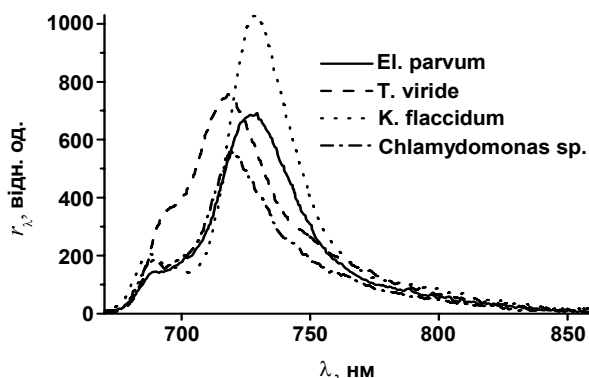


Рис. 1. Спектри фотолюмінесценції водоростей відділів *Chlorophyta* та *Xanthophyta*, виміряні за температури рідкого азоту

При аналізі значень видно, що у межах одного відділу положення піків може значно відрізнятися і, водночас, збігатися у водоростей, що належать до різних відділів. Так, у зелених водоростей перший, короткохвильовий пік знаходиться у межах від 683 ± 1 до 688 ± 2 нм, а у жовто-зелених від 687 ± 2 до 691 ± 2 нм, тобто, вони перекриваються. Скажімо, і *Chlamydomonas* sp., що належить до *Chlorophyta*, і *Tribonema* sp. з відділу *Xanthophyta*, мають однакове положення піків – 687 ± 2 нм. Другий пік для зелених водоростей лежить у межах від 713 ± 1 до 727 ± 3 нм, а для жовто-зелених від 709 ± 1 до 727 ± 1 нм – тобто, їхні положення фактично накладаються одне на одне.

Хоча, в цілому, і спостерігається тенденція до зміщення першого піку у *Chlorophyta* лівіше відносно *Xanthophyta*, положення піків, очевидно, не може бути

вирішальною ознакою при визначенні належності водоростей до певного відділу.

Обрахунок відстані між положеннями максимумів показав, що ця величина коливається у зелених водоростей від 29 ± 2 до 40 ± 2 нм, а у жовто-зелених – від 22 ± 2 до 37 ± 2 нм. Відношення інтенсивностей смуг в обох відділах також має широкий діапазон: від $0,05\pm 0,01$ до $0,33\pm 0,01$ у *Chlorophyta* та від $0,09\pm 0,01$ до $0,28\pm 0,02$ у *Xanthophyta*. Показники ширини смуги зелених водоростей коливаються від 8 ± 2 до 16 ± 2 нм для першого піку та від 21 ± 2 до 28 ± 2 нм для другого, а жовто-зелених – від 6 ± 2 до 15 ± 2 нм та від 21 ± 2 до 28 ± 2 нм відповідно. Виходить, що жодна з цих величин не може бути ознакою відділу.

Таблиця 1. Спектральні характеристики водоростей відділів *Chlorophyta* та *Xanthophyta*.

Вид	λ_{max} , нм	$\Delta\lambda$, нм	I_1/I_2	δ_1 , нм	δ_2 , нм
Відділ <i>Chlorophyta</i>					
<i>K. bilatum</i>	685 ± 1	724 ± 1	39 ± 2	$0,17\pm 0,01$	14 ± 2
<i>K. montanum</i>	685 ± 1	723 ± 1	38 ± 2	$0,18\pm 0,01$	16 ± 2
<i>K. flaccidum</i>	688 ± 2	727 ± 2	39 ± 3	$0,25\pm 0,08$	14 ± 3
<i>K. subtilissimum</i>	683 ± 1	723 ± 1	40 ± 2	$0,05\pm 0,01$	9 ± 2
<i>Chlamydomonas</i> sp.	687 ± 2	719 ± 1	31 ± 2	$0,33\pm 0,01$	12 ± 3
<i>B. minor</i>	684 ± 1	713 ± 1	29 ± 2	$0,16\pm 0,02$	8 ± 2
<i>Ch. Vulgaris</i>	685 ± 1	719 ± 1	34 ± 2	$0,26\pm 0,02$	10 ± 2
Відділ <i>Xanthophyta</i>					
<i>T. ulotrichoides</i>	691 ± 2	716 ± 2	25 ± 3	$0,24\pm 0,04$	9 ± 3
<i>T. viride</i>	690 ± 2	715 ± 1	25 ± 3	$0,28\pm 0,02$	9 ± 3
<i>Tribonema</i> sp.	687 ± 2	714 ± 1	27 ± 3	$0,19\pm 0,02$	8 ± 3
<i>El. parvum</i>	690 ± 1	727 ± 1	37 ± 2	$0,17\pm 0,02$	15 ± 2
<i>B. filiformes</i>	688 ± 1	713 ± 1	25 ± 2	$0,09\pm 0,01$	6 ± 2
<i>Heterococcus</i> sp.	687 ± 1	709 ± 1	22 ± 2	$0,23\pm 0,03$	6 ± 2

Висновки. Порівняльний аналіз отриманих спектрів фотолюмінесценції водоростей відділів *Chlorophyta* та *Xanthophyta*, а саме положень максимумів смуг, їх інтенсивностей та ширини, а також відстані між максимумами смуг, показав, що за названими величинами не можна визначати таксономічну належність водоростей. Незважаючи на тенденції відстані між максимумами у зелених водоростей до вищих значень, порівняно із жовто-зеленими, а відношення інтенсивностей основних смуг – навпаки, до нижчих, їхні значення перекри-

ваються. Найвищий пік фотолюмінесценції *Heterococcus* sp. розташований на $\lambda=709\pm 1$ нм, що представляє інтерес для подальших досліджень, оскільки виходить за діапазон, зазначений у літературі.

1. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений: Теоретические и практические аспекты. – М.: Наука, 1990. – 200 с.
2. Bischoff H. W., Bold H. C. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species // Phycol. Stud. 4, Univ. Texas Publ., N 6318. – 1963. – P. 1–95.

Надійшла до редколегії 18.06.09

УДК 612.825.5

А. Чернінський, канд. біол. наук, С. Собіщанський, студ.,
С. Крижановський, канд. біол. наук, Н. Піскорська, канд. біол. наук

ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНІ КОРЕЛЯТИ ПРОЦЕСІВ СЕМАНТИЧНОГО АНАЛІЗУ ЛЮДИНОЮ ЗОРОВИХ СТИМУЛІВ

Досліджено викликані потенціали головного мозку людини при пред'явленні зображень із семантичним змістом та без нього. Виявлено, що відповіді на обидва типи стимулів складаються з трьох коливань – P1, N1, P2. Позитивні відклики на стимули із семантичним змістом є більшими за амплітудою, що може бути свідченням більшої кількості нейронів, залучених до процесів семантичного аналізу.

Human event-related potentials (ERP) on semantic and non-semantic images were investigated. ERP's on both type of the stimuli consist of three voltage fluctuations – two positive and one negative. Semantic stimuli yielded larger positive components' amplitude of the ERP which may reflect greater number of neurons involved in semantic analysis.

Вступ. Людина щомиті здійснює аналіз різноманітної сенсорної інформації, виділяючи із загального потоку певні значущі образи та пристосовуючи свою поведінку до оточення. Одним з сучасних напрямків дослідження мозкової обробки інформації є аналіз викликаних потенціалів (ВП), що є електричними відповідями головного мозку на певні сенсорні стимули. У роботах, присвячених дослідженню мозкової діяльності за допо-

могою викликаних потенціалів, як правило, використовуються досить прості за структурою подразники – спалахи світла, шаховий патерн, геометричні фігури. В той же час, людину оточує безліч стимулів більш складної природи. Виходячи з цього, актуальним є дослідження механізмів семантичного аналізу зорових стимулів, тобто аналізу, спрямованого на виділення у сенсорному потоці певних образів.

Об'єкт та методи дослідження. У експериментах брали участь 12 добровольців 18–19 років – студенти університету (6 чоловіків, 6 жінок). Під час дослідів обстежувані знаходилися у звукоізолюваній кімнаті із слабким рівнем освітлення. У якості стимулів використовували зображення простих побутових предметів (зображення із семантичним змістом) та ті ж зображення, модифіковані таким чином, що яскравість та кольорова гамма залишалися незмінними, проте інформація про зміст втрачалася (мозаїка із усередненням кольору точок сегментів). Були використані об'єкти № 7002, 7004, 7006, 7009, 7010, 7034, 7042, 7043, 7055, 7056, 7059, 7080, 7090, 7150, 7211 з International Affective Picture System [1]. Завданням обстежуваних було слідкувати за появою зображень на екрані та підраховувати їх кількість, не проводячи диференціацію за змістом. Подразники обох типів пред'являлися у довільному порядку через монітор LG Flatron L1717s (роздільна здатність 1280x1024), який знаходився на відстані 1 м від обстежуваного. Кутовий розмір зображень по горизонталі становив 9.6°, по вертикалі 7.7°. Кількість подразників становила від 150 до 160, співвідношення кількості двох типів стимулів становило 1:1. Час експозиції стимулу – 1000 мс. Міжстимульний інтервал мав випадкову тривалість у межах $2 \text{ с} \pm 30 \%$.

Запис та аналіз електроенцефалограми (ЕЕГ) проводили за допомогою електроенцефалографічного комплексу "Нейроком" ("ХАІ-медика", Харків, Україна). У відповідності до міжнародної системи 10/20 % накладалися 19 електродів (Fp1, Fp2, F3, F4, Fz, C3, C4, Cz, P3, P4, Pz, T3, T4, F7, F8, T7, T8, O1, O2). У якості референтного використовувався об'єднаний вушний електрод.

Міжелектродний опір становив менше 5 кОм. Частота дискретизації сигналу становила 500 Гц. З записаного сигналу на основі візуального аналізу виключалися ділянки із артефактною активністю. Для покращення співвідношення сигнал/шум використовували алгоритм аналізу незалежних компонентів (ICA), реалізований у програмі "Нейроком" [2]. Відповідно до нього, сигнал ЕЕГ розкладався на незалежні компоненти. Сигнал кожного з компонентів піддавався процедурі когерентного усереднення з метою накопичення викликаних потенціалів. Критерієм накопичення ВП був коефіцієнт кореляції між відкликами на парні та непарні стимули. Низьким вважали рівень накопичення, менший за 50 %. Компоненти з таким показником виключалися з аналізу. На основі сигналів решти компонентів створювалася композиція, по якій проводили когерентне накопичення викликаних потенціалів. Епоха усереднення сигналу для накопичення ВП становила 150 мс до подачі стимулу та 1000 мс після неї. Для групового аналізу даних застосовували метод загального усереднення (grand average), який полягав в обчисленні середнього арифметичного індивідуальних кривих ВП. Амплітуди коливань ВП оцінювали від піка до піка.

Результати досліджень та їх обговорення. Найбільша амплітуда викликаних потенціалів при пред'явленні обох типів стимулів спостерігалася у потиличних відведеннях, тому ми будемо детально розглядати саме їх. Відклики у обох відведеннях на обидва типи стимулів складалися з двох позитивних (P1, P2) та одного негативного (N1) коливання (див. рисунок).

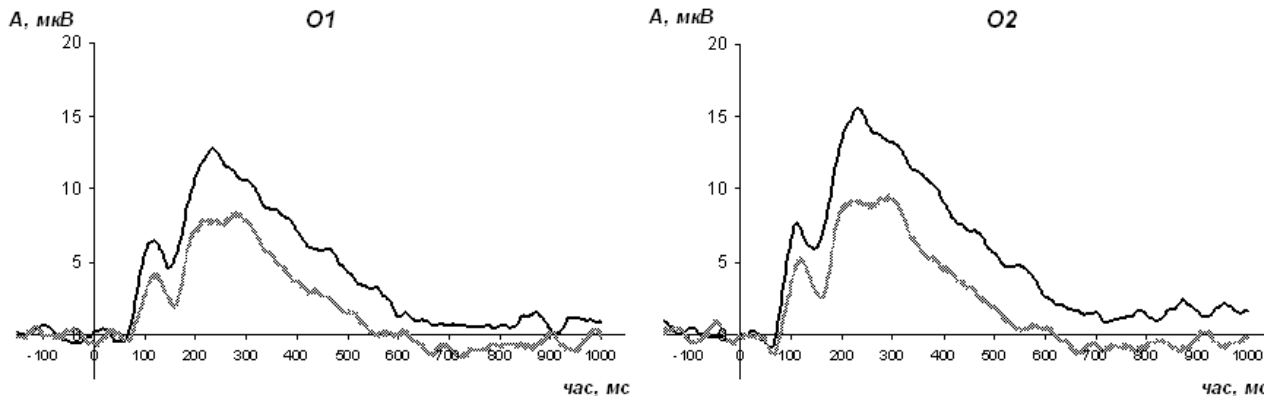


Рис.1. Усереднені по групі викликані потенціали у лівому (O1) та правому (O2) потиличних відведеннях: Чорна лінія – відповіді на "змістовні" стимули, сіра – на "беззмістовні". Відхилення сигналу вверх відповідає електропозитивності

Порівняння відповідей на два типи стимулів виявило, що компонент P1 при пред'явленні зображень із семантичним змістом мав дещо більшу амплітуду (на 30 % у лівому і на 24 % у правому потиличних відведеннях) та меншу латентність (на 10 мс). Негативне коливання при пред'явленні "змістовних" стимулів також розвивалося дещо раніше (на 12-16 мс), але мало меншу амплітуду (на 12 та 42 %). Більш суттєві відмінності стосувалися характеристик компонента P2. Так, латентність його максимуму при пред'явленні зображень із семантичним змістом та без нього була однаковою у лівому потиличному відведенні, та меншою у правому. Час тривалості компонента (повернення амплітуди коливання до вихідного нульового рівня) був більшим при пред'явленні "змістовних" зображень (більш, ніж через 700 мс після пред'явлення стимула) в

порівнянні із "беззмістовними" (близько 550 мс). Амплітуда максимуму коливання P2 при пред'явленні зображень із семантичним змістом була на 112-115 % більшою, ніж при пред'явленні модифікованих зображень. Разом із цим, відповіді на два типи стимулів мали дещо різну форму. Так, при пред'явленні "змістовних" зображень амплітуда компонента швидко досягала максимуму (латентний період P1-N2 90-92 мс) і повільно знижувалася до нульового рівня. Натомість, при пред'явленні модифікованих зображень амплітуда P2 також швидко досягала максимальних значень, проте далі певний час (до 100 мс) трималася на стабільному рівні, після чого починалося поступове зниження амплітуди до нульового рівня (див. рисунок).

Результати, подібні до наших, були отримані і іншими дослідниками. Так, автори [3] досліджували ефекти

суб'єктивних гедонічної та активаційної оцінок нормальних і розмитих зображень на параметри ВП. На жаль, в їх досліджах не проводилося пряме порівняння відкликів на описані типи стимулів, проте аналіз наведених у роботі кривих дозволяє зробити висновок стосовно більшої тривалості пізніх позитивних компонентів при пред'явленні "змістовних" стимулів. Експериментальна парадигма дослідження вимагала від обстежуваних прийняття рішення і реагування на стимули, на відміну від пасивного стеження у наших досліджах, що, ймовірно, призвело до суттєвої різниці у латентних періодах піків реєстрованих коливань. Менші амплітуди коливань ВП при сприйнятті фрагментарних невпізнаних зображень показана і авторами [4]. Зареєстровані дослідниками сигнали ВП, як і у нашому дослідженні мали трикомпонентну структуру в часовій області до 400 мс, проте мали високоамплітудний компонент N400, якого не спостерігалося у наших досліджах. Автори пов'язують цей компонент ВП із позасенсорною оцінкою стимула, тобто процесами прийняття рішення стосовно реакції, якої у наших досліджах не вимагалось. Слід відмітити, що такого компонента не спостерігалося і в роботі [3], у якій обстежувани повинні були реагувати на стимули. Це, ймовірно, можна пояснити тим, що у [3] задачею обстежувани було реагувати на всі зображення, відмінні від гальмівних, а в іншому випадку [4] обстежувани повинні були не просто сприйняти стимул, а й спробувати розпізнати його та повідомити про результат експериментатора. Таким чином, порівняльний аналіз наших та літературних даних дозволяє зробити висновок, що семантичний аналіз зорових стимулів у людини пов'язаний із збільшенням амплітуди позитивних компонентів викликаних потенціалів.

Яким же чином описані електричні явища можуть бути інтерпретовані з точки зору процесів аналізу зорової інформації? Існують два основні теоретичні підходи до проблеми сенсорної інтеграції – тобто, процесів, в результаті яких сукупність дискретних характеристик зовнішнього світу, існуючих на рівні периферичних структур аналізаторних систем, перетворюється на цілісний образ, виділення якого може (необов'язково) супроводжуватися його вербалізацією [5]. Згідно першої моделі, інтеграція сенсорних характеристик здійснюється внаслідок ієрархічної побудови аналізатору, тобто обробка інформації у нервовій системі здійснюється шляхом послідовного переходження збудження від елементів нижчого рангу, які виділяють низькорівневі

характеристики стимулу, до елементів більш високого рангу, активація яких відповідає виділенню інтегративних характеристик або ж ідентифікації цілісного образу. Відповідно до альтернативної моделі, інтеграція відбувається внаслідок динамічної локальної синхронізації активності невеликих нейрональних груп. Згідно класичних уявлень [6], збільшення локальної синхронізації, тобто числа одночасно, паралельно включених нервових елементів, супроводжується збільшенням амплітуди сумарної електричної активності. Натомість, при послідовній організації нервових ланцюгів активація нервових елементів відбувається із затримкою в часі, що не дає можливості до сумачі постсинаптичних потенціалів, які є основою формування ЕЕГ [7]. Виходячи з цих уявлень, можна припустити, що в наших досліджах сприйняття "семантичних" зображень на відміну від "беззмістовних" супроводжувалося більш масовою синхронною активацією нервових елементів, що позначалося у більшій амплітуді позитивних коливань ВП. Натомість, сприйняття "беззмістовних" стимулів супроводжувалося певною активацією послідовно включених нервових елементів, що мало прояв у "плато" компонента P2. Зважаючи на це, можна зробити висновок, що отримані нами дані є аргументом, скоріше, на користь принципу динамічної синхронізації.

Висновки. Результати нашого дослідження показали, що у відповідь на стимули із семантичним змістом та без нього реєструються викликані потенціали, які складаються з послідовних позитивного, негативного та другого позитивного коливань. Семантичний аналіз зорових стимулів пов'язаний із більшою амплітудою позитивних компонентів викликаних потенціалів.

1. Lang P. J., Bradley M. M., Cuthbert B. N. International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual // Technical Report A-6. University of Florida, Gainesville, FL. – 2005.
2. Кисельгов Е. Н. Независимый компонентный анализ и его применение к задачам выделения статистически независимых сигналов // Технологии приборостроения. – 2001. – № 1-2.
3. Rozenkrantz B., Olofsson J. K., Polich J. Affective visual event-related potentials: Arousal, valence, and repetitions effects for normal and distorted pictures // Int. J. Psychophysiol. – 2008 – V. 67.
4. Фарбер Д. А., Петренко Н. Е. Опознание фрагментарных изображений и механизмы памяти // Физиол. чел. – 2008 – Т. 34, № 1.
5. Игумен Феофан (В. И. Крюков) Принципы сенсорной интеграции: иерархичность и синхронизация // Журн. высш. нерв. деят. – 2005 – Т. 55, № 2.
6. Ливанов М. Н. Пространственно-временная организация потенциалов и системная деятельность мозга – М., 1989.
7. Ivanitsky A. M., Nikolaev A. R., Ivanitsky G. A. Electroencephalography // Modern Techniques in Neuroscience Research. – Springer, 1999.

Надійшла до редколегії 16.03.09

УДК 581.1(091)(477)

Т. Христова, канд. біол. наук, докторант,
М. Мусієнко, д-р біол. наук, проф.

ЗАРОДЖЕННЯ ФІТОФІЗІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У НОВОРОСІЙСЬКОМУ УНІВЕРСИТЕТІ

На основі науково-історичного аналізу оцінено внесок вчених Новоросійського університету в кінці XIX – на початку XX ст. у розвиток вітчизняної фізіології рослин. Розкрито такі ключові аспекти: важлива роль одеських ботаніків у вивченні фотосинтезу та дихання рослин (роботи А.Н. Волкова, Л.А. Рішаві); проведення досліджень з біофізичної фітофізіології (специфіка росту і руху рослин) під керівництвом В.А. Ротерта; накопичення цінних матеріалів з фізіології насіння (В.С. Буткевич, М.І. Васильєв).

The contribution of Novorosiysk university scientists at the end of XIX – beginning of XX centuries to development of domestic plant physiology is appreciated on basis of scientific-historical analysis. It is opened such clef aspects: important role of Odessa botanists at studying of plant photosynthesis and respiration (works of A.M. Volkov, L.A. Rishavi); researches realization to biophysical phytophysiology (specify of plant growing and moving) under preside of V.A. Rotert; valuable materials accumulation about seeds physiology (V.S. Butkevich, M.I. Vasil'ev).

Генезис фітофізіології в Україні у XIX ст. безпосередньо пов'язаний зі створенням університетів, де зосередились провідні наукові кадри і були створені умови

для здійснення досліджень із застосуванням найновіших фізико-хімічних методів, що дало змогу вивчати фізіологічні процеси у рослин. Зростання потреби в

© Христова Т., Мусієнко М., 2009

кваліфікованих кадрах на півдні Росії зумовило відкриття третього університету на теренах сучасної України – Новоросійського, який був створений на базі Рішельєвського ліцею. В 1864 р. був виданий указ про відкриття 1 травня 1865 р. Новоросійського університету в Одесі [9]. Водночас з утворенням університету була відкрита кафедра ботаніки, де розпочалися і анатомо-фізіологічні дослідження.

Впродовж 1865-1871 рр. кафедру ботаніки очолював видатний вчений другої половини XIX ст. Л.С. Ценковський: викладав курс анатомії та фізіології рослин, був засновником морфолого-онтогенетичного напрямку досліджень, який став основним для ботаніків цього університету на багато років [9]. Його наукова діяльність в цей час була присвячена описанню і вивченню прісноводних та морських нижчих організмів. Ембріологічні дослідження Л.С. Ценковського статі у водоростей послуговували підґрунтям для робіт німецького вченого В. Гофмейстера, який встановив єдність основних рис індивідуального розвитку рослин від мохів і папоротей до квіткових [14]. Пізніше ідеї Л.С. Ценковського були розвинені в роботах Я.Я. Вальца, С.Г. Навашина, А.П. Сапегіна та інших вітчизняних науковців. Невтомний вчений напружено працював у Новоросійському товаристві природодослідників, у 1869-1871 рр. виконував обов'язки його президента.

Наступним керівником кафедри ботаніки у 1871-1879 рр. був Я.Я. Вальц, який значну увагу приділяв онтогенетичному вивченню нижчих рослин. У царині фітофізіології він досліджував питання ґрунтового живлення та фізіології росту і розвитку рослин [19]. В 1873 р. Я.Я. Вальц провів цикл досліджень у водній культурі, в яких з'ясовував значення елементів живлення для росту коренів. Він намагався знайти відповідь на складне для того часу питання: які елементи є необхідною складовою частиною живлення рослин? Вчений відмітив значення хлору для нормального розвитку гречки [3]. У публічній лекції "О влиянии света на некоторые процессы растительной жизни" (1875 р.) Я.Я. Вальц узагальнив існуючі на той час погляди з цього питання і охарактеризував результати власних дослідів з амарилісами, тюльпанами і гіацинтами. Він зазначав, що тільки під впливом світла у більшості рослин формується і зберігається хлорофіл, за допомогою якого рослина асимілює поживні речовини і виготовляє матеріал для побудови свого організму; світло впливає на обмін речовин; під впливом світла зменшується випаровування; світло не змінює інтенсивність дихання; воно підсилює ріст і галуження коренів при освітленні листків (особливо листків і коренів), впливає на інтенсивність росту стебел. З'ясувалось, що забарвлення, аромат та розміри квітів, які утворилися у темряві, були майже такими, як і на світлі. Утворення квітів було можливим лише внаслідок надходження пластичних речовин із запасів, які знаходяться у цибулинах та в окремих листках, які залишалися на світлі. Наприкінці роботи автор приходить до узагальнюючого висновку, що "...тільки під впливом світла розвиваються здорові, сильні, зелені рослини організми; без світла, у темряві, можуть розвиватися лише хворобливі, слабкі організми, які швидко гинуть від виснаження, або ж чужерідні організми, паразити, ці експлуататори інших організмів" [4, с. 28]. Ця робота мала певне значення для пізнання внутрішніх, біохімічних причин переходу рослин до цвітіння.

В кінці XIX – на початку XX ст. у Новоросійському університеті було започатковано дослідження щодо особливостей фотосинтезу та дихання вищих рослин. Перші праці з проблем фотосинтезу виконав доцент

кафедри ботаніки А.Н. Волков, який викладав курс анатомії та фізіології рослин [14]. У 1875 р. у докторській дисертації А.Н. Волков критично проаналізував методи вивчення фотосинтезу, особливо методики щодо з'ясування ролі окремих ділянок спектра. Він вказував, що більшість дослідників замислювалися лише про якість світла, яке надходить до рослини, а не про кількість його. "Вони знали, що за світло вони мали за своїми екранами, але не знали скільки його мали" [7, с. 37]. Вчений дійшов висновку, що перш за все необхідно дослідити питання про те, які промені діють на фотосинтез, як залежить фотосинтез від кута заломлення сонячного променя, яке відношення існує між асиміляцією і напруженістю світла. А.Н. Волков доводив, що рослину слід розглядати не як "шар хлорофілу" (за думкою багатьох дослідників того часу), а як "живий організм", у якому поряд з фотосинтезом відбуваються інші життєві процеси. Він встановив, що виділення кисню зеленою рослиною у білому світлі, червоній і синій ділянках спектра підпорядковувалося співвідношенню 100:10:95. Була вперше виявлена нерівнозначність енергії променів з різною довжиною хвилі по відношенню до різних фотохімічних реакцій. Пізніше ці аспекти світлової стадії фотосинтезу були розвинені К.А. Тимірязєвим і на решті знайшли своє пояснення завдяки квантовій теорії світла. Стосовно засвоєння вуглекислоти А.Н. Волков вперше виявив існування вторинного підйому фотосинтезу у синьо-фіолетових променях відповідно наявності вторинного максимуму поглинання світла пігментами листка у цій частині спектра. Він показав, що при досягненні певного мінімуму освітлення, при якому починається фотосинтез, у межах порівняно слабкого освітлення, інтенсивність асиміляції прямо пропорційна освітленості [7]. У 1876 р. вчений дослідив спектр поглинання хлорофілу; провів фотометричний аналіз розчинів купрум (II) сульфату в нітратній кислоті та калію біхромату, які використовувались як кольорові екрани в експериментах з фотосинтезу. Вивчення засвоєння світлової енергії і ролі пігментів в цьому процесі, розпочате А.Н. Волковим і К.А. Тимірязєвим, було продовжено цілою плеядою вітчизняних фітофізіологів: К.А. Пурісевичем, В.К. Залеським, В.М. Любименко та іншими.

Цікаві досліді були проведені А.Н. Волковим у 1874 р. Він прослідкував зв'язок дихання з процесами росту і запропонував велику криву дихання, яка співпадала з великою кривою росту, винайденою незадовго до того німецьким вченим Ю. Саксом. Разом з А. Мейєром Волков сконструював спеціальний прилад для вивчення дихання паростків і листоносних пагонів, за допомогою якого вдалося встановити, що при підвищенні температури дихання рослин зростає майже прямо пропорційно до певного максимуму (приблизно 35°C), а при подальшому піднятті температури (до 35-44,5°C) знову слабшає; що швидкі, але короточасні коливання температури не відображаються на диханні [21]. На той час, завдяки роботам В.І. Палладіна, дихання розглядалось як сума ферментативних процесів. Детальне вивчення окислювальних ферментів у рослин провів молодий вчений Ф.М. Порождо [12].

У 1880-1885 рр. кафедру ботаніки очолював відомий альголог Л.В. Рейнгард. Наукові роботи проводились переважно у морфолого-онтогенетичному напрямку [9].

У 1885-1893 рр. завідувачем кафедрою ботаніки був Л.А. Рішаві, який одним з перших в університеті проводив дослідження в галузі фізичної фітофізіології. Йому належать експериментальні роботи щодо дихання і тропізмів рослинних організмів. У 1876 р. вчений з'ясував особливості процесу дихання від початку пророс-

тання насінини до того моменту, коли етіольована рослина, вичерпавши весь запас поживних речовин, гине. На підставі точних експериментальних даних він підтвердив той факт, що крива дихання швидко підіймається, потім йде паралельно абсцисі і далі починає падати, а також навів графічне зображення перебігу процесу дихання [15]. У 1885 р. Л.А. Рішаві розпочав дослідження з гальванотропізму і показав, що слабкий струм викликає вигин коренів до катоду, сильний – до аноду, розкрив причину цих явищ і розділив два різних явища: справжній гальванотропізм (ростовий вигин до катоду) і зміни коренів під впливом сильних струмів (вигин до аноду) [16]. Ці експериментальні й теоретичні напрацювання Л.А. Рішаві були важливими для становлення теоретичних основ електрофізіології рослин.

Видатний морфолог професор Ф.М. Каменський, який вперше описав явище ектотрофної мікоризи, керував роботою кафедри ботаніки у 1886-1912 рр. Його окремі праці були присвячені експериментальній морфології рослин, зокрема формоутворюючій дії факторів зовнішнього середовища, що мало в подальшому певне значення для фізіології розвитку рослин.

Весною 1886 р. співробітник кафедри ботаніки В.Ф. Хмелевський провів цикл досліджень з проблеми поглинання води надземними частинами рослин. Він виявив, що вода не проникає через продири і показав, що кутикула нижнього боку листків пропускає за однаковий час більше води, ніж кутикула верхнього боку. Причину різного поглинання води нижнім та верхнім боком листків він вбачав не у різному розташуванні продирих, а у різній щільності кутикули абаксiального та адаксiального боків листка [20].

З появою на кафедрі професора В.А. Ротерта було розгорнуто широкомасштабні дослідження з біофізичної фізіології рослин. Завдання цієї галузі фітофізіології передбачали вивчення фізіології рослинної клітини, росту і рухів рослин. В 1902-1908 рр. В.А. Ротерт створив і керував ботанічною лабораторією з прекрасним обладнанням для занять з анатомії і фізіології рослин, яка не поступалася за оснащенням провідним світовим університетським лабораторіям [9]. В.А. Ротерт вивчав будову пластид, довів наявність хромопластів у вегетативних органах, встановив існування "проміжних пластид" [14]. В Одесі В.А. Ротерт закінчив і літературно оформив роботу про явище подразливості у нижчих рослинних організмів. Він охарактеризував подразливість як загальну і основну властивість живої матерії, як "процеси звільнення, які відбуваються у живій протоплазмі" [17, с. 10]. Вчений вважав, що реакції подразливості відбуваються за рахунок запасів енергії, які має рослина. Для всебічного пізнання явища подразливості у рослин природодослідник провів порівняльно-фізіологічне дослідження впливу ефіру і хлороформу на подразливість мікроорганізмів. Він ставив перед собою подвійну мету: з одного боку, вивчити фізіологічну дію наркотичних речовин, а з другого – отримати нові дані з проблеми подразливості. Як зазначає сам автор: "В мене давно був намір заповнити цю прогалину, вивчаючи дію наркотиків на рослини, і перш за все на подразливість їх" [17, с. 19]. В.А. Ротерту вдалося показати, що більшість досліджуваних організмів (бактерії, безбарвні та зелені джгутикові, зооспори деяких грибів) анестезуються ефіром та хлороформом і втрачають нормальну чутливість до різних подразнювачів (світло, хімічні речовини, кисень). Отже, В.А. Ротерт представив нові докази існування подразливості у рослин і довів, що "чуттєвість в усьому живому світі єдина, що здатність відчуття в усіх організмів має своє матеріальне

підґрунтя у принципово тотожних властивостях протоплазми" [17, с. 29].

В одеський період В.А. Ротерт проявив себе не тільки як досвідчений експериментатор-універсал, але і як вчений, який володіє даром критичного аналізу і узагальнення сучасної йому наукової літератури. У 1903 р. було опубліковано його статтю оглядово-критичного характеру "Отношение растительных организмов к кислороду" [18], в якій автор проаналізував фактичний матеріал в історичному контексті. Він зазначав, що завдяки різноманітності фізіологічних властивостей живих організмів органічний світ виявляється пристосованим до різноманітних зовнішніх умов життя, які існують на земній кулі. Обговорення даних про значення кисню для рослинних організмів проведено в еволюційному аспекті і підпорядковано загальнобіологічній ідеї про єдність органічного світу.

В Одесі біля В.А. Ротерта згуртувалась група молодих вчених – Г.А. Боровиков, Ф.М. Порошко, І.Д. Щербак, які цікавилися різними аспектами рухів і подразливості рослин. Ф.М. Порошко досліджував характер руху рослин у відповідь на вплив (дифузійний або односторонній) різноманітних хімічних речовин [13]. Він розробив оригінальну методику: вміщував у повній темряві корені рослин у агаровий студінь, на який потім спрямовував дифузійну течію різних речовин і таким чином обробляв розчинами солей верхівку або основу кореня. Цикл експериментів підтвердив відомий факт, що корені реагують вигинами на дію розчинів хімічних речовин. Характер цих вигинів, їх форма, розміри, напрямок безпосередньо залежали від концентрації розчину. Талановитий вчений встановив роль окремих частин кореня (верхівки та зони росту) у хемотропічному вигині. У подальших дослідженнях Ф.М. Порошко розробив інший оригінальний метод – одностороннього хемотропічного подразнення, який дозволив чітко локалізувати ділянку подразнення кореня. Було з'ясовано такі факти: при низьких концентраціях виникають позитивні, а при високих – негативні хемотропічні реакції; неелектроліти не викликають у коренів хемотропічного подразнення; ця здатність властива лише електролітам. Отже, експериментальним шляхом вчений встановив, що причиною виникнення вигину при дії будь-якого подразника є різна інтенсивність росту протилежних боків органа рослини; вплив будь-якої солі на рух кореня залежить від різниці у дії катіонів і аніонів цієї сполуки. Вивчивши вплив різноманітних іонів, Ф.М. Порошко прийшов до висновку, що в своїй основі хемотропічна дія полягає у зміні ступеня гідратації біоколоїдів протоплазми під впливом електролітів, які надходять до неї, внаслідок чого спостерігається позитивний (викликають аніони) або негативний (зумовлений катіонами) вигин кореня. Ці висновки про природу хемотропізмів увійшли пізніше до багатьох вітчизняних і іноземних підручників з фізіології рослин.

Метою точних досліджень (проводив спостереження кожні 2-3 години протягом доби) Г.А. Боровикова було з'ясування природи короточасного впливу розчинів солей, кислот і лугів на швидкість росту гіпокотилів. Він встановив, що всі кислоти, до певної концентрації їх, стимулюють ріст проростка. При підвищенні концентрації кислоти інтенсивність росту різко знижується, ростові процеси пригнічуються і проростки гинуть. При додаванні до розчину кислоти нейтральної солі, Г.А. Боровиков спостерігав затримку росту гіпокотилів (різну для різних катіонів), яка посилювалася з підвищенням концентрації солі. Вивчаючи залежність росту рослин від набрякання протоплазми (гідратаційного потенціалу її) він встановив, що ряд солей утворюючих речовин підси-

лює ступінь набрякання плазми, впливаючи тим самим і на ріст рослин. З'ясувалось, що не величина осмотичного тиску і швидкість розтягнення клітинної оболонки визначають інтенсивність росту рослинної клітини, як тоді вважали, а ступінь гідратації і дегідратації біокологів протоплазми [1]. Ця точка зору на сутність процесу росту рослинної клітини була підтверджена іншими вченими і в свій час увійшла до вітчизняних підручників з фізіології рослин.

До розробки проблем біофізичної фітофізіології підключився відомий вчений А.І. Набоких, який у 1905 р. очолив кафедру агрономії. Він зацікавився подразнювачами росту і зібрав багатий фактичний матеріал про вплив води, кисню, солеподібних речовин на ріст рослин. Ці дослідження поглиблювали головну тему його робіт – проблему анаеробіозу. Учений висунув гіпотезу, що в звичайних умовах у процесах обміну клітини рослин утворюють і накопичують особливі речовини [10]. Цей природодослідник одержав із вичавків гіпокотилів соняшника фізіологічно активні речовини, одним із перших серед українських фітофізіологів займався дослідженнями проблеми хімічних стимуляторів росту. Його роботи створили підґрунтя для подальших численних досліджень фітогормонів.

Інший талановитий одеський фітофізіолог М.Д. Вахтель на підставі власних дослідів за допомогою оригінальних пружинних терезів на значному експериментальному матеріалі встановив, що коли корінь спрямовується донизу, то він активно тисне на пластинку пружинних терезів. Сила активного тиску досягала 4-х грамів, а засобом його прояву слугував тургор кореневих клітин. Він прийшов до висновку про зв'язок між геотропічним впливом і процесом росту кореня, зокрема з процесом новоутворення в коренях, з процесом поділу клітин, причому зі стадією розтягнення, до якої переходять нові елементи, які утворилися у положенні геотропічної нерівноваги, даючи цим елементам розростатися у набутих ними напрямках і формі. Таким чином, на думку М.Д. Вахтеля геотропічний вигин кореня – явище активного характеру, яке проявляється через тургор кореневих волосків [6]. Подальші дослідження вченого були присвячені підтвердженню локалізації геотропічної чутливості у кінчику кореня.

Отже, у Новоросійському університеті в кінці ХІХ – на початку ХХ ст. під керівництвом В.А. Ротерта утворився колектив ботаніків-фізіологів (Г.А. Боровиков, Ф.М. Порошко, І.Д. Щербак), які активно досліджували специфічні особливості росту і рухів рослин, явища подразливості у нижчих організмів. Роботи одеської школи фізіологів рослин були підґрунтям для формування і подальшого розвитку вчення про фітогормони.

В зазначений період українські вчені виконали цикл робіт з біохімічного напрямку фізіології рослин, присвячених вивченню ферментативного перетворення поживних речовин під час проростання і дозрівання насіння. Певний внесок у з'ясування особливостей перетворення білкових речовин у вищих рослин і пліснявих грибів зробив В.С. Буткевич, який працював у Новоросійському університеті у 1903-1904 рр. Первинне розкладання білкових речовин в рослинах він охарактеризував як процес, який відтворюється протеолітичним ферментом і призводить до утворення звичайних для гідролітичного розщеплення продуктів [2].

Пізніше одеським вченим М.І. Васильєвим було показано, що при дозріванні насіння білки можуть утворюватися як на світлі, так і в темряві. Білкові речовини листків пересуваються спочатку у ступки, а потім у насіння бобових рослин. Основним місцем синтезу

білкових речовин є листки: вони постачають насінню рухливі форми азотистих речовин, які через амід аспарагінової кислоти знов синтезуються у білкові речовини і в такому вигляді відкладаються у запас [5]. М.І. Васильєв вважав, що дозрівання насіння – це процес, зворотній його проростанню.

В період 1914-1919 рр. кафедру ботаніки очолював видатний вчений Б.Б. Гриневецький, основні роботи якого присвячені в галузі фітофізіології геотропізму коренів, анатомії рослин – будові продихів. Вчений досліджував корені різних рослин і дійшов висновку, що реотропізм (рух коренів назустріч току води) обумовлений хемотропізмом і, ймовірно, є однією з його форм [8]. Б.Б. Гриневецький усі тропізми розділив на дві групи: перша – рео-, хемо-, аеро- і термотропізми (чутливими є верхівка і зона росту кореня); друга – гео-, фото-, гальвано-, гідро- і тра-вмотропізми (чутлива тільки верхівка кореня).

У 1863 р. університетським статутом було запропоновано створення самостійних кафедр фізіології рослин та відокремлення їх від існуючих раніше кафедр ботаніки. Однак у Новоросійському університеті окрему кафедру анатомії і фізіології рослин було організовано лише у 1916 р. [9].

Таким чином, вчені Новоросійського університету в кінці ХІХ – на початку ХХ ст. внесли певний вклад у розвиток досліджень різних аспектів життєдіяльності рослин (фотосинтезу, дихання, росту і рухів, фізіології насіння тощо). В цьому навчальному закладі відбулося реальне становлення фітофізіології, було започатковано наукову школу професором В.А. Ротертом з фізичної фізіології рослин, що стало вагомим внеском в розвиток, як вітчизняної, так і світової науки.

- Боровиков Г.А. Действие солеобразных веществ на скорость роста растительного организма // Зап. Новорос. о-ва естествоисп. – 1916. – Т. 41. – С. 150-194.
- Буткевич В.С. Избранные труды: В 2 т. – М., 1957. – Т. 1.
- Вальц Я.Я. О влиянии света на некоторые процессы растительной жизни // Зап. имп. Новорос. ун-та. – 1876. – Т. 18. – С. 1-28.
- Вальц Я.Я. Какие элементы относятся к числу необходимых составных частей пищи растений // Зап. о-ва сельск. х-ва Южн. России. – 1873. – № 2, отд. 4. – С. 13-23.
- Васильев Н.И. Образование белковых веществ в созревающих семенах // Изв. Киев. политехн. ин-та. – 1910. – Кн. 4. – С. 367-493.
- Вахтель М.Д. К вопросу о геотропизме корней // Зап. Новорос. о-ва естествоисп. – 1899. – Т. 23. – Вып. 1. – С. 54-109.
- Волков А.Н. К вопросу об ассимиляции // Зап. имп. Новорос. ун-та. – 1875. – Т. 17. – С. 1-58.
- Гриневецкий Б. Исследования над реотропизмом корней // Труды о-ва естествоисп. при Юрьевском ун-те. – 1908. – Т. 19. – С. 3-140.
- Історія Одеського університету за 100 років (1865 – 1965). – К., 1968.
- Набоких А.И. К вопросу о раздражителях роста. Экспериментальные этюды. – Одесса, 1908.
- Павленко Ю.В., Руда С.П., Хорошаева С.А., Храмов Ю.О. Природознство в Україні до початку ХХ ст. в історичному, культурному та освітньому контекстах. – К., 2001.
- Порошко Ф.М. Окислительные энзимы в растениях // Варш. унів. изв. – 1905. – № 2. – С. 49-80.
- Порошко Ф.М. Хемотропизм корней: В 2-х ч. – Одеса, 1910 (1), 1915 (2).
- Развитие биологии на Украине: В 3-х т. / Гл. редкол.: Сытник К.М. (гл. ред.) и др. – К., 1984-1986. – Т. 1. С древнейших времен до великой Октябрьской социалистической революции / Редкол.: Новиков Б.Г. (отв. ред.) и др. – 1984.
- Ришави Л.А. К вопросу о дыхании растений // Зап. Новорос. о-ва естествоисп. – 1877. – Т. 5., вып. 1. – С. 1-50.
- Ришави Л.А. К вопросу о так называемом гальванотропизме. – Одесса, 1885.
- Ротерт В.А. Действие эфира и хлороформа на раздражимость микроорганизмов // Зап. Новорос. о-ва естествоисп. – 1903. – Т. 25, вып. 1. – С. 17-42.
- Ротерт В.А. Отношение растительных организмов к кислороду // Вестник и библиотека самообразования. – 1903. – №6. – С. 247-262.
- Русские ботаники / Сост. С.Ю. Липшиц: В 4-х т. – М., 1947-1952. – Т. 2. – 1947. – С. 26-30.
- Хмельевский В.Ф. К вопросу о всасывании воды надземными частями растений // Зап. Новорос. о-ва естествоисп. – 1886. – Т. 13, вып. 1. – С. 92-137.
- Wolkoff A. Beiträge zur Lehre über die Atmung der Pflanzen // Lanwirth. Jahrbücher. – 1874. – Bd. 3. – Hf. 4. – S. 21-56.

Надійшла до редколегії 27.03.09

УДК 631.46.631.445.41:631.84

І. Малиновська, д-р с.-г. наук,
І. Домбровська, канд. біол. наук

ЧИСЕЛЬНІСТЬ І ФІЗІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ СІРОГО ЛІСОВОГО ҐРУНТУ ПОСТПІРОГЕННИХ ДІЛЯНОК МАЛО- ТА БАГАТОРІЧНОГО ПЕРЕЛОГІВ

Вивчення стану мікробіоценозу сірого лісового ґрунту постпірогенної ділянки малорічного перелогу показало, що під впливом пожежі у ґрунті зменшується чисельність і фізіологічна активність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп, зростає інтенсивність мінералізаційних процесів та фітотоксичність ґрунту. Вплив пожежі на стан мікробіоценозу багаторічного перелогу виявився не таким суттєвим, як на стан мікробіоценозу малорічного перелогу.

Condition studying of microbiocenosis of grey forest soil of postpyrogenic area of short-period lea has shown that after fire in soil diminished quantity and physiology activity of microorganisms of basic ecologo-trophic groups, intensity of the mineralization and phytotoxicity of soil. Influence of fire on the state of microbiocenosis of long-term lea appeared not such substantial as on the state of microbiocenosis of short-period lea.

Вступ. Лісові та степові пожежі призводять до постанання в атмосферу значних кількостей оксидів вуглецю і азоту та втрати значних кількостей органічної речовини фітомаси, підстилки та поверхневих шарів ґрунту [12]. Вивчення постпірогенної динаміки екосистем має велике значення для оцінки стану і перспектив зберігання степів і лісів, які були змінені пожежею. Сукцесійні процеси вищих рослин під впливом пірогенного фактору вивчені достатньо повно [2, 10], однак зміни, які відбуваються в процесі самовідновлення у ценозах мікроорганізмів, вивчені недостатньо. Оскільки функціонування мікробіоценозу має особливе значення на початкових стадіях постпірогенної сукцесії [8], то для розуміння закономірностей самовідновлення постпірогенних екосистем і оцінки швидкості цього процесу необхідне вивчення зв'язку між екосистемними процесами і ґрунтовими мікроорганізмами.

Метою нашої роботи було порівняльні дослідження стану мікробіоценозів сірого лісового ґрунту постпірогенних і фонових ділянок мало- і багаторічного перелогів.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження були проведені на прикладі сірого лісового ґрунту на територіально близьких ділянках: 1,2 – ґрунт, виведений із сільськогосподарського використання у 2000 році (малорічний перелог); 3 – ґрунт, виведений із сільськогосподарського використання у 1987 році (багаторічний перелог); 4,5 – агроземи стаціонарного досліду, закладеного в 1987 році. Досліджували варіанти з традиційною для зони системою обробітку ґрунту, інтегрованим захистом від шкідників, хвороб і бур'янів та різної інтенсивності агрохімічним навантаженням: 4 – польова сівоzmіна без використання мінеральних і органічних добрив (екстенсивний агрозем); 5 – польова сівоzmіна з насиченістю мінеральними добривами $N_{96}P_{106}K_{112,5}$ по фону заорювання побічної продукції рослинництва (інтенсивний агрозем). Пожежа середньої інтенсивності відбулася на початку квітня 2007 року. В результаті пожежі на 90% площі вигоріло мохове покриття, лишайники, підстилка, підрост дерев. Практично не був пошкоджений гумусовий горизонт.

Відбір ґрунтових зразків проводили 10 липня 2007 року (друга третина вегетаційного періоду) впродовж посушливого періоду тривалістю 30 діб, який переміжався поодинокими дощами. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних і фізіологічних груп оцінювали методом посіву на відповідні поживні середовища [11].

Показник інтенсивності процесів мінералізації сполук азоту розраховували за Є.Н. Мішустіним і Е.В. Руновим [6], індекс педотрофності – за Д.І. Нікітіним і В.С. Нікітіною

[7], активність мінералізації гумусу – за І.С. Демкіною і Б.Н. Золотарьовою [1]. Кількість колоній мікроорганізмів підраховували впродовж 21 доби в залежності від швидкості росту і фізіологічних особливостей культури. Вірогідність формування бактеріальних колоній (ВФК) визначали за методом *S. Ishikuri and T. Hattori*, який описано П.А. Кожевіним з співавторами [3]. Фітотоксичні властивості ґрунту визначали з використанням рослинних біотестів (озима пшениця) за Н.А. Красильниковим [5]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням сучасних програм *Microsoft Excel*.

Результати та їх обговорення. Порівняння постпірогенної ділянки перелогу 2000 року з натиною, яка не зазнала пожежі навесні 2007 року, показує, що показники стану мікробіоценозу останньої суттєво відрізняються. Кількість мікроорганізмів в ґрунті фонові ділянки набагато більша за відповідні показники постпірогенної ділянки: амоніфікаторів – на 95,4%; імобілізаторів мінерального азоту – на 46,4, олігонітрофілів – на 46,9, денітрифікаторів – на 368,0, целюлозоруйнівних бактерій – на 31,6, полісахаридутворюючих – на 80,4, мобілізаторів мінеральних фосфатів – на 102, органофосфатів – на 46,4% (табл.1). Фітотоксичність постпірогенного ґрунту збільшується тільки щодо стебел тест-культури – на 22,0%, відносно коренів спостерігається тенденція стимулювання їх росту в результаті пожежі (табл.2).

За показником загальної маси рослин тест-культури токсичність постпірогенної ділянки збільшується порівняно з фітотоксичністю фонові ділянки на 10,1%. Отримані дані узгоджуються з літературними повідомленнями [9], згідно яких, між пірогенною і фовою ділянками існує істотна різниця з інтенсивності респірації і відношення кількості розчиненого органічного вуглецю до кількості загального вуглецю ґрунту. Чисельність мікроорганізмів у ґрунті постпірогенної ділянки зменшується, на нашу думку, через прогрівання верхніх шарів ґрунту у процесі пожежі, а також – пізніше – через зменшення густоти рослин і кількості кореневих виділень.

Для вирішення питання метаболічної активності мікроорганізмів безпосередньо у ґрунті був використаний метод аналізу динаміки появи колоній, який дозволяє одночасно визначати чисельність і склад комплексу хемоорганогетеротрофних бактерій у ґрунті при посіві ґрунтової суспензії на поживні середовища [3]. Вірогідність утворення колоній (λ) відображає фізіологічно-біохімічну активність бактеріальних клітин у природному середовищі. Проведені дослідження показали, що вірогідність формування колоній мікроорганізмів ґрунту постпірогенної ділянки менша за відповідні показники натиної ділянки: амоніфікаторів – на 72,2%; імобіліза-

торів мінерального азоту – на 25,0, олігонітрофілів – на 22,7, педотрофів – на 61,5, целюлозоруйнівних бактерій – на 94,7% (табл.3). Отже, фізіологічна активність мікроорганізмів ґрунту постпірогенної ділянки значно менша за активність мікроорганізмів ґрунту, який не зазнав пожежі. Кількість мікроорганізмів окремих екологічних груп знижується у результаті пожежі не так суттєво, але фізіологічний стан мікроорганізмів значно погіршується. Аналіз коефіцієнтів та індексів, які характеризують спрямованість і напруженість мікробіологічних процесів у ґрунті, свідчить, що ступінь освоєння органічної речовини ґрунту постпірогенної ділянки порівняно з натиною збільшується на 82,6% (табл.2). Інтенсивність процесу опідзолення зростає у ґрунті постпірогенної ділянки на 30,2%, коефіцієнт мінералізації азоту – на 33,7%. Таким чином, у результаті пожежі у ґрунті інтенсифікуються мінералізаційні процеси.

На натиновій ділянці ґрунт має на 37,5% більшу вологість, ніж на постпірогенній ділянці (табл. 4). Це є наслідком вигорання біомаси підстилки, яка перешкоджає пересиханню ґрунту. Отже, знищення підстилки та прогрівання верхніх шарів ґрунту негативно діє протягом вивченого часу на фізичний стан ґрунту та його мікробіоценоз.

Порівняння постпірогенних ділянок мало- і багаторічного перелогів показує, що після пожежі зберігаються багаторічні закономірності: у ґрунті перелогу 1987 року міститься більше порівняно з перелогом 2000 року амоніфікаторів – на 100%, імобілізаторів мінерального

азоту – на 25,3, целюлозоруйнівних бактерій – на 87,8%, денітрифікаторів – в 3,4 разів, мобілізаторів мінеральних фосфатів – в 4,4 разів (табл.1). Відбір зразків 10 липня 2007 року відповідає періоду спостережень, коли фітоценоз малорічного перелогу досягає максимуму у своєму розвитку, а фітоценоз багаторічного перелогу, який містить у своєму складі більше ефемерів, характеризується процесами дозрівання насіння і частковим в'яненням вегетативної біомаси. Тому, чисельність мікроорганізмів деяких груп у ґрунті малорічного перелогу перевищує відповідні показники мікробіоценозу багаторічного перелогу. Це відноситься, насамперед, до педотрофів, полісахаридсинтезуючих бактерій і стрептоміцетів.

Усі перелогові ділянки характеризуються повною відсутністю азотобактеру, при цьому, у минулих роках азотобактер у ґрунті багаторічного перелогу був присутній у кількостях, які перевищували показники інших варіантів використання сірого лісового ґрунту. Особливістю 2007 року є великий вміст у ґрунті всіх варіантів мікроорганізмів, які мобілізують органічні сполуки фосфору. Якщо у 2005-2006 роках максимальна чисельність цих мікроорганізмів спостерігалась у ґрунті інтенсивного агрозему і складала 25,1-31,4 млн. КУО/г, то у 2007 році відповідний показник склав 73,1 млн. КУО/г. Набагато більшою у 2007 році була також чисельність мобілізаторів органофосфатів в сірому лісовому ґрунті інших варіантів використання.

Таблиця 1. Чисельність мікроорганізмів в сірому лісовому ґрунті різноцільового використання, млн. КУО*/г абсолютно сухого ґрунту, 2007 р.

№	Варіант	Амоніфікатори	Імобілізатори мінерального азоту	Олігонітрофіли	Азотобактер, % обростання грудочок ґрунту	Денітрифікатори	Педотрофи	Целюлозоруйнівні бактерії	Полісахаридсинтезуючі	Автохтонні	Стрептоміцети	Мікроміцети	Мобілізатори мінеральних фосфатів	Кг	Мобілізатори органо-фосфатів
1	Перелог 2000р, який не зазнав пірогенного впливу	121,5	123,1	51,7	0	23,9	202,4	38,7	4,78	32,4	33,1	94,0	35,6	0	72,3
2	Перелог 2000р, який зазнав пірогенного впливу	62,5	84,1	35,2	0	5,11	190,9	29,4	2,65	32,5	39,4	87,0	17,6	0,316	49,4
3	Перелог 1987р, який зазнав пірогенного впливу	125,3	105,4	34,5	0	17,4	77,1	55,2	1,16	10,0	26,3	91,3	77,7	0,677	51,0
4	Екстенсивний агрозем	30,5	82,8	45,2	98,7	2,78	56,2	45,7	6,66	27,0	25,2	25,2	23,2	0,983	36,3
5	Інтенсивний агрозем	68,5	81,4	42,0	82,0	10,5	96,8	54,3	4,06	31,0	35,5	30,4	27,2	1,20	373,1

Примітка: КУО* – колонієутворююча одиниця

Таблиця 2. Показники інтенсивності мінералізаційних процесів і фітотоксичні властивості сірого лісового ґрунту різноцільового використання, 2007 р.

№	Варіант	Індекс педотрофності	Коефіцієнт опідзоленості	Коефіцієнт мінералізації азоту	Активність мінералізації гумусу, %	Маса 100 рослин тест-культури – озимої пшениці, г		
						стебла	корені	загальна маса
1	Перелог 2000р, який не зазнав пірогенного впливу	1,67	0,43	1,01	16,0	9,24	7,03	16,3
2	Перелог 2000р, який зазнав пірогенного впливу	3,05	0,56	1,35	17,0	7,58	7,22	14,8
3	Перелог 1987р, який зазнав пірогенного впливу	0,62	0,28	0,84	13,1	6,55	6,33	12,9
4	Екстенсивний агрозем	1,84	1,48	2,71	48,0	6,55	5,97	12,5
5	Інтенсивний агрозем	1,41	0,61	1,19	32,1	6,67	7,62	14,3

Таблиця 3. Вірогідність формування колоній мікроорганізмів (λ , год⁻¹ · 10⁻²) у сірому лісовому ґрунті різноцільового використання, 2007 р.

№	Варіант	Амоніфікатори	Імобілізатори мінеральн. азоту	Олігонітрофіли	Денітрифікатори	Педорофи	Целюлозоруйнівні	Мікроміцети	Мобілізатори мінеральфосфатів	Мобілізатори органофосфатів
1	Перелог 2000р, який не зазнав пірогенного впливу	3,10	3,50	5,40	0,12	6,30	7,40	3,10	3,40	2,20
2	Перелог 2000р, який зазнав пірогенного впливу	1,80	2,80	4,40	4,30	3,90	3,80	3,60	5,50	2,80
3	Перелог 1987р, який зазнав пірогенного впливу	2,80	4,30	4,30	4,70	4,30	6,60	2,00	3,10	3,50
4	Екстенсивний агрозем	1,40	2,80	4,60	0,89	4,00	5,90	1,60	4,20	0,90
5	Інтенсивний агрозем	2,80	5,60	7,60	0,24	4,70	7,20	1,20	4,80	1,60

Таблиця 4. Агрохімічна характеристика сірого лісового ґрунту за тривалого різноцільового використання, 2007 р.

№	Варіант	Вміст легкогідролізованого азоту, мг N/kg ґрунту	Вміст фосфору $\text{mgP}_2\text{O}_5/100\text{g}$ ґрунту	Вміст калію, $\text{mg K}_2\text{O}/100\text{g}$ ґрунту	Ступінь рухомості фосфору, $\text{mgP}_2\text{O}_5/100\text{g}$	Вологість, %
1	Перелог 2000р, який не зазнав пірогенного впливу	71,4	15,6	15,8	0,206	16,5
2	Перелог 2000р, який зазнав пірогенного впливу	82,6	14,3	12,3	0,113	12,0
3	Перелог 1987р, який зазнав пірогенного впливу	88,2	15,3	14,4	0,225	14,0
4	Екстенсивний агрозем	63,0	16,8	8,63	0,149	9,40
5	Інтенсивний агрозем	75,6	15,6	7,63	0,097	9,85

Вірогідність формування колоній мікроорганізмів ґрунту багаторічного перелогу значно вища за відповідні показники малорічного перелогу: амоніфікаторів – на 55,6%, імобілізаторів мінерального азоту – на 53,6, денітрифікаторів – на 9,3, педотрофів – на 10,3, целюлозоруйнівних бактерій – на 73,7, мобілізаторів органофосфатів – на 25,0% (табл.3). Отже, на стан мікробіоценозу багаторічного перелогу пожежа вплинула не так суттєво, як на стан мікробіоценозу малорічного перелогу. Це підтверджується і візуальними спостереженнями стану фітоценозів цих ділянок.

В результаті пожежі ґрунт багаторічного перелогу характеризується меншою інтенсивністю мінералізаційних процесів: меншим індексом педотрофності, коефіцієнтами опідзоленості і мінералізації азоту (табл.2). Фітотоксичність ґрунту багаторічного перелогу була найменшою серед досліджених варіантів протягом всіх років, однак вплив пожежі призвів до зростання його фітотоксичності, в результаті чого він займає останню позицію разом з екстенсивним агроземом. Найменш токсичним виявився ґрунт ділянки малорічного перелогу, яка не зазнала впливу пожежі.

Активність мінералізації гумусу, незважаючи на коливання чисельності автохтонних мікроорганізмів, мінімальна у ґрунті багаторічного перелогу – в 3,7 і 2,5 разів нижча за відповідні показники ґрунту екстенсивного і інтенсивного агроземів (табл. 2). В результаті пожежі різниця між перелогами різного віку за активністю деструкції гумусу стає не такою суттєвою, як раніше. Максимальною активністю мінералізації гумусу характеризується екстенсивний варіант агроценозу, перевищення відповідного показника інтенсивного варіанту складає 50%.

Порівняння між собою агроземів показало, що як і у минулому році, чисельність мікроорганізмів у ґрунті інтенсивного агроценозу більша за екстенсивний агрозем: амоніфікаторів – на 124,6 %, денітрифікаторів – на 27,8, педотрофів – на 72,2, целюлозоруйнівних – на 18,8, стрептоміцетів – на 14,8, мобілізаторів органофосфатів –

на 101,3% (табл.1). Кількість олігонітрофілів і мікроміцетів в обох агроземах приблизно однакова. На відміну від минулих років чисельність азотобактеру у інтенсивному агроземі підвищилася з 1,33 до 82,0%, можливо через культуру, яка вирощувалась у 2007 році – горох. Вміст імобілізаторів мінерального азоту у 2007 році в ґрунті інтенсивного варіанту зменшується і не перевищує відповідного показника екстенсивного агрозему. Полісахаридсинтезуючих мікроорганізмів, також як і раніше, міститься більше (на 64%) в екстенсивному агроземі, що вказує на нестачу мінеральних елементів. На відміну від минулих років, токсичність обох агроземів приблизно однакова: токсичність екстенсивного агрозему лише на 14,4% перевищує токсичність інтенсивного агрозему. Стан мікробіоценозу інтенсивного агрозему характеризується максимальною фізіологічною активністю мікроорганізмів агрономічно цінних еколого-трофічних груп, яка перевищує відповідний показник екстенсивного агрозему: амоніфікаторів – на 100%, імобілізаторів мінерального азоту – на 100, олігонітрофілів – на 65,2, педотрофів – на 17,5, целюлозоруйнівних – на 22,0, мобілізаторів мінерального фосфору – на 14,3, мобілізаторів органофосфатів – на 77,8% (табл. 3).

Порівняння стану мікробіоценозів агроземів з перелоговими ділянками показує, що більш близьким до природного, перелогового стану є стан мікробіоценозу інтенсивного агрозему. Про це свідчить як чисельність мікроорганізмів окремих еколого-трофічних груп, так і інтенсивність, спрямованість мінералізаційних та імобілізаційних процесів.

Висновки 1. Через прогрівання верхніх шарів ґрунту, зменшення густоти рослин і кількості кореневих виділень у ґрунті постпірогенної ділянки зменшується чисельність та фізіологічна активність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп. 2. В результаті пожежі зростає інтенсивність мінералізаційних процесів та фітотоксичність ґрунту мало- і багаторічного перелогів. 3. Вплив пожежі на стан мікробіоценозу багаторічного

перелогу виявився не таким суттєвим, як на стан мікро-біоценозу малорічного перелогу

1. Демкина Т.С., Золотарева Б.Н. Микробиологические процессы в почвах при различных уровнях интенсификации земледелия // Микробиологические процессы в почвах и урожайность сельскохозяйственных культур. – Вильнюс, 1986. – С.101-103. 2. Ильичев Ю.Н., Бушков Н.Т., Полешук А.А. Лесовозобновление на разных элементах рельефа сосновых гарей // Проблемы лесоводства и лесовосстановления на Алтае. – Барнаул, 2001. – С.20-22. 3. Кожевин П.А., Кожевина Л.С., Болотина И.Н. Определение состояния бактерий в грунте // Доклады АН СССР. – 1987. – т.297., № 5. – С.1247-1249. 4. Малиновська І.М. Агроекологічні основи мікробіологічної трансформації біогенних елементів ґрунту / Автореф. дис. д-ра с.г.наук. – К., 2003. 5. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов / Под ред.Н.А.Красильникова. – М.:МГУ, 1966. – 162с. 6. Мишустин Е.Н., Рунов Е.В. Успехи разработки принци-

пов микробиологического диагностирования состояния почв // Успехи современной биологии. – М.: АН СССР, 1957. – Т.44. – С. 256-267. 7. Никитин Д.И., Никитина В.С. Процессы самоочищения окружающей среды и паразиты растений. – М.: Наука, 1978. – 205 с. 8. Наумова Н.Б. Формирование биомассы почвенных микроорганизмов в ходе первичной сукцессии // Сукцессии и биологический круговорот. – Новосибирск: Наука, 1993. – С.44-52. 9. Наумова Н.Б. Биомасса и активность почвенных микроорганизмов после низового пожара в сосновом лесу // Почвоведение. – 2005. – №8. – С. 984-987. 10. Осичнюк В.В., Істоміна Г.Г. Вплив випалювання на степову рослинність // Укр. бот. журн. – 1970. – 27, №3. – С. 281-291. 11. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с. 12. Caldwell T.G., Johnson D.W., Miller W.W., Qualls R.G. Forest floor carbon and nitrogen losses due to prescription fire // Soil Sci. Soc. Am. J. – 2001. – v.66, № 1. – P. 262-267.

Надійшла до редколегії 26.05.09

УДК 577.4:538.56

М. Березовська, канд. біол. наук

ВИКОРИСТАННЯ ВОДОРОСТЕЙ В ЯКОСТІ ТЕСТ-ОБ'ЄКТІВ ДЛЯ ОЦІНКИ ЗАБРУДНЕННЯ ПРИРОДНОГО СЕРЕДОВИЩА БІХРОМАТОМ КАЛІЯ

У статті розглядаються результати дослідження чутливості окремих штамів водоростей до наявності важких металів, а саме, біхромату калію, у середовищі. Проводиться порівняльний аналіз реакції різних штамів мікро-скопічних водоростей на забруднення середовища біхроматом калію. Виявлено найчутливіший штам *Chlamydomonas radiata* (№729-06).

The microalgae strains sensitivity to the hawy metals influens were investigated onCr VI. The comparative analysis of microalgae responses to different Cr VI concentrations was carried out. The most sensitivity *Chlamydomonas radiata* (№729-06) was shown.

Останнім часом особливо гостро постає проблема забруднення навколишнього середовища важкими металами. Потрапляючи в організм людини у надмірних кількостях, вони призводять до незворотних змін у системах органів і крові, викликаючи важкі хвороби.

Тому актуально є розробка методів виявлення наявності важких металів у середовищі і оцінка їх ступеню впливу на біологічні об'єкти.

Доведено здатність водоростей виступати в ролі індикаторів забруднення природного середовища [1-3]. Підбір культур водоростей, які можуть виступати в якості тест-об'єктів для оцінки кількості забруднюючих речовин є важливим завданням у моніторингу стану природного середовища.

Метою нашої роботи було оцінити ступінь чутливості окремих штамів водоростей до наявності важких металів, а саме, біхромату калію, у середовищі і вибрати серед досліджених штамів найбільш чутливі до цієї речовини.

Об'єкт та методи досліджень. Матеріалом для роботи слугували штами водоростей, які утримуються у Альгологічній колекції Київського університету (АСКУ) на кафедрі ботаніки Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Відбір штамів проводили з урахуванням їх морфологічної будови та фізіологічних характеристик. Для дослідів відбирали одноклітинні водорості, які не утворюють слиз, з метою запобігання склеювання клітин. Рівномірний розподіл клітин у середовищі потрібний для проведення підрахунку їх чисельності у конкретному об'ємі середовища. Врахо-

вуючи вказані вимоги, нами були відібрані штами АСКУ: № 729-06 – *Chlamydomonas radiata* Deason et Bold, № 730-06 – *Chlamydomonas radiata* Deason et Bold, № 304-03 – *Dyctiosphaerium* sp., № 648-06 – *Spongiochloris excentrica* Starr, № 531-06 – *Chlorella vulgaris* Bejerinck. Водорості культивували в скляних колбах у рідкому поживному середовищі Болда із по- троєною кількістю азоту (3N BBM) [10]. Культури вирощували на освітлювачі з люмінесцентними лампами ЛБ-40 з дванадцятигодинним чергуванням світлової та темної фаз. Досліджували реакцію штамів на наявність у середовищі Cr (VI) у вигляді біхромату калію в концентраціях 0,05 мг/л, 15 мг/л, 45 мг/л, 135 мг/л. Підрахування чисельності клітин водоростей у середовищі проводили у першу добу після внесення $K_2Cr_2O_7$. Всі обрахування проводили із 6-и кратною провтрорністю.

Результати та їх обговорення. Дослідження показали різницю у реакції штамів на наявність біхромату калію у розчині. *Chlorella vulgaris* найчастіше використовується у альготестуванні, тому нам було цікаво порівняти реакцію цього штаму із штамами, вибраними нами. Після внесення $K_2Cr_2O_7$ у середовище із штамом *Chlorella vulgaris*, у варіанті дослідів із концентрацією біхромату калію 0,05 мг/л (ПДК) збільшилась кількість клітин, в порівнянні з контролем. Цей факт свідчить, що біхромат калію у такій концентрації справляє стимулюючу дію на розвиток водорості (Табл. 1). При більших концентраціях чисельність клітин помітно знижується.

Таблиця 1. Чисельність клітин водоростей в залежності від концентрації біхромату калію у середовищі

Концентрація $K_2Cr_2O_7$ у середовищі із культурою водоростей, мг/л	Штам № 729-06	Штам № 730-06	Штам № 304-03	Штам № 648-06	Штам № 531-06
	Кількість клітин в 1 мм ³	Кількість клітин в 1 мм ³	Кількість клітин в 1 мм ³	Кількість клітин в 1 мм ³	Кількість клітин в 1 мм ³
контроль	658,3	525,0	1225,0	1000,0	14825,0
0,05	350,0	441,7	1225,0	741,7	15958,3
15	350,0	333,3	1050,0	816,6	12783,3
45	283,3	308,3	1166,7	791,7	11058,3
135	233,3	200,0	1008,3	641,7	10866,7

Чисельність клітин *Dyctiosphaerium* sp. після внесення $K_2Cr_2O_7$ у варіанті із найменшою концентрацією речовини була такою ж самою, як і в контролі. Тобто, у такій кількості біхромат калію протягом першої доби після внесення не впливає на розвиток дослідженого штаму. У варіантах із більшою концентрацією чисельність його клітин зменшується.

Штами *Spongiochloris excentrica* (№ 648-06) і *Chlamydomonas radiata* (№ 730-06) відреагували на внесення $K_2Cr_2O_7$ зниженням чисельності клітин. Після внесення біхромату калію у всіх варіантах дослідів кількість клітин зменшується у порівнянні з контролем.

Найчутливішим до $K_2Cr_2O_7$ виявився штам *Chlamydomonas radiata* (№ 729-06). У першу добу після внесення біхромату калію чисельність його клітин при мінімальній концентрації зменшилась у двічі.

УДК 619:614.4/7:616.995:544.77:546.57

Висновки. В результаті дослідження чутливості колекційних штамів водоростей *Chlamydomonas radiata* (штами ACKU № 729-06, № 730-06), *Chlorella vulgaris* (№ 531-06), *Dyctiosphaerium* sp. (№ 304-03), *Spongiochloris excentrica* (№ 648-06) до важких металів (біхромату калію) виявлено найчутливіший штам – *Chlamydomonas radiata* (№ 729-06).

1. Кабиров Р.Р. Влияние сульфатов меди и цинка на почвенные синезеленые водоросли // Актуальные проблемы современной альгологии: Тез. докл. 1-й Всесоюз. конф. – К.: Наукова думка, 1987. – С. 164–165. 2. Кабиров Р.Р. Альгоиндикация с использованием почвенных водорослей (методические аспекты) // Альгология. – 1993. – 3, № 3. – С. 73–82. 3. Штина Э.А., Евдокимова Г.А. Реакция водорослей на загрязнение почвы тяжелыми металлами // Тезисы докладов 11-го Всесоюзного симпозиума "Биологические проблемы Севера". – Якутск, 1986 – С. 92–93. 4. Archibald P.A., Bold H.C. Phycological studies. 11. The genus *Chlorococcum* Meneghini // Univ. Texas Publ. – 1970. – № 7015. – P. 1–115.

Надійшла до редколегії 12.05.09

Н. Волошина, канд. вет. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЗІНВАЗІЙНОЇ ДІЇ НАНОБІОКОМПЗИТУ НА ЗБУДНИК ТРИХОСТРОНГІЛЬОЗУ КРОЛІВ

У статті наведено результати експериментальних досліджень щодо вивчення овоцидної та ларвоцидної дії нанорозчинів біоцидних металів на збудник трихостронгільозу кролів. Застосування комплексу аквахелатів наночастинок срібла, міді, магнію та цинку дало високий ефект при дезінвазії кліток для утримання кролів.

In the article the results of experimental researches are resulted in relation to the study of elimination of eggs and larvae is for help nanopart of microbial-resistant metals on exciter of trichostongilidosis crawls. Application of complex akvakhelation nanoparticals of silver, copper, magnecium and zinc showed a high effect at the desinvasion of cages for maintenance of crawls.

Вступ. Паразитарні хвороби відомі людству здавна. Багатовікові проблеми боротьби із паразитами залишаються актуальними і нині, незважаючи на стрімкий розвиток медицини, ветеринарії та біології.

Девастація – це комплекс заходів, спрямованих на знищення у довкіллі збудників інвазійних хвороб на різних стадіях їх розвитку.

Найбільш поширеним методом дезінвазії є хімічний. Препарати хімічного походження широко застосовуються у зв'язку з їх доступністю, простотою застосування та широким вибором [2].

Більшість дозволених дезінфекційних засобів, які широко застосовують, не ефективні проти збудників паразитарних хвороб. Крім того, швидке забруднення хімічними речовинами навколишнього середовища потребує раціонального підходу до їх використання. Наприклад, на дезінфекцію свиногоклубу на 108 тис. свиней потрібно 500 т сухого луку. З такою кількістю хімічних речовин екосистема справитися не в змозі. Надлишок хімічних засобів, у кінці-кінців, надходить у Світовий океан, викликаючи загибель фітопланктону, який виробляє до 70 % кисню атмосфери Землі [7].

Виникає необхідність пошуку нових екологічно чистих способів дезінвазії. Одним із таких є застосування електричного поля напругою не менше 100 В/см та частотою 50–250 кГц в середовищі, що містить личинки і яйця гельмінтів [5].

Практичне застосування описаного способу вимагає використання високовольтного джерела електричного струму, що створює певні труднощі при його застосуванні.

Відомо, що деякі метали мають виражені біоцидні властивості. Це такі метали як Cu, Co, Mn, Mg, Zn, Mo, Fe. При застосуванні мікроелементів у вигляді наночастинок, в значному ступені змінюється їх активність. У нанодисперсному стані метали можуть використовуватись у вигляді водної нанорідини для дезінфекції приміщень [3, 4].

Метою дослідження було вивчити дезінвазійні властивості нанорідини, що містить електрично заряджені наночастинок бактеріцидних металів.

Об'єкт та методи досліджень. Матеріалом для дослідження слугували наногальванічні елементи,

утворені наночастиками із срібла, міді, магнію та цинку. Вміст металів нанорідини складав близько 100 мг/дм³. Склад компонентів вибраний в кількостях: наночастки срібла – 0,05-500 мг/дм³, наночастки міді – 0,1-500 мг/дм³, наночастки магнію – 5-500 мг/дм³, наночастки цинку – 0,5-500 мг/дм³, вода – до 1000 дм³ (ТУ У 24.6 – 35291116-001:2007).

Об'єкт дослідження: культура яєць та личинки *Trichostrongylus instabilis*.

Дослідження проводили на базі акредитованої лабораторії військової частини А 3466 (центр ветеринарного забезпечення Збройних Сил України).

Визначення життєздатності яєць паразитичних червів визначали звичайною мікроскопією та культивуванням.

Лабораторне дослідження екскрементів здійснювали методом Фюллеборна. Ступінь обсіменіння яйцями гельмінтів об'єктів навколишнього середовища, а саме зскрібків з годівниць, підлоги та стінок кліток, металевих решіток проводили за методом А.І. Корчагіна (1986). Зскрібки вагою 10-15г відбирали ножом по діагоналі кліток з відстанню в один метр між місяцями відбору проб. Таким методом взяли по 10 зскрібків з кожної клітки. Кожну пробу вміщували в стакан і доливали по 200 см³ насиченого розчину кухонної солі. Після годинової експозиції досліджували верхню плівку на наявність яєць паразитичних червів [1, 6].

Результати та їх обговорення. Збудники трихостронгільозу кролів – геогельмінти. Інвазійні личинки стронгиліат проникають в організм тварин перорально та через шкіру. Статевозрілі паразити локалізуються в шлунку та тонких кишках кролів.

Для проведення дослідів було сформовано 2 дослідні групи кролів та 1 контрольну по 10 голів у кожній.

Згідно результатів попередніх гельмінтоскопічних досліджень екскрементів, кролі обох груп були спонтанно інвазовані нематодами *T. instabilis*, екстенсивність інвазії становила 100 %, інтенсивність – 8,4-14,1 яєць в 1г екскрементів.

З підлоги кліток, де утримували кролів дослідних та контрольної груп, взяли проби для санітарно-гельмінтологічних досліджень. За результатами дослі-

джень встановлено, що інтенсивність забруднення першої клітки становила, в середньому, 4 яйця трихостронглідів та 3,2 личинки на 1г зскрібка, другої – 3,4 та 3,5, контрольної – 3,8 та 3,8 відповідно.

В лабораторних умовах було проведено досліді щодо вивчення впливу нанорідини на культуру яєць трихостронглідів кролів та їх личинки.

Отримані відмиті яйця нематод у кількості по 50 штук помістили у чашки Петрі, додали по 2 см³ дослідної нанорідини. Контролем слугували яйця *T. instabilis*, вміщені у дистильовану воду. Експозицію встановлювали експериментально. Високу ефективність виявляли при експозиції 120 хвилин.

Після витримки культури яєць в нанорозчині певної концентрації і визначеної експозиції їх відмивали двічі водою, центрифугували протягом 5 хвилин при 5 тис. обертах за хвилину. Після цього здійснювали культивування культури яєць у відстояній водопровідній воді в термостаті при температурі 25°C.

Аналогічні дослідження проводили із личинками трихостронглідів кролів, оскільки саме вони є інвазивними.

Протягом 10 днів чашки Петрі і з культурою яєць нематод та їх личинками досліджували під малим (окуляр х15, об'єктив х8) та великим (окуляр х20, об'єктив х40) збільшенням мікроскопу щодня. При цьому виявляли та фіксували деформовані та мертві яйця за розривом оболонки, її прогинанням, станом плазми.

У дослідних групах не було виявлено розвитку яєць до стадії личинки, а у чашках Петрі з личинками були виявлені лише нежиттєздатні екземпляри.

Другий етап досліді проводили у виробничих умовах.

Кролів обох дослідних груп дегельмінтизували антгельмінтним препаратом з діючою речовиною – левамизол (розрахунок дози проводили згідно інструкції по застосуванню) та пересадили у чисті клітки. Звільнені від тварин дерев'яні клітки із металевими решітками підлягали ретельному механічному очищенню, оскільки гній, сміття та інші забруднення надійно захищають яйця та личинки гельмінтів від дії хімічних засобів при дезінвазії.

Першу клітку обробляли нанобіокмполитом у концентрації 100 мг/дм³, другу – дезінфекційним засобом Хлорантоїн 1% (вміст активного хлору – 26 %). Розрахунок робочого розчину складав 1 дм³ на 1м² площі клітки. Метод обробки – зрошення. Третю клітку (контрольну) – не дезінвазували. Через тиждень після обробки здійснили відбір проб для проведення санітарно-паразитологічного контролю ефективності дезінвазії.

Дослідженнями встановлено, що у зскрібках з першої дослідної клітки яйця та личинки нематод були відсутні, у другій – виявлено 5 яєць нематод та 2 личинки, а у пробах контрольної клітки їх виявлено по 5,6 яйця на 1г зскрібка та 3 личинки (табл.1).

Таблиця 1. Порівняльна ефективність дезінвазії кліток для утримання кролів

Дезінвазійний засіб	ЕІ, %	ІІ екз. яєць та личинок	Санітарно-гельмінтологічні дослідження кліток до дезінвазії, екз./1 г.		Санітарно-гельмінтологічні дослідження кліток після дезінвазії, екз./1 г.	
			яйця	личинки	яйця	личинки
Нанорозчин	100	14,1	4,0	3,2	-	-
Хлорантоїн	100	11,3	3,4	3,5	5,0	2,0
Контроль	100	8,3	3,8	3,0	5,6	3,0

Як показано в наведеній таблиці, овоцидний та ларвоцидний ефект колоїдів нанокластерів металів дорівнює 100 %, в той час як застосування Хлорантоїну дезінвазійних властивостей не проявляє.

Позитивним аспектом застосування аквахелатів нанометалів є те, що вони можуть бути застосовані як універсальні сполуки, які володіють комплексом дезінфекційних та дезінвазійних властивостей.

Висновки: на основі проведених досліджень щодо дії нанорозчину на яйця та личинки *T. instabilis* можна зробити висновок, що колоїдний розчин наночастинок біоцидних металів, поряд з вираженими дезінфекційними властивостями, має дезінвазійну дію у концентрації 100 мг/дм³ при його однократному застосуванні. Ефективність запропонованого способу знешкодження збудника трихостронгільозу кролів дорівнює 100 %.

1. Атлас гельмінтів тварин / І. С. Дахно, А. В. Березовський, В. Ф. Галат та ін. – К.: Ветінформ, 2001. – 118 с.
2. Березовський А. В. Екологічні проблеми сучасної паразитології (аналітичний огляд) // Науковий вісник НАУ. – 2006. – Т. 98. – С. 19-28.
3. Нанотехнологии в медицине и биологии: материалы научно-практической конференции с международным участием ["Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины"], (Новосибирск, 11-12 октября 2007г.) / Сибирский университет потребительской кооперации, 2007. – 167 с.
4. Пат. на корисну модель 34566 Україна, МПК (2006) А 61L 2/00, А 61L 9/14. Спосіб дезінфекції приміщень із застосуванням наночастинок бактеріцидних металів / Каплуненко В.Г., Бусол В.О.; Заявник та патентоволодар Національний аграрний університет; заявл. 13.04.08; опубл. 11.08.08., Бюл. № 15. 5. Пат. 2038320 Российская Федерация, МПК 6С 02F 1/46, С 02F 11/00. Способ обеззараживания сточных вод / Гузов И. П., Худичков Н. М.; заявитель и патентообладатель Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики. – № 4921557/26; заявл. 25.03.91; опубл. 27.06.95, Бюл. № 26. 6. Сорока Н.М., Галат В.Ф. Лабораторні методи діагностики хвороб тварин: Навчальний посібник. – К.: НАУ, 1997. – 22 с. 7. Черниченко И. А., Сердюк А. М., Литвиченко О. Н. Гигиеническое регламентирование и риск // Гигиена и санитария. – 2006. – №1. – С. 30-32.

Надійшла до редколегії 10.06.09

УДК 577.391 + 57.045

Л. Остапченко, д-р біол. наук, проф., В. Чайка, канд. біол. наук, К. Лаврова, канд. біол. наук, І. Компанець, канд. біол. наук

ВПЛИВ ІНДУКТОРІВ ІНТЕРФЕРОНУ НА АКТИВНІСТЬ 2',5'-ОЛІГОАДЕНІЛАТ-СИНТЕТАЗИ В ЛІМФОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ ТРАНСФОРМОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА

Встановлено, що біологічно активні препарати на базі індукторів інтерферону стимулюють активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах тимусу щурів, що свідчить про посилення компенсаторних реакцій імунної системи у відповідь на дію мікрогравітації.

It was established, that biologically active preparations on base of interferon inducers stimulate 2',5'-oligoadenylate-synthetase activity in rats lymphocytes that testifies to strengthening compensatory reactions of immune system in reply to microgravitation action.

Вступ. У наш час стає нагальною проблемою дослідження молекулярних механізмів прояву реакції органі-

зму людини на дію пошкоджуючих факторів оточуючого середовища, які мають місце за умов перебування в

© Остапченко Л., Чайка В., Лаврова К., Компанець І., 2009

космосі. Відомо, що в першу чергу ураження зазнає імунна система, яка є найбільш чутливою до будь-яких стресових факторів, таких як іонізуюча радіація, зміна температури, гравітації та ін. Для оцінки імунних реакцій і розробки шляхів корекції порушень актуальними є дослідження функціонування імунокомпетентних клітин і, зокрема, вивчення процесів сигнальної трансдукції як показника функціонального стану цих клітин.

Особливу увагу звертають на себе месенджерні каскади, що індукуються інтерфероном – цитокином, залученим до процесів захисту організму від вірусів, онкологічних процесів, а також до механізмів активації імунної системи [1,5,6]. Ключовий ферменти системи інтерферону 2',5'-олігоаденілат-синтетаза зазнає істотних змін за умов патологічного стану, і тому за певних умов виникає необхідність в корекції рівню її активності. У зв'язку з цим цей фермент може бути зручною мішенню для дії різних фармакологічних препаратів. Серед препаратів, які б ефективно впливали на активність досліджуваного ферменту особливий інтерес становлять індуктори інтерферону. У зв'язку з цим метою даної роботи було проаналізувати особливості реакції інтерферон-індукованої системи в імунокомпетентних клітинах в різних експериментальних моделях на дію трансформованого середовища.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єкти дослідження: в роботі використовували білих щурів лінії Вістар обох статей масою 130-150 г. У системі *in vivo* було вивчено вплив наступних індукторів інтерферону: полі(I)-полі(C), циклоферону та тилорону, які вводили щурам внутрішньочеревинно в дозах 50 мг/кг ваги, 62 мг/кг ваги та 60 мг/кг ваги 2 рази на добу, відповідно, на протязі 4-х днів за описаними методиками [9,3,2]. Лімфоцити, виділені з тимусу щурів, кліноставували протягом 60 хв на горизонтальному кліноставі "Цикл-2". Активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах визначали спектрофотометричним методом Justensen [7]. Ферментативну активність виражали в наномолях неорганічного пірофосфату за 1 хв на 1 мг білка. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі та ін. Статистичну обробку результатів і побудову графіків проводили на ЕОМ із застосуванням стандартних пакетів прикладних програм.

Результати та їх обговорення. Сигнальна система 2',5'-олігоаденілату, індукована інтерфероном, є одним з ключових метаболічних шляхів, що визначають стан лімфоїдних клітин. Відомо, що система 2',5'-олігоаденілату має широкий спектр біологічних функцій, які охоплюють багато регуляторних процесів, зокрема антивірусний та антипроліферативний захист клітин, а

також регуляція їх росту і диференціації, процесингу пре-мРНК, реакції клітин на зміну гормонального статусу та ін. [6]. По-перше, каскад 2,5A опосередковує антивірусну дію інтерферону, гальмуючи, зокрема, реплікацію вірусів. Відомо, що реплікація багатьох вірусів блокується 2',5'-олігоаденілатом. Наступною важливою властивістю системи 2,5A є її антипроліферативна активність. Показано, що інтерферон характеризується здатністю інгібувати ріст клітин, що корелює з проявом антипроліферативних ефектів [8]. Регуляція росту клітин під дією інтерферону опосередковується певними білками, зокрема РНКазою L та протеїнкіназою R, які індукуються інтерфероном [4]. Тому для з'ясування впливу стресових факторів космічного середовища на імунокомпетентні клітини тварин є важливим не тільки дослідити функціонування цієї сигнальної системи, а й провести пошук нових біологічних препаратів на баз індукторів інтерферону, які б могли використовуватися з профілактичною та лікувальною метою. Це дозволить скорегувати наслідки пошкоджуючої дії на імунітет космічної радіації та невагомості, а також підвищити стійкість організму до інших несприятливих факторів. На сьогодні синтезована велика кількість індукторів інтерферону, які характеризуються потужною антивірусною та антипроліферативною активністю. До їх числа належать аміксин (індукує IFN- α/β в Т-клітинах), циклоферон (індукує IFN- α в В-клітинах і макрофагах), дсРНК, яка здатна індукувати різні види інтерферону в лімфоцитах, а також ларифан, кагоцел і рагозин [10]. Широкий спектр біологічної дії індукторів інтерферону (антипроліферативна, радіозахисна, антивірусна тощо) обумовлює їх потенційне використання при корекції впливу негативних факторів космічного польоту. У якості індукторів інтерферону нами було обрано препарати циклоферону (індуктор IFN- α), полі(I)-полі(C) (індуктор IFN α/β), та тилорону (індуктори IFN- γ).

Нами було встановлено, що годинний вплив моделюваної мікрогравітації призводить до зростання активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази на 30% в лімфоцитах тимусу щурів (рис.1). Можна припустити, що посилення активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази під впливом мікрогравітації є компенсаторною реакцією лімфоїдних клітин на дію цього стресового фактору. Це корелює з раніш встановленими нами даними стосовно загибелі лімфоцитів при кліноставуванні: при зменшенні кількості клітин стимулюються біохімічні регуляторні системи, що, зокрема, може призвести до підвищення активності інтерферон-індукованого ферменту 2',5'-олігоаденілат-синтетази.

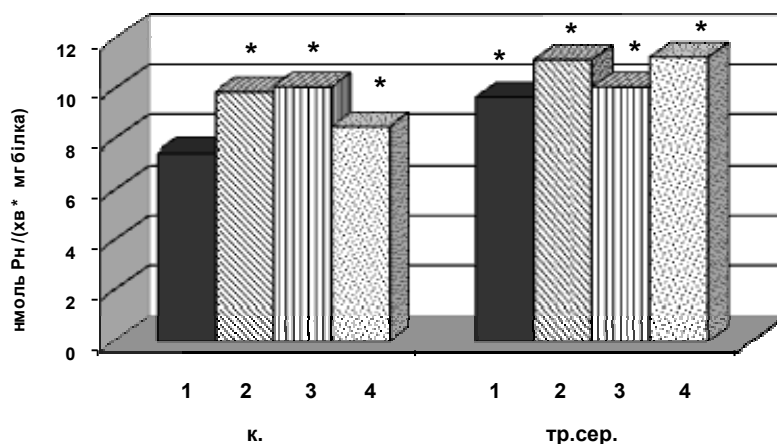


Рис. 1. Вплив індукторів інтерферону на активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах тимусу щурів (к.) та за умов дії трансформованого середовища (тр.сер.):

1 – без індуктора, 2 – введення циклоферону, 3 – введення тилорону, 4 – введення полі(I)полі(C)

*- $p < 0,05$ по відношенню до групи без індуктора

Введення індукторів циклоферону циклоферону, тилорону та полі(І)полі(С) призводило до зростання активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази на 32%, 34% та 14%, відповідно, у порівнянні з контролем (рис.1).

При дослідженні впливу мікрогравітації на активність 2,5А-синтетази тимоцитів щурів за умов преінкубації з індукторами інтерферону нами було встановлено, що введення циклоферону, тилорону та полі(І)полі(С) призводило до зростання активності ферменту на 49%, 35% та 50%, відповідно, у порівнянні з контрольними значеннями (рис.1). Максимальну зміну активності 2,5А-синтетази викликало введення тилорону, внаслідок якого активність ферменту зросла на 35 % у порівнянні з контролем без кліностагування та на 10 % у порівнянні з контролем за умов кліностагування. Активізацію ферменту 2',5'-олігоаденілат-синтетази можна оцінити як виявлення компенсаторних механізмів імунотропних клітин на вплив пошкоджуючого фактору космічного середовища (мікрогравітації), що, можливо, є пов'язаним із стимуляцією синтезу інтерферону. Оскільки різні індуктори інтерферону посилюють активуючу дію цього фактору на 2',5'-олігоаденілат-синтетазу, це дає підстави припустити, що їх дія викликає підвищення вмісту ендогенного інтерферону в клітинах.

Висновки. Таким чином, за умов дії мікрогравітації відбувається зростання активності ключового ферменту

системи 2',5'-олігоаденілату – 2,5А-синтетази. Це дає підставу вважати, що за умов дії трансформованого середовища відбувається активація процесів сигнальної трансдукції в інтерферон-індукованій системі 2',5'-олігоаденілату, яка може реалізуватися через індукцію інтерферону в лімфоцитах та, як наслідок, посилення експресії генів індукваних ним ферментів. Введення індукторів інтерферону різного спектру дії призводить до подальшого зростання активності цього ферменту, що дозволяє провести корекцію патологічних змін в клітинах та посилити компенсаторні реакції імунної системи у відповідь на дію факторів космічного польоту.

1. Гамалєв Н.Ф., Шишко Е.Д., Горобець О.Б. // Космічна наука і технологія. – 2004. – т. 10, № 5/6. – С. 204 – 207. 2. Головенко М.Я., Борисюк І.Ю. // Клінічна фармація. – 2005, №4 (9). – С. 32-35. 3. Лобенко А.О., Тавар-ткладзе Н.Є. // Вісник морської медицини- 2000, № 3 (11). – С.13-17. 4. Соколова К.М., Лопатина О.А., Носик Н.Н. и др. // Бюл. Эксп. Биол. Мед. – 1993. – т. 115, № 6. – С. 633-634. 5. Cogoli A. // J. Leukoc. Biol. – 1993. – v. 44, № 3. – P. 259-268. 6. Cogoli A., Cogoli-Greuter M. // Adv. Space Biol. Med. – 1997. – v. 6. – P. 33-79. 7. Justensen J., Kjeldgaard N. O. // Anal. Biochem. – 1992. – v. 207, № 1. – P. 90-93. 8. Justesen J., Ferbus D., Thang M. N. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1980. – 77, N 8. – P. 4618-4622. 9. Popovich I. G., Zabezhinski M. A., Kovalenko A.L. et al. // Cancer. Lett.-2000. – 148, N 2. – P.215- 219. 10. Sangfelt O., Ericson S., Grandt D. // J. Interferon. Res. – 2000. – v. 10. – P. 198-215.

Надійшла до редколегії 27.03.09

УДК 577.151.645:575.174.015.3

Д. Радіонов, зав. лаб., А. Андрієвський, канд. біол. наук, доц.,
І. Козерецька, канд. біол. наук, доц.

АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ ІЗОФОРМ ЕСТЕРАЗ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* З ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ УКРАЇНИ

Використовуючи метод лужного електрофорезу у поліакриламідному гелі, розділяли форми карбоксиестераз самців та самок Drosophila melanogaster із восьми природних популяцій України. Провели порівняння рівня експресії чотирьох ізоформ карбоксиестераз в досліджуваних популяціях. Проаналізовані полові та міжпопуляційні різниці в активності вивчаємих молекулярних форм карбоксиестераз.

The variety of carboxyesterases' molecular forms of male and female of Drosophila melanogaster from eight natural populations of Ukraine has been studied by the method of polyacrylamide gel alkaline electrophoresis. The expressions of four isoforms of carboxyesterases have been compared. Sex and interpopulation differences of carboxyesterases activity have been analyzed.

Вступ. Адаптація до умов навколишнього середовища супроводжується численними фізіологічними та біохімічними змінами, які торкаються більшості систем і структур організмів. Зміна активності ферментів є важливим і швидким засобом змінити функціональну активність біологічних систем, що сприяє пристосуванню тварин до впливу різних зовнішніх факторів [2]. Одну з головних ролей у цих процесах відіграє регуляція активності гідролітичних ферментів, які виконують в організмі функцію підтримання фізіологічного балансу різних біологічно активних речовин. Тому вивчення стану цих ферментативних систем у організмів, що мешкають на територіях з різними екологічними умовами, є ефективним методом оцінювання їх адаптивних можливостей. Одним з найбільш зручних і недостатньо вивчених ферментів у *Drosophila melanogaster* є естерази, що характеризуються широким спектром ізоформ і аллоформ [1, 3, 6].

У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення спектру ізоформ карбоксиестераз і аналіз їхньої активності у самців і самок імаго *Drosophila melanogaster* з різних природних популяцій України.

Об'єкт та методи досліджень. Для досліджень використовували імаго *Drosophila melanogaster* трьохдобового віку восьми лабораторних популяцій, яких розводили методом масових схрещувань протягом 4-х поколінь, засновники яких були вилучені в 2008 році з природних популяцій на різних територіях України: Водойма – охолоджувач ЧАЕС, Чорнобиль, Пирятин,

Одеса, Магараж, Київ, Варва і Лубни. Розвиток мух відбувався при температурі 25 °С на стандартному поживному середовищі [4].

Для отримання екстрактів тканин окремо взятих 8 самців і 7 самок з кожної популяції (попередньо наркотизованих дітиловим ефіром) гомогенізували протягом 2 хвилин в 10 мкл гліцерин – NaOH буферу рН 9,0 що містить 1% тритон Х-100. Гомогенати центрифугували при 12 000 г протягом 15 хвилин при + 4 °С. До приготованих екстрактів додавали 5 мл 0,01% розчину бромфенолового синього, після чого здійснювали електрофоретичний розподіл в системі лужного (рН 8,3) вертикально-пластинчатого 7,5% поліакриламідного гелю, далі гелеві блоки відмивали дистильованою водою. Наявність різних молекулярних форм естераз визначали за допомогою реакції азосполучення продуктів розщеплення α - та β -нафтилацетатів з сіллю діазонія використовуючи як інкубаційне середовище 25 мл 0,1 М тріс – гліциновий буфер рН 7,4.

Через 20 хвилин інкубації ферменти інактивували термічною обробкою. Активність і рухливість в гелевому блоці ферментів визначали за допомогою ліцензійної комп'ютерної програми аналізатора спектрів зображень "АнаІС" (Поджарський, Рибалка, 2004, Україна) і відображали в одиницях оптичної щільності ($\Delta \bar{D} \circ$) і одиницях рухливості (Rf) відповідно. Статистичну обробку отриманих даних проводили, користуючись комп'ютерною програмою "Excel" з пакета "MS Office" [5].

Результати та обговорення. Результати електрофоретичного аналізу виявили наявність 4 форм естераз в екстрактах тканин самців і самок імаго *Drosophila melanogaster* трьохдобового віку у всіх досліджених популяціях з відповідними показниками Rf: 0,130 (ацетилхолінестераза), 0,150 (ацетилестераза або С-естераза), 0,340 та 0,350 (аллозими β-специфічної карбоксіестерази). Найбільш рухливі молекулярні форми β-специфічних естераз були присутні одночасно не у всіх досліджених екстрактах, в залежності від наявності в генотипі мух алелів які кодували різні форми ферменту (S- і F-аллозими). Як демонструє малюнок 1А, найбільша активність ацетилхолінестерази (Rf 0,130) спостерігалась у самців з популяцій самих південних регіонів України (Одеса та Магарач), а також у самок з популяцій Водойма – охолоджувач ЧАЕС і Лубни. Відповідно в цих же популяціях спостерігався достовірний статевий диморфізм по експресивності даної ізоформи естераз. У екстрактах тканин мух з інших популяцій достовірних між популяційних і внутрішньопопуляційних статевих відмінностей не спостерігалось (рис. 1А).

Найвища активність С-естерази (Rf 0,150) спостерігалась у самців з популяцій Варва, Одеса та Магарач і у самок популяції, яка існує на березі водойми – охолоджувача ЧАЕС (мал. 1Б). Найнижча активність ідентифікована у самок популяції Варва і імаго обох статей Київської популяції. Найбільші між статеві відмінності за

ступенем експресивності даної молекулярної форми ферменту спостерігалися в популяції Варва, де активність С – естерази у самців перевершувала аналогічну активність у самок більш ніж у 4 рази. Достовірно вище активність цієї карбоксіестерази у самців спостерігалась нами також у популяціях Лубни, Магарач та Одеса. В той же час, в популяціях Водойма – охолоджувач ЧАЕС і Чорнобиль активність ацетилестерази була вищою у самок. У популяціях *Drosophila melanogaster* з м. Пирятин та м. Києва достовірних статевих відмінностей за даним показником не спостерігалось (рис. 1Б).

Аналіз рівня експресії S-аллозиму β-специфічної естерази (мал. 1В) показав що він найбільш високий у самців *Drosophila melanogaster* з популяції Магарач, Одеса та Водойма – охолоджувач ЧАЕС і у самок з Чорнобильської популяції, і найбільш низький у самок, які походять з популяції в м. Києва. Підвищена активність даного аллозиму у самців, у порівнянні з самками, встановлена в популяціях Лубни, Магарач, Одеса та Водойма – охолоджувач ЧАЕС (у всіх зазначених випадках активність ферменту у самців була в 2 рази вища ніж у самок) і в Київській популяції, де не зважаючи на низький загальний рівень експресивності S-аллозиму β-специфічної естерази в порівнянні з іншими досліджуваними групами, активність ферменту у самців була вища за аналогічний показник самок більш ніж у 3 рази.

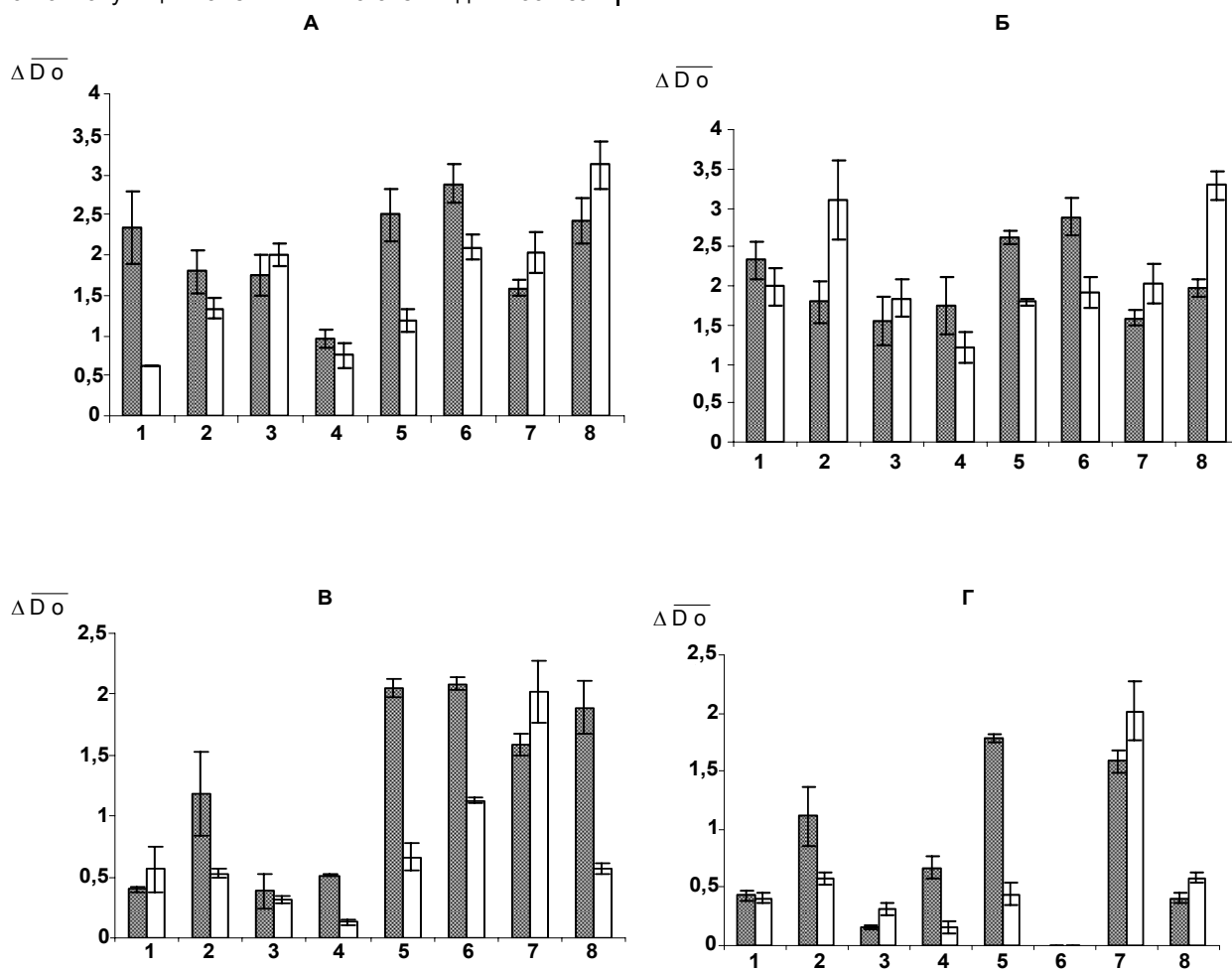


Рис. 1. Порівняльна характеристика активностей ізоформ карбоксіестераз імаго самців і самок *Drosophila melanogaster* з різних природних популяцій України:

А – ацетилхолінестераза (Rf 0,130), Б – ацетилестераза або С-естераза (Rf 0,150), В – S-аллозім β-специфічної естерази (Rf 0,340), Г – F-аллозім β-специфічної естерази (Rf 0,350); 1 – Варва, 2 – Лубни, 3 – Пирятин, 4 – Київ, 5 – Магарач, 6 – Одеса,

7 – Чорнобиль 8 – Водойма – охолоджувач ЧАЕС, ■ - самці □ - самки

Протилежна тенденція, коли активність даної форми карбоксіестерази була вище в екстракті тканин самок, показана тільки для Чорнобильської популяції. У мух в популяціях Варва та Пирятин статевих відмінностей не встановлено (мал. 1В). Активність *F*-аллозима β -специфічної естерази була найвищою у самців магарачської і самок чорнобильської популяції. Мінімальна активність відзначалася у самців, які походять з популяції м. Пирятин і у самок з популяції м. Київ (рис. 1Г). У особин *Drosophila melanogaster* з Одеської популяції ця форма естерази виявлена не була. Достовірно вищий рівень експресії цієї ізоформи у самців спостерігався в популяціях Лубни, Київ і Магарач, і у самок з популяції Пирятин, Чорнобиль і Водойма – охолоджувач ЧАЕС. У популяції Варва статевий диморфізм за даною ознакою відсутній. Слід зазначити, також, що в середньому рівень експресії *F*-аллозима β -специфічної естерази був нижче в одних випадках (у самців популяцій Пирятин, Магарач і Водойма – охолоджувач ЧАЕС) або достовірно не відрізнявся від рівня активності *S*-аллозима.

Аналізуючи активність всіх досліджених нами ізоформ естераз в природних популяціях України слід зазначити, що самки *Drosophila melanogaster* з Київської популяції мали найнижчий рівень експресивності за всіма чотирма ферментами (рис. 1А – 1Г).

Статевий диморфізм в досліджуваних популяціях мух має різний характер, так, наприклад, в популяціях Варва та Пирятин за трьома ферментами з чотирьох між статевих розходжень не спостерігалось, а в популяціях Лубни, Магарач, Чорнобиль і Водойма – охолоджувач ЧАЕС достовірні статеві відмінності були зафіксовані за всіма чотирма формами естераз. Цікавим, на нашу думку, є той факт, що активність трьох ферментів (ацетилхолінестерази, *C*-естерази і *F*-аллозима β -специфічної естерази) у самок з популяцій з самих радіоактивно забруднених територіях (м. Чорнобиль і Водойма – охолоджувач ЧАЕС) достовірно перевищує

активність естераз самців (рис. 1А – 1Г). Також активність ацетилхолінестерази, *C*-естерази і *S*-аллозима β -специфічної естерази була значно вищою у самців, у порівнянні з самками, що живуть у південних регіонах (Одеса, Магарач) України (рис. 1А – 1Г).

Висновки 1. У досліджених природних популяціях *Drosophila melanogaster* України ідентифіковано чотири форми карбоксіестераз.

2. У самців і самок імаго *Drosophila melanogaster* що походять з різних популяцій України спостерігаються суттєві міжпопуляційні і внутрішньопопуляційні статеві відмінності щодо експресії досліджуваних карбоксіестераз.

3. У мух Одеської популяції *F*-аллозим β -специфічної естерази не виявлений.

4. У популяціях, які існують у південних регіонах України активність ацетилхолінестерази, *C*-естерази і *S*-аллозима β -специфічної естерази була значно вищою у самок, ніж у самок.

5. Рівень експресії ацетилхолінестерази, *C*-естерази і *F*-аллозима β -специфічної естерази у самок з популяцій що мешкають на самих радіоактивно забруднених територіях (м. Чорнобиль і Водойма – охолоджувач ЧАЕС) достовірно перевищує активність естераз самців з цих популяцій.

1. Андриевский А. М., Тоцкий В. Н. Генетическая структура экспериментальной популяции *Drosophila melanogaster*, полиморфной по локусу β -фильной карбоксистеразы // Цитология и генетика. – 2006. – Т. 40, № 6. – С. 3-10. 2. Глазко В. И., Созинов И. А. Генетика изоферментов животных и растений. – Киев: Урожай, 1993. – 528 с. 3. Корочкин Л.И. Молекулярно-генетические механизмы регуляции тканеспецифической экспрессии генов est S у дрозофилы // Мол. Биология. – 2000. – т. 34, № 5. – С. 736-742. 4. Медведев Н. Н. Практическая генетика. – М.: Наука, 1968. – 294 с. 5. Рокицкий П. Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: Высшая школа, 1978. – 448 с. 6. Healy M.J., Dumancic M.M., Oakeshott J.G. Biochemical and physiological studies of soluble esterases from *Drosophila melanogaster* // Biochem Genet. – 1991. – N 29. – 365-388.

Надійшла до редколегії 24.06.09

УДК 578.81

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

ОТРИМАННЯ МУТАНТНИХ ФАГІВ ІЗ ШИРОКИМ СПЕКТРОМ ЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

Отримано *h*-мутанти фагів 216-V2 та 216-KC до резистентних бактерій – *h*-V2 та *h*-KC, відповідно, що мали стабільну літичну активність. Проведено порівняння їх ДНК за допомогою рестрикції специфічними ендонуклеазами *EcoRI*, *EcoRV*, *BglIII* та *HindIII* геномів. Показано, що електрофоретичні профілі отриманих рестрикційних фрагментів НК фагів 216-V₂, 216-KC подібні. За характером розділення фрагментів вихідні фази та їх *h*-мутанти були повністю відмінними.

H-mutants of phages 216-V2 and 216-KC to resistant bacteria *h*-V2 and *h*-KC, respectively, were obtained; they had stable lity activity. Comparison of their genomic DNA was done by restriction analysis. using specific endonucleases *EcoRI*, *EcoRV*, *BglIII* and *HindIII*. It was shown that electrophoretic profiles of the obtained restricted fragments of DNA of phages 216-V₂ and 216-KC were similar. According to the character of obtained fragments, initial phages and their *h*-mutants were absolutely different.

Вступ. Актуальність вивчення впливу абіотичних та біотичних чинників на особливості циркуляції фагів фітопатогенних бактерій в агроценозах зумовлена необхідністю висвітлення процесів, що відбуваються в екосистемах та ефективного впливу на них. Одним із шляхів такого впливу може бути штучне регулювання чисельності фітопатогенної мікрофлори в біоценозі із використанням фагів. Сучасні засоби боротьби з фітопатогенними бактеріями є, зазвичай, хімічними. Їх не можна назвати екологічно чистими та цілком безпечними для природи. Це зумовлює важливість створення препаратів захисту рослин від бактеріальних патогенів із застосуванням їх природних антагоністів – вірусів бактерій (фагів) [6]. Згідно літературним даним, для досягнення більшого ефекту при їх використанні важливо враховувати утворення клонів резистентних бактерій. Подолання їх стійкості можливе при використанні препаратів на основі суміші бактеріофагів. Вони мають складатися

з фагів, як вихідного типу, так і мутантних, за ознакою кола бактерій – хазяїв (*h*-мутантів) [5]. Метою роботи було отримання мутантів фагів з широким спектром ліричної активності та вивчення взаємодії фітопатогенних бактерій та їх фагів.

Об'єкти та методи досліджень. Об'єктом досліджень були фаги 216-V2 та 216-KC фітопатогенного штаму *Erwinia carotovora* st.216 та їх штучно отримані мутанти. В роботі використовували культуру фітопатогенних бактерій, яка була отримана з колекції музею Інституту мікробіології та вірусології ім. акад. Д.К. Заболотного НАН України, відділу фітопатогенних бактерій (штам: *Erwinia carotovora* st.216).

Для вирощування бактерій та титрування фагів використовували готові, комерційні агаризовані поживні середовища, на основі рибного гідролізату. Титр визначали в бляшкоутворюючих одиницях на мл (БУО/мл) по Грація [3].

© Андрійчук О., Семчук Л., Ромашев С., 2009

Для отримання препаратів фагів високої концентрації використовували центрифугування при 90000g протягом 2 годин. Центрифугування проводили при температурі 5°C – 10°C. Осад ресуспендували в об'ємі 1/30 від вихідного в 0,1 М трис-HCl буфері, рН 7,2-7,4. Для отримання препаратів бактеріофагів задовільної чистоти використовували не менше двох циклів диференційного центрифугування. Фракціонування білків фагів проводили у ПААГ за методом диск-електрофорезу за Леммлі [7]. ДНК виділяли методом високотемпературної обробки суспензії фагів розчином SDS за Девісом [1], із модифікаціями [2]. В роботі використовували ендонуклеази рестрикції: HindIII, EcoRI, EcoRV та BglII.

При вирощуванні фагів в середовищі, що містило акридинний жовтогогарячий у кінцевому розведенні 1:400 000 були отримані h-мутанти: h-V₂ and h-KC.

Результати та їх обговорення. В роботі подані результати виділення та дослідження властивостей h-мутантних фагів, отриманих до резистентних форм бактерій в лабораторних умовах, які моделюють можливі антагоністичні взаємовпливи "хижака та жертви" у природі. Для проведення досліджень використовували моделі системи "фаг – бактерія", які відображали можливі природні (біотичні) процеси адаптації до нового хазяїна і абіотичні чинники (використання мутагенів до фагів) у процесі подолання стійкості хазяїна. Аналіз проводили із застосуванням лабораторних моделей. В роботі використовували як хазяїна фітопатогенний штам *Erwinia carotovora* st.216, що викликає гнилі та виділені із природних агроценозів фаги до нього.

Показано, що при інфікуванні фагами штаму *E. carotovora* st.216 спостерігається утворення клонів резистентних бактерій. Встановлено, що їх стійкість не носить лізогенного характеру (плив температури, ультрафіолету, мітоміцину C не привели до індукції гомологічних фагів, які могли зумовлювати імунність бактеріальних мутантів) [8]. Використання мутагену акридинового жовтогогарячого та ультрафіолету [4] було отримано h-мутанти фагів 216-V₂ та 216-KC до резистентних бактерій – h-V₂ та h-KC, відповідно, які мали стабільну літичну активність.

За морфологією фаги та їх h-мутанти не відрізнялись. Вони представляли собою ізометричні частки з коротким хвостовим відростком, які відносяться до порядку *Caudovirales*, родини *Podoviridae*, C1 морфотипу. Визначено спектр літичної активності та ефективність репродукції чотирьох досліджуваних фагів з використанням 16 штамів бактерій родів *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Raenibacillus*, *Burkholderia* та *Xanthomonas*. Було показано, що мутантні бактеріофаги відрізнялись від вихідних за спектром літичної активності. Показано, що фаги 216-V₂, 216-KC були специфічними до *E. carotovora* st.216, фаг h-V₂ виявляв широкий спектр літичної активності, а саме до 4 штамів: *P. syringae* pv. *tabaci* st.223, *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* st.4013, *P. fluorescens* st.8573 та *E. carotovora* st.216 – CV₂^r; фаг h-KC є активним тільки до фагорезистентної культури *E. carotovora* 216–Crb^r.

Ефективність репродукції бактеріофагів та їх h-мутантів на різних бактеріальних хазяїнах дозволяє виявити генетичні та фенотипові зміни, що відбулись у мутантів. Дослідження літичної здатності вихідних фагів 216-V₂ та 216-KC показали, що їх ефективна репродукція з високими титрами (10⁹ БУО/мл) відбувається тільки на "своєї" культурі *E. carotovora* st.216. Мутантний фаг h-KC також мав високу ефективність репродукції на "своєї" фагорезистентній мутантній культурі *E. carotovora* st.216–Crb^r. h-мутантний фаг h-V₂, крім фагорезистентної культури *E. carotovora* st.216–CV₂^r, характеризувався високими титрами на культурі *P. syringae* pv. *tabaci* st.223 (10¹⁰ БУО/мл), а також ефективно репродукувався на культурах *P. savastanoi* pv.

phaseolicola st.4013 та *P. fluorescens* st.8573 (10³ БУО/мл). Розширення діапазону літичної активності на штами іншого роду представляє значний інтерес та потребує окремих досліджень.

Для мутантних фагів виявлено відмінності у структурних білках. Вони мали додаткові поліпептиди, які вказані на рисунку стрілками та фігурними дужками.

Беручи до уваги суттєві відмінності в складі білків, проведено порівняння ДНК фагів за допомогою рестрикції специфічними ендонуклеазами EcoRI, EcoRV, BglII та HindIII геномів. Показано, що електрофоретичні профілі отриманих рестрикційних фрагментів НК фагів 216-V₂, 216-KC подібні. За характером розділення фрагментів вихідні та їх h-мутанти були повністю відмінними.

Такі зміни могли виникнути в поліпептидному складі фагів у зв'язку із змінами будови рецепторів h-мутантів, які забезпечують ефективну адсорбцію та репродукцію фагів на резистентних штаммах.

Можна зробити припущення, що у фагів мала місце поліінтеркаляція нуклеотидів, які замінили акридин жовтогогарячий в його геномі. Внаслідок цього в ДНК мутантів змінилися послідовності нуклеотидів, які розпізнаються рестриктазами. Іншим можливим поясненням може бути обмін генетичними модулями з профагами, що знаходяться в хромосомі бактерій.

Проведено порівняння поліпептидного складу отриманих фагів (рис. 1).

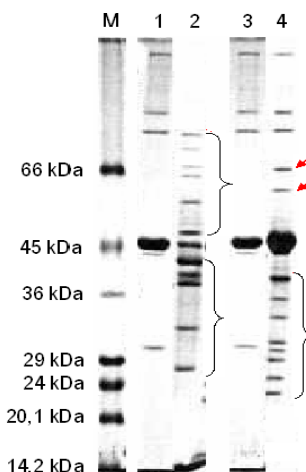


Рис. 1. Виявлені поліпептиди фагів у системі Laemmli:

M – LMW маркер білків (Sigma);

1 – 216-V₂, 2 – h-V₂, 3 – 216-KC, 4 – h-KC

Висновки. Отримані дані вказують на наявність процесів, які забезпечують адаптацію фагів до нових хазяїв та можуть відбуватись, як в лабораторних умовах, так і на рівні популяцій в природних осередках. Дослідження можуть бути основою для створення препаратів захисту рослин від бактеріальних патогенів при використанні препаратів на основі суміші бактеріофагів (фагів, як вихідного типу, так і h-мутантів). Вони є більшою перевагою для практичного використання в біотехнології.

1. Девіс Р., Ботстайн Дж. Рот. Генетика бактерій. – М.: Мир. – 1984. – с.176.
2. Єфименко Т.В., Андрійчук О.М., Ромашов С.А., Яцковська Л.І., Семчук Л.І. Швидке та ефективне виділення ДНК, чутливих до специфічних ендонуклеаз із фагів *Pseudomonas* та *Xanthomonas* // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2001. – № 35. – С. 13-16.
3. Adams M. Bacteriophages. – INC. New York. – 1959. – 527 с.
4. Blagoy Yu.P. Interaction of DNA with biologically active substances // Soros educational journal – 1998. – №10. – р.4-13.
5. Flaherty J.E., Harbaugh B.K., Jones J.B., and Somodi G.C. H-mutant Bacteriophages as a Potential Biocontrol of Bacterial Blight of Geranium. // Hort Science 2001. – 36. – р. 98-100.
6. Jackson L.E. Bacteriophage prevention and control of harmful plant bacteria. – 1989. – Patent No.4. – р. 828-999.
7. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – №5259. – р.680-685.
8. Stent G.S. Molecular genetics // Moscow: Mir – 1982. – р. 596.

Надійшла до редколегії 26.03.09

УДК 372.857:881.111.1

А. Смоля, канд. біол. наук, О. Панюта, канд. біол. наук,
Т. Паршикова, д-р біол. наук

ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ СТРУКТУРИ І ФУНКЦІЙ ОБОЛОНКИ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ АНГЛІЙСЬКОЮ МОВОЮ

Описано оригінальну методику, що поєднує вивчення біологічного матеріалу та іноземної мови. Як приклад, наведено хід практично-ігрового заняття "Особливості структури і функцій оболонки рослинної клітини".

The original method, which combined the study of biology and foreign language, has been described. The practical lesson "The peculiarities of the structure and functions of the plant cell wall" is presented in the article.

Розроблені в останні роки методичні підходи дозволили значно просунутись у розумінні принципів функціонування рослинного організму як цілісної системи. У багатьох періодичних виданнях світу представлені результати досліджень, проведених на різних рівнях організації системи – субклітинному, клітинному, організменому, біоценоотичному. Важливі результати досягнуті також у розумінні структури геному, поліморфізму рослинної ДНК, процесах модифікації ДНК та їхньому впливу на експресію ядерних генів, розкриті особливості регуляції експресії ядерних генів та координації регуляторних систем трьох генетично автономних компартментів рослинної клітини – ядерного, пластидного та мітохондріального.

Успіхи в пізнанні особливостей будови та роботи рослинної клітини, унікальних властивостей, що визначаються функціями полісахаридної клітинної стінки, сумісною роботою трьох геномів, будовою численних мембранних систем, властивостями транспортних та сигнальних механізмів дозволили глибоко дослідити онтогенез рослинного організму та стати передумовою для розробки біотехнологічних прийомів управління програми розвитку клітин.

Для розуміння сутності процесів життєдіяльності рослини важливою задачею є вивчення сучасних уявлень про будову та функції клітинної стінки та мембранних структур рослини. Отримання такої інформації неможливе без вільного володіння іноземною мовою (перш за все англійською), оскільки у більшості професійних дискусій, електронних лекціях, що читаються провідними вченими світу, на міжнародних конференціях, з'їздах, симпозіумах, для спілкування та обговорення отриманих результатів використовується саме вона.

В зв'язку з цим, на базі кафедри фізіології та екології рослин Київського національного університету імені Тараса Шевченка було розпочато розробку та апробування практичних занять, які знайомили б майбутніх науковців-біологів з останніми досягненнями біологічної науки мовою оригіналу.

Метою даної роботи було визначити структуру та функції клітинної стінки та високоорганізованих мембранних структур рослинної клітини англійською мовою.

Як й всі інші практичні заняття, наведене в цій роботі, як приклад, заняття "Особливості структури і функцій оболонки рослинної клітини" складається з двох частин: біологічної та граматичної. Біологічний блок ведеться англійською мовою, в разі необхідності роз'яснення надається українською мовою. Блок присвячений граматиці англійської мови, викладається українською мовою для полегшення розуміння. Кожний блок розподіляється на кроки, метою яких є логічне розкриття теми. Обидва блоки супроводжуються яскравими слайдами, фотографіями, малюнками, схемами, таблицями. Використовуються широкі можливості сучасних комп'ютерних технологій, мультимедійні системи. В кінці першого блоку часто демонструються короткі анімаційні чи документальні стрічки, що дозволяють краще розкрити тему заняття. Граматичний блок має бути органічно пов'язаним з лексикою

першого блоку. На базі лексики біологічного блоку наводяться граматичні приклади, а також створюються оригінальні вправи в контексті лексики біологічного блоку. Таким чином, студенти повторюють граматику англійської мови у лексичному просторі біологічної спеціальності, що надає можливість поступового невимусеного занурення у англомовний простір, знімає мовний бар'єр. А надання контекстної цільової спрямованості лінгвістичним вправам дає можливість студентам набути необхідний досвід у майбутній фаховій діяльності. Тому такі заняття допоможуть безболісно адаптуватися у новому мовному професійному середовищі молодим спеціалістам-біологам у майбутньому.

Біологічний блок. STEP1/ Крок 1. Розпочинається заняття з повторення того, що оболонка рослинної клітини складається із клітинної стінки та плазмалем (плазматичної мембрани), яка оточує цитоплазму клітини. Студенти намагаються дати визначення клітинної стінки на іноземній мові, і викладач узагальнює, що клітинна стінка/cell wall – це структурне утворення на периферії клітини (за межами клітинної мембрани – плазмалем/плазмалемма), яке надає їй міцності, зберігає форму і захищає протопласт, та представляє відповідний слайд. Оскільки цей слайд відразу занурює студентів в світ англомовної термінології, то доцільно уважно ознайомитися з новими термінами з точки зору правопису та фонетики.

Далі викладач пропонує рольову гру, котра спрямована на успішну самореалізацію студентів шляхом створення психолого-дидактичної ситуації. Аудиторія ділиться на дві великі групи. Одна група представляє собою команду науковців, котра вперше в світі відкрила будову клітинної стінки, друга група – будову мембран.

На цьому етапі студенти першої групи включаються у гру, представляючи від свого імені поставлену задачу. Викладач доповнює, демонструючи яскраві фотографії та малюнки. Звертає увагу на англійську термінологію. Клітинна стінка/cell wall, говорить викладач, в основному складається з полісахаридів/ polysaccharide, найважливішими з яких є целюлоза (клітковина)/ cellulose, геміцелюлоза/hemicellulose і пектинові/pectins речовини. До складу клітинної стінки можуть входити органічні (лігнін/lignin, суберин/suberin, віск/wax, кутин/cutin, білок/protein) і неорганічні (солі кальцію, кремнезему) речовини.

Проведені експериментальні дослідження свідчать, що клітинна стінка складається з 2 або 3 структурно незалежних, але взаємодіючих полімерів. Кожний з них виконує свої специфічні функції. Основна складова, що утворює каркас клітинної стінки, побудована з лінійних мікрофібрил клітковини/cellulose microfibril та гліканів/glycans, що їх з'єднують. Друга складова формується з пектинових полісахаридів /pectin polysaccharide. Третя складова побудована з структурних білків або фенілпропанолів. Особлива увага зараз приділяється визначенню та вивченню тих цукрів, які беруть участь в побудові клітинної стінки. Відомо, що полімери цукрів (полісахариди) формують головний структурний остів клітинної стінки. В побудові всіх її вуглеводних поліме-

рів звичайно беруть участь лише 10-11 різних моносахаридів, причому вони обов'язково знаходяться в циклічній (фуранозній або піранозній) формі. На сучасному етапі серед моносахаридів ідентифіковані: α -L-Рамноза (Rha), α -D-Глюкоза (Glc), α -D-Маноза (Man), α -D-Галактоза (Gal), α -D-Апіоза (Api), α -D-Ксилоза (Xyl), β -L-Арабіноза (Ara), α -D-Глюкуронова кислота (GlcA), α -D-Галактуронова кислота (GalA) та α -L-Фукоза (Fuc). Полісахариди клітинної стінки прийнято називати за основними цукрами, що входять до їх складу. Наприклад, ксилотрикан має основний ланцюг, що складається з β -1-4 глюкозильних залишків, до яких приєднуються бічні ксилоні одиниці. Глюкуроноарабіноксилан має основний ланцюг з ксилоні залишків з бічними групами, що складаються з глюкуронової кислоти та арабінози. В останні роки були визначені чотири головні класи структурних білків клітинної стінки, три з яких отримали назву за домінуючою у складі даного білка амінокислотою – це гідроксипролінзбагачені глікопротеїни (HRGPs – від *hydroxyprolin-rich glycoproteins*), пролінзбагачені білки (PRPs) та гліцинзбагачені білки (GRPs). Їхня кількість залежить від типу тканини та виду рослин. Структурні білки клітинної стінки звичайно кодуються великими мультигенними родинами. Їх синтез знаходиться під контролем розвитку. Всі мРНК білків клітинної стінки мають сигнальну послідовність, що направляє білки по секреторному шляху. Четвертий клас структурних білків – арабіногалактанові білки (AGPs). Крім клітинної стінки, ці білки знайдені також у везикулах апарату Гольджі та плазмалемі. Клонування генів деяких AGPs показало, що ці білки збагачені проліном/гідроксипроліном, аланіном та серином/треоніном [1].

Для ретельного розкриття теми розглядаємо будову кожного з трьох шарів клітинної стінки. У клітинній стінці розрізняють серединну пластинку/middle lamella, первинну/primary і вторинну/secondary клітинну стінку/cell wall. Середина пластинки з'єднує первинні стінки сусідніх клітин та складається з пектинових речовин. Первинна стінка тонка, збагачена пектином та геміцелюлозою, еластична, може розтягуватись і не перешкоджає росту клітини.

Вторинна стінка містить велику кількість целюлози, товстіша, багатшарова, майже не здатна до розтягання. Вона формується життєдіяльною цитоплазмою/cytoplasm і нашаровується зсередини на первинну стінку. У сформованій вторинній стінці виділяють три шари: зовнішній/external, що прилягає до первинної стінки, середній/middle, найтовстіший, та внутрішній/internal, який часто відрізняється за структурою та властивостями від двох попередніх, а тому деякі дослідники виділяють його окремо і називають третинною стінкою [2].

З метою більш глибокого розкриття матеріалу викладач демонструє наступний слайд з якого видно, що вторинна клітинна стінка накладається на первинну несучим шаром, в результаті чого у вторинній стінці залишаються не потовщені ділянки – пори/pits. Пори двох сусідніх клітин розташовані одна проти одної. Через них і відбувається міжклітинний зв'язок. Пори мають вигляд каналів, перегороджених первинним шаром, який називається замикаючою плівкою в той час як перфорації/perforations – наскрізні отвори в клітинних стінках судин та ситоподібних трубках рослин. По них вільно транспортуються поживні речовини.

Розрізняють прості пори/simple pits та облямовані пори/bordered pits. У простих пор канал нагадує циліндричний хід у стінці між двома сусідніми клітинами. В такому каналі є серединна роздільна плівка. В облямованих порах канал не циліндричний. Він розширюється в напрямку від порожнини кожної клітини до спільної замикаючої плівки. Тонка плівка, що з'єднує дві одна проти одної розміщені пори з різних клітин, посередині утворює потовщення – тор, або торус. Його діаметр дещо біль-

ший за діаметр вхідного отвору. При зміні осмотичного тиску, тор бере участь в відкриванні та закриванні пори. Тобто може функціонувати як клапан і регулювати транспорт речовин. Облямовані пори, як правило, характерні для трахеїд і судин, але можуть бути і в паренхімних клітинах. Плазмодесми/plasmodesmata – цитоплазматичні тяжі, що з'єднують протопласти сусідніх рослинних клітин і забезпечують передачу сигналу та транспорт поживних речовин. Плазмодесми розміщуються в каналах, що утворюються під час поділу клітин. Простір каналців виступає плазмалемою.

Наприкінці Кроку 1 даємо визначення протопласту, симпласту, апопласту. Стежимо за правильною артикуляцією.

Протопласт/*protoplast* – живий вміст клітини, що складається з каріо- та цитоплазми, обмежений плазмалемою.

Симпласт/*syplast* – сукупність всіх протопластів живих клітин організму, що сполучені цитоплазматичними нитками – плазмодесмами.

Апопласт/*apoplast* – вільний простір, віднесений до позацитоплазматичних компонентів тканини рослин (до клітинних стінок і міжклітинників), по яких відбувається вільна дифузія речовин.

STEP 2/Крок 2. Переходимо до визначення поняття "клітинна мембрана/cell membrane". Студенти дають визначення на англійській мові, доповнюючи один одного. Викладач підсумовує, демонструючи слайд з визначенням терміну та представляючи синоніми (*plasma membrane, plasmalemma*). Уточнюємо, що плазмалема – це плазматична мембрана, що оточує зовні протопласт і прилягає до клітинної стінки. Далі продовжуємо рольову гру розпочату на першому етапі заняття. На цьому етапі вже студенти другої групи включаються у гру, представляючи від свого імені існуючі моделі будови мембрани, та доповнюючи один одного.

Вчитель підсумовує, що дійсно згідно моделі типу сандвіча/*sandwich models* біологічні мембрани мають вигляд тришарової структури, в якій ліпідний бішар розташований між двома шарами білку. На сьогодні найбільш визнаною є запропонована у 1972 році англійськими вченими С.Сінгером і Г.Ніколсоном/*S. Singer and G. Nicolson* рідинно-мозаїчна модель/*fluid mosaic membrane model* будови біологічних мембран, згідно якої мембрани складаються з подвійного шару ліпідів/*lipid bilayer*, у який занурені білки.

Детальна будова ліпідного бішару розглядається викладачем на наступному слайді. Наголошується, що ліпідний компонент мембран представлений фосфоліпідами/*phospholipids*, гліколіпідами/*glycolipids*, стероїдами/*steroids* тощо [3].

Звертаємо увагу студентів на те, що молекули ліпідів розташовані упорядковано – перпендикулярно до поверхні, у два шари так, що їхні гідрофільні голівки/*hydrophilic heads/hydrophilic region* спрямовані назовні, а гідрофобні хвостики/*hydrophobic tails/ hydrophobic region* – всередину мембрани.

Наступним постає запитання, а які ж типи білків знайдено в мембранах? Студенти пригадують, що білки мембран поділяються на периферійні/*peripheral*, розташовані на поверхні ліпідного шару, та інтегральні/*integral/transmembrane*, глибоко занурені в нього [4]. Останні можна поділити на три типи: 1) білки, занурені в ліпіди з одного боку мембрани; 2) білки, що пронизують подвійний шар наскрізь; 3) білки, що цілком занурені в ліпіди, захищені в них. За допомогою таблиці, яку демонструє викладач наводяться приклади різних типів білків та вказуються їх функції (функції ферментів, носіїв, переносників, йонних каналів, білків-регуляторів і структурних білків).

Тепер розглядаємо різні типи переносу речовин крізь мембрану, а саме:

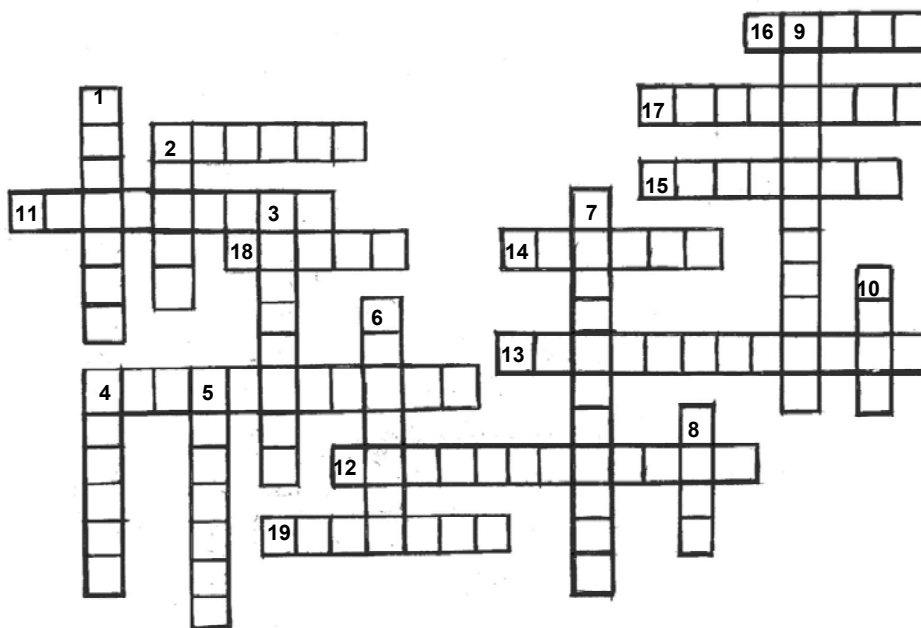
Уніпорт/*uniport* – перенесення транспортним білком розчиненої речовини крізь мембрану.

Симпорт/*symport* – перенесення речовин в тому ж напрямку, куди транспортується інша молекула, завдяки білку-переноснику.

Антипорт/*antiport* – перенесення речовин крізь мембрану в сторону, протилежну напрямку перенесення речовин транспортним білком.

На наступному слайді схематично зображена траєкторія руху різних трансмембранних білків (кожному з яких відповідає літера англійського алфавіту) через ліпідний бішар. Завдання полягає в тому, щоб визначити, які з білків здатні проходити ліпідний бішар лише один раз, а які багато разів.

CELL WALL and MEMBRANE



ANSWERS

ACROSS:

- 2 – лігнін
- 4 – плазмалема
- 11 – цитоплазма
- 12 – глікопротеїн
- 13 – фосфоліпід
- 14 – глюкан
- 15 – уніпорт
- 16 – ланцюг
- 17 – жорсткість
- 18 – ксилема
- 19 – бішар

DOWN:

- 1 – білок
- 2 – ліпід
- 3 – симпласт
- 4 – пектин
- 5 – симпорт
- 6 – пластина
- 7 – гідрофобний
- 8 – пори
- 9 – гідрофільний
- 10 – хвостик

ACROSS

- 2 – lignin
- 4 – plasmalemma
- 11 – cytoplasm
- 12 – glycoprotein
- 13 – phospholipid
- 14 – glycan
- 15 – uniport
- 16 – chain
- 17 – rigidity
- 18 – xylem
- 19 – bilayer

DOWN

- 1 – protein
- 2 – lipid
- 3 – symplast
- 4 – pectin
- 5 – symport
- 6 – lamella
- 7 – hydrophobic
- 8 – pits
- 9 – hydrophilic
- 10 – tail

STEP 3/Крок 3. Підсумовуємо набуті знання, пропонуємо визначити функції плазмалеми та клітинної стінки у гри. Для цього студентам необхідно вибрати функції плазмалеми та клітинної стінки з переліку, який представлено у вигляді таблиці. Аудиторія ділиться на дві групи. Виграє група, яка дала більше правильних відповідей. Можна зазначити, що такі завдання піднімають рівень збудження кори головного мозку, а як відомо, при підвищенні рівня збудження центральної нервової системи краще запам'ятовується матеріал.

Можна зазначити, що такі завдання викликають емоційні відгуки у аудиторії, являються фундаментом для закріплення вже існуючих знань та базою для їх розширення та поглиблення. На фоні емоційного піднесення краще запам'ятовується лексичний матеріал, кожний студент декілька разів вимовляє нові слова, у разі необхідності викладач пише на дошці транскрипцію слів, що важко вимовляються. Деякі слова повторюють-

ся хором всією аудиторією. Таким чином, знімається напруга перед іноземною мовою, страх непорозуміння. Крім того, закріплюються артикуляційні навички. Для тренування правильної вимови окремих звуків викладач може запропонувати повторити за ним скоромовки, прислів'я або просто окремі пари звуків.

Закінчуємо перший блок заняття перевіркою вивченого на даному занятті лексичного матеріалу [5] шляхом вирішення оригінального кросворду, запропонованого викладачем (рис.1). Завдання полягає в тому, щоб не дивлячись в свої записи, перекласти термінологію заняття з української на англійську мову. Після того, як кросворд вирішено, пропонуємо обмінятися листками та перевірити кросворд сусіда. Таким чином, перевіряємо лексичну компетенцію майбутніх фахівців та їхнє мовне відчуття. Крім остаточного засвоєння термінології завдання-кросворд дає можливість короткого відпочинку, відновлює емоційну рівновагу, поживляє аудиторію.

Граматичний блок. Другий блок заняття – граматичний, але пов'язаний з фактичним матеріалом першого блоку.

STEP 1/ Крок 1. Оскільки на попередньому занятті ми ознайомилися з граматичними особливостями в англійській мові такої частини мови як іменник, то тепер у нас є підґрунтя для знайомства з артиклем, частиною мови, котра відсутня в українській мові і котра багато разів звучала в ході представленого заняття.

Викладач нагадує правила вживання означеного та неозначеного артикля, а також випадки відсутності артиклів перед іменниками. Також викладач зазначає, що артикль може стояти перед іншими частинами мови, якщо автор хоче надати даній частині мови характер іменника. Пропонується завершити Крок 1 бліц-опитуванням.

STEP 2/ Крок 2. Студентам пропонується перейти безпосередньо до виконання практичної вправи. Завдання полягає в тому, що необхідно вставити потрібні артиклі в текст, речення якого пронумеровані та знайти відповідний їм ланцюг з артиклів. Виграє той, хто зробить менше помилок. Текст узагальнює інформацію про клітинну стінку

та мембрану. Таким чином граматична вправа відпрацьовується в контекстних рамках заданої теми. Наприкінці граматичного блоку викладач пропонує вставити артиклі у відомий жартівливий вірш, що сприяє завершенню заняття на високій позитивній емоційній ноті.

Як бачимо, вивчення біологічної дисципліни на іноземній мові задає і контекстні рамки вивчення і самої іноземної мови, що призводить до того, що студентам задаються контури їхньої професійної діяльності в нових умовах економічної, наукової та освітньої євроінтеграції. Крім того, так формується іншомовна комунікативна професійно-спрямована компетенція студентів у неможливому навчальному закладі.

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Либідь, 2005. – 808 с. 2. Медведев С.С. Физиология растений. – СПб.: Изд-во С-Петербург. ун-та, 2004. – 336 с. 3. Красильникова Л.О., Садовниченко Ю.О. Анатомія рослин. – Х.: Колорит, 2004. – 237 с. 4. Бавуто Г.А., Еремін В.М., Жигар М.П. Атлас по анатомії рослин. – Мн.: Ураджай, 2001. – 248 с. 5. Кириченко Е.Б. Русско-французско-английский словарь. Физиология и биохимия растений. – М.: Наука, 2002. – 371 с.

Надійшла до редколегії 31.03.09

УДК 582.231

О. Пацко, асп., Т. Паршикова, д-р біол. наук

ФОРМУВАННЯ ЕФЕКТИВНИХ АСОЦІАЦІЙ АЗОТФІКСУЮЧИХ БАКТЕРІЙ І СИНЬОЗЕЛЕНИХ ВОДОРОСТЕЙ

*Досліджено вплив вільноживучих азотфіксуючих бактерій родів *Azotobacter*, *Azospirillum*, синьозелених водоростей *Nostoc commune*, *Anabaena variabilis* та бінарних композицій даних мікроорганізмів на енергію проростання насіння салату, ріс та розвиток рослин пшениці. Показано, що використання даних асоціацій виявилось більш ефективним, ніж діазотрофів і синьозелених водоростей окремо, та забезпечило достовірне підвищення досліджуваних показників.*

*The influence of free-living diazotrophs *Azotobacter* and *Azospirillum* genus and cyanobacteria of *Nostoc commune* and *Anabaena variabilis*, as well as their binar composition on the energy of growing of *Lactuca sativum* seeds, on the growth and development of *Triticum vulgaris* was investigated. It was shown that using of composition of nitrogen-fixing bacteria and cyanobacteria was more effective than their monocultures. As a result it was observed the reliable increasing of the growth parameters.*

Вступ. На сьогоднішній день забезпечення рослин основними біогенними елементами ускладнюється і погіршується з кожним роком, а тому відноситься до однієї з найважливіших і найпріоритетніших проблем сучасної агроекології.

Масштабність виробництва мінеральних добрив в Україні вимагає колосальних енергетичних витрат, покриття яких не дає втішних результатів. При зростанні доз внесення мінеральних добрив, не компенсується потреба рослин у основних макро- та мікроелементах та значно погіршується якість сільськогосподарської продукції. Особливо гострою є проблема біологічної азотфіксації. Негативні зміни азотфіксуючої здатності мікрофлори ґрунтів внаслідок різноманітних причин (хімізації, нестачі вологи, вітрів, дефіциту органічних сполук, дії несприятливих факторів тощо) посилюють підкислення ґрунтового розчину, збільшують рухливість мікро- та макроелементів. А ці процеси призводять не лише до дефіциту основних поживних елементів, але й до їх незбалансованості по співвідношенню складових компонентів. Так, наприклад, за даними Е.Н. Мішустина і його колег [4] уже в 70-ті роки минулого століття разом з сільськогосподарською продукцією земної кулі щорічно з ґрунту виносилося близько 100 млн. т. азоту. Внесення мінеральних добрив компенсувало лише 12 млн. т. У зв'язку з цим, науковцями ряду країн проводяться фундаментальні дослідження, спрямовані на з'ясування механізмів процесу азотфіксації та деталізацію перебігу окремих фізіолого-біохімічних реакцій при зв'язуванні інертної молекули азоту в доступну рослинам форму. Істотне підвищення рівня фіксації азоту біологічним шляхом і залучення його в природний кругообіг – одне з важливих завдань сучасності. Практичний аспект розробок в цьому напрямі полягає в пошуку шляхів мобілі-

зації внутрішніх ресурсів азотфіксаторів і досягнення максимальної інтенсивності даного процесу.

Не дивлячись на те, що на сьогодні досягнуто значних успіхів у дослідженні зазначеної проблеми, ефективність процесу азотфіксації в природних умовах значно нижча від рівня, досягнутого на дослідних ділянках [2]. Тобто, біологічний потенціал азотфіксуючих мікро- та макроорганізмів реалізовано ще далеко не повністю.

Метою наших досліджень було перевірити можливість використання асоціацій діазотрофів і синьозелених водоростей та вивчити їх вплив на рослини.

Об'єкт та методи досліджень. Культури водоростей вирощували до стаціонарної фази росту на поживному середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера й Горема (при температурі 22°C та освітленні 6-7,5 Вт/м²). Концентрацію хлорофілу визначали спектрофотометричним методом, а показник рівня життєздатності клітин (або величину їх потенційної фотосинтетичної активності) оцінювали за інтенсивністю флуоресценції [7]. Концентрація хлорофілу *a* у *Nostoc commune* становила 1719,6 мкг/л, а показник фотосинтетичної активності – $\Delta F=0,15$; у *Anabaena variabilis* – 1506,7 мкг/л та $\Delta F=0,15$. Штами діазотрофів, отримані з Колекції ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології, вирощували на рідких середовищах: *Azospirillum brasilense* 54 і *Azospirillum brasilense* 18-2 – на середовищі з мелясою, консорціум M70/2 (*Azotobacter chroococcum* M70 та *Azotobacter vinelandii* Mx) – на середовищі Ешбі. Нітрогеназну активність діазотрофів, синьозелених водоростей та бінарних асоціацій даних мікроорганізмів визначали в чистій культурі. Синьозелені водорості вирощували на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горема, азоспірили – на напіврідкому середовищі Доберейнера, азотоба-

© Пацко О., Паршикова Т., 2009

ктер – на напіввідкритому середовищі Ешбі. Нітрогеназну активність визначали ацетиленовим методом на газовому хроматографі Chrom-4 з полум'яно-іонізаційним детектором на колонці з β - β – диоксипропіонітрилом і виражали у наномолях утвореного етилену за 24 години. Вихід газів: водень – 30 мл/хв, азот – 100 мл/хв, повітря – 500 мл/хв.

В лабораторних умовах вивчали вплив діазотрофів, синьозелених водоростей та їх асоціацій на схожість, дружність і швидкість проростання насіння салату [3]. Для інокуляції насіння використовували тридобові культури діазотрофів, які вирощувались на відповідних рідких середовищах.

В умовах мікровегетаційних дослідів (в посудинах об'ємом 500 см³) [1] у фазі вегетації рослин вивчали вплив досліджуваних асоціацій на ріст і розвиток пшениці. Повторність дослідів – чотириохватна.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що в чистих культурах водорості *Nostoc commune* та *Anabaena variabilis* мали найвищий рівень ацетиленовідновлювальної активності порівняно з залученими до інокуляції діазотрофами (табл.1). Досить високими показниками характеризувалися бінарні суміші *Anabaena variabilis* і *A. brasilense* 54 (на середовищі Доберейнер) та *Anabaena variabilis* + *A. chroococcum* M 70/2 (на середовищі Ешбі). Ці бінарні композиції майже у 2 рази перевищували показники нітрогеназної активності контрольних варіантів. За показником ефективності азотфіксації водорість *Nostoc commune* перевищувала усі залучені до експерименту штами мікросимбіонтів. Але у бінарних варіантах спостерігалось суттєве зниження цього показника, що свідчить про встановлення антагоністичних зв'язків між даними організмами.

Таблиця 1. Нітрогеназна активність чистих культур діазотрофів та синьозелених водоростей

Варіант	Середовище	Нітрогеназна активність, нмоль C ₂ H ₄ /мл середовища за 1 годину
<i>Anabaena variabilis</i>	Доберейнер	14,54
<i>Nostoc commune</i>		54,16
<i>Azospirillum brasilense</i> 54		21,16
<i>Azospirillum brasilense</i> 18-2		5,98
<i>Anabaena variabilis</i> + <i>A. brasilense</i> 54		33,15
<i>Nostoc commune</i> + <i>A. brasilense</i> 54		9,75
<i>Anabaena variabilis</i> + <i>A. brasilense</i> 18-2		16,20
<i>Nostoc commune</i> + <i>A. brasilense</i> 18-2		14,03
<i>Anabaena variabilis</i>	Ешбі	22,22
<i>Nostoc commune</i>		43,83
<i>Azotobacter chroococcum</i> M 70/2		22,53
<i>Anabaena variabilis</i> + <i>A. chroococcum</i> M 70/2		39,09
<i>Nostoc commune</i> + <i>A. chroococcum</i> M 70/2		44,07
HIP ₀₅	–	13,33

За сумісного вирощування культур діазотрофів з водоростями *Anabaena variabilis* чисельність бактерій не змінювалась, у випадку з *Nostoc commune* спостерігали достовірне зниження кількості клітин діазотрофів. Вірогідно, це пов'язано з виділенням синьозеленими водоростями роду *Nostoc* біологічно активних сполук, які пригнічували активність даних штамів.

Досліджували вплив діазотрофів та синьозеленої водорості *Anabaena variabilis* на схожість, дружність, швидкість проростання насіння салату. Встановлено стимулюючий вплив *Anabaena* на схожість і швидкість проростання насіння. Бактерії *A. brasilense* 18-2 сприяли достовірному підвищенню всіх досліджуваних показників.

Інокуляція насіння бінарними асоціаціями: *A. chroococcum* M 70/2 + *Anabaena variabilis*, *A. brasilense* 54 + *Anabaena variabilis* та *Azospirillum brasilense* 18-2 + *Anabaena variabilis* сприяла достовірному підвищенню схожості, дружності та швидкості проростання насіння салату. Слід зазначити, що використання даних асоціацій виявилось більш ефективним, ніж діазотрофів та синьозелених водоростей окремо, що може бути результатом підвищення концентрації біологічно активних речовин в культуральній рідині. Найкращим виявився варіант з інокуляцією *Azospirillum brasilense* 18-2 + *Anabaena variabilis*: схожість насіння салату збільшувалася на 49%, дружність проростання на 31% і швидкість проростання – на 117%.

В умовах мікровегетаційних дослідів вивчали вплив синьозелених водоростей та азотфіксуючих бактерій на ріст і розвиток рослин пшениці. Інокуляція насіння пшениці *A. brasilense* 18-2 забезпечила підвищення маси верхньої частини рослин на 14% порівняно з контролем (де насіння змочували лише водою). Обробка насіння культуральною рідиною *Anabaena variabilis* сприяла підвищенню маси коренів на 26%. Про стимулюючий вплив синьозелених водоростей на розвиток кореневої системи

рослин свідчать роботи Панкратової Е.М., Романова Н.І. та Тихоновича І.А. [5, 6, 8]. Застосування для обробки насіння бінарної асоціації *A. brasilense* 18-2 + *Anabaena variabilis* виявилось більш ефективним і забезпечило достовірне підвищення показників висоти – на 14% порівняно з моноінокуляцією лише бактеріями, маси надземної частини і коренів рослин пшениці на 10 і 21 % відповідно.

Висновки. Таким чином, доведено, що сумісне культивування водорості *Anabaena variabilis* з азотфіксуючими бактеріями родів *Azospirillum* і *Azotobacter* не призводить до зниження титру бактеріальних клітин та їх нітрогеназної активності. Інокуляція бінарною асоціацією *A. brasilense* 18-2 + *Anabaena variabilis* сприяла підвищенню схожості, дружності та швидкості проростання насіння салату на 49 – 117%, висоти рослин пшениці на 14%, маси надземної частини та коренів пшениці на 10 і 21%.

- Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с. 2. Коща С.Я. Роль биологического азота у підвищенні продуктивності сільськогосподарських рослин // Физиология и биохимия культ. растений. – 2001. – 33, № 3. – с. 208–215. 3. Мальцева Н. Н., Волкогон В. В., Надкерничная Е. В. Азотфиксирующие ассоциации азоспирил и некоторых видов злаковых культур // Микробиол. журн. – 1995. – т. 57, № 1. – с. 24–31. 4. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Биологическая фиксация атмосферного азота. – М.: Наука, 1968. – 531 с. 5. Панкратова Е. М. Участие цианобактерий в круговороте азота в почве и создание ее плодородия // Усп. микробиол. – 1987. – т. 27, с. 212–242. 6. Романова Н. Н., Селях И. О., Семенова Л. Р., Гусев М. В. Перспективы использования синезеленых водорослей для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений // Микроорганизмы в сельском хозяйстве: Тез. докл. IV Всесоюз. науч. Конф. (Пушино, 20–24 окт. 1992 г.) – с. 171. 7. Ситар О. В., Паршикова Т. В. Досвід використання генетично трансформованих клітин *Anabaena PCC 7120* як азотфіксаторів при вирощуванні сої // Вісник. Біологія. Наукове видання КНУ імені Тараса Шевченка. – 2003. – вип.39–41. – с.83–84. 8. Тихонович И. А., Проворова Н. А. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции. – Наука, 1998. – 194 с.

Надійшло до редколегії 31.03.09

УДК [591.524.12:574.5]

В. Трохимець, канд. біол. наук, асист.

ЕКОЛОГО-ФАУНІСТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІТОРАЛЬНОГО ЗООПЛАНКТОНУ ПРАВОГО БЕРЕГА СЕРЕДНЬОЇ ЧАСТИНИ ОЛЕКСАНДРІВСЬКОГО ВОДОСХОВИЩА

Представлені матеріали досліджень видового складу, щільності та добового розподілу літорального зоопланктону правого берега середньої частини Олександрівського водосховища за 2006 і 2008 роки. Проведено попередній аналіз змін у різних групах зоопланктону внаслідок впливу антропогенного фактору. Ключові слова: гідробіологія, Олександрівське водосховище, зоопланктон, Україна.

The results of investigation of species composition, density, daily occurrence of littoral zooplankton from the right coast of the Oleksandrivsk reservoir's middle part in 2006 and 2008 are presented. We studied changes of different zooplankton groups under anthropogenic factors. Key words: hydrobiology, the Oleksandrivsk reservoir, zooplankton, Ukraine.

Вступ. У зв'язку зі зростанням антропогенного навантаження на природні екосистеми особливо гостро постають питання їх всебічного екологічного моніторингу з метою з'ясування наслідків цього впливу на сьогоднішній день. В Україні подібних місць велика кількість, але особливу увагу як природоохоронних організацій, так і преси, привертають зміни, що відбуваються у водоймах Південного Бугу поблизу Ташлицької ГАЕС. Дослідження угруповань зоопланктону в 2006 році проводили після останнього підняття на декілька метрів рівня води в Олександрівському водосховищі (до відмітки 14,7). Подібні зміни не могли не вплинути на екосистему водосховища в цілому та на окремі групи гідробіонтів. Спостереження за зоопланктоном дають досить точну картину процесів, що відбуваються всередині водних екосистем під впливом зміни умов середовища існування, оскільки представники цієї групи тварин належать до біоіндикаторів. Аналізуючи сумарно зміни водних і прибережних екосистем, можна визначити напрям сукцесій, їх вплив на дику природу та значення для людини. Дослідження 2006 і 2008 років є складовою частиною багаторічного наукового проекту вивчення змін фауни водойм Південного Бугу (Олександрівське та Бурштинське водосховища) та прибережних екосистем під впливом підйому рівня води внаслідок роботи Ташлицької ГАЕС. Тому для отримання повної картини цих змін заплановано здійснити їх багаторічний моніторинг і провести порівняльний аналіз отриманих результатів. У цій статті надані результати перших років досліджень, які є першим кроком у розумінні реальної ситуації.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктом досліджень були представники трьох груп зоопланктону: коловертки (Rotatoria), гіллястовуси ракоподібні (Cladocera) та веслоногі ракоподібні (Copepoda). Крім того реєстрували й інші групи гідробіонтів, які потрапляли до знарядь відбору проб. Але в останньому випадку визначення проводили не до виду, а до вищих таксономічних категорій. Для відбору проб літорального зоопланктону була використана конічна планктонна сітка [1-2]. Під час камеральної обробки [1-6] використовували метод Гензена [1-2] та методи статистичного аналізу [7]. Мета досліджень – визначити видовий склад, щільність та особливості просторового розподілу зоопланктону вдень у межах станції правого берега середньої частини Олександрівського водосховища, а також зміни, що спостерігаються внаслідок антропогенного впливу на ці гідроценози. У межах станції правого берега (N 47°42.802' E 31°11.267'): у 2006 році дослідження проводили вдень 28 липня – 1 проба конічною сіткою; 25-28 липня 2008 року конічною сіткою відібрали 2 проби денні та 4 добові (удень, у вечірні години, уночі та зранку). В останньому випадку для розрахунку загального показника щільності зоопланктону за декількома контрольними пробами брали для кожного виду середнє значення. Додатково провели геоботанічну характе-

ристику дослідних станцій, виміряли швидкість течії, температуру води та кислотність.

Результати та їх обговорення. У 2006 році в літоральній зоні видовий склад зоопланктону був представлений 23 видами (наведені дані також по представниках інших груп гідробіонтів): коловертка було тільки 3 види – *Brachionus quadridentatus* Hermann, 1783 (4480 екз./м³), *Euchlanis dilatata* Ehrenberg, 1832 (4640 екз./м³), *Trichocerca* sp. **Lamarck**, 1801 (160 екз./м³); 15 видів гіллястовусих ракоподібних – *Aloa quadrangularis* O.F.Müller, 1776 (320 екз./м³), *A. rectangula* Sars, 1862 (320 екз./м³), *Bosmina longirostris* O.F.Müller, 1785 (640 екз./м³), *Campocercus rectirostris* Schoedler, 1862 (320 екз./м³), *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, 1900 (160 екз./м³), *C. quadrangula* O.F.Müller, 1785 (160 екз./м³), *Diaphanosoma brachyurum* Lievin, 1848 (18400 екз./м³), *Ilyocryptus sordidus* Liévin, 1848 (480 екз./м³), *Leptodora kindtii* Focke 1844 (320 екз./м³), *Macrothrix hirsuticornis* Norman et Brady, 1867 (640 екз./м³), *Moina rectirostris* Leydig, 1860 (160 екз./м³), *Pleoroxus aduncus* Jurine, 1820 (1280 екз./м³), *P. trigonellus* O.F.Müller, 1785 (3360 екз./м³), *Rhynchotalona rostrata* Koch, 1841 (1280 екз./м³), *Scapholeberis mucronata* O.F.Müller, 1776 (160 екз./м³); 5 видів веслоногих ракоподібних (представники рядів Cyclopoida і Calanoida) – *Acanthocyclops americanus* Marsh, 1892 (160 екз./м³), *A. viridis* Jurine, 1820 (160 екз./м³), *Mesocyclops leuckartii* Claus, 1857 (160 екз./м³), *Eurytemora affinis* Poppe, 1880 (480 екз./м³), *E. velox* Lilljeborg, 1853 (160 екз./м³); наупліальні стадії розвитку веслоногих ракоподібних (640 екз./м³); копеподитні личинкові стадії розвитку веслоногих ракоподібних (640 екз./м³); клас Ostracoda (160 екз./м³); родина Chironomidae (320 екз./м³).

У 2008 році в літоральній зоні цієї ділянки Олександрівського водосховища зареєстровані тільки представників 17 видів зоопланктону (наведені дані також по представникам інших груп гідробіонтів): 2 види коловертки – *Polyarthra vulgaris* Idelson, 1925 (50 екз./м³), *Rotaria* sp. Scopoli, 1777 (50 екз./м³); 9 видів гіллястовусих ракоподібних – *A. quadrangularis* (53 екз./м³), *B. longirostris* (53 екз./м³), *Chydorus sphaericus* O.F.Müller, 1785 (27 екз./м³), *Daphnia cucullata* Sars, 1862 (820 екз./м³), *D. brachyurum* (10363 екз./м³), *Graptoleberis testudinaria* Fischer, 1848 (27 екз./м³), *L. kindtii* (183 екз./м³), *P. aduncus* (27 екз./м³), *P. trigonellus* (87 екз./м³); 6 видів веслоногих ракоподібних (представники рядів Cyclopoida і Calanoida) – *A. americanus* (9017 екз./м³), *A. viridis* (780 екз./м³), *Eucyclops serrulatus* Fischer, 1851 (960 екз./м³), *Thermocyclops crassus* Fischer, 1853 (3100 екз./м³), *Th. oithonoides* Keifer, 1978 (5387 екз./м³), *E. velox* (437 екз./м³); наупліальні стадії розвитку веслоногих ракоподібних (3140 екз./м³); копеподитні личинкові стадії розвитку веслоногих ракоподібних (17013 екз./м³); ряд Harpacticoida (93 екз./м³); клас Ostracoda (27 екз./м³); ряд

Misidacea – *Limnomysis benedeni* Czerniavsky, 1882 (157 екз./м³); тип Nematoda (153 екз./м³).

Помітні зміни відбулись як із видовим складом, так і з щільністю зоопланктону цієї станції. Так, якщо в 2006 році в межах цієї станції було зареєстровано 3 види коловороток, то в 2008 році – два. При цьому видовий склад змінився повністю: J (Індекс Жакара)=0, Jдом. (Індекс Жакара домінантний) = 0. Значно знизилась і щільність коловороток: у 2006 році найвищу представленість мали особини *E.dilatata* – 4640 екз./м³, а в 2008 році *P.vulgaris* – 50 екз./м³. Подібні тенденції були характерні і для гіллястовусих ракоподібних у межах цієї станції, оскільки в 2008 році було зареєстровано 9 видів, у той час як у 2006 році – 15 видів. Так, у 2008 році було відмічено представників *G.testudinaria*, яких у 2006 році в межах цієї станції не відмічали. З іншого боку, у 2008 році не відмічали *A.rectangula*, *C.rectirostris*, *C.affinis*, *C.quadrangularis*, *I.sordidus*, *M.hirsuticornis*, *M.rectirostris*, *Rh.rostrata*, *S.mucronata*. Проте чітко виражений домінант лишився той же – *D.brachyurum*: 2006 – 18400 екз./м³, 2008 – 10363 екз./м³. Провівши статистичний аналіз отримали, що видовий склад значно змінився (має низький ступінь подібності), хоча домінант лишився той же: J=30; Jдом=100. Загалом щільність гіллястовусих ракоподібних також впала, але це було не настільки виражено як у коловороток. Відбулись

зміни серед веслоногих ракоподібних, оскільки видове різноманіття збільшилось із 5 видів до 6 і повністю змінився домінант: J=37,5; Jдом=0. Цікаво, що вид *E.affinis* (480 екз./м³), представники якого домінували серед веслоногих ракоподібних у 2006 році, був знайдений у 2008 році у незначній щільності тільки в пелагічних пробах. Важливо відмітити вибухове зростання чисельності копепод у 2008 році (за домінантами: з *E.affinis* – 480 екз./м³ до *A.americanus* – 9017 екз./м³), які, разом із личинковими стадіями, значно перекидали зменшення чисельності коловороток і гіллястовусих ракоподібних у 2008 році, забезпечуючи зростання щільності зоопланктону в межах цієї станції в порівнянні із 2006 роком (загальна зміна щільності всіх груп зоопланктону (3 основні групи та личинки копепод) за дослідні роки склала: 2006 рік – 39680 екз./м³, 2008 рік – 51384 екз./м³). Важливо, що майже всі види копепод мали значну щільність, а серед гіллястовусих ракоподібних значною чисельністю відрізнялись тільки представники домінуючого виду. Крім того, вибухове зростання щільності спостерігається і для личинкових стадій розвитку веслоногих ракоподібних: наупліусів – з 600 до 3140 екз./м³; копеподитних стадій розвитку – з 600 до 17013 екз./м³. Аналіз зміни щільності гідробіонтів за ці роки було проведено для представників різних груп зоопланктону та личинок веслоногих ракоподібних (рис. 1).



Рис. 1. Зміни щільності різних груп зоопланктону в межах станції правого берега Олександрівського водосховища за 2006 і 2008 рр.

Добові зміни просторової структури зоопланктону проаналізовані на основі добової зміни щільності представників різних груп зоопланктону (коловертки, гілляс-

товусі, ракоподібні, веслоногі ракоподібні, личинкові стадії копепод) протягом доби в 2008 році продемонстровані на рис. 2.

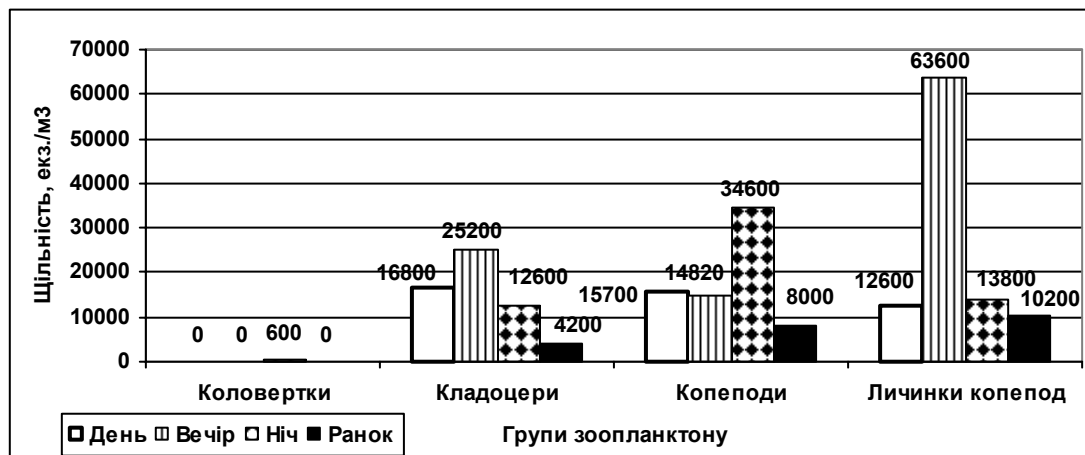


Рис. 2. Добова динаміка щільності різних груп зоопланктону в межах станції досліджень правого берега Олександрівського водосховища в 2008 році

Можна відмітити чітку тенденцію, коли представники різних груп зоопланктону концентрувались біля берега у вечірні (гіллястовусі ракоподібні та личинки копепод) і нічні години (коловертки та веслоногі ракоподібні). Подібні явища пов'язані з процесами горизонтальних і вертикальних добових міграцій. На пентаграмі добре помітно, що за щільністю в межах цієї станції домінували личинки веслоногих ракоподібних. Субдомінантами були власне дорослі особини копепод, яким незначно поступались гіллястовусі ракоподібні. А ось вираженими сателітами були представники коловерток (на відміну від 2006 році, коли сателітами були веслоногі ракоподібні). Подібні перебудови угруповань зоопланктону пов'язані з частковою зміною умов існування цих груп гідробіонтів внаслідок затоплення нових, хоч і не значних за площею, територій. Подальші заплановані дослідження протягом наступних декількох років повинні дати більш повну картину напрямку та якості цих змін.

Висновки. 1. Видовий склад літорального зоопланктону в межах станції правого берега середньої частини Олександрівського водосховища був представлений у 2006 році 23 видами, а в 2008 – 17. 2. Список видів коловерток за 2006 рік повністю відрізнявся від такого за 2008 рік, а списки видів гіллястовусих і веслоногих ракоподібних характеризувались низьким ступенем подібності: коловертки – J (Індекс Жакара)=0; гіллястовусі – J=30; веслоногі – J=37,5. 3. Змінились також доміанти

у коловерток і веслоногих ракоподібних, але серед гіллястовусих ракоподібних у 2008 році також домінували представники *Diaphanosoma brachyurum*. 4. Якщо в 2006 році був виражений один загальний домініант серед усіх груп зоопланктону – *D. brachyurum* (18400 екз./м³), то в 2008 році їх було вже два – *D. brachyurum* (10363 екз./м³) і *Acanthocyclops americanus* (9017 екз./м³). 5. Помітно змінилась загальна щільність усіх груп зоопланктону (3 основні групи та личинки копепод) за дослідні роки: 2006 рік – 39680 екз./м³, 2008 рік – 51384 екз./м³. 6. Відмічено тенденцію, коли представники різних груп зоопланктону мали значно більшу концентрацію біля берега у вечірні (гіллястовусі ракоподібні та личинки копепод) і нічні години (коловертки та веслоногі ракоподібні), що пов'язано з процесами горизонтальних і вертикальних добових міграцій.

1. Березина Н. А. Практикум по гидробиологии. – М.: Агропромиздат, 1989. – 208 с. 2. Жадин В. Н. Методы гидробиологического исследования. – М.: Высшая школа, 1960. – 192 с. 3. Кутикова Л. А. Коловертки фауны СССР. – Л.: Наука, 1970. – 744 с. 4. Мануйлова Е. Ф. Ветвистые рачки (Cladocera) фауны СССР. – М.-Л.: Наука, 1964. – 327 с. 5. Монченко В. І. Щелепнороті циклоподібні, циклопи. – К.: Наукова думка, 1974. – 450 с. – (Фауна України; Т. 27, вип. 3). 6. Монченко В. І. Свободоживущие циклопообразные копеподы Понто-Каспийского бассейна. – К.: Наукова думка, 2003. – 351 с. 7. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 287 с.

Надійшла до редколегії 27.02.09

УДК: 571.21+616-008.64

О. Короткий, асп., С. Пилипенко, канд. біол. наук, О. Цирюк, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук, Т. Берегова, д-р біол. наук

ВПЛИВ МУЛЬТИПРОБІОТИКІВ НА ВМІСТ ІНТЕРФЕРОНУ-ГАММА В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ

Досліджено вміст інтерферону-гамма в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності після двадцяти восьми денного введення "Омезу®" і мультипробіотиків "Симбітеру® ацидофільного концентрованого" та "Апібакту®". Встановлено значне підвищення концентрації інтерферону-гамма в сироватці крові щурів з тривалим гіпоацидним станом. Показано, що одночасне введення з "Омезу®" та мультипробіотика "Симбітеру® ацидофільного концентрованого" призводило до наближення вмісту сироваткового інтерферону-гамма до контрольних значень. При введенні "Омезу®" та мультипробіотику "Апібакту®" виявили значне зменшення концентрації інтерферону-гамма в сироватці крові порівняно з тривалим введенням одного "Омезу®".

It was investigated the interferon-gamma level in the blood serum in the rats in conditions of long-term hypoacidity after 28 days injection of "Omez®" and multiprobitics "Symbiter®acidophilis concentrated" and "Apybact®". It was established useful increase of interferon-gamma concentration in the blood serum in the rats with long-term hypoacidity. It was shown that simultaneous introduction of "Omez®" and multiprobitic "Symbiter®acidophilis concentrated" evoked decrease of of interferon-gamma concentration in the blood serum to the control amounts. Simultaneous introduction of "Omez®" and multiprobitic "Апібакту®" evoked useful decrease of interferon-gamma concentration in the blood serum in comparison to the rats which were treated only by "Omez®".

Вступ. Однією із причин мікроекологічних порушень в шлунково-кишковому тракті у людей є тривале застосування антисекреторних препаратів та знижена кислотність шлункового соку й ахілія, адже соляна кислота швидко знищує велику частину мікроорганізмів, що попадають в шлунок [10, 18]. Окрім негативного впливу на мікробіоценоз травного тракту тривале зниження кислотності шлункового соку призводить до явища гіпергастринемії. Гастрин же є мітогенним фактором для росту епітеліального шару клітин шлунку та товстої кишки, а гіпергастринемія є фактором ризику розвитку пухлин в цих органах [9, 13, 15, 16, 17]. Роботами останніх років показано взаємозв'язок між бактеріальним інфікуванням шлунку та секрецією гастрину [20]. Встановлено, що колонізація шлунку *Helicobacter pylori* (H. pylori) запускає імунну відповідь Т-хелперів першого порядку (Th-1) [6] з вивільненням головного Th-1 цитокіну – інтерферону-гамма (ІФН-γ), який стимулює секрецію гастрину [11]. До того ж показано, що бактеріальний білок (OmpA-подібний білок), ізольований і клонований з *Acinetobacter spp.*, прямо посилює експресію генів гас-

трину. Здатність посилювати секрецію гастрину на фоні гіпоацидності характерна і для інших аеробних бактерій, які викликають нозокоміальні респіраторні інфекції (*Acinobacter*, *Pseudomonas*, *Corinebacterium* spp.) [12]. Таким чином, колонізація шлунку бактеріями може робити внесок в зростання концентрації гастрину шляхом стимуляції експресії генів гастрину, який включає, принаймні, два механізми: 1) прямий ефект бактеріальних білків та 2) вплив цитокінів, що продукуються інфільтованими запальними клітинами. Тому в умовах тривалої гіпергастринемії на фоні зниженої секреції соляної кислоти доцільним є профілактика та лікування дисбактеріозів з метою усунення розладів в імунній системі, що, без сумніву, позитивно впливатиме на структурно-функціональний стан слизових оболонок травного тракту. В лікуванні та профілактиці дисбактеріозів широко використовують пробіотики, серед яких особливу увагу привертають до себе мультипробіотики групи "Симбітер". Нашими попередніми дослідженнями показано, що мультипробіотики "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Апібакт®" за умов тривалого пригнічен-

ня шлункової секреції запобігають розвитку гіперплазії в шлунку та товстому кишечнику [4, 5, 14].

Метою роботи було дослідити вплив мультипробіотиків "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Апібакт®" на біоценоз шлунку і концентрацію гастрину і одного з основних медіаторів запалення та клітинно-опосередкованої імунної відповіді – ІФН- γ в сироватці крові щурів за умов тривалого пригнічення шлункової секреції.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на білих нелінійних щурах-самцях віком до двох місяців та вагою 170-200г, які були розділені на чотири групи по 7 тварин в кожній. Маніпуляції з тваринами та їх утримання в віварії здійснювались згідно міжнародних правил [7]. Контролем (I група) слугували щури, яким упродовж 28 днів вводили 0,2 мл внутрішньочеревинно (в/о) та 0,5 мл перорально воду для ін'єкцій. Гіпоацидний стан у щурів (II група) моделювали щоденним введенням упродовж 28 днів "Омезу®" (ОМ) (виробництва Dr.Reddy's, Індія), блокатора H^+-K^+-ATP ази – ключового ферменту синтезу соляної кислоти парієтальними клітинами шлунку. ОМ вводили в дозі 14 мг/кг в/о, розчиненого в 0,2 мл води для ін'єкцій. Щурам III та IV груп одночасно з введенням ОМ вводили мультипробіотики "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Апібакт®" відповідно (виробництва ТОВ "О.Д. Пролісок"). Мультипробіотики вводили перорально в дозі 0,14 мл/кг, розчинених в 0,5 мл води для ін'єкцій. Мультипробіотик "Симбітер® ацидофільний концентрований" (СИМ) є живою концентрованою біомасою симбіозу 14 унікальних пробіотичних штамів біфідобактерій, лактобацил, лактококів та пропіоновокислих бактерій та фізіологічно корисних продуктів їх метаболізму. В 10 мл СИМ міститься не менше 10^9 живих клітин. Мультипробіотик "Апібакт®" (АПІ), крім біомаси симбіозу вищезазначених для СИМ мікроорганізмів, містить у своєму складі 2,5% екстракт прополісу. Евтаназію тварин здійснювали через добу після останнього введення препаратів. У сироватці крові щурів визначали концентрацію ІФН- γ методом імуноферментного аналізу за допомогою комерційних наборів виробництва GE Healthcare (Amersham IFN- γ Rat Biotrak ELISA System). Всі зразки були проаналізовані в трьох повторах. Концентрацію цитокіну виражали в пг/мл сироватки. Також в сироватці крові визначали концентрацію гастрину радіоімунним методом із використанням аналітичного набору фірми "MP Biomedicals, LLC" (USA). Особливості контамінації слизової оболонки шлунка патогенною та нормальною мікрофлорою оцінювали після 28 доби від початку експерименту. Вивчення мікробіоценозу шлунка включало в себе аналіз видового та кількісного складу мікрофлори. Кількісні показники мікрофлори вивчали шляхом висіву 0,1 мл з кожного розведення (1:10) на диференційно-діагностичні середовища: Ендо, Плоскірева, ВСА для виявлення патогенних ентеробактерій; жовточно-сольовий агар та середовище Сабуро для визначення стафілококів та грибів; Ендо та цитрат Сімонса для визначення кишкової палички та умовно-патогенних ентеробактерій; 5 % кров'яний агар та середовище ЕДДС для визначення ентерококів; середовище Блаурока для біфідобактерій та MKS для лактобацил. Проведення аналізу та облік результатів при дослідженні мікробіоценозу порожнини шлунка здійснювали згідно наказу № 535 МОЗ СРСР від 1985 р. та наказу № 59 МОЗ України від 2003 р. Статистичну обробку результатів досліджень з використанням критерію Стьюдента для оцінки достовірності в дослідних групах проводили за допомогою програми Statistica 7.0. Відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Аналіз мікрофлори шлунка контрольних тварин свідчить про малий спектр бактерій, що входять до складу біоценозу цього органу. З найбільшою частотою реєструвалась контамінація шлунка контрольних тварин грибами р. Кандіда, ентерококом, кишковою паличкою, лактобактеріями. Представники умовно-патогенної мікрофлори зі шлунка практично не висівались. Лише у 10% тварин виявлено цитробактер. Кількісні показники висіву зі шлунка ентерокока, ешеріхій та грибів р. Кандіда не досягали високого рівня та складали 10^2 - 10^5 КУО/г. Концентрація лактобактерій, що виділені зі шлунка, також була незначною (10^2 КУО/г).

Порівняння стану мікрофлори шлунка у щурів контрольної групи з групою, якій протягом 28 днів вводили ОМ, показало, що у щурів після 28-денного введенням ОМ спостерігались значне зменшення частоти висівання лактобактерій та тенденція до зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами р. Кандіда. Статистично підтверджено зниження кількісних показників висіву зі шлунка нормальної мікрофлори. У 40% тварин нормальна мікрофлора взагалі не висівалась. Спектр бактерій у шлунку тварин, у яких упродовж 28-ми днів секретія соляної кислоти була пригнічена шляхом блокади H^+-K^+-ATP ази, розширився за рахунок висіву клібсієли, ентеробактера, протей. Зареєстровано також збільшення контамінації шлунка золотистим стафілококом. Концентрація цих умовно-патогенних бактерій досягла високого рівня (10^4 - 10^5 КУО/г). Одержані дані свідчать про зниження колонізаційної резистентності слизової оболонки шлунка у тварин із зниженою секретією соляної кислоти та про можливість транзиту мікрофлори з кишечника в шлунок висхідним шляхом.

Експериментальне пригнічення секреції соляної кислоти ОМ в шлунку призводить не тільки до розвитку дисбіотичних змін, але і до зростання концентрації гастрину в плазмі крові з $59,0 \pm 35,5$ до $170,7 \pm 90,7$ пг/мл., або на 189,3% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Концентрація ІФН- γ в сироватці крові щурів даної групи збільшилась з $41,0 \pm 2,05$ до $65,0 \pm 3,1$ пг/мл, або на 58,5% ($p < 0,01$) порівняно з контролем (рис.1). Отримані результати корелюють з даними літератури, згідно яких при гіпергастринемії у мишей посилюється експресія генів ІФН- γ , що супроводжується поширенням запалення, а також виникненням пухлин [8].

У щурів, які одночасно з ОМ отримували СИМ, показники колонізації шлунка умовно-патогенною мікрофлорою практично не відрізнялись від контролю. Зменшився спектр виділених із шлунка ентеробактерій за рахунок відсутності клібсієли та протей. У всіх обстежених тварин не виявлено заселення шлунка стафілококом золотистим. Як і у контрольних тварин, до складу мікробіоценозу шлунка щурів даної групи переважно входили ентерокок, кишкова паличка, гриби р. Кандіда в незначних концентраціях (10^1 – 10^2 КУО/г). Збільшився висів зі шлунка лактобактерій до показників 10^4 КУО/г. Аналогічний вплив на стан мікробіоценозу шлунка справляв і АПІ.

В групі щурів, яким упродовж 28-ми днів одночасно з ОМ вводили СИМ, концентрація ІФН- γ в сироватці крові порівняно з групою щурів, які отримували лише ОМ, знизувалась на 35,4% ($p < 0,01$) і статистично достовірно не відрізнялася від даного показника в контролі. Одночасне введення ОМ й АПІ зменшувало концентрацію сироваткового ІФН- γ до $53,0 \pm 2,6$ пг/мл (на 18,5%) ($p < 0,05$), порівняно з групою тварин, яким вводили лише ОМ, але значення досліджуваного показника по відношенню до контролю залишалися збільшеними на 29,3% ($p < 0,05$), що може бути пов'язано з наявністю в прополісі біофланодів, які посилюють синтез інтерферону.

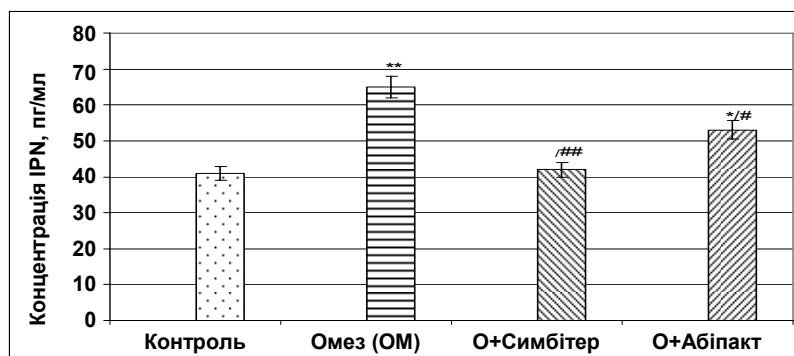


Рис.1. Вміст IFN-γ в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності, пг/мл (n=7)

* – $P < 0,05$ порівняно з контролем; ** – $P < 0,01$ порівняно з контролем;

– $P < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили "Омез®";

– $P < 0,01$ порівняно з групою тварин, яким вводили "Омез®"

На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що, по-перше, не лише аеробні бактерії, які викликають нозокоміальні респіраторні інфекції, але і умовно-патогенна кишкова флора в шлунку на фоні гіпоацидності індукуює клітинно-опосередковану імунну відповідь з розвитком запальних процесів через посилення синтезу ІФН-γ, що може свідчити про залучення цього прозапального цитокину до механізмів розвитку гіпергастринемії, адже доведено, що він також посилює секрецію гастрину G-клітинами [19]. По-друге, існує, принаймні, два механізми розвитку гіпергастринемії при гіпоацидності шлункового соку. Перший пов'язаний із порушенням нормальної зворотної регуляції виділення гастрину кислотою. Другий же є наслідком розвитку дисбіозу в шлунку на фоні гіпоацидності, який запускає Th-1 імунну відповідь [6] з вивільненням одного з основних медіаторів клітинної імунної відповіді прозапального цитокину – ІФН-γ, який стимулює секрецію гастрину [11].

Таким чином, введення мультипробіотиків СИМ і АПІ при тривалому пригніченні шлункової секреції через нормалізацію мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту [1-3] спричиняє протизапальний ефект, в тому числі завдяки модулюючому впливу на рівень ІФН-γ в сироватці крові щурів.

Висновки.

1. На фоні тривалого пригнічення секреції соляної кислоти блокувателем H^+K^+ -АТФази "Омезом®" в шлунку змінюється кількісний і якісний склад мікрофлори за рахунок зменшення частоти висівання лактобактерій та зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами роду Кандіда.

2. За умов тривалої гіпоацидності, викликаній 28-денним введенням щурам "Омезу®", відбувається значне зростання концентрації гастрину та інтерферону-гамма в сироватці крові.

3. Мультипробіотики "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Абіпакт®" ефективно стабілізують колонізаційну резистентність шлунку та нормалізують баланс між основними видами облігатної та умовно-патогенної мікрофлори. При одночасному тривалому введенні "Омезу®" та "Симбітеру® ацидофільного концентрованого" концентрація інтерферону-гамма в сироватці крові щурів нормалізується до контрольних значень, а при одночасному тривалому введенні "Омезу®" та "Абіпакту®" концентрація цього прозапального цитокину в сироватці крові хоч і не повертається до контрольних значень, але значно зменшується

по відношенню до групи експериментальних тварин, які отримували лише "Омез®".

1. Крамарев С.А. та ін. Эффективность мультипробиотика "Симбистер" и кислотопродукта "Симбиви" при кишечных инфекциях у детей // Здоровье женщины. – 2003. – № 3 (15). – С. 129-132. 2. Марченко М.В., Черненко В.В., Янковський Д.С., Димент Г.С. Застосування мультипробиотика "Симбітер концентрований" у лікуванні хворих на хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту / Методичні рекомендації – К., 2003. – 17 с. 3. Муквіч О.М. Клініко-бактеріологічні та імунологічні особливості кишкового дисбактеріозу та його корекція мультипробиотиком "Абіпакт" у дітей // Здоровье женщины. – 2007. – № 4 (32). – С. 157-160. 4. Остапченко Л.І., Фалалєєва Т.М., Цирюк О.І., Берегова Т.В., Суходоль А.І. Вплив харчових добавок із різним механізмом дії на структурно-функціональний стан шлунка. – К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2008. – 160 с. 5. Радчук О.М., Цирюк О.І., Лісяна Т.О., Пономарьова І.Г., Берегова Т.В., Рибальченко В.К. Морфометричні показники слизової оболонки товстої кишки щурів за умов тривалої гіпергастринемії та при введенні мультипробиотика "Симбітер® ацидофільний" // Доповіді Національної Академії Наук України. – 2009. – № 1. – С. 144-149. 6. Ernst P.B., Gold B.D. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: The immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer // Annu Rev Microbiol. – 2000. – Vol. 54. – P. 615-640. 7. Guide for the Core and Use of Laboratory Animals. National Research Council. Washington: Nat. Acad. Press. – 1996. – 250 p. 8. Jain R.N., Al-Menhali A.A., Keeley Th.M., et al. Hypergastrinemia and hypertrophic gastritis in *Hip1r*-deficient mice // The FASEB Journal. – 2007. – Vol. 21. – P. 925-930. 9. Jensen R.T. Consequences of long-term proton pump blockade: insights from studies of patients with gastrinomas // Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology. – 2006. – Vol. 98, № 1. – P. 4-19. 10. Laine L., Ahnen D., McClain C., Solcia E. Review article: potential gastrointestinal effects of long-term acid suppression with proton pump inhibitors // Aliment Pharmacol Ther. – 2000. Vol. 14. – P. 651-68. 11. Lehmann F.S., Golodner E.H., Wang J., Chen M.C., Avedian D., Calam J., Walsh J.H., Dubinett S., Soll A.H. Mononuclear cells and cytokines stimulate gastrin release from canine antral cells in primary culture // Am J Physiol. – 1996. – Vol. 270. – G783-788. 12. Ofori-Darko E., Zavros Y., Rieder G., Tarlé S.A., Antwerp M.V., Mershan J.L. An *OmpA*-like protein from *Acinobacter* spp. Stimulates gastrin and interleukin-8 promoters // Infection and Immunity. – 2000. – Vol. 68, N 6. – P. 3657-3666. 13. Renga M. et al. Rectal cell proliferation and colon cancer risk in patients with hypergastrinaemia // Gut. – 1997. – Vol. 41. – P. 330-332. 14. Tsyryuk O., Radchuk O., Rybalchenko V., Bereгова T. The influence of multiprobiotic "SYMBITER® ACIDOPHILIC" on structurally functional state of gastric mucosa in omeprazole-treated rats // Annales universitatis Mariae Curie-Skłodowska. – Lublin-Polonia. Vol. XXI. – N.146, 2008. – P.257-260. 15. Waldum H.L. et al. Antiulcer drugs and gastric cancer // Digestive Diseases and Sciences. – 2005. – Vol. 50, Suppl. 1. – P. S39-S44. 16. Walsh J.H. Gastrin – a normal and pathologic regulator of gastric function // Western Journal of Medicine. – 1991. – Vol. 154. – P. 33-35. 17. Watson S.A., Steel R.J. Gastrin antagonists in the treatment of gastric cancer // Anticancer Drugs. – 1993. – №4. – P. 599-604. 18. Williams C., McColl K.E.L. Proton Pump Inhibitors and bacterial overgrowth // Alimentary pharmacology and Therapeutic. – 2006. – Vol. 23. – P. 3-10. 19. Zavros Y., Kao J.Y., Merchant J.L. Inflammation and Cancer III. Somatostatin and the innate immune system // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2004. – v. 286. – P. 698-701. 20. Zavros Y., Rieder G., Ferguson A., Mershan J.L. Gastritis and hypergastrinemia due to *Acinobacter lwoffi* in mice // Infection and Immunity. – 2002. – Vol. 70. – P. 2630-2639.

Надійшла до редколегії 31.03.09

УДК 616-093/-098:615.015.4

Н. Волошина, канд. вет. наук, П. Кілючицький, д-р біол. наук, проф.,
В. Каплуненко, д-р тех. наук, проф., М. Косінов, канд. техн. наук**НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МЕХАНІЗМУ ОВОЦИДНОЇ ДІЇ НАНОЧАСТОК ОЛОВА**

*В оглядовій статті висвітлені питання застосування та особливості механізму дії наночастинок олова, що отримані методом ерозійно-вибухової нанотехнології. Узагальнюються результати експериментів із яйцями нематоди *Ascaris suum*.*

*In article questions of application and feature of the mechanism of action nanopasts the tin received by a way erozijno-zvryvnoj nanotechnology are presented. The results received in experiments with eggs *Ascaris suum*.*

На сьогодні існує можливість одержувати наноструктури практично всіх відомих хімічних елементів. Для цільового впливу на біомолекули навколо наночастинок утворюються оболонки із атомів та молекул хімічних речовин. Запропоновано багато способів отримання наночастинок з біологічно сумісними оболонками, які містять білки, ліпіди тощо. Більшість методик присвячено композиціям, в яких для попередження самовільного злипання наночастинок застосовують речовини-дисперсанти (цитрат амонію, олеїновий спирт, імідазолін), поверхнево-активні речовини тощо [1]. Такі комплекси із змішаним або моносаром є універсальною основою для створення біологічно сумісних наноматеріалів [1].

Нами досліджена дія нанорозмірних часток олова (1,0-50,0 нм), колоїд яких має слабо кислу реакцію (рН 6,7-6,9) та вміст металу від 10 до 100 мг/дм³ [2].

В попередніх досліджах нами було експериментально встановлено, що наночастки олова мають чітко виражену овоцидну дію на яйця аскарусів свиней, незалежно від ступеня розвитку зародка; виявлені особливості взаємодії між наночастиками та яйцями нематоди, що проявляються в ефекті "налипання". Доведено, що аніоноподібні аквахелати вибірково взаємодіють лише із живими яйцями нематод та не втрачають своєї ефективності при повторному застосуванні препарату наноолова [3].

Дана робота присвячена з'ясуванню механізму овоцидної дії наночастинок олова.

Фахівцями ТОВ "Наноматеріали і нанотехнології" створено висококоординаційні аніоноподібні аквахелати нанометалу олова, в яких в ролі комплексоутворювача виступають наночастинки олова з поверхневим електричним зарядом зі знаком "мінус", які оточені молекулами води. В процесі електроімпульсної абляції із локальних ділянок металевих гранул у воді утворюються наночастки, а за рахунок явища вибухової електронної емісії – потужні потоки електронів. Знаходячись в потоці електронів, наночастки набувають на своїй поверхні електричного заряду із знаком "мінус". Наночастки металів утворюють координаційні сполуки з молекулами води, які подібні металу-комплексоутворювачу у комплексних хімічних сполуках [4].

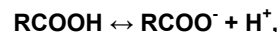
Кількість ліганд-молекул води відповідає координаційну числу у комплексних сполуках і визначається кількістю пар електронів, що знаходяться на поверхні наночастинок. Стійкість наноаквакомплексу забезпечується кулонівськими силами, що виникають між поверхнею зарядженої металевої наночастинок і диполями води.

Утворена навколо наночастинок гідратна оболонка оберігає наночастки від агломерації і випадання в осад та забезпечує їх стабільність без будь-яких додаткових речовин – стабілізаторів. Величина наногідратної оболонки залежить від поверхневого заряду наночастинок [1].

В Україні гідратовані наночастки металів у вигляді колоїдного розчину виготовляються промислово (ТУ У 24.6-35291116-001:2007 і ТУ У 24.6-35291116-002:2008). Їх можна використовувати в якості ефективних та екологічно безпечних дезінфікуючих і лікуючих засобів.

Для певних випадків гідратовані наночастки можна розглядати як закінчені функціональні наноматеріали, оскільки завдяки своїй наногідратній оболонці вони можуть легко проникати через мембрани клітин і "розкриватися" з оболонки, що створює умови для їх високої активності при збереженні екологічної чистоти. Це дозволяє використовувати такі наночастки усередині клітин для посилення або гальмування певних метаболічних процесів, а також впливати на фізичні властивості клітин, тканин, одноклітинних і багатоклітинних організмів.

Каплуненко В.Г та Косінов М.В. розробили наночастки, що містять в якості лігандів молекули води і молекули біологічно сумісних карбонових кислот, насамперед, лимонної кислоти, що бере участь в циклі Кребса. Їх отримують шляхом додавання карбонової кислоти, наприклад, лимонної, у водний розчин, що містить гідратовані наночастки. Карбонова кислота дисоціює у водному розчині за схемою:



де R – радикал певної карбонової кислоти.

В результаті реакція середовища змінюється з нейтральної на кислу. Водний розчин містить іони водню H⁺ та іони карбоксильної групи RCOO⁻. Оскільки розмір молекули води складає величину 2,8 Å, а розмір атомів водню майже вдесятеро менше – 0,31 Å, то характер їх взаємодії із зарядженими наночастиками істотно відрізнятиметься. Крім того, маса молекули води в 18 разів більше маси іону водню, що робить її більш інертною в порівнянні з іоном водню. Тому, позитивно заряджені іони водню H⁺, утворені при дисоціації молекул карбонової кислоти, стають дуже рухомими в розчині і активно притягуються негативно зарядженими наночастиками.

Позбавлений електрону водень перетворюється на дуже малий йон, який легко проникає між молекулами води в ближню зону наночастинок і може розміщуватись безпосередньо на поверхні наночастинок набагато ближче, ніж молекула води. Оскільки значення сили Кулона обернено пропорційне квадрату відстані, то сила притягування йона водню H⁺ набагато перевищує силу притягування молекул води. Менші розміри іонів водню, велика їхня рухливість, менша відстань до поверхні наночастинок і значно більша кулонівська сила притягування створюють значні переваги у іонів водню порівняно з молекулами води. Тож ці чинники сприяють захопленню ними приповерхневого шару електрично заряджених наночастинок і витіснення з цієї зони молекул води [5].

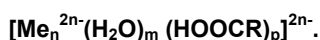
В результаті здійснюється заміщення молекул води в наногідратній оболонці йонами водню H⁺. Оскільки кулонівська сила, що утримує диполь води на поверхні наночастинок, набагато менше кулонівської сили, що притягує до поверхні наночастинок йон водню. Заміщенню сприяє також те, що рухливість диполів води набагато менша рухливості йонів водню H⁺.

Всі викладені вище діючі чинники призводять до того, що певна кількість молекул води в оболонках нано-

часток заміщується йонами водню H^+ . В результаті, йони водню фіксуються на поверхні наночастинок, а кількість вільних йонів водню H^+ в розчині зменшується. Внаслідок цього змінюється кислотність розчину та зростає значення рН. Йони водню H^+ , що утримуються зарядженою наночастиною, притягують до себе карбоксил-йони $RCOO^-$, що призводить до відновлення дисоційованих молекул карбонової кислоти в приповерхневих зонах наночастинок. При цьому кількість йонів H^+ і карбоксил-йонів $RCOO^-$ в розчині зменшується, і при достатньо високій концентрації наночастинок реакція середовища знову наближається до нейтральної [1].

В результаті навколо наночастки формується наноболонка з молекул карбонової кислоти. Карботовані (при застосуванні лимонної кислоти – цитратовані) наночастинки набувають додаткових антиоксидантних властивостей.

Одночасно гідратовані і карботовані наночастинки мають загальну формулу:



У даній формулі Me_n – наночастка-ядро, Me_n^{2n-} – електрично заряджена наночастка-ядро. Молекули H_2O і $RCOOH$ є лігандами. Кількість лігандів H_2O рівна m . Кількість лігандів $RCOOH$ рівна p . Електричний заряд на поверхні наночастки рівний $2n^-$. Величина електричного заряду $2n$ пов'язана з кількістю лігандів m і p наступним співвідношенням: $2n = 2m + p$.

В Україні карботовані наночастинки також виготовляються промисловим способом (ТУ У 24.6-35291116-003:2008).

Отримані таким чином наночастки олова використовували у наших дослідках.

В експериментах доведено, що наночастки здатні регулювати внутріклітинні процеси, такі як взаємодія білок-білок, білок-нуклеїнова кислота та ферментативну активність [6].

Одним із напрямів сучасної координаційної хімії є дизайн та синтез наночастинок. Вони є однією великою молекулою, що містить сотні атомів, мають просторову структуру з порами та порожнинами певних розмірів і форм. Такі частки, подібно до білків, виконують функцію рецепторів і здатні розпізнавати неорганічні та органічні субстрати [7].

Існує думка, що наночастки здатні взаємодіяти із білковими молекулами розміром від 5 до 100 нанометрів (нм) [8]. Цікаві результати були отримані Fischer G.B. та співробітниками, які досліджували взаємодію розроблених ними наночастинок. Вони склалися із металічного ядра багатогранної форми, яке оточене моношаром, що має властивість самозбиратися. Такі наночастинки мають аніонні функції для поверхневого розпізнавання α -хемотрипсину (ChT).

Експериментально доведено, що між негативно зарядженими наночастинами та активним центром ChT, що оточений катіонними залишками, створюється комплексна електростатична взаємодія. Процес згубної дії наночастинок на ChT протікає у два етапи: швидкого зворотного з'єднання та більш повільного та незворотного процесу денатурації. Причиною денатурації білку може слугувати наявність заряджених кластерів наночастинок на поверхні білку та низької діелектричної проникності гідрофобного ядра [8].

Багато повідомлень у джерелах літератури щодо дії наночастинок біоцидних металів (Ag, Cu, Zn) на бактерії та віруси. За допомогою електронної мікроскопії дослідниками було встановлено, що в перші години перебування бактерій у воді, що містить наночастинки біологічно активних металів відбувається їх налипання на поверхню бактерій. Дослідники схилиються до думки, що на-

ночастки та їхні кластери є джерелом іонів металу. Бактерії, поглинаючи іони металу, змінюють хімічну рівновагу у всій водній системі. Для відновлення рівноваги, наночастинки випромінюють із себе іони, і таким чином утворюються направлені іонні потоки, що забезпечують ефективне ураження бактерій [9].

Зміна у русі заряджених часток через мембрану живої клітини призводить до зміни її трансмембранного потенціалу за рахунок накопичення позитивних та негативних зарядів на зовнішній або внутрішній сторонах клітинної мембрани.

Із джерел літератури відомо, що зародки гельмінтів проявляють значну стійкість до дії концентрованих розчинів важких металів, лугів та кислот [10]. Тож, припущення щодо можливості біоцидного впливу іонів металів на яйце нематоди немає необхідності розглядати.

У доступних нам джерелах літератури немає повідомлень щодо вивчення дії наночастинок металів на яйця паразитичних нематод, тим більше обґрунтування механізму їхньої дії. Матеріалом для проведених нами експериментів щодо з'ясування овоцидної дії наночастинок олова був збудник аскарозу свиней.

Ascaris suum відносять до типу Nematoda, підрозділу Ecdysozoa, розділу Triploblastica seu Bilateria, надрозділу Invertebrata, підцарства Metazoa царства Animalia.

Для встановлення механізму овоцидної дії наночастинок олова на яйця гельмінтів необхідно враховувати особливості їхньої будови, циклу розвитку, обміну речовин. Проте, у геогельмінтів, не зважаючи на велику різноманітність у формі, величині та забарвленні яєць, будова оболонок, які захищають зародок, практично однакова [11].

Найбільш складною є оболонка яєць аскарид, яка має п'ять шарів: зовнішній – білкова або епітеліальна; три, так звані, глянцева і внутрішня – ліпоїдна або волокниста оболонка. Зовнішні оболонки, на думку М.М. Завадовського, виконують функцію механічного захисту. Внутрішня оболонка заслуговує особливої уваги. На відміну від інших оболонок вона має здатність вибірково пропускати всередину яйця кисень повітря та затримувати різні хімічні речовини (солі, кислоти, луги), крім тих, що розчиняють ліпіди. Ліпоїдна оболонка розчиняється у спиртах високої концентрації, хлороформі, ефірі, ацетоні, кислотах жирного ряду тощо. Зовнішні шари оболонки яйця здатні пропускати вологу, яка робить їх еластичними, в той час як ліпоїдний шар пропускає воду лише на ранніх стадіях розвитку. В міру розвитку яєць проникність оболонок зменшується [12].

Розвиток яєць аскарид відбувається лише за аеробних умов. На будь-якій стадії розвитку при обмеженні доступу кисню розвиток яйця призупиняється і продовжується лише після його відновлення. Затримка у розвитку яйця може тривати три місяці і більше [10].

У аскарид є специфічні гліколіпіди – аскарозиди А, В, С, які відіграють захисну роль, входячи до складу мембран, характерних для багатьох видів нематод. Ці поверхневі сполуки беруть участь у розпізнаванні окремих факторів довкілля та в реакції клітин на ці фактори.

В біологічних системах генерація енергії завжди пов'язана з окисно-відновними реакціями, тобто передачею заряджених часток. Енергетичний обмін у личинок, що розвиваються в яйцях аскарид здійснюється шляхом чергування процесів гідролізу тригліцеридів та жирних кислот, які згорають у циклах β -окислення і трикарбонових кислот. А після десятого дня розвитку личинки підвищується активність ферментів гліоксального шляху. Причому, перетворення вищих жирних кислот у глікоген має місце у рослин і є вкрай несподіваним для еукаріот [12]. Кожна жива клітина має трансмембранний електричний потенціал, який становить близько 70 мілівольт.

Внутрішня поверхня мембрани заряджена негативно по відношенню до зовнішньої. Трансмембранний потенціал пов'язаний з механізмами функціонування самої клітинної мембрани. Більша частина матеріалу, що транспортується через клітинну мембрану є іонами, які мають позитивний або негативний заряд та масу [13].

Оскільки, поверхнева оболонка зародка нематоди представлена білками, слід зупинитись на їх властивостях.

Важливою властивістю білкових молекул є їх здатність у водних розчинах змінювати свій заряд, який пов'язаний із зміною рН. Білок проявляє амфотерні властивості. Кислотних властивостей білку надають карбоксильні групи аспарагінової та глютамінової амінокислот, а лужних – радикали аргініну, лізину та гістидину. Ці ж групи мають електричний заряд, що формує загальний заряд білкової молекули: для лужних – позитивний, для кислих – негативний. Фактором, що визначає поведінку білка як катіона чи аніона є реакція середовища: в лужному середовищі (рН 7–14) білок віддає протон і заряджається негативно, а в кислій (рН 1–7) проявляється дисоціація кислотних груп і білок стає катіоном [14].

Яйце аскариди має зовнішню білкову оболонку, яка представлена поверхневим білком кутикули яєць. Білок вивчений частково, але відомо, що амінокислотний склад на різних етапах розвитку *Ascaris suum* різниться. Такі амінокислоти білків як аргінін, лізин, гістидин представлені на всіх стадіях їхнього розвитку від яйця до статевозрілої нематоди. Бокові ланцюги цих амінокислот заряджені позитивно, оскільки в них є атом нітрогену [12].

Колоїдний розчин, який ми застосовуємо у експерименті має величину рН 6,7–6,9, тож можемо припустити, що саме цей фактор є визначальним для створення умов прояву кулонівських сил між позитивно зарядженими радикалами білкових молекул кутикули яєць та наночастками олова. Заряд білка набуває позитивних значень, а висококоординаційні аніоноподібні аквахелати наноолова та їх кластери притягуються до зовнішньої поверхні яєць нематод.

В подальшому, припинення метаболічних процесів всередині зародка нематоди веде до втрати білками заряду, внаслідок чого наночастки не здатність утримуватись на поверхні оболонки яєць.

Сам лише факт "налипання" наночасток на поверхню яєць *Ascaris suum* не здатний спричинити загибель зародка.

Відомо, що наночастки олова отримані за допомогою ерозійно-вибухової технології володіють електричним зарядом зі знаком мінус.

Електричне поле створюється електрично зарядженими наночастками металу або наногальванічними елементами. Кількість наночасток в середовищі може досягати 10^{10} – 10^{12} часток/л. Вони беруть участь в броунівському русі рідини і можуть знаходитися в безпосередній близькості від яєць гельмінтів.

При розмірі наночастинок 100 нм напруженість електричного поля в ближній зоні наночастинок сягає 10^5 В/см. Електричне поле такої сили здатне спричинювати електричну деструктуризацію мембрани клітин та зародка вцілому. Адже його напруженість на три порядки перевищує пороговий рівень напруги при методі дезінвазії електричним полем, що і призводить до знищення гельмінтів і їх яєць [15].

У доступній нам літературі відсутня інформація щодо чітко встановленого механізму дії наночасток на об'єкти живої природи. Різні гіпотези та окремі уривчасті повідомлення не дають можливості сформувати єдину універсальну схему взаємодії між наночасткою та живою клітиною, мікроорганізмом і т.д.

Вважають, що наночастки з біологічно сумісної оболонкою, до яких відносять карботовану, здатні проникати всередину клітин та впливати на метаболічні процеси. Олово є антагоністом цинку та міді – мікроелементів, що входять до складу великої кількості клітинних ферментів та пов'язаних із ними обмінних процесів [16]. Можна припустити, що овоцидний ефект наночасток олова, також, пов'язаний із внутрішньоклітинними процесами, пригніченням ферментативних чи метаболічних процесів всередині яєць нематоди.

Висновки. Отже, аналізуючи дослідження фахівців щодо механізму біологічної дії наночасток та порівнюючи їх із власними дослідженнями можемо зробити висновок, що механізм овоцидної дії наноаквахелатів олова є комплексним і здійснюється у два етапи. Перший етап пов'язаний з ефектом "налипання" наночасток на поверхню яєць гельмінта, що пояснюється, на нашу думку, кулонівськими силами, які виникають між негативно зарядженою наночасткою та позитивно зарядженими радикалами білкових молекул. Другий етап пов'язаний з дією електрично заряджених наночасток на зародок нематоди, що призводить до втрати ними життєздатності.

1. Здобутки нанотехнології в лікуванні та профілактиці хвороб тварин (впровадження інноваційних технологій) / [Борисевич В.Б., Борисевич Б.В., Хомин Н.М. та ін.]; за ред. В.Б. Борисевича. – К., 2009. – 185 с. 2. Пат. на корисну модель 23550 Україна, МПК (2006) В 22 F 9/14. Спосіб ерозійно-вибухового диспергування металів. / Каплуненко В.Г., Косинов М.В.; заявл. 25.05.07; опубл. 13.04.08, Бюл. № 7. 3. Волошина Н.О. Особливості впливу наночасток олова на яйця *Ascaris suum* // Наукові записки НаУКМА, 2009 (у друці). 4. Месяц Г.А. Сильноточная вакуумная дуга как коллективный многозонный процесс / Г.А. Месяц, С.А. Баренгольц // Доклады Академии Наук, 2000. – Том 375. – № 4. – С. 47–48. 5. Патент України на корисну модель №35580. Гідратована і карботована наночастинка / Каплуненко В.Г., Косинов М.В.; опубл. 25.09.2008, Бюл. №18. 6. Youa C. The biomacromolecule-nanoparticle interface / C. Youa, A. Chompoosora, V. Rotello // Nano Today, 2007. – Volume 2. – Issue 3. – № 6. – Р. 34–43. 7. Скопенко В.В. Координационная химия : учеб. пособие / В.В. Скопенко, А.Ю. Цивадзе, Л.И. Савранский, А.Д. Гарновский. – М. : ИКЦ "Академкнига", 2007. – 487 с. 8. Химия твердого тела и современные микро- и нанотехнологии: электронные ресурсы: тезисы докладов. VI междунар. науч. конф., 17–22 сент. 2006 г., Кисловодск / А.А. Волков, А.С. Кузмичев // Нанотехнология и нанозлементы, 2006. – Режим доступа к журн.: <http://science.ncstu.ru/conf/past/2006/htt/theses/nano>. 9. Рутберг Ф. Г. Импульсные разряды против микробов / Ф.Г. Рутберг, В.А. Коликов, В.Е. Курочкин, Л.К. Панина // Нанотехнология и нанозлементы, 2008. – Режим доступа к журн.: <http://science.ncstu.ru/conf/past/2006/htt/theses/nano>. 10. Романенко Н.А. Санитарная паразитология: (Руководство для врачей) / Н.А. Романенко, И.К. Падченко, Н.В. Чебышев. – М.: Медицина, 2000. – 342 с. 11. Мозговой А.А. Аскариды животных и человека и вызываемые ими заболевания / А.А. Мозговой. – М.: Издательство Академии Наук СССР, 1953. – 344 с. 12. Сопрунов Ф.Ф. Молекулярные основы паразитизма / Ф.Ф. Сопрунов. – М.: "Наука", 1987. – 223 с. 13. Тиноко И. Физическая химия. Принципы и применение в биологических науках / И. Тиноко, К. Зауэр, Дж. Вэнг, Дж. Паглиси. – М.: Техносфера, 2000. – 744 с. 14. Кнорре Д.Г. Биологическая химия : Учеб. для хим., биол. и мед. спец. вузов / Д.Г. Кнорре, С.Д. Мызина. – 3-е изд., испр. – М.: Высш. шк. 2002. – 479 с. 15. Патент 2038320 Российская Федерация, МПК 6 С 02 F 1/46, С 02 F 11/00. Способ обеззараживания сточных вод / Гузов И. П., Худиков Н. М.; заявитель и патентообладатель – ВНИИ экспериментальной физики. – № 4921557/26; заявл. 25.03.91; опубл. 27. 06.95, Бюл. № 26. 16. Биологическое действие макро- и микроэлементов: пособие [для студ.] / Н.М. Сторожок. – 2006. – С. 24.

Надійшла до редколегії 17.04.09

УДК 612.871.4 – 591.044

А. Пахомова, асп., Т. Говоруха, канд. біол. наук, ст. наук. співроб.,
Є. Решетнік, канд. біол. наук, наук. співроб., О. Коваленко, асп.,
М. Макачук, д-р біол. наук, проф.

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА УМОВНУ РЕАКЦІЮ В Т-ПОДІБНОМУ ЛАБІРИНТІ ТА НА РІВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В МОЗКУ І ПЕЧІНЦІ АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ

Досліджено латентний період хронічно алкоголізованих щурів в складному Т-подібному лабіринті за умов дії кверцетину протягом 14 та 30 діб до, під час та після хронічної алкоголізації, а також інтенсивність ліпопероксидних процесів в тканинах мозку та печінки цих щурів. Показано неоднакову ліпопероксидну реактивність тканин мозку та печінки на використані експериментальні чинники, демонструючи більшу чутливість печінки та різноспрямований вплив кверцетину на відтворення умовної реакції.

The latent period of rats has chronic alcoholic intoxication was investigated in the complex T-similar labyrinth due to quercetin's administration for 14 and 30 days before, during and after chronic alcoholic intoxication. Also the intensity of lipid peroxidation in brain and liver tissues this rats was explored. It was shown different lipid peroxidation's reactivity of brain and liver tissues in used models, the more sensitivity of liver tissue was demonstrate and different oriented influence of quercetin on recall conditional response.

Вступ. Важлива роль перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в реалізації і розвитку різних стрес-реакцій та різних патологічних процесів, включаючи алкогольну інтоксикацію, натеper вважають незаперечною. Виходячи з цього, одним з ефективних способів корекції може бути введення екзогенних антиоксидантів [3, 4]. Але не відома тривалість введення антиоксидантів для досягнення бажаного терапевтичного або профілактичного ефекту. Тому ми провели дослідження впливу антиоксиданту із класу біофлавоноїдів, кверцетину протягом 14 та 30 діб, на поведінку білих щурів в складному Т-подібному лабіринті, а також на рівень інтенсивності ліпопероксидних процесів у печінці та мозку цих щурів після хронічної алкоголізації.

Об'єкт та методи досліджень. Досліди були проведені в умовах хронічного експерименту на 70 білих нелінійних щурах-самцях масою 130-200г. Тварини утримувались на стандартному раціоні віварію і мали вільний доступ до води і їжі. Винятком був режим харчування експериментальних тварин протягом перших 5 діб навчання умовній реакції з харчовим і водним підкріпленням в складному Т-подібному лабіринті – тварини отримували 25% раціону їжі, але при цьому не обмежувались доступ до води. Умовний рефлекс виробляли за методикою Я.Буреша і співав. (1991) в складному Т-подібному лабіринті протягом 14 діб, при цьому щури здійснювали по одній пробіжці в день до годівнички (їжа – твердий сир) та поїлки (питна вода). При аналізі кожної пробіжки враховували час латентного періоду (ЛП, с), тобто час досягнення поїлки та годівнички від стартової камери; акт пиття та прийому їжі, але при цьому не обмежувались неправильні повороти, наявність фрізиногових епізодів, заходи в глухий кут), грумінга, стійок [2]. Спостерігалась також реакція відмови від реалізації рефлексу, яка полягала в тому, що, навіть, після досягнення щуром годівнички та поїлки тварина не їла і не пила. Така реакція в літературі розцінювалась як невротична [7].

Алкоголізація тварин здійснювалась за наступною схемою: щурам у складі раціону як єдине джерело рідини, без обмежень в кормі, поступово давали зростаючі дози етанолу: перші 10 діб тварини отримували 15% етанол дозою 4г/кг; наступні 10 діб – 15% етанол в дозі 6г/кг; а останні 10 діб поспіль щурам внутрішньочеревно вводили 25% розчин етанолу із розрахунку 3г/кг [1, 5]. Такий спосіб алкоголізації запобігає коагуляційній дії етанолу у місці ін'єкції за тривалого його введення [1]. Досліджували за умов хронічної алкоголізації акти поведінки реєструвались наступного дня після припинення введення етанолу.

Через 14 діб після початку навчання в складному Т-подібному лабіринті відібрали тих тварин, які засвоювали умовний рефлекс (показники ЛП в складному Т-подібному лабіринті за 3 доби до розділу тварин на групи були в межах: 1,5с – 10с). Цих тварин розділяли на 7 груп по 10 щурів в кожній:

1 група "К" – контроль, тваринам вводили фізіологічний розчин, так само, як тварини експериментальних груп отримували алкоголь;

2 група "А30" – щури з моделлю хронічного алкоголізму;

3 група "К14" – до початку тестування в складному Т-подібному лабіринті тваринам з їжею давали кверцетин в дозі 100мг/кг [8] протягом 14 діб;

4 група "К30" – до початку тестування щурам з їжею давали кверцетин протягом 30 діб;

5 група "А30+К30" – під час всього терміну алкоголізації тварини отримували кверцетин;

6 група "А30 до К14" – тварини отримували кверцетин протягом 14 діб після алкоголізації, але до початку тестування в складному Т-подібному лабіринті;

7 група "А30 після К14" – щурам давали кверцетин протягом 14 діб до початку алкоголізації.

При тестуванні тварин в складному Т-подібному лабіринті результативними вважались 3 доби стабільних показників умовної реакції. Тобто аналізувались останні 3 тестування до розподілу тварин за групами, 3 тестування перед початком експерименту та 2-а та 8-а доба після закінчення алкоголізації та введення кверцетину. Після закінчення тестування в складному Т-подібному лабіринті тварин наркотизували (тіопентал натрію, 5мг/100г маси тіла, внутрішньочеревно), потім декапітували та брали для біохімічного аналізу печінку та мозок. Інтенсивність ліпопероксидних процесів у гомогенатах мозку та печінки вивчали за тестом з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК), запропонованим Стальною та Гаришвілі [6]. Вміст ТБК-активних продуктів виражали в наномолях у розрахунку на 1г сирової маси тканини.

Статистичний аналіз проводили за допомогою програми Statistica 6.0. За критерієм Шапіро-Уїлка визначили, що вибірки даних активності поведінки належать до ненормально розподілених, а вибірки даних показників інтенсивності ПОЛ у печінці та мозку – до нормально розподілених. Дані активності поведінки оброблялись за допомогою непараметричного критерію статистики Манна-Уїтні та представлені у вигляді медіани та 25% і 75% квантилей, дані інтенсивності ПОЛ представлені у вигляді $M \pm m$, критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

Результати та їх обговорення. Показники ЛП умовної реакції з харчовим та водним підкріпленням в складному Т-подібному лабіринті всіх груп в останні 3 тестування до розподілу тварин за групами не мали статистично значущих різниць.

За 3 доби перед початком експерименту рівень ЛП умовної реакції тварин, які отримували кверцетин протягом 14 діб перед хронічної алкоголізацією становив 12,12с (9,75; 13,19) та був достовірно вищий на 151,9% за контрольні показники (4,81с (4,16; 9,47)) при $p < 0,05$. За 2 доби перед початком експерименту спостерігалась різниця в показниках ЛП контрольних тварин та тварин, які отримували кверцетин протягом 30 діб. Рівень ЛП умовної реакції щурів із групи К30 становив 4,17с (3,25; 5,22) та був статистично значущо нижчим на 63,1% за ЛП умовної реакції контрольних тварин (6,80с (6,77; 10,42)) при $p < 0,05$. При тестуванні тварин в останній день введення кверцетину та етанолу достовірних різниць в показниках ЛП виявлено не було.

Показники ЛП умовної реакції всіх груп на 2 добу експерименту не мали статистичної різниці. На 8-у добу після останнього введення кверцетину та етанолу спостерігались достовірні різниці в величинах ЛП. У тварин з груп К14, А30+К30, А30 до К14, А30 після К14 достовірних різниць в показниках ЛП умовної реакції виявлено не було (показники ЛП становлять 4,72с (3,62; 6,16), 7,29с (5,11; 10,13), 5,08с (4,37; 6,25), 5,45 (3,22; 8,50), відповідно). Рівень ЛП умовної реакції хронічно алкоголізованих щурів був достовірно вищим за показники контрольної групи на 35,1% (5,38с (4,94; 7,25), 3,49с (3,42; 3,72), відповідно) при $p < 0,05$. У тварин, які отримували кверцетин протягом 30 діб спостерігався вищий за контрольний рівень ЛП на 222,6% (11,26с (4,11; 27,61), 3,49с (3,42; 3,72), відповідно) при $p < 0,05$. Тварини з групи А30+К30 показали також достовірно вищий, в порівнянні з контролем, рівень ЛП (на 108,9%, 7,29с (5,11; 10,13) та 3,49с (3,42; 3,72), відповідно, при $p < 0,05$). Щури, яким вводили кверцетин до алкоголізації теж мали вищий показник ЛП умовної реакції (5,45с (3,22; 8,50)) на 56,2% при порівнянні з показником ЛП контрольної групи щурів (3,49с (3,42; 3,72)) ($p < 0,05$). ЛП умовної реакції у тварин, які отримували кверцетин протягом 30 діб становив 11,26с (4,11; 27,61) та був достовірно вищим на 109,3% за такий у хронічно алкоголізованих щурів 5,38с (4,94; 7,25), що свідчить про найнижчий рівень відтворення умовної реакції з харчовим та водним підкріпленням в складному Т-подібному лабіринті.

Що стосується актів пиття та прийому їжі, то протягом всього експерименту контрольні тварини показали 100%-ве засвоєння умовної реакції, тобто всі щури, які досягали годівнички та поїлки здійснювали акти пиття та прийому їжі. Тварини експериментальних груп також засвоїли умовну реакцію, але в групі хронічно алкоголізованих щурів по три щура з десяти помилилися під час другого та третього тестування в Т-подібному лабіринті перед початком алкоголізації, та один з десяти щурів помилився рукавом під час першого тестування в період введення етанолу. По одному щуру з груп, тварини яких отримували кверцетин протягом 14 та 30 діб під час третього тестування перед початком підготовки до експерименту, та під час першого тестування в період введення кверцетину також робили помилковий вибір рукава, але при досягненні поїлки та годівнички здійснювали акти пиття та прийому їжі. Тварини з групи А30+К30 помилялись більше: три та чотири щура з десяти під час першого та другого тестування в Т-подібному лабіринті, відповідно, перед початком періоду введення кверцетину та етанолу; одна тварина

помилилась при третьому тестуванні в період введення кверцетину та етанолу та по одній тварині робили помилковий вибір при тестуванні на 2-гу та 8-у доби експерименту. Але при досягненні поїлки та годівнички всі тварини, які спочатку помилково обирали неправильний рукав, здійснювали акти пиття та прийому їжі. По одному щуру з групи, тварини, якої отримували кверцетин після хронічної алкоголізації, мали помилкові повороти під час третього тестування перед підготовкою до експерименту в складному Т-подібному лабіринті та на 2-гу добу експерименту, але вони їли та пили при досягненні годівнички та поїлки. При тестуванні тварин, яким вводили кверцетин до алкоголізації, спостерігали помилковий поворот у одного з десяти щурів при першому тестуванні перед періодом введення етанолу та кверцетину та при другому тестуванні під час підготовки до експерименту, причому ці щури все ж таки знаходили правильний поворот, та здійснювали акти пиття та прийому їжі.

Отже, під час тестування експериментальні групи А30 та К30 мали достовірно вищий рівень ЛП умовної реакції та більшу кількість помилок в Т-подібному лабіринті, ніж контрольні тварини, що свідчить про пригнічуючу дію хронічної алкоголізації та кверцетину, при його введенні протягом 30 діб в дозі 100мг/кг, на відтворення умовної реакції з харчовим та водним підкріпленням. Комбінація етанолу з антиоксидантом дала позитивні результати, але не настільки, як 14-добове введення кверцетину до хронічної алкоголізації та після неї, причому показники ЛП та мінімальна кількість помилок тварин з групи А30 до К14 були найбільш наближені до контрольних.

Результати вивчення впливу алкоголізації та антиоксиданту кверцетину і їх сумісної дії на інтенсивність ліпопероксидних процесів у тканинах щурів представлені в таблиці 1. Видно, що тривале введення кверцетину (30 діб) достовірно не впливає на рівень ТБК-активних продуктів в тканині мозку тварин в порівнянні з контролем. Аналогічна картина спостерігається для цієї ж тканини і при введенні кверцетину протягом 14 діб після алкоголізації експериментальних щурів. Проте, хронічна алкоголізація достовірно зменшує рівень продуктів ПОЛ в тканині мозку на 24,8% стосовно контролю при $p < 0,05$. При введенні кверцетину протягом 14 діб інтенсивність ліпопероксидних процесів в мозку в порівнянні з контролем знижувалась на 31,2% ($p < 0,01$). Введення кверцетину під час хронічної алкоголізації достовірно підвищує рівень продуктів ПОЛ в тканині мозку стосовно контролю на 39,4% ($p < 0,05$). На 30,9% вищою за контроль була інтенсивність ПОЛ в тканині мозку щурів з групи А30 після К14 ($p < 0,05$).

Інша ситуація спостерігалась при аналізі ліпопероксидних процесів в печінці цих щурів: рівень ТБК-активних продуктів за будь-якого втручання виявлявся достовірно нижчим за контрольні величини. Максимальний антиоксидантний ефект кверцетину проявляється при його введенні протягом 14 діб перед 30 добовою алкоголізацією – інтенсивність ПОЛ була на 70,9% достовірно нижчою за контрольні показники, при $p < 0,001$. Дещо меншим ефект був при комбінації А30 + К30, про що свідчить достовірно нижчий рівень вмісту ТБК-активних продуктів в тканині печінки на 62,4% в порівнянні з контролем ($p < 0,001$). При введенні антиоксиданту протягом 14 діб після хронічної алкоголізації інтенсивність ліпопероксидних процесів в тканині печінки на 58,2% достовірно нижча ніж контрольні показники, при $p < 0,001$. Рівень ПОЛ в тканині печінки щурів з хронічною алкоголізацією був достовірно нижчим на 21,2% в порівнянні з контролем ($p < 0,01$). Введення кверцетину протя-

гом 14 діб спричинювало достовірно нижчу інтенсивність ПОЛ за контроль на 27,1% ($p < 0,01$). Мінімальний ефект спостерігався за тривалого введення флавоноїду протя-

гом 30 діб (рівень ТБК-активних продуктів в тканині печінки був нижчим за контроль на 20,7%, при $p < 0,01$).

Таблиця 1. Рівень ТБК-активних продуктів ПОЛ (нмоль/г) в тканинах мозку та печінці щурів ($M \pm m$)

Група	Мозок		Печінка	
	Контроль (n=10)	Дослід	Контроль (n=10)	Дослід
A30 (n=10)	355,8 $\pm$ 13,0	267,6 $\pm$ 12,6 *	992,6 $\pm$ 18,8	782,1 $\pm$ 20,3 ***
K14 (n=10)	355,8 $\pm$ 13,0	244,9 $\pm$ 5,9 ***	992,6 $\pm$ 18,8	723,1 $\pm$ 51,8 ***
K30 (n=10)	355,8 $\pm$ 13,0	384,6 $\pm$ 0,0	992,6 $\pm$ 18,8	786,7 $\pm$ 18,6 ***
A30 + K30 (n=10)	355,8 $\pm$ 13,0	495,8 $\pm$ 36,8 *	992,6 $\pm$ 18,8	373,5 $\pm$ 25,0 ****
A30 до K14 (n=10)	355,8 $\pm$ 13,0	422,5 $\pm$ 29,8	992,6 $\pm$ 18,8	415,1 $\pm$ 22,8 ****
A30 після K14 (n=10)	355,8 $\pm$ 13,0	465,8 $\pm$ 33,7 *	992,6 $\pm$ 18,8	288,2 $\pm$ 17,6 ****

Примітка: 1) A30 – тварини з моделлю хронічного алкоголізму;

K14 – тварини отримували кверцетин протягом 14 діб;

K30 – тварини отримували кверцетин протягом 30 діб;

A30 + K30 – протягом всього терміну алкоголізації тварини отримували кверцетин протягом 30 діб;

A30 до K14 – тварини отримували кверцетин протягом 14 діб після алкоголізації;

A30 після K14 – тваринам давали кверцетин протягом 14 діб до початку алкоголізації;

2) * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,001$.

Таким чином, вище наведені дані ілюструють неоднакову реактивність тканин мозку та печінки на використані експериментальні чинники, демонструючи більшу чутливість печінки, як до етанолу, так і до кверцетину. Максимальний антиоксидантний ефект спостерігався в тканині мозку тварин, які отримували кверцетин протягом 14 діб, що був значно нижче контролю, можливо внаслідок зрушення природного антиоксидантного балансу тканини. Комбінована дія обох реагентів, а також введення кверцетину перед алкоголізацією, спричиняли прооксидантні ефекти близькі за величиною. Рівень ТБК-активних продуктів в печінці був нижчий ніж значення контролю в жодній групі щурів. Як кверцетин так і етанол статистично значуще спричиняють більш низький рівень ліпоперекисних процесів в печінці порівняно до контролю, досягаючи максимально низького значення у випадку застосування кверцетину до початку алкоголізації.

Висновки.

1. Тварини, яким вводили кверцетин після хронічної алкоголізації, мали такий рівень ЛП умовної реакції, який достовірно не відрізнявся від контролю.

УДК 616.33:577.125.33

2. ЛП умовної реакції у тварин, які отримували кверцетин протягом 30 діб був достовірно вищим за такий у контрольних та хронічно алкоголізованих щурів, що свідчить про його значний вплив на поведінку.

3. Виявлено неоднакову реактивність тканин мозку та печінки стосовно ліпоперексидних процесів, на вплив етанолу або кверцетину окремо, так і при їх поєднанні.

1. Божко Г.Х., Бойко Т.П., Костюковська Л.С. // Український біохімічний журнал. – 1995. – Т.67, № 2, с.108-112. 2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. // Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения – М.: Медицина. – 1991. 3. Дегтярева Е.А. // Мед. всевіт. – 2002. – Т. 2, № 1-2, с. 124-133. 4. Ерышев О.Ф., Рыбакова Т.Г., Шабанов П.Д. // Алкогольная зависимость. – СПб.: Издательство "ЭЛБИ-СПб" – 2002. 5. Маслова И.В. // Здоровоохранение МЗ Беларусь. – 1996. – № 12, с. 13-15. 6. Стальная И.Ю., Гаришвили Т.Г. Методы определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под. ред. проф. В.Н. Ореховича. – М.: Наука – 1981. 7. Суслев Н.И., Чуринов А.А., Скурихин Е.Г. и др. // Экспер. и клин. фармакол. – 2002. – Т. 65, №1, с. 7-10. 8. Suzuki Y., Ishihara M., Segami T., Ito M. // Jpn. J. Pharmacol. – 1998. – V.78, № 4. – p. 435-441.

Надійшла до редколегії 10.03.09

К. Дворщенко, канд. біол. наук, С. Сенін, асп.,
О. Савченко, інж. II кат., Ю. Степанов, канд. біол. наук

СПЕКТР ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ ЯДЕРНОЇ ФРАКЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕТАНОЛОВОЇ ВИРАЗКИ

Встановлено, що за умов етанолової виразки змінювався жирнокислотний склад ліпідів ядерної фракції слизової оболонки шлунка щурів. Показано, що при дії етанолу знижувався вміст поліненасичених жирних кислот, що свідчить про інтенсифікацію вільнорадикальних процесів у ядерних мембранах епітеліоцитів шлунка.

It fixed that at ethanol stomach ulcer the composition of fatty acids of nucleus fraction of rat gastric mucosa was changed. It is shown that at action of ethanol the content of polyunsaturated fatty acids was decreased that testifies to an intensification of free-radical processes in nucleus membranes of gastric mucosa cells.

Вступ. Алкоголь, як наркотичний та токсичний агент, за умов зловживання може дезінтегрувати захисний слизовий бар'єр шлунка і сприяти розвитку виразкової хвороби. Важливого значення у формуванні токсичних ефектів етилового спирту в епітеліоцитах шлунка належить окисному стресу [2, 5, 8].

Вразливими елементами клітини для вільних радикалів є ядерні мембрани, пошкодження яких може призвести до порушення клітинних функцій. Стійкість мембрани пов'язана з якісним та кількісним складом її ліпідів, перш за все фосfolіпідів та жирних кислот. Структурні перебудови в молекулах мембранних компонентів під дією негативних впливів можуть призвести до змін функціональної активності біологічних мембран та зсуву у обміні речовин клітини в цілому [6].

Тому метою нашої роботи було визначити спектр жирних кислот ліпідів у ядерній фракції слизової оболонки шлунка щурів за умов етанолової виразки.

Об'єкт та методи досліджень. У досліджах використовували щурів лінії Вістар обох статей вагою 180 – 230 г., яких утримували на стандартному раціоні віварію. Етанолову модель виразки шлунка створювали за методом [9]. Для цього щурам перорально вводили етиловий спирт (1 мл 96% C_2H_5OH на 200 г ваги) та через 1 годину декапітували. Після декапітації тварин, з гомогенату слизової оболонки шлунка щурів виділяли ядерну фракцію методом центрифугування на градієнті сахарози. Процедура отримання ядерної фракції проводили при температурі 0...+4°C у присутності інгібітора протеїназ фенілметилсульфанілфториду (0,1 мМ) [3].

Ліпіди екстрагували за методом Фолча хлороформ-метанольною сумішшю (2:1, за об'ємом) [7]. Отриманий препарат сумарних ліпідів використовували для приготування метилових ефірів жирних кислот. Після метилювання жирних кислот проводили їх розділення на газовому хроматографі "Thermo Electron Corporation Finnigan TraceGC ultra" (США). Для визначення кількісного складу жирних кислот використовували метод внутрішньої нормалізації [1].

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної ста-

тистики [4]. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю між порівнювальними показниками при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що спектр жирних кислот ліпідів ядерної фракції слизової оболонки шлунка контрольних щурів складався з кислот з числом вуглецевих атомів від 14 до 22, насичених та ненасичених (рис. 1, табл. 1.).

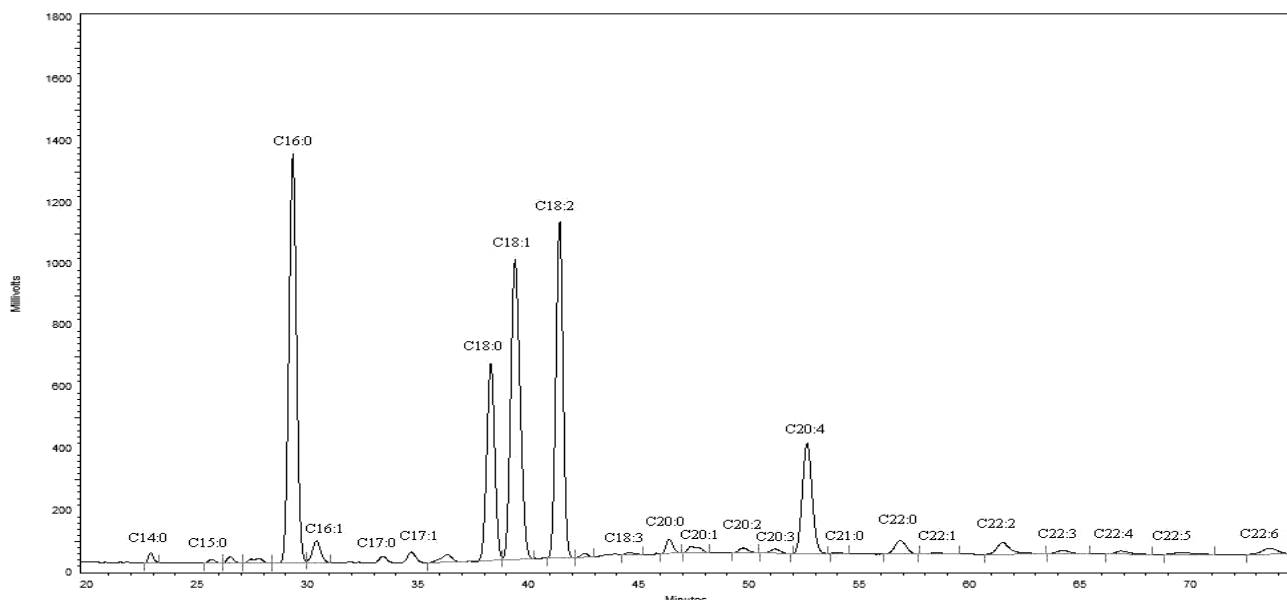


Рис. 1. Хроматограма метилових ефірів жирних кислот ліпідів ядерної фракції слизової оболонки шлунка контрольних щурів

Показано, що за умов етанолової виразки у ядерній фракції слизової оболонки шлунка щурів знижувався вміст основних насичених жирних кислот, а саме: пальмітинової ($C_{16:0}$) – на 63%, стеаринової ($C_{18:0}$) – на 67% та бегенової ($C_{22:0}$) – на 37% відносно контролю (табл. 1).

Також спостерігалось зменшення рівня таких насичених жирних кислот, як міристинова ($C_{14:0}$) – на 54%, пентадецилова ($C_{15:0}$) – на 63% та маргаринова ($C_{17:0}$) – на 78% по відношенню до контрольної ядерної фракції.

Таблиця 1. Вміст жирних кислот ліпідів (% від загальної кількості) у ядерній фракції слизової оболонки шлунка за умов виразки, ($M \pm m$, $n=10$)

Умовне позначення жирної кислоти	Назва жирної кислоти згідно тривіальної номенклатури	Контроль	Етанол
$C_{14:0}$	Міристинова	$0,41 \pm 0,03$	$0,19 \pm 0,01$
$C_{15:0}$	Пентадецилова	$0,19 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,006$
$C_{16:0}$	Пальмітинова	$25,58 \pm 2,42$	$9,54 \pm 0,87$
$C_{16:1} \omega 9$	Пальмітолеїнова	$1,31 \pm 0,08$	$0,61 \pm 0,05$
$C_{17:0}$	Маргарінова	$0,41 \pm 0,03$	$0,09 \pm 0,008$
$C_{17:1}$	Гептадеценова	$0,72 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,01$
$C_{18:0}$	Стеаринова	$13,44 \pm 1,02$	$4,43 \pm 0,39$
$C_{18:1} \omega 9$	Олеїнова	$22,84 \pm 1,93$	$33,81 \pm 3,04$
$C_{18:2} \omega 6$	Линолева	$19,67 \pm 1,71$	$24,41 \pm 2,15$
$C_{18:3} \omega 6$	Линоленова	$0,13 \pm 0,01$	$8,68 \pm 0,82$
$C_{20:0}$	Арахінова	$0,78 \pm 0,07$	$0,77 \pm 0,07$
$C_{20:1}$	Гондоїнова	$0,68 \pm 0,05$	$5,61 \pm 0,51$
$C_{20:2}$	Ейкозадієнова	$0,37 \pm 0,03$	$0,93 \pm 0,08$
$C_{20:3}$	Ейкозатриснова	$0,29 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,008$
$C_{20:4} \omega 6$	Арахідонова	$8,69 \pm 0,81$	$0,67 \pm 0,06$
$C_{21:0}$	Генейкозанова	$0,06 \pm 0,005$	$0,13 \pm 0,01$
$C_{22:0}$	Бегенова	$1,24 \pm 0,09$	$0,78 \pm 0,07$
$C_{22:1}$	Ерукова	$0,17 \pm 0,01$	$8,08 \pm 0,73$
$C_{22:2}$	Додекадієнова	$1,33 \pm 0,12$	$0,34 \pm 0,03$
$C_{22:3}$	Докозатриснова	$0,36 \pm 0,03$	$0,24 \pm 0,02$
$C_{22:4}$	Докозатетраєнова	$0,33 \pm 0,03$	-
$C_{22:5} \omega 6$	Докозапентаєнова	$0,26 \pm 0,02$	-
$C_{22:6} \omega 3$	Докозагексаєнова	$0,74 \pm 0,06$	$0,42 \pm 0,03$

* – $P \leq 0,05$ – по відношенню до контролю

Відмічено, що серед ненасичених жирних кислот зростала кількість олеїнової ($C_{18:1\omega9}$) та лінолевої ($C_{18:2\omega6}$), відповідно на 48% та 24% порівняно з контрольними зразками (табл. 1). Було зафіксоване значне збільшення вмісту таких ненасичених жирних кислот, як ліноленова та гондоїнова. Так, рівень ліноленової жирної кислоти ($C_{18:3\omega6}$) з 0,13% від загальної суми жирних кислот у контролі зріс до 8,68% за умов впливу етилового спирту. Вміст гондоїнової жирної кислоти ($C_{20:1}$) у ядерній фракції слизової оболонки шлунка щурів, що піддавались дії етанолу, збільшився в 8 разів по відношенню до контрольних тварин.

Встановлено зниження кількості у ядерній фракції таких ненасичених жирних кислот, як пальмітолеїнова ($C_{16:1\omega9}$) – на 53%, арахідонова ($C_{20:4\omega6}$) – на 92%, додекадієнова ($C_{22:2}$) – на 74%, докозатрієнова ($C_{22:3}$) – на 33% та докозагексаєнова ($C_{22:6}$) – на 43% відносно контрольних ядер, при цьому вміст докозатетраєнової ($C_{22:4}$) та докозапентаєнової ($C_{22:5}$) жирних кислот взагалі зникав (табл. 1). Паралельно з цим спостерігалось суттєве зростання рівня ерукової жирної кислоти ($C_{22:1}$) – з 0,17% у контролі до 8,08% – за умов етанолової виразки шлунка.

Зростання проценту таких основних ненасичених жирних кислот, як олеїнова, лінолева, ліноленова, гондоїнова та ерукова, збільшує всі показники лабільності ядерних мембран. А саме, це може призвести, до підвищення латеральної дифузії компонентів мембрани за рахунок зменшення взаємодії між молекулами, збільшення дифузії відповідних речовин (наприклад, неполярних сполук) крізь мембрану в зв'язку зі зростанням проміжків між "хвостами" ліпідів, підвищення здатності мембран до розриву. Такі зміни можуть призвести до дестабілізації ядерних мембран. Зменшення вмісту поліненасичених жирних кислот, які є основним суб-

стратом переокисного окиснення ліпідів, може бути пов'язано з інтенсифікацією вільнорадикальних процесів у ядерних мембранах. Зниження рівня арахідонової кислоти у ядерній фракції епітеліоцитів шлунка, може бути викликано, з одного боку, процесами пероксидації ліпідів мембран, а з іншого, з можливим синтезом простагландинів. Відомо, що простагландини виконують захисні функції по відношенню до слизової поверхні шлунка, оскільки вони сприяють адекватній продукції гастродуоденального слизу, секретії в порожнину шлунка бікарбонатів, збереженню достатнього об'єму кровотоку у слизово-підслизовому шарі, тим самим запобігаючи розвитку експериментальних виразок.

Висновки. Таким чином, отримані результати експериментальних досліджень свідчать про структурно-функціональні перебудови у ядерних мембранах слизової оболонки шлунка щурів за умов етанолової виразки.

1. Медведовская И.И., Воронцова М.А. Хроматографический анализ. Практикум // Изд-во "Омск" ОмГУ. – 2002. 76 с.
2. Передерий В.Г., Ткач С.М., Скопиченко С.В. Язвенная болезнь. Прошлое. Настоящее. Будущее. – Киев.: Балтия Друк. – 2003. – С. 252 – 267.
3. Baron J.H., Mt. Sinai J. Peptic ulcer // Med. j. – 2000. – Vol. 67. – P. 58–62.
4. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во Моск. Универ., 1989. – С. 406.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Информполиграф, 2002. – 305 с.
6. Свиницкий А.С., Соловьева Г.А. Патогенез язвенной болезни в свете современных представлений // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. – 2000. – Вып. 1. – С. 26–28.
7. Dean P. Jones Radical-free biology of oxidative stress // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2008. – Vol. 295. – P. C849 – C868.
8. Folch J., Lees M. and Stanley G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226. – P. 497–509.
9. Liu Edgar S.L., Cho Chi H. Relationship between Ethanol-Induced Gastritis and Gastric Ulcer Formation in Rats // Digestion. Internat. J. of Gastroenterology. – 2000. – Vol. 62. – P. 232–239.
10. Robert A., Nezamis J.E., Lancaster C. and Hancher A.J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury // Gastroenterology. – 1979. – Vol. 77(3). – P. 433–443.

Надійшла до редколегії 25.06.09

УДК 615.45:615.033

Є. Торгалло, канд. біол. наук, Л. Гайда, канд. біол. наук, Л. Остапченко, проф.

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ ТА ЛІПОФЛАВОНУ НА РІВЕНЬ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Досліджували вплив кверцетину та ліпофлавонолу на рівень відновленого глутатіону в головному мозку, нирках та селезінці за умов експериментального геморагічного інсульту. Встановлено, що введення щуром кверцетину та ліпофлавонолу сприяло зростанню вмісту відновленого глутатіону до контрольних величин, тоді як за умов експериментальної патології рівень його значно знижувався в гомогенаті тканин досліджуваних органів. Дійшли висновку, що введення антиоксидантних препаратів кверцетину та ліпофлавонолу за умов геморагічного інсульту щурів приводить до нормалізації вмісту відновленого глутатіону у досліджуваних органах, що вказує на стимуляцію захисних реакцій та адаптивну відповідь організму.

On the basis of the conducted research it was established that hemorrhage apoplexy results in changes of peroxide oxidation of lipids. Changes in the processes of oxidation caused by hemorrhage apoplexy was accompanied by changes in the level of glutathione as well as glutathione-dependent enzymes. We have shown that the use of antioxidant quercetin preparation leads to normalization of biochemical indications of tissue metabolism. It reveals that regulatory mechanisms participate in formation of adaptive reactions under the given pathology. It has been shown that treatment by medicine with antioxidant properties normalizes peroxidation processes. Thus, antioxidant medicine may be suggested both for prevention and complex treatment of cerebrovascular pathology.

Вступ. У структурі судинних захворювань головного мозку провідне місце займають гострі ішемічні порушення мозкового кровообігу (80–85 %). Останніми роками велика увага приділяється дослідженню механізмів розвитку, профілактики та лікування цих патологій, зокрема інтрацеребральної геморагії. Геморагічний інсульт — це раптовий цереброваскулярний процес, крововилив у тканину головного мозку або в підпаутинний простір, що зумовлює патофізіологічні розлади вторинно [1].

Надлишковій генерації активних форм кисню, яка лежить в основі багатьох цереброваскулярних патологій, протистоять антиоксидантна система. Ключова роль в її функціонуванні та захисті клітин від оксидативного

стресу належить, редокс-регулятору клітинних функцій — відновленому глутатіону (GSH). Цей трипептид бере участь у реакціях детоксикації ксенобіотиків, виступає кофактором деяких ферментів та їх ізомерів, підтримує тіоловий редокс-потенціал, зберігаючи сульфгідрильні групи цитозольних білків у відновленій формі.

Для профілактики та лікування післяінсультних ускладнень застосовують антиоксиданти, одним із яких є кверцетин. Однак, біодоступність останнього до клітин мозку ускладнена в зв'язку з його нерозчинністю у водному середовищі, що виключає внутрішньовенне введення і направлений швидкий транспорт до зони ура-

ження [2]. Тому, застосовуючи ліпосомальну форму кверцетину – ліпофлавоно, можна уникнути даної проблеми.

Метою нашого дослідження було вивчити вплив кверцетину та ліпофлавоно на рівень відновленого глутатіону в тканинах мозку, селезінки та нирок при експериментальному геморагічному інсульті.

Об'єкт та методи досліджень. Для дослідження використовували білих лабораторних нелінійних щурів-самців з початковою масою тіла 180 ± 10 г, які утримувались в стандартних умовах виварію. Геморагічний інсульт у щурів викликали згідно з методом [11]. Кверцетин вводили перорально, а ліпофлавоно ("Біолек", Харків) внутрішньовенно (10 мг/кг) протягом 7 днів. Вміст відновленого глутатіону визначали, використовуючи алоксан, за методом [8]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t – критерію Ст'юдента при $p \leq 0,05$ [7].

Результати та їх обговорення. Відомо, що одним із універсальних механізмів пошкодження клітин на рівні біологічних мембран є процеси ПОЛ. В основі серцево-судинних патологічних процесів лежить порушення цілісності мембран кардіоміоцитів та ендотеліоцитів судин, що призводить до активації фосфоліпаз та оксигеназ, які стимулюють утворення вільних радикалів, провокуючи порушення системи пероксидації та впливають на перебіг мембранодиструктивних процесів у клітинах.

Дані літератури та попередньо отримані нами результати дослідження свідчать, що порушення окисного гомеостазу, який характеризується підвищенням вмісту продуктів ПОЛ на фоні зниження активності супероксиддисмутази та каталази, є одним із патогенетичних факторів виникнення геморагічного інсульту [3, 4]. Також відомо, що найбільше кверцетину та ліпофлавоно накопичується в головному мозку, селезінці та нирках [5], тому подальші дослідження проводилися на гомогенатах тканин даних органів.

За умов розвитку геморагічного інсульту в організмі відбувається порушення функціонування окремих ланок процесу обміну речовин, що є однією з причин зниження інтенсивності захисних реакцій організму, зокрема зменшення вмісту відновленого глутатіону [10]. В результаті проведених нами досліджень встановлено, що за умов експериментального геморагічного інсульту вміст GSH знижувався у мозку та селезінці на 40%, та нирках на 52% (таб.1). Це говорить про надмірне окиснення сульфгідрильних груп глутатіону, яке може призводити до накопичення його окисненої форми, інгібування ферментів та порушення процесів клітинного метаболізму. Отримані експериментальні дані також можуть свідчити про розлади у функціонуванні глутатіонзалежної антиоксидантної системи та зниження антиоксидантних властивостей організму за умов досліджуваної патології.

Таблиця 1. Вміст відновленого глутатіону в різних органах за умов введення кверцетину та ліпофлавоно при експериментальному геморагічному інсульті (мкг/г тканини) ($M \pm m$; $n = 5$)

Органи	Контроль	Інсульт		
		без введення препарату	введення кверцетину	введення ліпофлавоно
Мозок	122,01 $\pm$ 13,41	95,01 $\pm$ 11,71*	117,03 $\pm$ 7,61	116,01 $\pm$ 8,21
Селезінка	288,02 $\pm$ 9,42	106,11 $\pm$ 15,22*	225,01 $\pm$ 21,51*	216,01 $\pm$ 7,81*
Нирки	220,01 $\pm$ 43,81	140,01 $\pm$ 12,51*	136,01 $\pm$ 6,81*	197,03 $\pm$ 5,72

* – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем

Головний мозок людини найбільш чутливий до вільнорадикального пошкодження. Некерована та некомпенсована активація процесів ПОЛ, виснаження пулу ендогенних антиоксидантів та порушення регуляторних механізмів антирадикального захисту є одним з ключових факторів пошкодження нейронів. Існує багато стратегій лікування геморагічного інсульту, однією з яких є медикаментозна цитопротекція, яка направлена на захист нервових клітин від пошкоджуючої дії ішемії чи геморагії, запобігання нейрональної загибелі на клітинному й молекулярному рівнях або корекцію наслідків судинного ураження [11]. Низькомолекулярні природні та синтетичні антиоксиданти, такі як кверцетин та ліпофлавоно, проявляють широкий спектр фармакодинамічних властивостей, важливих при лікуванні захворювань серцево-судинної системи. Введення щурам кверцетину та ліпофлавоно сприяло зростанню до контрольних величин вмісту відновленого глутатіону в гомогенаті тканин головного мозку та селезінки, тоді як рівень даного трипептиду в нирках при введенні кверцетину не змінювався, порівняно з показниками за умов експериментальної патології. Однак, при введенні ліпофлавоно вміст GSH в нирках повертався до контрольних величин, що можливо пов'язано із зменшенням активності вільнорадикального окиснення за рахунок антиоксидантної дії і відновлення структури мембран клітин нирки ліпосомами даного препарату.

Висновки. Таким чином, введення антиоксидантних препаратів кверцетину та ліпофлавоно за умов геморагічного інсульту щурів сприяє нормалізації вмісту відновленого глутатіону у досліджуваних органах, що вказує

на стимуляцію захисних реакцій та адаптивну відповідь організму. На підставі отриманих даних актуальним стає всебічне дослідження стану глутатіонової антиоксидантної системи та систем, які з нею пов'язані.

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М.: Медицина, 1989. – 368 с. 2. Брандт З. Статистические методы анализа наблюдений. – М.: Мир, 1975. – 312 с. 3. Виленский Б.С. Осложнения инсульта: профилактика и лечение. – СПб.: Фолиант, 2000. – 128 с. 4. Василенко Е.О., Раецька Я.Б., Степанов Ю.В. та ін. Вплив кверцетину на стан антиоксидантної системи і процеси ПОЛ при експериментальній моделі геморагічного інсульту у щурів // Фізика живого. – 2008. – Т. 16, № 1. – С. 116-1192. 5. Жулев Н.М., Пустозеров В.Г., Жулев С.Н. Цереброваскулярные заболевания. Профилактика и лечения инсультов. – СПб.: Невский диалект, 2002. – 384 с. 6. Ковалев В.Б., Ковалев В.Б., Ковзан В.В., Кончина Е.Ю. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы) / Укр. мед. альманах 1999. – Т.2, №4. – С.184. 7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Учебное пособие / под ред. Прохоровой М.И. – Л.: изд., Ленингр. ун-та. – 1982. – 272с. 8. Могурова Т.В., Лазарева Д.Н. // Эксперим. и клин. Фармакол.-2000. – Т.63, №1. – С.71-75. 9. Стефанов А.В., Григорьева А.С. // Сб. докл. науч.-практ. конф. "Стандартизация, контроль и производство иммунобиологических и лекарственных препаратов". – Харьков: Биолек, 1998. – С.158 – 176. 10. Трофимова С.А., Балунов О.А., Дубинина Е.Е., Леонова Н.Д. и др. Состояние системы антиоксидантной защиты у больных с последствиями ишемических инсультов // Нейроиммунология. – 2005. – №2, Т3. – С. 236. 11. Ярош О.К., Кириченко С.В., Данилов М.М. Метод відтворення інтрацеребральної геморагії у білих щурів // Журн. Кровообіг та гомеостаз. – 2005. – №1. – С.77-81. 12. Ярош О.К., Будзіцька К.І., Савцова З.Д. Особливості фармакокінетики кверцетину при його парентеральному введенні в різних лікарських формах експериментальним тваринам // Maristerium. – 2004. – Вип. 16. – Природничі науки – С. 54-58. 13. Meister A., Anderson M. Glutathione // Ann. Rev. Biochem. – 1983. – V.52. – P. 711-760.

Надійшла до редколегії 14.05.09

О. Львова, студ., О. Кошова, асп.,
С. Верьовка, д-р біол. наук

ВПЛИВ ДЕНАТУРАЦІЙНИХ ЧИННИКІВ НА ПРОЦЕСИ ГЛІКАЦІЇ ГЕМОГЛОБІНУ ЛЮДИНИ

Наведено дані дослідів, які вказують на вплив групи речовин-денатурантів на процес неферментативного глікозилювання гемоглобіну людини.

Presents data show of research influence of substances-denaturants on the process of non-enzymatic glycosylation of human hemoglobin.

Вступ. Перебіг життєвих процесів залежить від взаємодії біомакромолекул. Одним із важливих типів подібного виду взаємодій є формування та розщеплення ковалентних зв'язків між окремими молекулами, що можуть належати до різного типу молекулярних сполук. Зокрема, важливу роль у формуванні та підтримці структури білків, виконанні ними їх фізіологічних функцій відіграє глікозилювання – утворення молекул, які містять як білкову, так і вуглеводну складові частини, глікопротеїнів. У нормі значна кількість білків глікозилювана. В основному глікозилювання відбувається за участю ферментів при дозріванні білка на рівні апарату Гольджі. Проте до 30 % поверхні білка (наприклад, у випадку альбуміну) може бути глікозильовано за неферментативним механізмом протягом часу існування білкової молекули [1, 2]. Під час багатьох патологічних процесів таке неферментативне глікозилювання (глікація) є фізіологічно необґрунтованим і призводить до ушкодження білків та розвитку небажаних ускладнень – атеросклеротичних змін у судинах, розвитку катаракти, глухоти. Найбільш епідеміологічно значущим прикладом подібного роду патологічних процесів є цукровий діабет [3]. Вважається, що збільшення ступеня неферментативного глікозилювання білків зумовлене характерним для цього захворювання підвищенням концентрації глюкози в крові. Однак дослідження останніх років свідчать про притаманні діабету істотні порушення у функціонуванні структуроутворювальних (фолдингових) систем і значну функціональну роль цих порушень у перебігу патофізіологічного процесу [4, 5]. Тому важливо зрозуміти, якою мірою ушкодження чи формування недовіршеної структури білка може впливати на рівень його глікації, тобто наскільки вагомим чинником є збереження нативної конформації білка [6]. Рівень глікації гемоглобіну людини є важливим діагностичним показником [4, 7]. Тому саме цей білок було вибрано для дослідження впливу групи речовин-денатурантів на процес глікації за стандартної, відповідної нормальному стану, концентрації глюкози (5 мМ). Мета роботи полягала у визначенні залежності ступеня глікації білка від ступеня збереження його нативної структури.

1. Матеріали та методи. *Матеріали:* У роботі було використано: гемоглобін А людини виробництва "Merck" (США); D-глюкоза та Тритон X-100 виробництва "Sigma" (США); хлорид натрію, фосфат натрію, додецилсульфат натрію, тіобарбітурову, трихлороцтову та щавелеву кислоти, солі двовалентних металів ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) – вітчиз-

няного виробництва, кваліфікації не нижче "ЧДА". Як речовини-денатуранти було обрано такі сполуки: Хлорид натрію (NaCl), Тритон X-100 (тетраоктилфеноловий ефір полі етиленгліколю), додецилсульфат натрію, солі двовалентних металів. Денатураційну дію іонів цинку ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), нікелю ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), кадмію ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) і кобальту ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) визначали за 1 мМ концентрації відповідних солей.

Методи дослідження: Глікозилювання гемоглобіну А людини проводили за методикою, представленою в роботі [8]. При дослідженні впливу денатуруючих чинників концентрація глюкози становила 5 мМ, що відповідає нормі в крові здорових людей. Концентрацію хлориду натрію варіювали в межах від 0 до 1,5 М, концентрація детергентів – у діапазоні від 0 до 0,005 %, солей двовалентних металів – 0 до 1,5 мМ. Визначення рівня глікації проводили згідно зі стандартною методикою, представленою в роботі [9], з реєстрацією утвореного забарвленого похідного з довжиною хвилі 443 нм.

Кожний із наведених показників являє медіану даних з чотирьох дослідів. Одержані дані відзначались високою відтворюваністю ($P < 0,01$).

2. Результати та обговорення. Будь-який процес, у якому беруть участь білкові молекули, значною мірою залежить від двох чинників – концентрації задіяних реагентів і конфірмаційного стану білка. Як впливає з даних, наведених на рис. 1, зростання концентрації глюкози призводить до збільшення рівня глікації гемоглобіну. Такий результат є очікуваним і добре узгоджується з даними дослідження впливу концентрації глюкози на неферментативне глікозилювання альбуміну [10, 11]. Водночас варто зазначити, що за таких концентрацій глюкози може зумовлювати істотну денатурацію білкових молекул. Можна припустити прогресуючий, щонайменше двостадійний, характер перебігу процесу глікації *in vitro*: первинне, залежне від концентрації глюкози, і вторинне, зумовлене порушенням стабілізованої структури білка. Однак можливість реалізації подібного механізму за умов *in vivo* видається сумнівною, оскільки денатуровані білки швидко вилучаються з кровообігу. Тому більш обґрунтованим видається пояснення підвищеного неферментативного глікозилювання наслідками порушення процесу нормального структуроутворення білкових молекул. Визнано за доцільне дослідити залежність рівня глікації гемоглобіну за умов більшої чи меншої його денатурації.

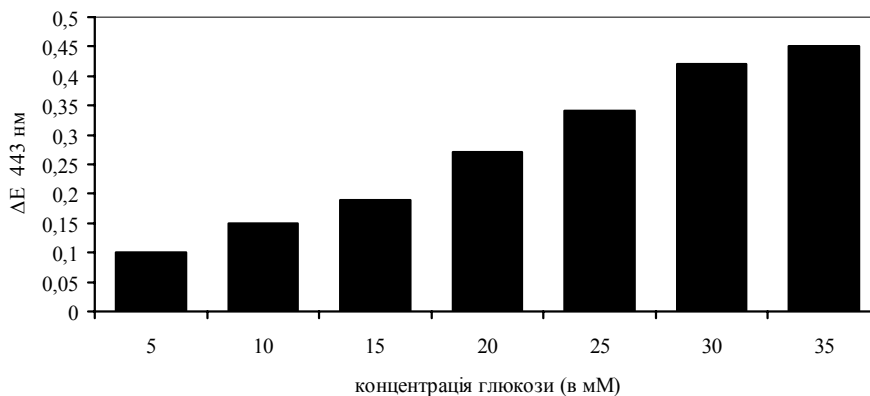


Рис. 1. Гістограма залежності ступеня неферментативного глікозилювання гемоглобіну від концентрації глюкози

Як впливає з даних, наведених на рис. 2, зростання іонної сили також сприяє глікації гемоглобіну, тобто за стандартної концентрації глюкози порушення конфо-

рмації білка приводить до зростання кількості поверхневих груп, придатних до реакції з альдегідними групами молекул вуглеводів.

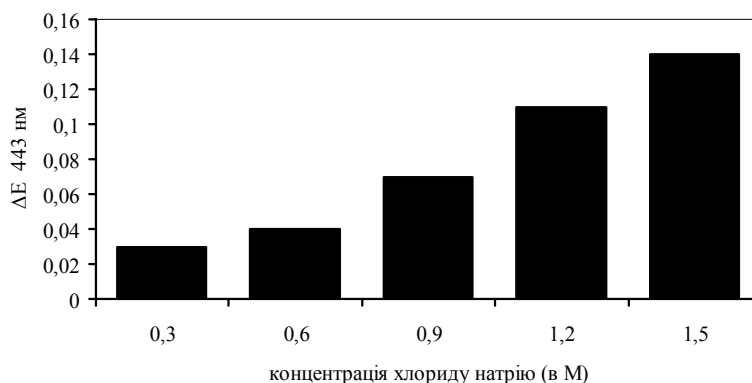
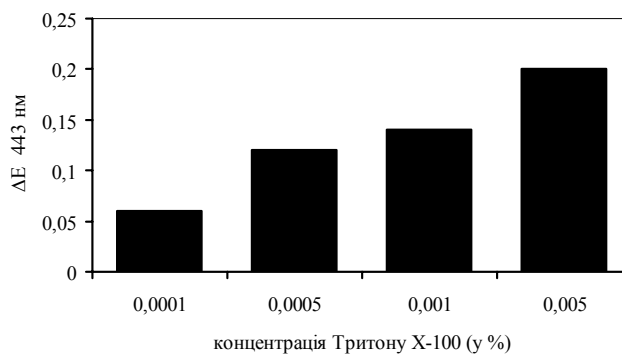
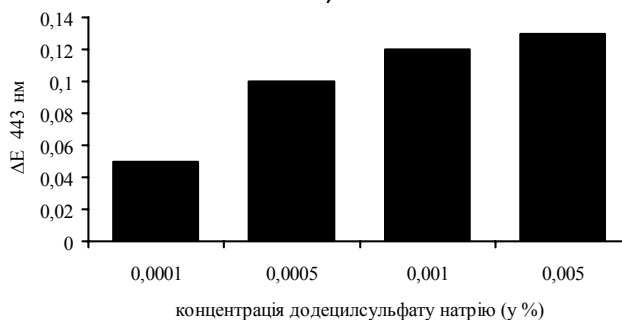


Рис. 2. Гістограма залежності ступеня неферментативного глікозилювання гемоглобіну людини від концентрації хлориду натрію

Зростанню ступеня глікації гемоглобіну сприяли неіоногенний та іоногенний детергенти – Тритон X-100 і додецилсульфат натрію (рис. 3 А і Б).



А)



Б)

Рис. 3. Гістограма залежності ступеня неферментативного глікозилювання гемоглобіну людини від концентрації Тритону X-100 (А) і додецилсульфату натрію (Б)

Згідно з контрольними дослідженнями за відсутності в середовищі глюкози досліджувані детергенти змін у поглинанні відповідних зразків не спричиняли.

На відміну від досліджуваних детергентів, вплив іонів двовалентних металів на конформацію білка опосередкований їх більшою чи меншою здатністю до інкорпорації у структуру білка, що зумовлює більшу чи меншу денатурацію. Для порівняння цих ефектів обрано 1 mM концентрацію кожного з досліджуваних іонів. Подібний вибір обумовлено відомими літературними даними про їх спроможність до інактивації процесів міжбілкового комплексоутворення [12]. Як випливає з даних, наведених у табл. 1, природа застосованих іонів спричиняє значний вплив на зростання ступеня глікації гемоглобіну. Якщо іони цинку за даної концентрації мало впливали на ступінь глікації, то вплив іонів нікелю, кобальту та кадмію був більш значущим. Варто зазначити, що ці дані добре корелюють з раніше описаною денатураційною дією цих іонів щодо інших білків [12].

Таблиця 1. Оптична густина препаратів гемоглобіну людини, глікованих за наявності 5 mM глюкози та 1 mM іонів двовалентних металів (контроль – препарат, аналогічно глікований за наявності іонів металу)

Іони металів	E^{443}
Zn ²⁺	0,040
Ni ²⁺	0,140
Cd ²⁺	0,120
Co ²⁺	0,145

Узагальнюючи наведені дані, можна зробити висновок про значний вплив збереження нативної конформації білка на його схильність до процесів неферментативного глікозилювання. Тобто порушення процесів нормального структуроутворення білків за умов *in vivo* мо-

же бути вагомим чинником утворення надмірно глікованих форм, що, в свою чергу, може зумовлювати тяжкі функціональні наслідки. З іншого боку видається за доцільне подальше дослідження впливу денатураційних чинників на процес глікації білка за умов *in vitro* та *in vivo* як можливого важливого діагностичного показника.

Роботу виконано в лабораторії біохімії ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка АМН України".

1. Kim H.J., Hwang N.R., Lee K.J. Heat shock responses for understanding diseases of protein denaturation // *Molecular Cells*. – 2007. – Vol. 23, № 2. – P. 123–131.
2. Tahara Y., Shima K. Kinetics of HbA1c, glycated albumin, and fructosamine and analysis of their weight functions against preceding plasma glucose level // *Diabetes Care*. – 1995. – V. 18, № 4. – P. 440 – 447.
3. Luthra M., Balasubramanian D. Nonenzymatic glycation alters protein structure and stability // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268. – P. 18119–18127.
4. Марченко Н.Ю., Гарбузинский С.А., Семисотнов Г.В. Молекулярные шапероны в норме и при патологии // Молекулярная патология белка / Под ред. Д.И. Заболотного – К.: "Логос", 2008. – С. 9–31.
5. Takeuchi M., Yamagishi S. TAGE (toxic AGEs) hypothesis in various chronic diseases // *Medical Hypotheses*. – 2004. – V. 63, № 3 – P. 449 – 452.
6. Вельков В.В. Гликозилированный гемоглобин в диагностике сахарного диабета и в оценке риска его осложнений // Лабораторная диагностика. – 2008, № 44. – С. 65–76.
7. Белицер В.А. Макроструктура и денатурационные превращения белков // Укр. биохим. журн. – 1962, № 2. – С. 290–320.
8. DeGroot J. The AGE of the matrix: chemistry, consequence and cure // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2004. – Vol. 4, № 3 – P. 301–305.
9. Olivieri J.R., Craievich A.F. The subdomain structure of human serum albumin in solution under different pH conditions studied by small angle X-ray scattering // *European Biophysical Journal*. – 1995. – Vol. 24. – P. 77–84.
10. Monnier L., Lapinski H., Colette C. Contributions of fasting and postprandial plasma glucose increments to overall diurnal hyperglycemia of type 2 diabetic patients: variations with increasing levels of HbA1c // *Diabetes Care*. – 2003. – Vol. 26, № 3. – P. 881–885.
11. Али Хан М.В., Рашид З., Али Хан В., Али Р. Биохимический, биофизический и термодинамический анализ сывороточного альбумина человека, гликозилированного *in vivo* // Биохимия. – 2007. – С. 175–183.
12. Соколовская Л.И., Сломинский А.Ю., Волков Г.Л. Индукция каталитической активности плазминогена моноклональным антителом IV-1с в присутствии двухвалентных катионов металлов и α_2 -антиплазмина // Биохимия. – 2006. – 71, №6. – С. 778 – 785.

Надійшла до редколегії 11.05.09

Наукове видання



ВІСНИК

КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуск 54

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 09.10.09. Формат 60x84^{1/8}. Вид. № 11. Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Наклад 500. Ум. друк. арк. 7,4. Обл.-вид. арк. 10,0. Зам. № 29-4979.

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