

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. Торгалло, канд. біол. наук (відп. секр.); Т.В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; В.К. Рибальченко, д-р біол. наук, проф.; В.С. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.; С.В. Демидов, д-р біол. наук, проф.; М.Е. Держинський, д-р біол. наук, проф.; М.С. Мірошніченко, д-р біол. наук, проф.; М.М. Мусієнко, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. УААН.; В.К. Позур, д-р біол. наук, проф.; І.Ю. Костіков, д-р біол. наук, доц.; В.В. Серебряков, д-р біол. наук, проф.; М.Ю. Макаrchук, 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 16 лютого 2010 року (протокол № 7)
Атестовано	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/7 від 09.06.99
Зареєстровано	Міністерством юстиції України. Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 16053-4525 ПР від 09.11.2009
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

ЗМІСТ

Полетай В., Жиденко А., Весельський С., Макачук М. Особливості проміжного обміну жовчних кислот в організмі коропа при дії пестицидів	4
Кундієва А., Мінченко Д., Яворовський О., Мінченко О. Вплив метил-третбутилового ефіру на експресію мРНК протеїнкінази snark, казеїнкінази-1, Clock, bmal1 та per2 у щурів	6
Тукаленко Є., Тубальцева І., Макачук М., Дмитрієва О., Лозова В. Дослідження ефективності різних схем введення кверцетину для попередження змін набутої інструментальної поведінки щурів після опромінення	10
Чернінський А., Собіщанський С., Крижановський С., Зима І. Особливості зорових викликаних потенціалів людини при короткочасній експозиції стимулів	13
Сенчугова Н., Постоєнко О., Поліщук В. Віруси цукрового буряка, які поширюються за допомогою грибоподібних організмів	15
Крижановський С., Зима І., Чернінський А., Піскорська Н. Електроенцефалографічні кореляти успішності мнемонічної діяльності людини	17
Смоля А., Паршикова Т., Панюта О., Стороженко В. Розробка практично-ігрового заняття для вивчення англійською мовою структури рослинної клітини	20
Смоля А. Розробка методики вивчення англійською мовою особливостей ефірних олій	22
Трохимець В. Фауністична характеристика літорального зоопланктону Канівського водосховища весною 2006 року	24
Толстанов Г. Локалізація VEGF в товстій кишці щурів при експериментальному коліті	28
Куценко Т., Філімонова Н., Новицька О. Ефект навчання при багаторазовому проходженні емоційного струп-тесту	30
Юзефович Ю., Ковальова В. Морфологічні аспекти шлункового ульцерогенезу	32
Лапшина К., Скрипник Н., Дерябіна О., Держинський М. Вплив алогенної плазми на морфо-фізіологічні характеристики лінії клітин RK-13	36
Маслова О., Скрипник Н., Дерябіна О., Держинський М. Вплив збагаченої тромбоцитами плазми на фенотипові ознаки культур клітин нек293	38
Майданюк А., Пивоваренко В. Метод кількісного визначення АТФ в розчинах за допомогою флуоресцентного зонду	39
Сергійчук А., Ковальова В., Моргасенко О., Остапченко Л. Активність супероксиддисмутази у слизовій шлунка за умов дії різних чинників	41
Сінгаєвський Є., Балан П. Павукоподібні (<i>Arachnida: Acari (Parasitiformes: Mesostigmata); Aranei</i>) зелених зон Києва та передмість	44
Кухарчук В., Хоруженко А., Чередник О., Філоненко В. Імуноцитохімічний аналіз вмісту S6K у клітинах лінії MCF-7 на різних стадіях клітинного циклу	48
Ільєнко М., Романюк Г. Деякі особливості жуваального апарату представників родини собачих та плямистої гієни (<i>Crocuta crocuta</i>)	51
Зубик Ю., Шевченко Т., Поліщук В. Детекція вірусів, що інфікують представників прісноводних водоростей відділу <i>Chlorophyta</i>	53
Дворщенко К., Вакал С., Савко У. Перекисне окиснення ліпідів у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментально викликаного виразки	55
Вороніна О., Берегова Т., Держинський М. Вплив агоніста PPAR γ -рецепторів піоглітазону на слизову оболонку пілоричного відділу шлунка щурів при тривалій гіпергастринемії	56
Пацко О., Ситніков Д., Коць С., Паршикова Т., Славний П. Фізіолого-біохімічні реакції люцерни на інокуляцію альго-ризобіальними асоціаціями	59

CONTENTS

Poletay V., Gidenko A., Veselskiy S., Makarchuk M. Features interim exchange bile acids In the body carp to action pesticides	4
Kundieva A., Minchenko D., Yavorovskiy O., Minchenko O. Influence tretbutylovoho methyl ester on expression of mRNA proteinkinazy snark, kazeinkinazy-1, Clock, bmal1 and per2 in rats	6
Tukalenko E., Tubalczeva I., Makarchuk M., Dmitrieva., Lozova B. Study the effectiveness of different schemes of quercetin to prevent the introduction of changes acquired instrumental behavior in rats after irradiation	10
Cherninsky A., Sobischansky S., Kryzhanovskiy S., Zyma I. Human event-related potentials to short displayed stimuli	13
Senchugova N., Postoenko O., Polischuk V. The sugar viruses transmitted by soil fungi-like organisms.....	15
Kryzhanovskiy S., Zyma I., Cherninskyj A., Piskorska N. Electroencephalographyc correlates of the human short-term memory efficiency.....	17
Smolya A., Parshikova T., Panyta O., Storozhenko V. The elaboration of practical lesson to study the structure of plant cell in English	20
Smolya A. The methodologic elaboration of the lesson devoted to particularities of essential oils in English	22
Trokhymets V. Faunistic informations about litoral zooplankton from the Kaniv reservoir in spring 2006 year	24
Tolstanova G. Localization of VEGF in colon of rats with experimental colitis	28
Kutsenko T., Filimonova N., Novitskaya O. Training effect under multiple performance of emotional Stroop test.....	30
Yuzefovych Y., Kovalyova V. Morphologycal aspects of the gastric ulcerogenesis.....	32
Lapshyna K., Skrypnyk N., Deryabina O., Dzerzhynskii M. The effect of alogeneic plasma on morpho-physiological characteristics of RK-13 cell line	36
Maslova O., Skrypnyk N., Deryabina O., Dzerzhynskii M. Effect of platelet rich plasma PRP on Phenotype of HEK 293 Cell Line	38
Maidanyuk A., Pivovarenko V. Fluorometric method for quantitative determination of ATP in aqueous solutions	39
Sergiichuk A., Kovalyova V., Morgaienko O., Ostapchenko L. Stomach mucosae superoxide dismutase activity under effects of different factors	41
Singaevskiy E., Balan P. The Arachnids (Arachnida: Acari (Parasitiformes: Mesostigmata); Aranei) of Kyiv city green zones and suburb.....	44
Kukharchuk V., Khoruzhenko A., Cherednik O., Filonenko V. Immunocytochemical analysis of the content of S6K in the human breast cancer cell line MCF-7 during different stages of cell cycle	48
Il'enko M., Romaniuk H. Certain features of masticatory apparatus of specimens of canids and spotted hyena (<i>Crocuta crocuta</i>).....	51
Zubyk Ju., Shevchenko T., Polischuk V. Detection of viruses which freshwater algae divisions <i>chlorophyta</i> infects	53
Dvorshchenko C., Vakal S., Savko U. Lipid peroxidation in rat gastric mucosa subcellular fraction under experimental ulcer.....	55
Voronina E., Beregova T., Dzerzhynsky H. Effects of pioglitazone, PPAR γ -receptors agonist, on the gastric pyloric mucosa in rats exposed to long-term hypergastrinaemia.....	56
Patsko O., Sytnikov D., Kots S., Parshikova T., Slavniy P. Physiological and biochemical reaction of <i>Glycine max</i> (L.) Merr. to inoculation with algal-rhizobial associations.....	59

ОСОБЛИВОСТІ ПРОМІЖНОГО ОБМІНУ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА ПРИ ДІЇ ПЕСТИЦИДІВ

Досліджувались зміни в обміні жовчних кислот в організмі коропа лускатого за умов пестицидного навантаження. При дії пестицидів різної хімічної будови спостерігалися зміни вмісту вільних та кон'югованих жовчних кислот в крові, жовчі та тканині печінки коропа, що може свідчити про порушення процесів їх біосинтезу та транспорту через мембрани гепатоцитів.

We studied a changes of a bile organic contents in the blood, liver and bile of carp in pesticide intoxication. At action of pesticides of a different chemical structure there were the changes in maintenance of free and connected biliuous acids in a blood, bile and liver of carp, that can testify the violation of transport processes through the membranes of hepatic cells and changes of their biosynthesis.

Вступ. Фізіологічна роль жовчних кислот в організмі людини і тварин надзвичайно багатогранна. Зокрема, вони приймають активну участь в процесі травлення, проявляючи характерні для їх поверхнево-активні властивості, завдяки чому емульгують ліпіди в кишечнику та одночасно активують ліпазу, а також створюючи міцелярні комплекси сприяють всмоктуванню жирів та жиророзчинних речовин, в тому числі окремих вітамінів [1].

Дифільні властивості жовчних кислот головним чином забезпечують стабільність колоїдної системи жовчі, сприяючи розчиненню в цій біорідині речовин ліпідної природи, зокрема таких важкорозчинних, як холестерин. Окрім того, жовчні кислоти стимулюють роботу гладеньких м'язових клітин, котрі відповідають за перистальтичні скорочення в шлунково-кишковому тракті [2].

Для фізіологічних процесів є важливою взаємодія жовчних кислот із молекулами білків та ліпідів – основними компонентами мембран клітини. Під впливом цих сполук змінюється активність ферментів як на поверхні слизової оболонки, так і в порожнині кишечника. В цілому це веде до змін у процесах мембранного транспорту органічних і неорганічних речовин та перебігу метаболічних процесів в клітинах. Виявлено вплив жовчних кислот на процеси кровотворення, дихання, на функціонування окремих залоз внутрішньої секреції, а також на функціональний стан збудливих структур центральної нервової системи [3].

Слід підкреслити, що як у біосинтезі жовчних кислот, так і у їх подальшій трансформації в гліко-, тауро- та сульфокон'югати задіяна ціла низка поліферментних систем гепатоцитів. Цей ряд перетворень вищезазначених сполук є однією з ключових ланок метаболічного забезпечення зовнішньо секреторної функції печінки.

З іншого боку печінка відіграє провідну роль в детоксикації ксенобіотиків, в тому числі пестицидів, котрі різними шляхами надходять до організму тварин та людини. Ця функція печінки еволюційно удосконалена для перетворення ендогенних токсичних речовин, котрі з'являються в процесі життєдіяльності організму і забезпечується різноманітними ланками обміну речовин в її клітинах. Надходження до організму екзогенних токсичних речовин веде не тільки до переключення вищезазначених природних механізмів детоксикації, а і залучає більш широкий спектр метаболічних процесів в клітинах печінки, котрі лежать в основі забезпечення інших функцій даного органу, зокрема зовнішньосекреторної. В зв'язку з вищезазначеним, є важливим дослідити особливості обміну жовчних кислот в організмі коропа при перебуванні його в середовищі з підвищеною концентрацією пестицидів різної хімічної будови, що в природі може спостерігатися при змиві пестицидів з полів при обробці ними сільськогосподарських культур і їх надходження у водойми через ґрунтові води або

при техногенних катастрофах на виробництвах пестицидів та при їх транспортуванні.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження слугував лускатий короп-дворічка (*Cyprinus carpio* L.) масою 200-250 г. Концентрацію досліджуваних пестицидів (0,08 мг/дм³ для раундапу (гліфосату) та 0,4 мг/дм³ зенкора, що дорівнює чотирьом гранично допустимим концентраціям (ГДК) для риби) задавали у 200-літрових акваріумах. Температура води коливалась у межах 8-10°C. Дослід проводився у осінньо-зимовий період впродовж 14 діб. В пробах міхурової жовчі, крові та безпосередньо в тканині печінки риб після екстракції визначали жовчні кислоти за допомогою методу тонкошарової хроматографії, що був розроблений в лабораторії [4]. Тонкошарова хроматографія здійснювалась на хроматографічній пластині Silufol (ЧССР) у системі розчинників: аміловий ефір оцтової кислоти – бутанол – толуол – оцтова кислота – вода у співвідношенні 30:10:10:30:10 за об'ємом. Визначення вмісту окремих вільних та кон'югованих жовчних кислот у вищезазначених біоматеріалах проводили за допомогою денситометра ДО – 1М у відповідності до калібрувальних кривих, побудованих з використанням чистих стандартних речовин. Цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з урахуванням критерію Ст'юдента. Вірогідно вважали різницю між дослідом та контролем при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Жовчні кислоти в організмі тварин та людини зосереджені в системі органів, що забезпечують їх ентерогепатичний колообіг. Печінка відіграє ключову роль як в підтриманні певного рівня даних сполук в цьому процесі, так і у проміжному обміні жовчних кислот у організмі в цілому.

Розподіл жовчних кислот між тканиною печінки та досліджуваними біорідинами в контрольних тварин характеризувався слідуючими співвідношеннями. Так, жовчні кислоти кількісно домінували в міхуровій жовчі і загальна їх концентрація в цій біорідині сягала 6043, 96 ± 415,21 мг%, в той час як в тканині печінки їх рівень складав лише 34,11 ± 2,96 мг%. Найнижча концентрація даних сполук спостерігалась в крові коропа і становила лише 5,71±0,31 мг% [табл.1]. Слід зазначити, що тонкошарова хроматографія дозволяє у екстрактах досліджуваних тканин та біорідин виявити до дев'яти плям, що утворились в результаті позитивної реакції сполук на фосфорно-молібденову кислоту. Залучення до аналізу окремих стандартів жовчних кислот та активація сірчаною кислотою дали можливість ідентифікувати сім фракцій даних сполук по рухливості на хроматограмі та особливостям флуоресценції в ультрафіолетовому опроміненні. Домінуючими як по кількості, так і по представництву серед виявлених жовчних кислот в досліджуваних біорідинах та тканині печінки коропа виявилися їх похідні, кон'юговані з таурином. Зокрема фракція, яка включала таурохонодесоксихолеву та тауродес-

зоксисолеву кислоти являють собою головну складову і представлені 91,6% в жовчі, 74,9% в крові та 54,9% в тканині печінки від суми всіх жовчних кислот. Наявність

значної кількості дигідроксисоланових кислот в жовчі риб відмічена рядом інших дослідників [5].

Таблиця 1. Жовчні кислоти в тканинах організму коропів-дворічок при дії пестицидів (мг%, $M \pm m$, $n=21$)

	Кон'юговані жовчні кислоти				Вільні ЖК		Сума ЖК
	ТХК	ТХДХК+ТДХК	ГХ	ГХДХК+ГДХК	ХК	ХДХК+ДХК	в т.ч. неідент.фр.
	Співвідношення основних фракцій жовчних кислот в контрольній групі тварин						
в крові	0,617±0,102	4,280±0,306	0,057±0,008	0,225±0,017	0,037±0,004	0,077±0,028	5,71±0,31
в печінці	6,451±0,709	19,411±2,014	0,725±0,073	2,375±0,254	0,302±0,031	0,170±0,203	34,11±2,96
в жовчі	247,890±21,367	5536,780±462,347	39,857±2,652	119,217±10,357	24,196±3,421	11,741±0,987	6043,96±415,21
	Зміна кількості жовчних кислот при дії раундапу в дозі 4 ГДК						
в крові	0,385±0,031	2,715±0,254	0,042±0,004	0,066±0,005	0,019±0,002	0,015±0,002	3,47±0,18*
в печінці	10,536±1,623	29,075±3,121	0,695±0,071	2,139±0,226	0,852±0,092	0,918±0,089	51,16±4,32*
в жовчі	68,412±12,367*	3949,781±212,536*	72,445±6,144	214,278±20,369	19,158±1,857	10,230±1,188	4439,9±327,6*
	Зміна кількості жовчних кислот при дії зенкору в дозі 4 ГДК						
в крові	0,573±0,061	4,768±0,49	0,047±0,005	0,034±0,004	0,015±0,002	0,033±0,005	5,810±0,45
в печінці	11,625±1,175	31,698±3,211	1,336±0,102	3,687±0,385	0,848±0,088	0,719±0,097	57,85±4,24*
в жовчі	164,062±15,956*	2695,550±257,328*	42,274±3,547	45,045±4,322	95,787±8,542*	20,025±1,986	3148,08±296,2*

Примітка. * – $p < 0,05$

ЖК – жовчні кислоти; ТХ – таурохолева кислота; ТХДХК – таурохенодезоксисолева кислота; ТДХК – тауродезоксисолева кислота; ГХ – глікохолева кислота; ГХДХК – глікохенодезоксисолева кислота; ГДХК – глікодезоксисолева кислота; ХК – холева кислота; ДХК – дезоксисолева кислота

Перебування коропа продовж двох тижнів в акваріумі із заданими концентраціями зенкору та раундапу призводило до суттєвих змін у проміжному обміні жовчних кислот. Зокрема, найбільш вагомими змінами у загальній концентрації жовчних кислот зареєстровані в жовчі піддослідних тварин [табл. 1].

Так, при дії раундапу в дозі 4 ГДК у водному середовищі на організм коропа, концентрація жовчних кислот в жовчі піддослідних тварин знизилась на 26,5% ($p < 0,05$). В той час, як зенкор у такій же дозі при даній 14-денній експозиції більш глибоко гальмує біосинтез та транспорт жовчних кислот в каналікулярний простір, про що свідчить зниження їх рівня в міхуровій жовчі на 47,8% ($p < 0,01$) порівняно з контрольними величинами. Останнє в значній мірі було обумовлено зниженням концентрації домінуючих в жовчі коропа таурохолеваних жовчних кислот при дії раундапу та зенкору, котрі знижувались відповідно на 28,3% ($p < 0,05$) та на 53,4% ($p < 0,01$) порівняно з контрольними тваринами [табл. 1].

Слід відмітити різноспрямований вплив досліджуваних нами пестицидів на рівень вільних жовчних кислот в жовчі риб. Так, якщо раундап одночасно зі зниженням рівня кон'югованих жовчних кислот знижував і рівень вільних жовчних кислот в цій біорідині, то при дії зенкора концентрація вільної холевой кислоти зросла на 383,9% ($P < 0,01$), а рівень суми хено- та дезоксисолевих кислот зріс майже удвічі порівняно з контролем. Це вказує на те, що досліджувані нами речовини по-різному впливають на активність поліферментних систем гепатоцитів, які забезпечують процеси кон'югації жовчних кислот.

Зовсім по-іншому розподіляються досліджувані жовчні кислоти у тканині печінки риб при дії пестицидів. На відміну від виявленого нами зменшення загального вмісту жовчних кислот в жовчі під дією даних речовин, в тканині печінки спостерігалась зворотна реакція, яка супроводжувалась зростанням сумарної концентрації даних метаболітів під дією раундапу на 49,98% ($p < 0,05$) та зенкору на 69,6% ($p < 0,05$) порівняно з контрольними величинами. Однак, в дії цих препаратів на різні ланки жовчно-кислотного обміну виявились певні відмінності. Так, якщо раундап незначно знижував рівень кон'югатів жовчних кислот з гліцином, то зенкор підвищив на 84,3% концентрацію глікохолевой кислоти та глікодіоксисоланових кислот щодо контролю. В той час, на рівень жовчних кислот, кон'югованих з таури-

ном, в цій тканині обидва досліджувані препарати діяли односпрямовано, підвищуючи їх концентрацію в печінці. Концентрації вільних жовчних кислот в цій тканині під дією пестицидів зростали в 3–5 разів порівняно з контрольними величинами. Останнє може вказувати на гальмування процесів, що забезпечують транслокацію як вільних, так і частково кон'югованих жовчних кислот через каналікулярну мембрану гепатоцитів за умов пестицидного навантаження на організм коропів.

Отримані дані по визначенню жовчних кислот в крові коропів вказують на те, що при навантаженні їх організму раундапом, загальна концентрація даних метаболітів знижується на 39,2% ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Це суттєве зниження було обумовлене головним чином змінами рівня тауродиоксисоланових кислот в цій біорідині. Зенкор справив протилежну реакцію в зміні цього показника, так як концентрація суміші таурохено- та тауродезоксисоланових кислот зросла на 11,4% порівняно з контролем та на 75,4% ($p < 0,05$) була більшою відносно величин, отриманих в досліді при дії раундапу. Виявлене співвідношення в цій біорідині може вказувати на певне гальмування зенкором процесів транслокації даних метаболітів на синусоїдальній мембрані гепатоцитів, забезпечуючих адсорбцію їх з крові тварини.

Аналізуючи в цілому дані по зміні концентрацій вільних та кон'югованих жовчних кислот в досліджуваних біорідинах та тканині печінки при навантаженні організму коропа лускатого у водному середовищі заданими концентраціями пестицидів різної хімічної будови можна констатувати, що зенкор і раундап не однаково впливають на розподіл та співвідношення по тканинах досліджуваних нами метаболітів жовчно-кислотного обміну. Різностямований вплив даних пестицидів на перебіг процесів в окремих ланках вуглеводного та ліпідного обміну був виявлений дослідниками раніше [6].

Встановлені зміни у співвідношенні вільних та кон'югованих жовчних кислот в тканині печінки та досліджуваних біорідинах обумовлені відповідними змінами перебігу процесів їх біосинтезу, кон'югації та транслокації через синусоїдальні та каналікулярні мембрани гепатоцитів, що в підсумку суттєво впливає на перебіг проміжного обміну даних метаболітів в організмі риб при дії досліджуваних пестицидів.

чень и регуляция межклеточного обмена (млекопитающие и рыбы). — К., "Наук. думка", 1978. — 184 с. 3. Ганиткевич Я.В. Роль желчи и желчных кислот в физиологии и патологии организма. — К.: Наукова думка, 1980 г. — 179с. 4. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости: А.с. 4411066/14 СССР, МБ И Г 01 N 33/50 / С.П.Весельский, П.С. Лященко, И.А. Лукьяненко (СССР). — №1624322; Заявлено 25.01.1988; Опубл. 30.01.1991, Бюл. №4. 5. Рипатти П.О., Сидоров В.С.

Эколого-физиологическая роль желчных кислот у рыб. // Сравнительная биохимия водных животных. — 1983. — С. 17-28. 6. Мехед О.Б., Яковенко Б.В., Жиденко А.О. Вплив зенкору на вміст глюкози та активність ферментів глюконеогенезу в тканинах коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) при різних температурах // Укр. біохім. журн. — 2004. — 76, №3. — С. 99-103.

Надійшла до редколегії 02.09.09

УДК 577.112.7

А. Кундієва, асп., Д. Мінченко, пров. інж.,
О. Яворовський, проф., О. Мінченко, проф.

ВПЛИВ МЕТИЛ-ТРЕТБУТИЛОВОГО ЕФІРУ НА ЕКСПРЕСІЮ МРНК ПРОТЕЇНКІАЗИ SNARK, КАЗЕЇНКІАЗИ-1, CLOCK, BMAL1 ТА PER2 У ЩУРІВ

Протікання як фізіологічних, так і біохімічних процесів у організмі має циркадальний характер і контролюється генами *Per2*, *Bmal1* та *Clock*, а також казеїнкінази-1, що контролює їх функціональну активність та приймає участь у регуляції ряду інших надзвичайно важливих процесів, причому порушення механізмів їх регуляції може спричинювати розлади у функціонуванні сигнальних каскадів у клітинах і приводити до виникнення багатьох патологічних процесів. Встановлено, що під впливом метил-третбутилового ефіру, екологічно небезпечної токсичної хімічної сполуки, значно порушується експресія мРНК казеїнкінази-1, *Per2*, *Bmal1*, *Clock* та протеїнкінази SNARK у печінці, легенях та міокарді щурів і що може бути причиною розвитку різних патологічних станів, у тому числі і виникнення злоякісних новоутворень. Результати даної роботи переконливо свідчать про виражену дію метил-третбутилового ефіру на важливі ключові механізми регуляції метаболічних процесів у клітинах на рівні експресії циркадальних генів *Per2*, *Bmal1*, *Clock*, SNARK та казеїнкінази-1, що може слугувати важливим чутливим показником шкідливої дії на організм хімічних забруднювачів довкілля. У зв'язку з цим, дослідження експресії циркадальних генів та генів ряду протеїнкіназ, що контролюють основні метаболічні процеси в організмі, можуть бути чутливими маркерами біонебезпеки.

Both physiological and biochemical processes of an organism proceed in a circadian manner and are controlled by the Per2, Bmal1, and Clock genes, also casein kinase 1ε, which controls their functional activity and takes part in the regulation of several other very important processes. In addition, changes in the mechanisms of their regulation could cause signal cascades in cells to function improperly and could lead to appearance of many pathological processes. It has been shown that exposure to MTBE, an ecologically dangerous and toxic chemical compound, significantly affects the expression of mRNA of casein kinase 1ε, Per1, Bmal1, Clock and the protein kinase SNARK in the liver, lungs and myocardium of rats, which could be the cause of the development of different pathologies, including the appearance of malignant tumors. The results of this work convincingly show the affect of methyl tertbutyl ether on important mechanisms of regulation of metabolic processes in the cell by the level of expression of the circadian genes Per2, Bmal1, Clock, SNARK and casein kinase 1ε, which can serve as a sensible measurement of the toxic effects biohazard contaminants have on the organism. Accordingly, studies of the expression of circadian genes and the genes of several protein kinases, which control the main metabolic processes of the organism, can be used as sensible markers of affects of biohazard materials.

Вступ. Життєдіяльність організмів, як і протікання фізіологічних та біохімічних процесів у них, має циркадальний характер і порушення механізмів їх регуляції може спричинювати розлади у функціонуванні сигнальних каскадів у клітинах, що є однією із причин виникнення багатьох патологічних процесів, у тому числі і злоякісного росту. Найбільш важливими генами, що регулюють протікання циркадальних процесів у нормі та при патологічних станах є гени групи *Per* та *Cry*, *Bmal1* та *Clock*, а також протеїнкінази та фосфатази, що контролюють їх функціональну активність [1, 2]. Найбільш важливою протеїнкіназою, що контролює експресію та функціональну активність циркадальних генів є казеїнкіназа-1, причому вона приймає участь у регуляції і ряду інших надзвичайно важливих процесів. Так, було встановлено, що казеїнкіназа-1 зв'язується з *Per1*, *Per2* та *Per3* і фосфорилує їх, що істотним чином змінює функціонування генів, які контролюють цикл поділу клітин (*Cyclin D1*, *Cyclin A*, *Mdm-2*, *c-myc* і *Gadd45alpha*) та онкогенів, приймає участь у дестабілізації-катенін-деградуючого комплексу, у функціонуванні TGF-сигнального каскаду, в інактивації білка *bcl2* через його розщеплення каспазою 8, фосфорилує *p53*, білок, що пригнічує ріст пухлин, негативно регулює фосфо-Акт через *PTEN* [3]. Ряд інших протеїнкіназ та фосфатаз, зокрема SNARK, є не менш важливими регуляторами цих процесів як у нормі, так і при різних патологічних станах [4]. Відомо, що активність протеїнкінази SNARK, що є представником серин/треонінових АМРК кіназ, змінюється клітинно-специфічно при різноманітних стресових станах клітин, приймає участь в індукованій CD95 рухливості та інвазивності, а нокаутні по SNARK миші характеризуються ожирінням, відповідними порушен-

ням метаболізму вуглеводів та ліпідів і мають схильність до виникнення злоякісних пухлин подібно до тварин, нокаутних по циркадальним генам [5]. Відомо, що циркадальний характер регуляції процесів життєдіяльності обумовлений відповідним коливанням експресії генів циркадального годинника і є дані про існування популяцій людей з різним типом протікання циркадальних процесів [1]. Більше того, роботами багатьох дослідників виявлено, що при ряді захворювань мають місце порушення в регуляції експресії циркадальних генів, які можуть бути причетні також і до виникнення та прогресії злоякісних пухлин [2, 6, 7]. Останнім часом виявлена залежність експресії ряду циркадальних генів від гіпоксії, що також значною мірою може приводити до змін у функції цих генів та сприяти прогресії пухлин. Крім того, для циркадальних факторів у ссавців характерне явище зворотного зв'язку в механізмах регуляції, що надзвичайно важливо для точної і чіткої роботи циркадального годинника [8].

Таким чином, циркадальні гени та протеїнкінази і фосфатази, зокрема казеїнкіназа-1 та SNARK, які контролюють експресію та функціональну активність циркадальних генів та цілий ряд інших надзвичайно важливих процесів є компонентами молекулярного годинника, який контролює циклічний характер протікання як фізіологічних та біохімічних процесів, так і життєдіяльність організму [9]. Ці надзвичайно важливі регуляторні процеси можуть бути досить чутливими до впливу різних токсичних сполук, зокрема до дії метил-третбутилового ефіру, екологічно небезпечної хімічної сполуки, яка широко використовується для збільшення октанового числа бензинів [10].

Метою даного дослідження було вивчення можливих молекулярних механізмів впливу метил-третбути-

лового ефіру, екологічно небезпечної хімічної сполуки, на живі організми на рівні експресії протеїнінази та циркадіальних генів, які є важливими регуляторами циркадіальних ритмів, в тому числі і більшості основних метаболічних процесів в організмі, і порушення яких приводить до розвитку різноманітних патологій, зокрема, до виникнення злоякісних пухлин.

Матеріали і методи досліджень. Досліди проводили на щурах-самцях лінії Wistar, вагою 220 – 240 грамів. Метил-третбутиловий ефір вводили тваринам внутрішньошлунково у кількості 0,5; 5; та 50 мг/кг маси тіла один раз на день, п'ять разів на тиждень протягом двох місяців. Тотальні РНК виділяли із печінки, легень та серця щурів з допомогою реагенту Трізол (Trizol; Invitrogen, США) згідно протоколу виробника, як описано раніше [11]. Осаджували РНК рівним об'ємом 2-пропанолу. Осади РНК промивали двічі 75 % етанолом і розчиняли у воді, що не містить домішок рибонуклеаз. Експресію мРНК казеїнінази-1 та SNARK досліджували методом зворотної транскрипції та кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі, використовуючи "Stratagene Mx 3000P cycler". Тотальну РНК із різних органів щурів використовували як матрицю для синтезу кДНК з допомогою олиго(dT) праймера та набору SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen, США) згідно протоколу виробника. Для ампліфікації кДНК Per2, Bmal1, Clock, казеїнінази-1 та SNARK використовували SYBR Green Mix (США) та специфічні для цих генів щура пари праймерів. Для ампліфікації кДНК казеїнінази-1 використовували такі праймери: прямий – 5'- GACATCTACCTGGGTGCCAAC –3' та зворотний 5'- TGATCATCTGGTCGGCCAGC –3', нуклеотидні послідовності яких відповідають залишкам нуклеотидів 64 – 84 та 340 – 321, відповідно, у мРНК казеїнінази-1 щура (GenBank номер NM_031617). Для ампліфікації кДНК SNARK були використані прямий (5'- AAGTCTCGGCAGCGTGAATC –3') та зворотний (5'- CAGGATGCTGTCTCACTCA –3') праймери. Нуклеотидні залишки цих праймерів відповідають залишкам нуклеотидів 1544 – 1564 та 1737 – 1718 у послідовності мРНК SNARK щура (GenBank номер NM_001007617). Для ампліфікації кДНК Per2 використовували такі праймери: прямий – 5'- CTGGGAAGATCCTGTACATC –3' та

зворотний 5'- GCTGGTAGCGAATCTCATTC –3', нуклеотидні послідовності яких відповідають залишкам нуклеотидів 700 – 719 та 960 – 941, відповідно, у мРНК Per2 щура (GenBank номер NM_031678). Для ампліфікації кДНК Bmal1 були використані прямий (5'- TGACCCTCATGGAAGGTTAG –3') та зворотний (5'- AATCCATCTGCTGCCCTGAG –3') праймери, нуклеотидні залишки яких відповідають залишкам нуклеотидів 753 – 772 та 1042 – 1061 у послідовності мРНК Bmal1 щура (GenBank номер NM_024362). Для ампліфікації кДНК Clock були використані такі праймери: прямий (5'- TGCACAGTCAGATGCTAGTG –3') та зворотний (5'- TGATCCACAAGATCAGATGG –3'). Нуклеотидні залишки цих праймерів відповідають залишкам нуклеотидів 264 – 283 та 455 – 436 в послідовності мРНК Clock щура (GenBank номер NM_021856). Ці пари праймерів були використані для ампліфікації казеїнінази-1 та SNARK як у ЗТ-ПЛР, так і в ПЛР у реальному часі. Для контролю кількості аналізованої РНК досліджували експресію мРНК -актину. Експресія кожної смуги кДНК Per2, Bmal1, Clock, казеїнінази-1 та SNARK порівнювалася з експресією мРНК -актину. Продукти ампліфікації аналізували електрофорезом в 2% агарозному гелі, забарвлюючи кДНК бромистим етидієм. Гелі аналізували в системі Quantity One BioRad System (США).

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідженнями, проведеними з допомогою метода полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі, встановлено, що тривала, протягом двох місяців, дія на організм метил-третбутилового ефіру, при внутрішньо шлунковому його введенні тваринам, приводить до дозозалежних змін в експресії мРНК казеїнінази-1 у таких життєво важливих органах як печінка, легені та серце: у печінці та серці експресія мРНК казеїнінази-1 виражено збільшується, причому максимальні зміни у печінці виявляються при введенні щурам метил-третбутилового ефіру в дозі 50 мг/кг маси тіла, а у серці – при значно меншій дозі, 5 мг/кг маси тіла (рис. 1). У той же час, під впливом тривалої дії цієї екологічно токсичної хімічної сполуки інтенсивність експресії мРНК казеїнінази-1 у легенях значно знижувалась, причому і в легенях максимальний ефект МТБЕ спостерігався при його введенні тваринам уже при дозі 5 мг/кг маси тіла.

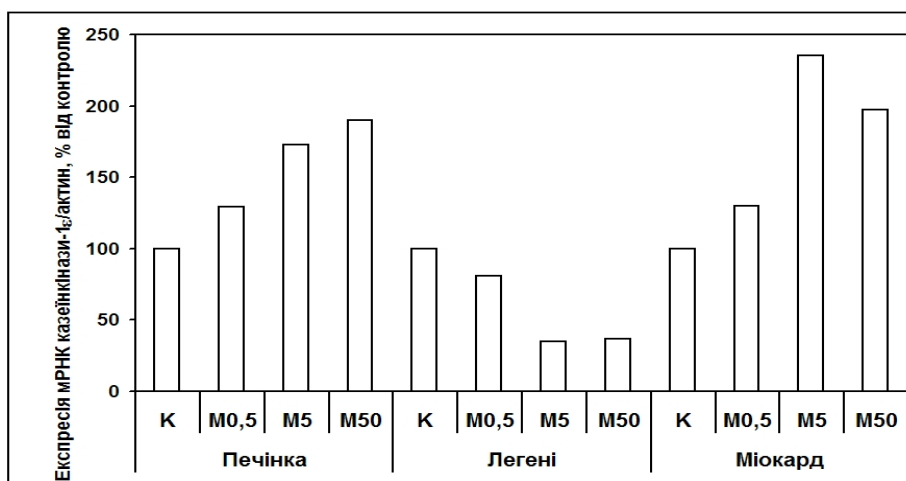


Рис.1. Вплив різних доз метил-третбутилового ефіру (М; 0,5; 5 та 50 мг/кг маси тіла) на експресію мРНК казеїнінази-1 (СК-1) у печінці, легенях та міокарді щурів методом зворотної транскрипції та полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. К – контрольні тварини. Експресію мРНК казеїнінази-1 нормалізували по -актину і виражали у процентах від контролю (100 %)

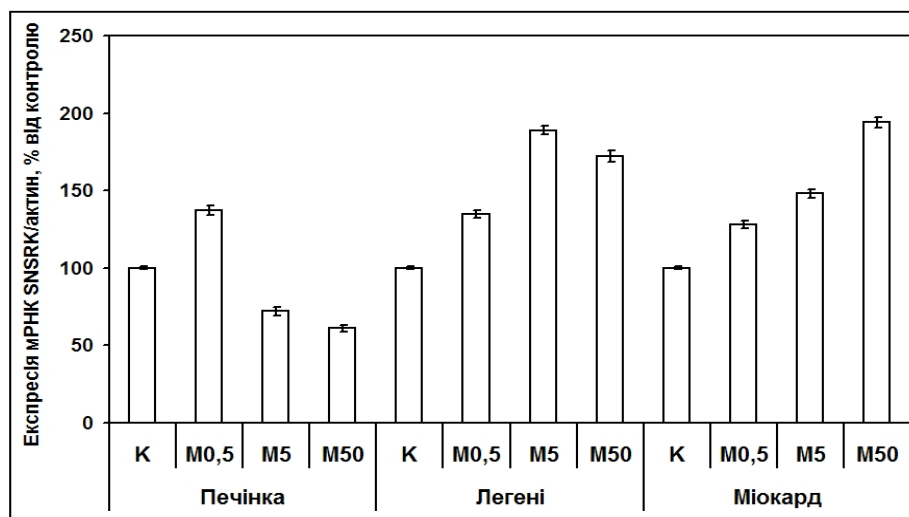


Рис. 2. Вплив різних доз метил-третбутилового ефіру (М; 0,5; 5 та 50 мг/кг маси тіла) на експресію мРНК SNARK у печінці, легенях та міокарді щурів.

К – контрольні тварини. Експресія мРНК -актину досліджувалась як контроль кількості аналізуємої РНК

Як видно із даних, приведених на рис. 2, у печінці, легенях та міокарді щурів, що отримували протягом двох місяців метил-третбутиловий ефір, виявлені значні зміни також і у експресії мРНК іншої надзвичайно важливої у регуляції метаболічних процесів в організмі протеїнкінази, протеїнкінази SNARK. Так, при введенні щурам цієї токсичної хімічної сполуки спостерігається дозо-залежне збільшення експресії мРНК протеїнкінази SNARK у легенях та серці, причому максимальні величини експресії виявляються при введенні тваринам метил-третбутилового ефіру у дозі 5 та 50 мг/кг маси тіла, відповідно. У той же час, у печінці спостерігається збільшення експресії мРНК протеїнкінази SNARK, але лише при введенні щурам мінімальної дози метил-третбутилового ефіру (0,5 мг/кг), а його більші дози, навпаки, знижують експресію мРНК цієї протеїнкінази у клітинах цього органу, причому максимальні зміни виявляються при введенні щурам метил-третбутилового ефіру у дозі 50 мг/кг маси тіла (рис. 2). Було також встановлено, що під впливом навіть мінімальної дози метил-третбутилового ефіру (0,5 мг/кг маси тіла) значно порушується експресія генів *Per2*, *Bmal1* та *Clock* у всіх досліджуваних органах, але більш виражено у печінці та легенях щурів. Так, експресія мРНК *Per2* збільшується у печінці, легенях і міокарді при введенні щурам метил-третбутилового ефіру у дозі 0,5 мг/кг маси тіла, але при збільшенні дози до 5 мг/кг маси тіла у легенях спостерігається суттєве зниження експресії мРНК *Per2* (рис. 3.1). Збільшення дози метил-третбутилового ефіру до 50 мг/кг маси тіла приводить до різкого збільшення (майже втричі) експресії мРНК *Per2* у печінці, різкого зниження (майже у 4 рази) експресії мРНК *Per2* у легенях та суттєвого зниження (у 2,5 рази) – у міокарді (рис. 3.1). Як видно із даних, приведених на рис. 3.2, під впливом мінімальної дози метил-третбутилового ефіру (0,5 мг/кг маси тіла) також значно порушується експресія мРНК *Bmal1* у всіх досліджуваних нами органах щурів. Так, експресія мРНК *Bmal1* під впливом метил-третбутилового ефіру у міокарді щурів знижується, у печінці – ще більше знижується, а у легенях, навпаки, – збільшується. Збільшення дози метил-третбутилового ефіру до 5 мг/кг маси тіла приводить до ще більш вираженого збільшення (майже вдвічі) експресії мРНК *Bmal1* у легенях і подальшого зниження (майже вдвічі) експресії цієї мРНК у міокарді, при відсутності подальших суттєвих змін у печінці (Рис. 3.2). У той же час, при збільшенні дози метил-третбутилового ефіру до

50 мг/кг маси тіла спостерігається ще більше пригнічення (майже у 6 разів) експресії мРНК *Bmal1* у печінці та збільшення – у міокарді. Відомо, що експресія гена *Bmal1* тісно пов'язана з експресією іншого циркадального гена – *Clock*. У зв'язку з цим, ми провели дослідження по впливу метил-третбутилового ефіру також і на експресію мРНК *Clock*.

Було встановлено, що під впливом навіть мінімальної дози метил-третбутилового ефіру (0,5 мг/кг маси тіла) значно порушується експресія гену *Clock* у всіх досліджуваних органах, але більш виражено у міокарді та легенях щурів (рис. 3.3). Так, експресія мРНК *Clock* при введенні щурам метил-третбутилового ефіру у дозі 0,5 мг/кг маси тіла збільшується у печінці на 27%, а у легенях та міокарді ефект був вдвічі більшим. Разом з тим, при збільшенні дози до 5 мг/кг маси тіла спостерігається ще більш виражене посилення експресії мРНК *Clock* у міокарді (у 2,5 рази), а у легенях – різке зниження (майже у 2,5 рази) експресії цієї мРНК (рис. 3.3). Збільшення дози метил-третбутилового ефіру до 50 мг/кг маси тіла приводить до різкого збільшення (майже вдвічі) експресії мРНК *Clock* у печінці та зниження (майже до норми) експресії мРНК *Clock* – у міокарді (Рис. 3.3).

Крім того, встановлено, що у контрольних тварин рівень експресії мРНК казеїнкінази-1 та SNARK є різним у різних органах: причому в легенях виявлено значно більший рівень обох цих транскриптів порівняно з печінкою та міокардом (дані не приведені). В той же час, рівень експресії мРНК казеїнкінази-1 переважає у міокарді порівняно з печінкою, а експресія мРНК SNARK, навпаки, переважає у печінці. Таким чином, результати даної роботи свідчать про виражену дію екологічно небезпечної токсичної хімічної сполуки метил-третбутилового ефіру на експресію надзвичайно важливих регуляторних протеїнкіназ, казеїнкінази-1 та SNARK, а також ряду циркадальних генів, у таких життєво важливих органах як печінка, легені та серце, що може порушувати інтенсивність протікання більшості циркадальних процесів у організмі внаслідок дисрегуляції сигнальних каскадів у клітинах, основних метаболічних циклів і приводити до розвитку різноманітних патологічних станів, у тому числі і до виникнення злоякісних новоутворень.

У зв'язку з цим, дослідження експресії циркадальних генів та генів ряду протеїнкіназ, що контролюють основні метаболічні процеси в організмі, можуть бути чутливими маркерами біонебезпеки, в тому числі і показником шкідливої дії на організм хімічних забруднювачів довкілля.

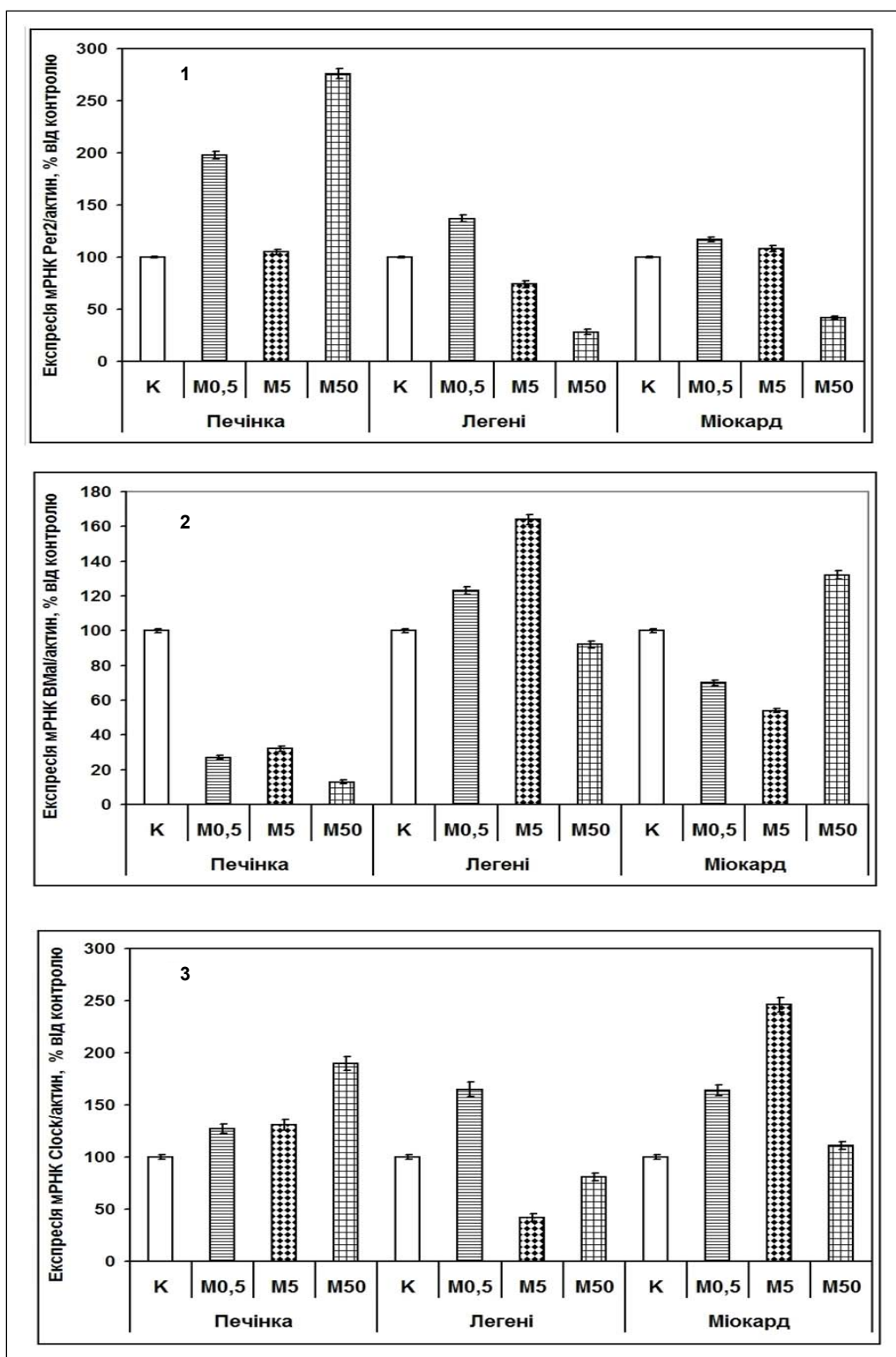


Рис.3. Вплив різних доз метил-третбутилового ефіру (М; 0,5; 5 та 50 мг/кг маси тіла) на експресію мРНК Per2 **1**, Bmal1 **2** та Clock **3** у печінці, легенях та міокарді щурів.

К – контрольні тварини. Експресія мРНК β -актину досліджувалась як контроль кількості аналізуємої РНК

Висновки. Результати даної роботи переконливо свідчать про виражену дію метил-третбутилового ефіру, хімічного забруднювача довкілля, на експресію генів надзвичайно важливих протеїназ та ряду циркадіальних генів у таких життєво важливих органах як печінка, легені та серце. Отримані результати вказують на те, що метил-третбутиловий ефір може порушувати метаболізм у клітинах організму, впливаючи на центра-

льні ланцюги системи регуляції обміну речовин, змінюючи експресію ряду протеїназ та циркадіальних генів, які контролюють більшість процесів у організмі. Ці принципово нові дані щодо впливу метил-третбутилового ефіру є фундаментом подальших наукових досліджень молекулярних механізмів токсичної та канцерогенної дії цієї хімічної сполуки і ряду інших екологічно небезпечних сполук та пошуку шляхів нейт-

ралізації їх негативних впливів на організм. Проведені нами дослідження є важливим внеском в молекулярну медицину, оскільки вони розкривають молекулярні основи дії на організм екологічно небезпечних сполук на рівні регуляції обмінних процесів і будуть сприяти розробці принципово нових молекулярних підходів до їх діагностики, профілактики та лікування.

1. Gonze D., Goldbeter A. // *Chaos*. – 2006. – Vol. 16, N 2. – P. 026110 (1 – 11). 2. Tsinkalovsky O., Smaaland R., Rosenlund B. et al. // *J. Biol. Rhythms*. – 2007. – Vol. 22, N 2. – P. 140 – 150. 3. Eide E.J., Woolf M.F., Kang H. // *Mol. Cell. Biol.* – 2005. – Vol. 25, N 7. – P. 2795 – 2807.

4. Virshup D.M., Eide E.J., Forger D.B. et al. // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* – 2007. – Vol. 72. – P. 413 – 420. 5. Tsuchihara K., Ogura T., Fujioka R. et al. // *Cancer Sci.* – 2008. – 99, N 4. – P. 677 – 682. 6. Gréchez-Cassiau A., Rayet B., Guillaumond F. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283, N 8. – P. 4535 – 4542. 7. Winter S.L., Bosnoyan-Collins L., Pinnaduwa D., Andrusis I.L. // *Neoplasia*. – 2007. – Vol. 9, N 10. – P. 797 – 800. 8. Motzkus D., Loumi S., Cadenas C. et al. // *Chronobiol. Int.* – 2007. – Vol. 24, N 5. – P. 783 – 792. 9. Laposky A.D., Bass J., Kohsaka A., Turek F.W. // *FEBS Lett.* – 2008. – Vol. 582, N 1. – P. 142 – 151. 10. Яворовський О.П., Зенкіна Б.І. // Довкілля та здоров'я. – 2006. – № 4 (35). – С. 75 – 80. 11. Minchenko O.H., Opentanova I.L., Minchenko D.O. et al. // *FEBS Lett.* – 2004. – Vol. 576, N 1. – P. 14 – 20.

Надійшла до редколегії 17.06.09

УДК 57.031+591.18.599.23:612.232+661.155

Є. Тукаленко, канд. біол. наук, І. Тубальцева, інж. І-ї кат.,
М. Макачук, д-р біол. наук, О. Ракочі, пров. наук. співроб.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ РІЗНИХ СХЕМ ВВЕДЕННЯ КВЕРЦЕТИНУ ДЛЯ ПОПЕРЕДЖЕННЯ ЗМІН НАБУТОЇ ІНСТРУМЕНТАЛЬНОЇ ПОВЕДІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПРОМІНЕННЯ

Вивчено можливість попередження кверцетином, який вводився за різними схемами, негативних наслідків впливу іонізуючої радіації на інструментальну діяльність щурів за результатами щотижневого тестування тварин у човниковій камері впродовж двох місяців після γ-опромінення у дозах 2,5 та 6 Гр. Кверцетин, який застосовувався впродовж 14 днів перед опроміненням, ефективно попереджував постпроменеві зміни показників умовнорефлекторної діяльності.

The possibility of the ionizing radiation negative consequences on the rats' instrumental activity quercetine-induced prevention measured by weekly testing in shuttle box during two months after γ-exposure (2,5 and 6 Gy) was examined. Quercetin administrated for 14 days before the exposure, effectively prevented postexposure changes of conditioned activity indices.

Вступ. Концепція стресу, що розробляється з часів піонерських робіт Г. Сельє, передбачає його розгляд передусім як загальнобіологічного феномену, адаптивної реакції, спрямованої на успішне виживання в умовах мінливості зовнішнього середовища. Стресові реакції організму генетично детерміновані та сформувалися в результаті еволюції як механізм активного пристосування. Адаптивна відповідь є неспецифічною, тобто має відносну незалежність реакцій від характеру впливу зовнішніх або внутрішніх чинників. В той же час стрес складає нерозривну єдність зі специфічними реакціями, що відбуваються на усіх рівнях організації – від молекулярного до рівня організму. Стресорна відповідь значною мірою залежить від індивідуальної реактивності людини та тварин та визначається станом їх нейрогуморальних регуляторних механізмів та їх індивідуальних властивостей, зокрема, від таких як тип вищої нервової діяльності (ВНД), сила нервової системи, вихідний рівень активації, емоційна лабільність та тривожність, індивідуальної реактивності систем неспецифічної активації мозку [2, 6]. Проте, актуальним залишається дослідження поведінкового компоненту стрес-відповіді, як чутливого інтегративного показника стану організму. У розвитку адаптивної реакції стрес-асоційовані когнітивні процеси та поведінкові реакції, набувають вирішального значення, оскільки вони спрямовані на оцінку ризику та можливості успішного пристосування, а також на розробку відповідних адаптивних стратегій.

Вважається, що стрес є неспецифічним компонентом основних неінфекційних захворювань, у тому числі патологій центральної нервової системи (ЦНС). Активна вільнорадикальна окиснення (ВРО) є загальною ланкою патогенезу та одним з найважливіших проявів відповіді організму на стрес. Значні стресові навантаження призводять до збільшення інтенсивності утворення вільних радикалів та порушенню функціонування антиоксидантних систем організму. Внаслідок цього змінюються такі фізико-хімічні властивості мембран як їх склад, структура, проникність, що відбивається на фун-

кціональному стані організму в цілому. Біохімічні та фізіологічні особливості тканини головного мозку (наявність ненасичених жирних кислот у мембранах, інтенсивний метаболізм) обумовлюють її особливу вразливість до активації вільнорадикальних процесів [1, 3].

З огляду на загально визнані положення теорії стресу важливе значення у профілактиці та лікуванні різноманітних стрес-обумовлених порушень відводиться пошуку терапевтичних стратегій, які б дозволяли контролювати процеси ВРО шляхом введення екзогенних антиоксидантів. Оскільки активація ВРО розглядається як "первинний медіатор" в механізмі реалізації будь-яких видів стресу, є підстави для включення антиоксидантів у антистресову терапію будь-якої етіології. Підтвердженням цього є повідомлення про зменшення вираженості ефектів стресових впливів та сприяння адекватній реакції на стрес *in vivo* при застосуванні засобів з антиоксидантними властивостями [4, 5, 7]. Разом з тим, ефективна фармакотерапія вимагає всебічного вивчення та теоретичного обґрунтування дії препаратів, зокрема особливостей їх впливу на стан функціональної активності центральної нервової системи. Уявлялося цікавим вивчити не тільки ефекти дії кверцетину на поведінку в умовах стресу опромінення у помірній дозі (2,5 Гр), але й також визначити можливість корекції цим засобом поведінкових змін, що супроводжують специфічні наслідки впливу радіації – розвиток кісткомозкового синдрому променевої хвороби за дози 6 Гр.

Метою роботи було визначити ефективність різних схем застосування кверцетину для модифікації поведінкових наслідків впливу іонізуючого опромінення у дозах 2,5 та 6 Гр. Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на 208 білих нелінійних щурах самцях віком 2 місяці з початковою масою тіла 170 ± 10 г у трьох експериментах. Тварини утримувалися у віварії за природного режиму освітлення та отримували *ad libitum* стандартний харчовий раціон. Експерименти проводилися у відповідності з існуючими міжнародними та національними вимогами до використання експериментальних

тварин. Загальна схема усіх експериментів була однаковою. Спочатку тварин навчалися у човниковій камері. За результатами фонових досліджень тварин були розподіляти на врівноважені групи (які не відрізнялися за рівнем показників одна від одної) контролю; тварин, отримували кверцетин; тварин, які були опромінені у дозах 2,5 Гр або 6 Гр; тварин, які були опромінені у дозах 2,5 Гр або 6 Гр та отримували кверцетин. Щури відповідних груп отримували кверцетин (Acros organics, Бельгія) $per os$ у щоденному дозуванні 100 мг/кг впродовж 14 діб перед опроміненням (на першому етапі), або починаючи з другої доби після опромінення (на другому етапі), або починаючи з тридцятої доби після опромінення (на третьому етапі). Одноразове тотальне опромінення тварин здійснювали з використанням установки "Рокус" (^{60}Co ; 1,12 Гр/хв). Після опромінення впродовж двох місяців проводили щотижневі тестування тварин у човниковій камері.

У човниковій камері досліджували умовнорефлекторну діяльність за модифікованою методикою, з використанням одного безумовного (стабілізований електричний струм силою 0,8 мА) та двох умовних подразників: звука (частота 3 кГц, амплітуда 85 дБ) та світла (13,5 Вт, локально). Один з умовних сигналів був основним, на який тварина мала здійснити реакцію уникнення, а другий – додатковим, який тварина повинна була віддиференціювати та загальмувати захисну локомоторну реакцію. Знаущість подразників змінювалась кожного наступного тестування. Параметри застосування сигналів: тривалість дії умовного подразника до початку дії безумовного – 4 сек, тривалість одночасної дії умовного та безумовного подразників – 10 сек, міжсигнальний період – $25 \pm 22,5$ сек, кількість спроб – 100. Подання основного та додаткового диференціюючого умовних стимулів здійснювалося рандомізовано. Визначали та аналізували наступні показники умовнорефлекторної діяльності: загальну кількість умовних рефлексів активного уникнення (% до максимально можливих), середній латентний період уникнення (сек), кількість спроб до першого умовного рефлексу, кількість міжсигнальних реакцій, кількість спроб до першої міжсигнальної реакції. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t -критерію Стюдента для попередньо нормалізованих даних. Отримані дані представлені вигляді середніх значення $\pm$ помилка середнього ($M \pm m$). Критичний рівень значущості статистичних методів (ймовірність помилкового відхилення нульової гіпотези) був менше 5 %. При розрахунках використовували комп'ютерні програми Microsoft Office Excel 2003 та Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення. На першому етапі, в якому кверцетин вводився до опромінення, було отримано наступні результати змін набутої поведінки активного уникання. Показник кількості умовних реакцій складав у групі контролю 18 ± 2 %, у тварин які зазнали променевого впливу у дозах 2,5 та 6 Гр відповідно 14 ± 2 % та 13 ± 1 %, причому якщо за першої дози спостерігалася статистична тенденція до зниження показнику ($p < 0,1$), то за другої рівень інструментальної діяльності чітко знижу-

вався ($p < 0,05$). У щурів, які були опромінені у дозах 2,5 та 6 Гр та отримували кверцетин, рівень умовнорефлекторної діяльності не відрізнявся від рівня контролю та становив відповідно 17 ± 2 % та 15 ± 1 % (рис. 1А). Швидкість реакції уникнення вірогідно знижувалася у порівнянні з контролем лише у групах опромінених тварин. Аналогічні результати отримано і для показника сталості набутого стереотипу поведінки: так, у щурів, які зазнали опромінення у дозі 2,5 Гр цей показник був на 17 %, а за дози 6 Гр – на 18 % нижче ніж у контролі ($p < 0,05$).

На другому етапі, в якому кверцетин вводився з другої доби після опромінення, показник кількості умовних реакцій у човниковій камері складав у групі контролю 18 ± 2 %, а у опромінених тварин він був нижчим та складав для доз 2,5 та 6 Гр відповідно 12 ± 2 % та 11 ± 1 % ($p < 0,05$). Серед груп опромінених щурів, які отримували антиоксидантний засіб, від контролю відрізнялася лише група тварин, які зазнали променевого впливу у дозі 6 Гр, у яких кількість реакцій уникнення складала 13 ± 2 % ($p < 0,05$) (рис. 1Б). Тривалість латентного періоду інструментальної реакції порівняно з контролем була вірогідно більшою у тварин, які зазнали радіаційного впливу, та опромінених у дозі 6 Гр щурів, які отримували кверцетин.

Швидкість навчання зменшувалася в усіх групах тварин, які зазнали променевого впливу у порівнянні з контролем. Для груп щурів, які були опромінені у дозах 2,5 та 6 Гр це зниження складало відповідно 59 % ($p < 0,05$) та 82 % ($p < 0,05$), а за відповідних доз радіації та отримання кверцетину показник кількості спроб до першої умовної реакції був вище контрольних значень на 31 % ($p < 0,05$) та 84 % ($p < 0,05$). Аналогічні результати отримано і для сталості набутого стереотипу поведінки: так, у щурів, які зазнали опромінення у обох дозах, рівень цього показника був на 13 % нижче ніж у контролі ($p < 0,05$), водночас використання кверцетину збільшувало показник кількості умовних реакцій у серії у тварин, опромінених у дозі 2,5 Гр, майже до рівня контролю, але не щурів, які були опромінені у дозі 6 Гр, де показник становив 87 % від контролю ($p < 0,05$).

На третьому етапі, в якому кверцетин вводився з тридцятої доби після опромінення, рівень інструментальної діяльності усіх опромінених груп тварин був вірогідно нижче контролю, а застосування антиоксидантного засобу не справляло жодного корегуючого впливу (рис. 1В). Інші показники поведінки уникання щурів змінювалися аналогічно, тобто пригнічення функціонального стану ЦНС після опромінення не коригувалося введенням кверцетину.

Таким чином, вплив іонізуючої радіації у дозах 2,5 та 6 Гр призводить до погіршення функціонального стану ЦНС щурів, що його оцінено за показниками набутої поведінки уникання. Зниження рівня інструментальної діяльності було майже однаковим як за моделі радіаційного стресу, так і за дози радіації, що викликає неспецифічні наслідки.

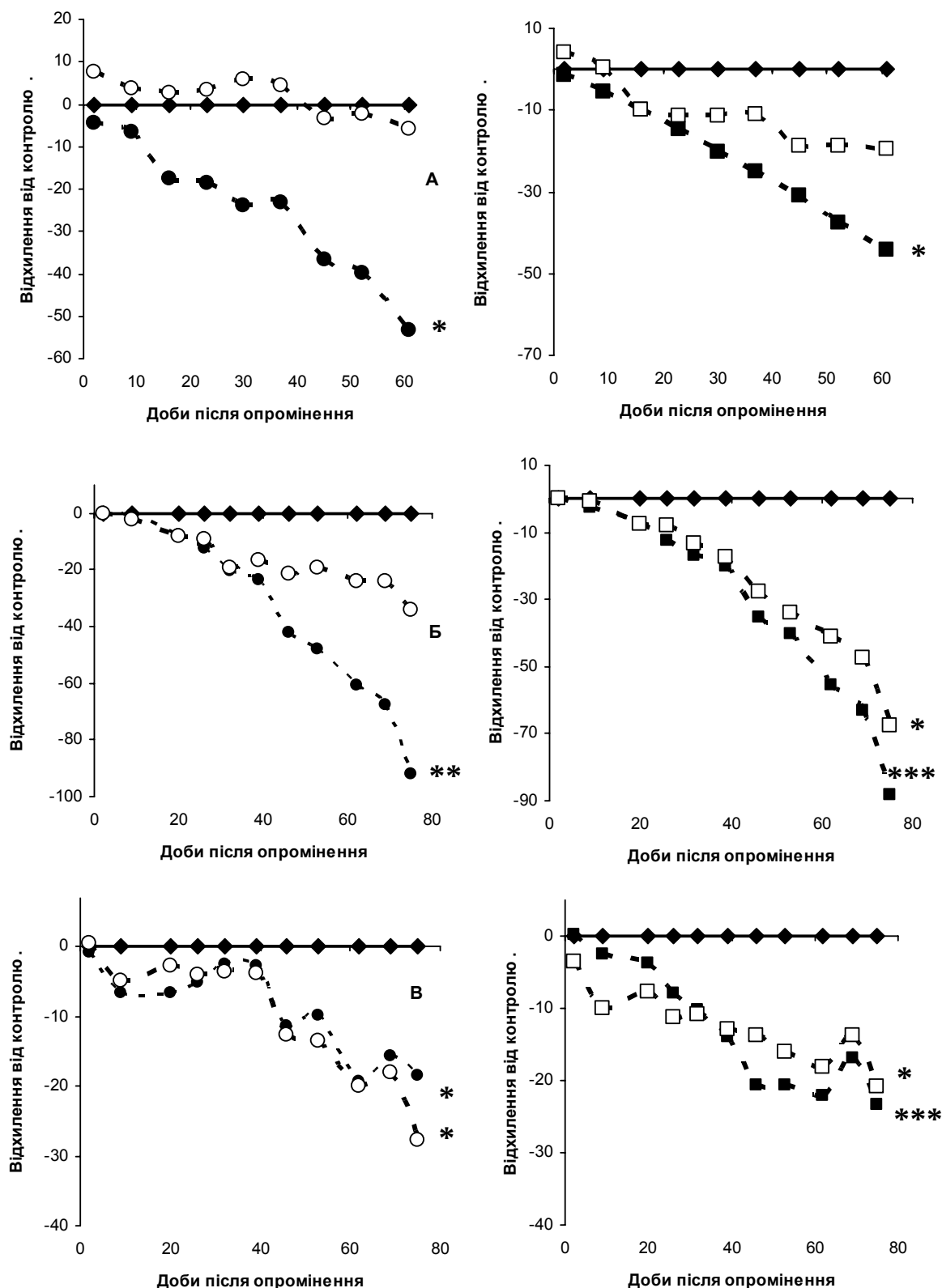


Рис 1. Динаміка різниці з контролем кумулятивних даних показника кількості умовних реакцій активного уникнення на першому (А), другому (Б) та третьому (В) етапах дослідження

(А – застосування кверцетину впродовж двох тижнів до опромінення;

Б – двотижнєве застосування кверцетину з другої доби після опромінення;

В – застосування кверцетину впродовж двох тижнів з тридцятої доби після опромінення)

Двотижнєве застосування кверцетину перед опроміненням у обох дозах попереджує пригнічення умовнорефлекторної поведінки тварин. Застосування кверцетину впродовж двох тижнів, починаючи з другої доби після опромінення, в цілому зменшує порушення набу-

тої поведінки щурів, але тільки за дози 2,5 Гр. У разі двотижнєвого отримання тваринами кверцетину з тридцятої доби після опромінення у обох дозах модифікуючого впливу антиоксидантного засобу не виявлено. Отже, оптимальною схемою застосування антиоксида-

нтів є їх використання до впливу стресового чинника, а застосування антиоксидантів відразу після його дії є менш ефективним.

Висновки. Проведені пролонговані дослідження набутої інструментальної поведінки щурів у човниковій камері показали, що однократне тотальне іонізуюче опромінення у дозі 2,5 та 6 Гр пригнічує показники умовнорефлекторної діяльності тварин, а застосування кверцитину впродовж двох тижнів перед опроміненням може попереджати постпроменеві зміни умовнорефлекторної поведінки щурів. В той же час, при застосуванні кверцитину починаючи з другої доби після опромінення ефективна нормалізація поведінкових показників відбувається лише за дози 2,5 Гр, а використання цього антиоксидантного засобу починаючи з тридцяті доби після опромінення не призводить до корекції впливу радіації у обох дозах на набуто інструментальну поведінку щурів.

УДК 612.825.5

1. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М., 2000.
2. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. М.: Горизонт. – 1998. – 263 с.
3. Agrawal A., Kale R.K. Radiation induced peroxidative damage: mechanism and significance // Indian. J. Exp. Biol. – 2001. – Vol. 39, № 4.
4. Alekseeva T.G., Loseva E.V., Mering T.A. The effects of Mexidol on the acquisition of food-related conditioned reflexes and synaptic ultrastructure in field CA1 of the rat hippocampus after single acoustic stimuli with ultrasonic components // Neurosci. Behav. Physiol. – 2005. – Vol. 35, № 4. – P. 363-369.
5. Manikandan S., Srikumar R., Jeya Parthasarathy N., Devi R.S. Protective effect of Acorus calamus LINN on free radical scavengers and lipid peroxidation in discrete regions of brain against noise stress exposed rat // Biol. Pharm. Bull. – 2005. – Vol. 28, № 12. – P. 2327-2330.
6. Selye H. The general adaptation syndrome and the disorders of adaptation // J. Clin. Endocrinol. – 1974. – Vol. 6. – P. 117-152.
7. Trofimiuk E., Walesiak A., Braszko J.J. St. John's wort (*Hypericum perforatum*) diminishes cognitive impairment caused by the chronic restraint stress in rats // Pharmacol. Res. – 2005. – Vol. 51, № 3. – P. 239-246.

Надійшла до редколегії 18.06.09

А. Чернінський, канд. біол. наук, С. Собіщанський, студ.,
С. Крижановський, канд. біол. наук, І. Зима, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ ЗОРОВИХ ВИКЛИКАНИХ ПОТЕНЦІАЛІВ ЛЮДИНИ ПРИ КОРОТКОЧАСНІЙ ЕКСПОЗИЦІЇ СТИМУЛІВ

Досліджено викликані потенціали головного мозку людини при пред'явленні зображень із семантичним змістом та без нього. Час експозиції стимулів становив 15 мс, що недостатньо для свідомого аналізу. Виявлено, що навіть за таких умов існують певні патерни електричної активності, які відрізняють відповіді на два типи стимулів. Це може вказувати на перебіг початкових процесів семантичного аналізу вже на ранніх етапах обробки зорової інформації.

Human event-related potentials (ERP) to semantic and non-semantic images were investigated. The stimuli were displayed for 15 ms which is not enough for the conscious analysis. We revealed some patterns which differentiate ERP for both types of the stimuli. This fact may give evidence of the existence of semantic analysis even at the early stages of processing of the visual information.

Вступ. Семантичний аналіз сенсорної інформації, тобто виокремлення з сенсорного оточення певних змістовних одиниць – образів, є неодмінним етапом свідомого сприйняття людиною її оточення. Цей процес є багаторівневим, складним і на даний момент не повністю вивченим. За класичними уявленнями, аналіз зорової інформації є ієрархічним багатоступеневим процесом, під час якого відбувається виділення елементарних одиниць зображення (лінії, контрасти), на основі яких пізніше будується певний сенсорний образ. Зниження часу дії певного подразника призводить до унеможливлення свідомого його сприйняття, в той же час, його аналіз проходить певні досвідомі стадії, прикладом чого є широко відомий "ефект 25 кадрів". З метою деталізації процесів обробки зорової інформації при субпороговому часі їх дії нами було проведено наступне дослідження.

Об'єкт та методи дослідження. У експериментах взяли участь 18 студентів (7 чоловіків, 11 жінок) віком 18-24 років. Під час дослідження обстежувалися 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 слідувати 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. Кутівий 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 – 15 мс. Для того, щоб запобігти існуванню слідового сенсорного збудження на сітківці, стимульне зображення заміщалося на шаховий патерн. 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 укладалися 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) [2], реалізований у програмі "Нейроком" [3]. 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. Відклики на два типи стимулів накопичувалися незалежно. Слід

відмітити, що стимулами одного типу були різні зображення, відповіді на пред'явлення яких усереднювалися, що дало змогу зменшити вплив фізичних характеристик стимулів (яскравість, колір, контраст). Для групового аналізу даних застосовували метод загального усереднення (grand average), який полягав в обчисленні середнього арифметичного індивідуальних кривих ВП [4]. Амплітуди коливань ВП оцінювали від піка до піка, латентності максимумів коливань – від початку експозиції подразника.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз викликаної активності у всіх відведеннях виявив, що найбільша амплітуда відкликів була у потиличних відведеннях, тому у подальшому аналізі ми будемо розглядати саме їх. ВП на обидва типи стимулів виявилися однаковими за формою і склалися з п'яти чітко виражених коливань, які переходили у пізньолатентний комплекс низькоамплітудних коливань (див. рисунок). Форма комплексу цих коливань виявилася подібною до ВП на елементарні зорові подразники – спалахи світла, які застосовуються у клінічних обстеженнях [5].

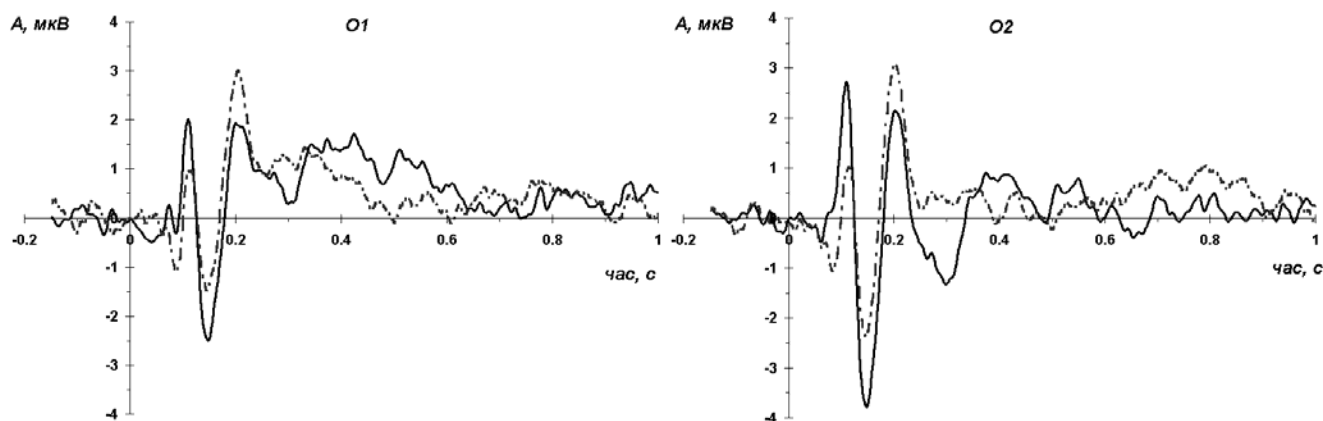


Рис. Усереднені по групі викликані потенціали у лівому (O1) та правому (O2) потиличних відведеннях: неперервна лінія – відповіді на "змістовні" стимули, пунктир – на "беззмістовні". Відхилення сигналу вверх відповідає електропозитивності

Проте, детальний аналіз амплітуд і латентностей коливань ВП виявив певну різницю між відкликами на обидва типи стимулів, що є ознакою наявності різниці у способі обробки головним мозком інформації двох типів. Так, амплітуда першого негативного компонента (N1) при пред'явленні "беззмістовних" зображень була більшою (на 256 % у лівому і на 125 % у правому потиличних відведеннях) та розвивалася дещо пізніше (на 20 мс у правому відведенні), ніж при пред'явленні "змістовних" зображень. Перше позитивне коливання (P1) при пред'явленні "змістовних" стимулів також мало дещо меншу латентність (на 4-6 мс). Амплітуда P1 при пред'явленні "змістовних" стимулів мала більшу амплітуду (на 14 % у лівому та на 55 % у правому потиличних відведеннях) в порівнянні з першим позитивним компонентом ВП при пред'явленні "беззмістовних" стимулів. Друге негативне коливання (N2) при пред'явленні "змістовних" стимулів в обох потиличних відведеннях розвивалося практично з однаковою латентністю (148–150 мс), та характеризувалося більшою амплітудою (на 83 % у лівому та на 94 % у правому потиличному відведенні) в порівнянні з N2 при пред'явленні "беззмістовних" стимулів. Амплітуда коливання P2 при пред'явленні стимулів обох типів була практично однаковою у відведенні O1 та дещо більшою (на 10%) у відведенні O2 при пред'явленні зображень із семантичним змістом. Останнє коливання (N3) було виразним лише при пред'явленні "змістовних" стимулів (див. рисунок).

Аналіз відмінностей між електричними відповідями головного мозку на зорові стимули з семантичним змістом та без нього дозволяє зробити ряд узагальнень. По-перше, вказана різниця проявляється вже на перших етапах обробки інформації, супроводжуючись розвитком виразного коливання N1 при пред'явленні "беззмістовних" зображень. На основі наявних результатів досить важко точно інтерпретувати фізіологічні механізми, які обумовлюють вказаний феномен, адже відсут-

ність компонента N1 може пояснюватися як "мовчаням" нейронального субстрату, так і накладанням двох коливань різного знаку, які розвиваються в один час. Можливим шляхом вирішення цієї проблеми може бути застосування методів "сліпого" розділення сигналів різних джерел, наприклад ICA [2]. Другим моментом, що відрізняє ВП на два типи стимулів, є більша амплітуда коливань комплексу P1-N2-P2 при пред'явленні "змістовних" стимулів. Слід відмітити, що розвиток вказаного комплексу з двох позитивних і одного негативного коливань з подібними латентностями описано для ВП при пред'явленні зображень з IAPS у літературі [6] та було отримано у наших попередніх дослідженнях [7] із тривалою (1000 мс) експозицією стимулів. В той же час, ВП на стимули тривалістю 15 мс виявилися суттєво (в 2–3 рази) нижчими за амплітудою, а окрім того більш електронегативними, ніж у нашій попередній роботі [7]. Слід зазначити, що при тривалій експозиції стимулів коливання P2 досягало максимуму у часовій області 220–250 мс після подачі зображення і повільно (300–400 мс) знижувалося до нульового рівня. Натомість, при короткочасній експозиції реверсія коливання P2 починалася через 200 мс після подачі зображення і була досить швидкою (час між максимумами P2 і N3 до 100 мс). Ймовірно, що відсутність позитивного коливання у часовій області 200–300 мс після початку експозиції, пов'язана саме із неможливістю здійснення подальшого аналізу подразника внаслідок його припинення. Цікаво, що наші попередні дослідження вказують на те, що джерелом, яке відповідає за розвиток цього комплексу, є нижньо-медіальна скронева кора [8], функцією якої є семантичний аналіз зорової інформації. Проте, незважаючи на практичну відсутність збудження у часовій області після 250 мс після початку експозиції стимула, до 200 мс існують суттєві відміни між відкликами на "змістовні" та "беззмістовні" подразники, що вказує на існування

певних процесів, пов'язаних із семантичним аналізом зорової інформації вже на ранніх етапах її обробки.

Висновки. При короткочасній експозиції зорових стимулів існує різниця у параметрах викликаних потенціалів при пред'явленні зображень із семантичним змістом та без нього. Викликані потенціали у відповідь на зображення із семантичним змістом характеризуються зменшеною амплітудою коливання N1 (86 мс) та збільшеною амплітудою комплексу P2-N2-P3 (110–200 мс). Отримані результати вказують на існування певних процесів, пов'язаних із семантичним аналізом зорової інформації вже на ранніх етапах її обробки.

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. Lee T.W., Girolami M., Bell A. J., Sejnowski T. J. A Unifying Information-Theoretic Framework for Independent Component Analysis // Computers & mathematics

with application – 2000. – V. 39. 3. Сепреев В. Г., Кожемякин В.Н. Использование технологии independent component analysis (ICA) в исследовании вызванных потенциалов (ВП) мозга // Материалы международной конференции "Клинические нейронауки: нейрофизиология, неврология, нейрохирургия, нейрохимия и нейрофармакология" (Ялта-Гурзуф, 2006) – 2006. 4. Picton T. W., Bentin S., Berg P. et al. Guidelines for using human event-related potentials to study cognition: Recording standards and publication criteria // Psychophysiology – 2000 – V. 37. 5. Гнездицкий В. В. Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография. – Тарапнор, 2000. 6. Rosenkrantz B., Olofsson J., Polich J. Affective visual event-related potentials: Arousal, valence, and repetition effects for normal and distorted pictures // Int. J. Psychophysiol. – 2008 – V. 67. 7. Чернінський А., Собіщанський С., Крижановський С., Піскорська Н. Електрофізіологічні кореляти процесів семантичного аналізу людиною зорових стимулів // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2009. 8. Чернінський А.О., Собіщанський С.О., Крижановський С.А., Зима І.Г. Електрофізіологічні кореляти процесів семантичного аналізу людиною зорових стимулів // Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології: Тези доп. IV Міжнар. наук. конф., присв. 90-річчю від дня народження П.Г.Богача, Україна, Київ, 8-10 жовтня 2008 р. – 2008.

Надійшла до редколегії 01.10.09

УДК 578.85/86

Н. Сенчугова, канд. біол. наук, О. Постоєнко, канд. біол. наук,
В. Поліщук, д-р біол. наук

ВІРУСИ ЦУКРОВОГО БУРЯКА, ЯКІ ПОШИРЮЮТЬСЯ ЗА ДОПОМОГОЮ ГРИБОПОДІБНИХ ОРГАНІЗМІВ

Розглянуто ряд вірусів цукрового буряка, які останнім часом почали діагностуватися в Україні, що передаються за допомогою ґрунтових грибоподібних організмів.

Several sugar beet viruses transmitted by soil fungi-like organisms that have started to be detected recently in Ukraine were discussed.

Останнім часом на цукрових буряках почали з'являтися нові для України віруси, зокрема такі, що передаються через ґрунт, а саме, некротичного пожовтіння жилки буряка або ризоманія (*Beet necrotic yellow vein benyvirus*), ґрунтової мозаїки (*Beet soil-borne mosaic, benyvirus*), ґрунтовий та Q- вірус буряка (*Beet soil-borne virus; Q Beet virus, potyvirus*). Вірус некротичного пожовтіння цукрового буряка, котрий наприкінці минулого сторіччя поширився у всіх бурякозасіяних регіонах світу, все ще залишається загрозою для сусідніх з Україною європейських країн. Розширення економічних і туристичних зв'язків між нашою державою і сусідніми європейськими країнами, збільшення транспортних потоків суттєво підвищують ризики розповсюдження збудників подібних захворювань (Fauquet et al., 2005). Збитки, які спричиняють віруси загалом, залежать від ряду факторів, серед яких особливе місце посідають переносники.

Епідеміологічною особливістю поширення захворювань є можливість передачі вірусів декількома переносниками. Для групи вірусів, яка розглядається нижче, головними є слизовики, які відносяться до відділу Plasmodiophoromycota класу Plasmodiophoromycetes та порядку Plasmodiophorales. Відповідно до дев'ятого видання "Словника грибів" плазмодіофорові слизовики віднесені до групи грибоподібних організмів (Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi, 2001). Ці слизовики – внутрішньоклітинні паразити вищих рослин, найбільш важливими серед яких, у практичному відношенні, є рід *Plasmodiophora* Woronin, із добре дослідженим видом *P. brassicae* Woronin, а також такі види, як *Polymyxa betae* Keskin та *Spongospora solani* Brunch. Переносник ризоманії слизовик *P. betae* характеризується складним життєвим циклом розвитку, використовуючи для зберігання спор уражені клітини рослин хазяїв. Паразит уражує кореневу систему рослини, в результаті чого остання розвивається погано. Після загибелі рослин спори потрапляють в ґрунт, де можуть зберігатися протягом багатьох років. Інший вектор ґрунтових вірусів – представники групи справжніх грибів, зокрема рід *Oidium* (A. Braun) J. Schröt. з порядку Chytridiales

відділу Chytridiomycota (Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi, 2001). Таким чином, векторами для групи вірусів, яка буде розглянута нижче, є ґрунтові грибоподібні організми та гриби.

Вірус некротичного пожовтіння жилки буряка (*Beet necrotic yellow vein virus*), який є об'єктом багатьох досліджень та одним із "ґрунтових" вірусів, що уражують цукровий буряк (*Beta vulgaris*, var. *Per* L.), спочатку мав назву вірус ризоманії буряка (*Beet rhizomania virus*). Перші дослідження, які були проведені в Японії, вказували на те, що головним патогеном ризоманії цукрового буряка є асоціація вірусу із слизовиком *Polymyxa betae*, який виконує роль вектора для останнього. Дослідники Фуджисава і Сугімото показали, що інфікований цим вірусом цукровий буряк, який був вільним від слизовика (*P. betae*), має ті самі симптоми та потерпає від тих же пошкоджень, як і рослини, вирощені в ґрунті, що "уражений" ризоманією (Fujisawa and Sugimoto, 1976). Вірус викликає аномальну проліферацію корінців і призводить до великих економічних втрат, оскільки після перенесення цієї інфекції плантації не можуть бути використані під культуру цукрового буряка протягом 10 років після (Winner, 1984; Duffus, 1986).

Паличкоподібний вірус був ізолюваний із листків цукрового буряка з симптомами некротичного пожовтіння жилки – одного з найбільш характерних симптомів цієї хвороби (Tamada, Baba and Abe, 1971). Під час розвитку інфекції у деяких рослин головний корінь та декілька бічних корінців гинуть, що може призводити до ранньої загибелі всієї рослини. І саме ця ознака дає можливість для різноманітних спекуляцій щодо поширення цієї хвороби, зокрема в Україні. Подібні симптоми можуть бути викликані цілим рядом факторів, серед яких, наприклад, надмірна вологість або посуха. Тому, ряд областей України, зокрема західні, вважаються зоною ризикованого бурякозасіяння, і саме в цих зонах зустрічаються коренеплоди з подібними симптомами. Хоча географічно вірус має широке розповсюдження, його ізоляти із США та п'яти європейських країн є серологічно спорідненими (Fauquet et al., 2005).

© Сенчугова Н., Постоєнко О., Поліщук В., 2010

Віріони вірусу некротичного пожовтіння жилок мають чотири характерних класи довжини, які визначені за допомогою електронної мікроскопії (для мінімізації агрегації часточок та їх руйнування) з необробленого соку інфікованих листків. Тамада (1975) для японського ізоляту описав три класи паличкоподібних вірусних часток за довжиною від 65 до 105; 270 та 390 нм (Tamada, 1975). Трохи різніше Путс для французьких штамів показав чотири таких класи (85, 100, 265 та 390 нм) (Putz, 1977). З огляду на те, що спочатку цей вірус був віднесений до роду Тобамовірусів, його детальна ультраструктура, яка була визначена з використанням електронної, оптичної дифракційної мікроскопії та комп'ютерного аналізу зображення, порівнювалась з такою вірусу тютюнової мозаїки. Паличкоподібні вірусні частки усіх класів довжини мають ширину приблизно 20 нм з центральним каналом діаметром – 2 нм. За зовнішнім виглядом між ними немає видимих структурних відмінностей, окрім відмінностей за довжиною. Спиральний тип симетрії був підтверджений дифракційним аналізом, незалежно від довжини часток (Fauquet et al., 2005).

Вірус некротичного пожовтіння буряка має вузьке коло рослин хазяїв. Майже всі вони відносяться до родини Лободових (*Chenopodiaceae*), і тільки деякі види – до родин Амарантових, Гвоздичних і Пасльонових (*Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae*, *Solanaceae*), більшість з яких є хазяями також і для слизовика *P. betae*.

Серологічну відмінність між ізолятами вірусу встановити досить важко. Між тим, завдяки застосуванню полімеразно ланцюгової реакції (ПЛР) більшість ізолятів було розподілено на дві групи – А- і Б-типу (Koenig et al., 1995). Обидві групи мають до 97% подібностей структури геному, але різняться між собою за структурою генів білка та рівнем патогенності. Якщо віруси А-типу поширені у більшості країн Європи, в Америці, Японії і Китаї, то В-тип – переважно у Німеччині, Франції, Швеції і Японії.

При цитологічному дослідженні листків і коренів уражених рослин буряка вірус виявляють у ендодермі, епідермі, паренхімі і цитоплазмі у вигляді окремих часток або дрібних скупчень разом з окремими частками. Однак, не виявлено ні утворення великих агрегатів, ні специфічних тілець-включень; вірус не пов'язаний із органелами клітин, але є повідомлення про виявлення вірусу у ендоплазматичному ретикулюмі. Останні дані свідчать, що під час інфекції, частки вірусу некротичного пожовтіння буряка тимчасово локалізуються на цитозольній поверхні мітохондрій.

Симптоми, які викликає вірус некротичного пожовтіння буряка на рослинах у полі, легко сплутати з іншими, які можуть бути обумовленими нематодами, комахами-шкідниками або в наслідок загальної збідненості ґрунтів. Наприклад, схожі симптоми викликає нітратне голодування. Симптоми знебарвлення центральної жилки можуть бути викликані грибами роду *Fusarium* Link (Fauquet et al., 2005). Отже, для встановлення природи захворювання необхідно проводити більш детальні вірусологічні дослідження.

За способом передачі (слизовиком), колом рослин-хазяїв, морфологією часток і організацією геному, вірус некротичного пожовтіння жилок буряка дуже подібний до вірусу ґрунтової мозаїки буряка (*Beet soil-borne mosaic virus*), проте, серологічно вони відмінні. Останній менш вірулентний і зустрічається тільки у США (Wisler et al., 1994; Rush et al., 1994; Rush and Heidel, 1995; Heidel et al., 1997; Appl 2003). Симптоми вірусу ґрунтової мозаїки буряка проявляються у вигляді крихкості, викривлення і плямистості на листках, а також пожов-

тіння центральної жилки. За посиланнями деяких авторів, на одному полі можна виявити обидва віруси: як некротичного пожовтіння, так і ґрунтової мозаїки. Крім того, вони гарантовано виявляються на полях так званої "ризоманійної" території. Вірус можна виявити за допомогою імуноферментного аналізу (ELISA) та ПЛР, яким надається перевага, тому що біологічні методи ідентифікації з використанням механічної інокуляції не є надійними. Важливість симптомів хвороби, як діагностичної ознаки, на рослинах буряка та можливість їхнього використання для швидкої діагностики занадто перебільшені (Fauquet et al., 2005).

Як було зазначено вище, за допомогою слизовиків поширюється також ґрунтовий вірус буряка (*Beet soil-borne virus* (BSBV) та Q вірус буряка (*Beet virus Q*, BVQ). Обидва віруси мають багато спільного, проте між ними є суттєві відмінності, тому їх віднесено до різних родів. Серед основних відмінностей – наявність трьох частин геному і можливість передачі як слизовиком *Polymyxa*, так і *Spongospora*. Крім того, вірус може передаватися з інфекційним соком на 26 видів рослин з родини Пасльонових або Лободових, а також і на шпинат (*Tetragonia expansa*), на рослини з інших родин інфекція не передається. Вірус має сегментований +РНК геном, при цитологічному дослідженні у гомогенаті рослинної тканини вірус має вигляд крихких трубчастих структур. Має вузьке коло рослин-хазяїв. Поширений у південній Америці та Північно-Західній Європі (Fauquet et al., 2005). Вірус добре виявляється за допомогою методу імуноної електронної мікроскопії (моно- та поліклональні антитіла) та сандвіч – ELISA. Морфологічно ґрунтовий вірус подібний до вище описаних, має жорстку паличкоподібну форму із чітким внутрішнім каналом, не має зовнішньої оболонки. Зазвичай зустрічаються дві довжини часток: 100 – 150 нм і 250 – 300 нм, діаметр каналу становить приблизно 20 нм, спіральний тип симетрії, поверхня капсомера має білкове покриття, крок спіралі – 2,5 нм. Ґрунтовий вірус буряка, на відміну від вірусу некротичного пожовтіння, не викликає симптомів "бородатості" у інфікованих рослин цукрового буряка. Щодо ареалу поширення вірусу, наразі питання дискутується, зустрічалися поодинокі повідомлення про виявлення штамів цього вірусу в Німеччині та США (Fauquet et al., 2005).

Що стосується останнього ґрунтового вірусу – Q-вірусу буряка (*Beet virus Q*, BVQ), то його детальної характеристики до цього часу не існує. Організація геному подібна до інших вірусів, які належать до роду Помовірус. В останні роки він все частіше виявляється у різних країнах світу, в тому числі і в Україні (Koenig et al., 1998; Сенчугова, Постоєнко, Беднов, Дерябін, 2007).

Можливість поширення за допомогою слизовика *Polymyxa betae* ще одного вірусу буряка – деформуючої мозаїки (*Beet distortion mosaic virus*) є спірною. Вперше його було ізольовано в 1987 році у США (Liu et al., 1987). На посівах буряка патогенна дія вірусу проявляється у вигляді спотворення та хлорозу листків. Доведена можливість механічної інокуляції рослин-індикаторів родини *Chenopodiaceae*, зокрема, буряка звичайного. За морфологією вірус ниткоподібний, має довжину 200 – 2400 нм і ширину 12 нм. Немає повідомлень про серологічну спорідненість цього вірусу до інших. Вірус поки що не класифіковано (Fauquet et al., 2005).

Підсумовуючи огляд сучасної літератури щодо вірусів, які передаються опосередковано через ґрунт слід зазначити, що більшість з них передається за допомогою грибоподібних організмів, які належать до відділу Плазмодіофорових слизовиків (*Plasmodiophoromycota*) і являються паразитами вищих рослин, що й обумовлює

їх негативний вплив на врожай буряка. А самі віруси за фізикохімічними, біологічними і серологічними властивостями за даними останнього повідомленнями Комітету з таксономії було рекласифіковано до двох родин – *Virgaviridae* (*Beet soil-borne virus* і *Beet virus Q*) і *Unallocated ssRNA+ viruses* (*Beet necrotic yellow vein virus* і *Beet soil-borne mosaic*).

1. Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. // Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. Elsevier Academic Press. New York, 2005. – 1276p. 2. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 9th ed. By P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.C. David and J.A. Stalpers. – Egham: CAB International, 2001. – 655p. 3. Fujisawa, I. & Sugimoto, T. Transmission of beet necrotic yellow vein virus by *Polymyxa betae*. // An. Phytopath. Soc. of Japan – 1976, – 43 – P. 583–586. 4. Duffus J.L., Liu H.Y. First report of rhizomania of sugar beet from Texas. // Plant Dis. – 1987, 71. – P.557. 5. Abe, H, Saito, M, Tamada, T (1991) "A simple rapid method for detecting sugar beet necrotic yellow vein virus from soil (in Japanese). // Proc Jpn Soc Sugar Beet Technol – 1991. – 33, P.68–75. 6. Kiguchi, T., Saito, M., Tamada, T. Nucleotide sequence analysis of

RNA-5 of five isolates of beet necrotic yellow vein virus and the identity of a deletion mutant // J. Gen. Virology – 1996. – 77, – P.575–580. 7. Tamada, T., Beet Necrotic Yellow Vein Virus. C.M.I./A.A.B. – 1975. Description of plant viruses, – 144p. 8. Putz C. Composition and structure of beet necrotic yellow vein virus // J.Gen.Virol. – 1977, – 35. – P.397 – 401. 9. Koenig, R., Luddecke, P., Haeberle, A.M. Detection of beet necrotic yellow vein virus strains, variants and mixed infections by examining single-strand conformation polymorphisms of immunocapture RT-PCR products. // J. Gen. Virol. – 1995. – 76, – P.2051–2055. 10. Wisler, G.C., Lewellen, R.T., Sears, J.L., Wasson, J.W., Liu, H., Wintermantel, W.M. Interaction Between Beet Necrotic Yellow Vein Virus And Beet Soil-Borne Mosaic Virus In Sugar Beet. Plant Disease. 2003. V. 87. – P. 1170–1175. 11. Koenig, R., Pleij, C.W.A., Beier, C., Commandeur, U. Genome properties of beet virus Q, a new furo-like virus from sugar beet, determined from purified virus. // J. Gen. Virol. 1998. – 79. – P.2027 – 2036. 12. Сенчугова Н.А., Постоєнко О.М., Бєднов М.О., Дерябін О.М. Виявлення Q вірусу буряку за допомогою ЗТ-ПЛР в агроценозах України // Мат. У Міжнародній конференції Біоресурси та віруси, Київ, 2007. – С.196. 13. Liu, H., Sears, J.L., Lewellen, R.T. 2004. P-Pathotype Of Rhizomania In Sugar Beet Has Not Been Identified In The Imperial Valley. The California Sugar Beet. – P. 12–13; 25.

Надійшла до редколегії 14.05.09

УДК 612.825.1:[612.821.1-2]

С. Крижановський, канд. біол. наук, І. Зима, канд. біол. наук,
А. Чернінський, канд. біол. наук, Н. Піскорська, канд. біол. наук

ЕЛЕКТРОЕНЦЕФАЛОГРАФІЧНІ КОРЕЛЯТИ УСПІШНОСТІ МНЕМОНІЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ЛЮДИНИ

В роботі проведено виділення частотних діапазонів, що пов'язані з ефективністю короткочасної пам'яті людини. Аналізувалась спектральна густина потужності частот енцефалограми. Отримані дані показали, що висока результативність запам'ятовування пов'язана з функціональним станом лівої скроневі ділянки неокортексу. Описано специфічні EEG-патерни, пов'язані з високими показниками запам'ятовування.

It is the purpose of the present article to find the frequency bands, which determines the human short-term memory efficiency. EEG-frequencies spectral power density dynamics were analyzed. The received data show, that mnemonic processes will depend on the cortical temporal lobe functional state. We have described the specific EEG-pattern of high memorizing parameters.

Вступ. Відомо, що будь-яка розумова діяльність здорової людини практично обов'язково перебігає із залученням процесів короткочасної пам'яті. Проблема механізмів пам'яті є на сьогодні об'єктом численних досліджень, оскільки в нейрофізіології дана функція розглядається як суттєвий елемент інтегративної діяльності мозку. Зокрема, аналіз специфічних патернів електроенцефалограми під час активації мнемонічних процесів широко представлений в сучасній літературі [5, 9, 10, 11]. Найбільш повно дана проблема проаналізована в серії досліджень W. Klimesch'a [9, 10]. Окрім опису EEG-реакцій, що супроводжують процеси запам'ятовування, йому вдалося визначити характерні особливості електричної активності мозку під час розвитку помилкових реакцій та загальної низької ефективності діяльності. Так, зокрема, ним було показано, що ступінь свідомого контролю поточної діяльності може бути оцінений за потужністю високочастотного θ - та низькочастотного α -діапазонів EEG, а кількість помилок певним чином пов'язана з високочастотними α -компонентами. Однак детальна частотна структура таких залежностей залишається на сьогодні нез'ясованою.

Дана проблема може бути вирішена за допомогою аналізу значень спектральної густини потужності усіх частот спектру EEG [12]. Використовуючи такий підхід, можна визначити амплітудно-частотні характеристики тих складових EEG, що пов'язані з факторами результативності запам'ятовування інформації. На актуальність проведення подібного аналізу вказують у своїй статті А.Я. Каплан зі співавторами [2], підкреслюючи прогностичне значення таких даних.

Метою роботи було визначення частот електроенцефалограми, вираженість яких змінюється в залежності від ефективності запам'ятовування людиною вербальної інформації.

Об'єкт та методи дослідження. У дослідженні як обстежувані брали участь 27 добровольців – студентів

Київського національного університету імені Тараса Шевченка, обох статей, практично здорових. Під час обстеження вони перебували у затемненій звукоізолюваній камері у кріслі в зручному положенні напівлежачи із заплющеними очима. На початку роботи протягом трьох хвилин записували EEG обстежуваних у вихідному стані спокою (запис проводили щохвилини у вигляді 20-секундних проб). Далі давалася інструкція: "Ви маєте запам'ятовувати продуктовані слова і повторювати їх вголос після відповідної команди", після чого починалося тестування. Усі використані в тесті слова мали малу кількість складів (один або два), були іменниками у називному відмінку однини і позначали конкретні предмети. В кожній пробі пред'являлось 10 слів у темпі 1 слово за 2 с, слова в різних пробах не повторювались. Тест на об'єм короткочасної пам'яті виконувався п'ять разів і складався з послідовних етапів: запам'ятовування слів (етап "запам'ятовування", 20 с), утримання слів у пам'яті (етап "утримання", 20 с), повторення слів, що вдалося запам'ятати (7–15 с). Між окремими виконаннями тесту робилась пауза тривалістю 20 с (етап "пауза"). Під час повторення обстежуваним слів EEG не записували через численні артефакти, на всіх інших етапах реєстрували EEG у вигляді окремих 20-секундних проб.

Реєстрацію та первинний аналіз EEG проводили за допомогою електроенцефалографічного комплексу EEG-16S (Медікор, Угорщина) – IBM PC AT. EEG реєстрували від симетричних лобних (F3, F4), тім'яних (P3, P4), потиличних (O1, O2) та скроневих (T3, T4) відведень за міжнародною схемою 10–20 %. У якості референтного використовували об'єднаний вушний електрод. Частота дискретизації сигналу становила 100 Гц. Після видалення артефактних фрагментів аналіз спектрального складу окремих реалізацій EEG проводили за допомогою швидкого перетворення Фур'є (епоха аналізу 5.12 с, перекриття епох – 87.5 %, кількість епох в окремій реалізації – не менше 20). Отримані значення

спектральної густини потужності (СГП, $\text{мкВ}^2/\text{Гц}$) усіх частот від 4 Гц до 25 Гц із кроком 0,2 Гц усереднювали для однотипних реалізацій ЕЕГ. Результати усереднень підлягали статистичному порівнянню з використанням рангового критерію Вілкоксона для залежних і Манна-Уїтні – для незалежних вибірок. Як значущі розглядали відмінності, для яких $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. В першій серії порівнянь обстежуваних було розділено на групи за успішністю запам'ятовування. Середнє арифметичне кількості вірно відтворених в тесті слів у загальній вибірці ($n=135$) становило 6.4. Відповідно до цього значення, індивідів відносили до групи з низькою (група Н, $n=16$) або високою (група В, $n=11$) результативністю проходження тесту. Зазначимо, що середні значення кількос-

ті вірно відтворених слів у цих групах дорівнювали 5.8 та 7.5 відповідно.

Співставлення в названих групах ЕЕГ-характеристик стану обстежуваних, що відповідав запам'ятовуванню слів, показало, що значущі відмінності стосувались виключно правого тім'яного та лівого скроневого відведень (Табл. 1). Можна побачити, що в усіх випадках спектральна густина потужності коливань відповідної частоти була вищою в групі з низькою результативністю виконання тесту. Крім того, у відведенні Р4 відмінностей реєструвалось значно менше і частина з них співпадала за частотою з Т3. Отже, не виключено, що відмінності у згаданих відведеннях були взаємопов'язані і в даній функціональній системі провідну роль відігравала ліва скронева ділянка неокортексу.

Таблиця 1. Відмінності спектральної густини потужності ЕЕГ-частот у обстежуваних з низьким ($n=16$) та високим ($n=11$) показником запам'ятовування

частота, Гц	група	Р4 (СГП, $\text{мкВ}^2/\text{Гц}$)	Т3 (СГП, $\text{мкВ}^2/\text{Гц}$)	частота, Гц	група	Р4 (СГП, $\text{мкВ}^2/\text{Гц}$)	Т3 (СГП, $\text{мкВ}^2/\text{Гц}$)
4.1	Н	0.12 (0.1, 0.15)	0.07 (0.06, 0.12)	16.21	Н	-	0.04 (0.04, 0.06)
	В	0.08 (0.07, 0.1)	0.04 (0.03, 0.08)		В	-	0.03 (0.03, 0.04)
4.3	Н	-	0.08 (0.07, 0.09)	18.95	Н	-	0.04 (0.03, 0.05)
	В	-	0.06 (0.03, 0.07)		В	-	0.02 (0.02, 0.03)
4.49	Н	0.12 (0.11, 0.19)	0.08 (0.08, 0.1)	19.14	Н	0.05 (0.03, 0.06)	0.03 (0.03, 0.06)
	В	0.09 (0.05, 0.11)	0.06 (0.03, 0.08)		В	0.03 (0.02, 0.04)	0.02 (0.01, 0.02)
5.66	Н	-	0.09 (0.07, 0.11)	19.92	Н	-	0.03 (0.03, 0.04)
	В	-	0.05 (0.04, 0.08)		В	-	0.02 (0.01, 0.03)
6.45	Н	-	0.07 (0.06, 0.12)	20.12	Н	0.04 (0.03, 0.06)	0.03 (0.03, 0.04)
	В	-	0.05 (0.04, 0.07)		В	0.02 (0.02, 0.04)	0.02 (0.02, 0.02)
6.84	Н	0.15 (0.11, 0.19)	-	20.31	Н	-	0.03 (0.02, 0.05)
	В	0.09 (0.07, 0.11)	-		В	-	0.02 (0.02, 0.03)
12.11	Н	-	0.06 (0.05, 0.09)	22.07	Н	0.04 (0.02, 0.08)	-
	В	-	0.03 (0.03, 0.05)		В	0.02 (0.01, 0.03)	-
12.3	Н	-	0.06 (0.04, 0.11)	23.05	Н	-	0.02 (0.01, 0.03)
	В	-	0.03 (0.03, 0.05)		В	-	0.01 (0.01, 0.02)
12.5	Н	-	0.05 (0.04, 0.07)	23.24	Н	0.02 (0.02, 0.04)	-
	В	-	0.03 (0.02, 0.04)		В	0.01 (0.01, 0.02)	-

Примітка: в таблиці представлені значення медіан, нижніх та верхніх кватилей СГП ЕЕГ-частот, вираженість яких значущо відрізняється у осіб з низьким (Н) та високим (В) показником запам'ятовування ($p < 0,05$)

Як видно з таблиці, виявлені відмінності були розкидані по всьому ЕЕГ-спектру. Фактично, в кожному з класичних ЕЕГ-діапазонів – θ , α і β – було виявлено смуги з 3-4 суміжних частот, потужність яких різнилась у осіб з груп Н та В: 4.1-4.49, 12.11-12.5 та 19.14-20.31 Гц. Звертає на себе увагу той факт, що ці частоти групувались навколо значень 4, 12 та 20 Гц, які, в свою чергу, кратні 4. Звертає на себе увагу той факт, що ці частоти групувались навколо значень 4, 12 та 20 Гц, які, в свою чергу, кратні 4. З Табл. 1 також видно, що як медіанні значення, так і рівні верхньої та нижньої кватилей СГП знаходились в оберненій залежності від частоти коливань. Отже, на нашу думку, можна припустити, що в даному випадку виявлені відмінності частково пояснювались присутністю в ЕЕГ субгармонічних процесів, пов'язаних з коливаннями 4-4.5 Гц. Важливо також звернути увагу на топографію описаних відмінностей. Відомо, що структури лівої скроневої долі не тільки є частиною кортикального представництва слухового аналізатора, але й забезпечують диференціювання ознак різних фонем та безпосередній контроль мови [13]. Крім того, існує багато переконливих даних про участь даної зони неокортексу у процесах короткочасної слухової пам'яті. Продемонстровані нами відмінності дозволяють припустити, що функціональний стан даної мозкової структури та його вплив на процеси запам'ятовування слухової інформації можуть бути оцінені за рівнем СГП окремих спектральних характеристик ЕЕГ (зокрема, діапазону 4-4.5 Гц). Можна констатувати, що

низька представленість цих частот в загальній ЕЕГ людини під час роботи є передумовою високої ефективності мнемонічних процесів.

Така особливість може бути пояснена з точки зору впливу мотивації на електричну активність головного мозку. В досліджах О. М. Разумнікової та співавторів [3] було показано, що ступінь пов'язаної з дивергентним мисленням десинхронізації низько- та високочастотних компонентів α -діапазону зростає при ускладненні завдання, що в цілому відповідає загальноприйнятим уявленням про його зв'язок з системою тонічної активації кори. Однак в даному випадку важливо підкреслити, що вираженість реакції десинхронізації пов'язана зі саме складністю завдання, виконуваного обстежуваним. І навпаки, існують твердження про те, що викликана реакція синхронізації альфа-активності фактично є показником гальмування когнітивної діяльності, яке настає в результаті дії системи низхідного (top-down) контролю [10]. Наведені нами літературні дозволяють пояснити описані нами відмінності між групами Н та В за рівнем альфа-активності – для осіб, що гірше виконували завдання, була характерна вища потужність α -діапазону, а значить, рівень їх кортикальної активації був недостатнім. Проте залишається відкритим питання про те, чому для обстежуваних з високими показниками запам'ятовування був також характерним нижчий рівень СГП ряду частот в θ - та β -діапазонах, адже вираженість θ -коливань традиційно розглядають як прямий корелят стану фронто-гіпокампальної системи та готовності моз-

ку до обробки вхідної інформації [5], а β -активність пов'язується з когнітивною активацією та обробкою нової (в тому числі й слухової) вхідної інформації [8]. На нашу думку, таке протиріччя можна пояснити тим фактом, що відмінності в різних діапазонах є взаємозалежними і пов'язаними з одним і тим же ритмічним компонентом ЕЕГ. Фактично, для людей з низькою результативністю була характерна більша високоамплітудна ЕЕГ, що вказує на суттєво менший ступінь мозкової активації.

З іншого боку, приведені дані отримані при усередненні ЕЕГ, записаних під час виконання обстежуваним усіх шести проб з мнемонічним тестом. Слід зауважити, що лише один з 27 обстежуваних в усіх пробах продемонстрував однакові результати. В інших можна було виділити вдалі та невдалі проби, і, таким чином, використання усереднених ЕЕГ-характеристик можна розглядати скоріше як спосіб визначення типологічних особливостей людей, що добре чи погано виконують завдання на запам'ятовування. У зв'язку з цим ми вирішили визначити для кожного індивіда найбільш та найменш результативну пробу і співставити в них відповідні ЕЕГ-характеристики. На нашу думку, саме такий підхід дозволив би виділити патерни ЕЕГ, які безпосередньо відповідають тим особливостям мозкової активності, що дозволяють людині утримувати в пам'яті більшу чи меншу кількість інформації.

Статистичне порівняння успішних та неуспішних проб за допомогою рангового критерію Вілкоксона не виявило між ними жодних відмінностей за рівнем потужності класичних ЕЕГ-діапазонів (θ , α , β) та їх піддіапазонів. Тому, як і в попередньому випадку, ми провели співставлення спектральної густини потужностей окремих частот в діапазоні 4-25 Гц. Було з'ясовано, що для проб обох типів перехід від стану спокою до виконання тесту супроводжувався подібними змінами (депресією потужності широкої смуги 6.5-10.5 Гц та окремих частот β -діапазону в усіх відведеннях, крім фронтальних). Однак в той же час для кожної ділянки кори виявлялась невелика кількість частот, потужність яких відрізнялась в успішних та неуспішних пробах. Так, в успішних пробах реєструвався значущо менший рівень потужності близьких за частотою коливань 9.96 Гц у відведеннях F3 та O2, 9.57 – в P4, а також 11.33 – в O1, 11.52 – в T3 та 11.91 – в P3. Більш високочастотні елементи ЕЕГ-спектру навпаки демонстрували вищий рівень потужності в пробах з більш успішним запам'ятовуванням. В першу чергу це стосувалось коливань у смузі частот 16.21-17.38 Гц для відведень F3, O1, P4 та T4. У ділянці P4 аналогічним чином відрізнялись частоти 19.73 та 21.29, а в F3 – 12.5, 14.65 та 16.41 Гц. Цікаво, що в наших попередніх дослідженнях було виявлено відмінності між групами людей з низькою та високою результативністю мнемонічної діяльності за потужністю подібних комплексів ЕЕГ-компонентів у вихідному стані спокою. В даному випадку вдалося встановити, що ці ж фактори пов'язані також з ефективністю діяльності кожної окремої особи. На нашу думку, цей факт, а також просторова генералізованість виявлених відмінностей є суттєвими аргументами на користь того, що особливості експресії в ЕЕГ вузької частотної смуги 9.5-11.5 Гц та згаданих вище частот β -діапазону прямо чи опосередковано відображають ефективність перебігу мозкових механізмів реалізації мнемонічних функцій.

Отже, як для усереднених даних, так і для ЕЕГ-характеристик стану мозку в окремих пробах відмінності в межах α -діапазону виявились подібними: більша кількість запам'ятованих слів відповідала нижчим значенням потужності цієї частотної смуги. На нашу думку, цей показник в даному випадку необхідно розглядати як

характеристику загального рівня активації неокортексу під час виконання тесту. Слід зазначити, що в сучасній літературі існує цілий ряд робіт, в яких продемонстровано явище пригнічення альфа-активності в різних ділянках кори під час виконання когнітивних навантажень, в тому числі і мнемонічного характеру [6, 9, 11]. Цікаво, що дослідники пов'язують такі десинхронізаційні процеси не стільки з процесами запам'ятовування, скільки з увагою, яка є необхідним компонентом пізнавальної діяльності. N. R. Cooper зі співавторами показали, що падіння потужності в альфа-діапазоні супроводжує діяльність, перебіг якої пов'язаний з домінуванням уваги до зовнішнього середовища, тоді як спрямування уваги "всередину" суб'єкта призводить до зростання рівня синхронізації [6]. Отримані нами дані вказують на те, що характер та ступінь змін в альфа-діапазоні при переході до активної діяльності може відповідати інтенсивності залучення функції уваги, концентрації на виконуваному завданні і, завдяки цьому, певним чином впливати на ефективність роботи.

Відмінності в β -діапазоні (14-16 та 19-21 Гц) відображали, очевидно, перебіг інших мозкових процесів. Відомо, що експресія полічастотної β -активності характерна для станів активної розумової діяльності, а тип та складність цієї діяльності відбивається в інтенсивності такої реакції. Наприклад, показано, що процеси вивільнення інформації з пам'яті супроводжуються значущо вищим рівнем високочастотної β -активності, ніж процеси формування енграм пам'яті [1]. Нами було показано, що у осіб, які запам'ятовували менше слів, потужність в β -діапазоні також була меншою. Певним чином цей факт суперечить результатам, продемонстрованим T. Fernandez із співавторами: ними було показано, що для цілого ряду частот β -діапазону (13, 14, 15, та 17 Гц) характерне зростання вираженості під час виникнення у людини, що працює, помилок реакцій [7]. Можливо, такі відмінності пояснюються особливостями типу виконуваної діяльності та експериментальної парадигми. З іншого боку, слід згадати також про зв'язок β -активності з емоційним напруженням. Існують дані про те, що експресія високочастотних компонентів даного діапазону пов'язана з рівнем емоційної активації – наприклад, за умов екзаменаційного стресу [4]. Тому можна припустити, що відмічені нами високі значення потужності ряду β -частот у осіб, що запам'ятовували більше слів, пояснюються вищим рівнем контролю діяльності з боку мотиваційно-емоційної системи. Такі обстежувані, очевидно, були більше зосереджені на досягненні високого результату і більш критично ставились до своєї діяльності.

Таким чином, нами були виявлені специфічні ЕЕГ-характеристики, що дозволяють частково прогнозувати ефективність поточної мнемонічної діяльності, і показано, що їх зв'язок з результативністю обумовлений співвідношенням діяльності загальнономозгових активаційних систем. Все це дає можливість припустити, що подібні особливості мають проявлятися і для інших типів діяльності, тому для подальшого розвитку проблеми зв'язку ефективності роботи з фізіологічними характеристиками мозкової нейродинаміки необхідно в першу чергу застосувати експериментальні моделі з різним ступенем залучення окремих когнітивних функцій.

Висновки. Для обстежуваних, що запам'ятовували більше слів, була характерна менша вираженість ЕЕГ-частот: 4.1-4.49, 12.11-12.5 та 19.14-20.31 Гц у лівому скроневому та правому тім'яному відведеннях.

Вища ефективність виконання мнемонічного тесту корелювала з меншою потужністю діапазону 9.5-11.5 Гц та паралельною експресією β -коливань частотою 14-16 та 19-21 Гц.

Якість виконання мнемонічного тесту пов'язана зі станом направленої уваги та емоційно-мотиваційним забезпеченням діяльності, які можуть бути оцінені за відповідними параметрами електроенцефалограм.

1. Данько С. Г., Бехтерева Н. П., Качалова Л. М., Соловьева М. Л. Электроэнцефалографические характеристики когнитивно-специфического внимания готовности при вербальном обучении // Физиология человека. – 2008. – Т. 34, № 2. – С. 2-12. 2. Каплан А. Я., Борисов С. В., Шишкин С. Л., Ермолаев В. А. Анализ сегментной структуры α -активности ЭЭГ человека // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2002. – 88, № 4. – С. 432-442. 3. Разумникова О. М., Вольф Н. В., Тарасова И. В. Влияние мотивации на изменения мощности биопотенциалов коры головного мозга при выполнении образных и вербальных творческих заданий // Журнал высшей нервной деятельности. – 2007. – Т. 57, № 5. – С. 553-561. 4. Стрелец В. Б., Голикова Ж. В., Новоточий-Власов В. Ю., Салманов П. Л., Самко Н. Н. Исследование уровня внутрикоркового взаимодействия в β 2-диапазоне при экзаменационном стрессе // Журн. высш. нервн. деятельности. – 2002. – 52, №4. – С. 417-427. 5. Buzsáki G. Theta oscillations in the hippocampus // Neuron. – 2002.

– V. 33. – P. 325-340. 6. Cooper N. R., Burgess A. P., Croft R. J., Gruzeller J. H. Investigating evoked and induced electroencephalogram activity in task-related alpha power increases during an internally directed attention task // Neuroreport. – 2006. – V. 17, № 2. – P. 205. 7. Fernandez T., Harmony T., Silva-Pereyra J. Specific EEG frequencies at specific brain areas and performance // Neuroreport. – 2000. – 11, 12. – P. 2663-2668. 8. Haenschel C., Baldeweg T., Croft R. J., Whittington M., Gruzeller J. Gamma and beta frequency oscillations in response to novel auditory stimuli: A comparison of human electroencephalogram (EEG) data with in vitro models // PNAS. – 2000. – V. 97. – P. 7645-7650. 9. Klimesch W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis // Brain Research Reviews. – 1999. – 29. – P. 169-195. 10. Klimesch W., Sauseng P., Hanslmayr S. EEG alpha oscillation: The inhibition-timing hypothesis // Brain Res. Rev. – 2007. – V. 53. – P. 63-88. 11. Krause C. M., Sillanmaki L., Koivisto M. et al. The effects of memory load on event-related EEG desynchronization and synchronization // Clin. Neurophysiol. – 2000. – V. 111. – P. 2071. 12. Niedermeyer E., da Silva F. L. Electroencephalography – Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 1309 p. 13. Zatorre R. J., Belin P. Spectral and temporal processing in human auditory cortex // Cerebral Cortex. – 2001. – V. 11. – P. 946-953.

Найшло до редколегії 03.07.09

УДК 372.857:881.111.1

А. Смоля, канд. біол. наук, Т. Паршикова, д-р біол. наук,
О. Панют, канд. біол. наук, В. Стороженко, канд. біол. наук

РОЗРОБКА ПРАКТИЧНО-ІГРОВОГО ЗАНЯТТЯ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ АНГЛІЙСЬКОЮ МОВОЮ СТРУКТУРИ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Наведено хід практично-ігрового заняття "Особливості структури рослинної клітини англійською мовою". Розглянуто особливості будови рослинної клітини в ігровій формі з заучуванням англійської міжнародної професійної лексики.

The practical lesson with the elements of game "The peculiarities of plant cell structure in English" is presented in the article. The peculiarities of plant cell structure are defined as well as learning the new English international professional terminology.

Основною метою Болонського процесу, до якого приєдналась Україна є побудова європейського простору вищої освіти, як передумови розвитку мобільності громадян з можливістю їх працевлаштування, посилення міжнародної конкурентоспроможності національних, і в цілому європейської, систем вищої освіти, досягнення більшої сумісності та порівнянності систем вищої освіти, формування та зміцнення інтелектуального, культурного, соціального та науково-технічного потенціалу всіх країн світу. Досвід багатьох країн світу підтверджує, що для професійного росту у напрямку природничих наук необхідні глибокі знання міжнародної наукової термінології, вміння користуватися різними типами монологу, діалогу й полілогу для підтримання дискусій на конференціях, з'їздах, симпозіумах та інших наукових заходах, встановлення та підтримання контактів, листування, обґрунтування своєї думки, сприймання іншомовної інформації на слух тощо. Перед сучасними випускниками-біологами ставиться ряд вимог орієнтованих на формування англомовної комунікативної, лексичної та граматичної компетенції, а також необхідності формування вмінь застосовувати теоретичні знання отримані у вищому навчальному закладі у прикладних сферах людської діяльності (біотехнологія, медицина, агропромисловий комплекс, промисловість, фармакологія тощо). Допомогти молодим фахівцям-біологам у опануванні та поглибленні знань англійської мови може використання в учбовому процесі різноманітних ігрових динамічних занять, що будуть направлені на розвиток розумових здібностей та якостей особистості (пізнавальних інтересів, спостережливості, уваги, пам'яті, продуктивного мислення). Все це і обумовлює необхідність пошуку та впровадження у навчальний процес відповідних інноваційних технологій. В зв'язку з цим на базі кафедри фізіології та екології рослин Київського національного університету імені Тараса Шевченка розпочалась робота по підготовці циклу практичних занять "Біологія рослин англійською мовою", які проходять у ігровій динамічній формі.

Перше заняття з циклу практично-ігрових занять "Біологія рослин англійською мовою" є вступним. Його метою є викликати зацікавленість та мотивацію необхідності вивчення іноземної мови в контексті спеціалізації фізіології рослин.

Біологічний блок. STEP1/ Крок 1. На початку заняття викладач нагадує, що як галузь науки фізіологія рослин має свій власний об'єкт для вивчення, а саме рослинний організм. Викладач цікавиться думкою студентів, які ж саме рослини є об'єктом біологічних досліджень. Виявляється, що в фізіологічних експериментах використовуються найрізноманітніші рослини від нижчих до вищих. На слайді подаються назви деяких груп рослин англійською мовою з перекладом та транскрипцією, оскільки багато з назв є складними для вимови, як то ароматичні/*aromatic*, декоративні/*ornamental*, лікарські/*medicinal*, пряно-ароматичні/*spice*, сукулентні/*succulent*, ефіроолійні/*essential oil producing*, отруйні/*poisonous*, токсичні/*toxic*, вічнозелені/*evergreen*, бур'яни/*weed*, трав'янисті/*herbaceous*, деревні/*woody*, бобові/*legume*, злакові/*cereal*, водні/*aquatic*, надземні/*terrestrial*. Далі пригадуємо нижчі рослини, які використовуються у фізіологічних дослідженнях: мікроводорості/*microalgae*, макроводорості/*macroalgae*, лишайники/*lichen*. На нашому першому занятті зупиняємося на групі пряно-ароматичних рослин та пропонуємо декільком студентам, які сидять спиною до екрану, вгадати за описом рослину. Опис рослини виразно зачитується англійською мовою по-черзі інші студенти групи. У процесі гри викладач наголошує на особливостях написання та вимови окремих прикметників, які можуть трапитися при описі рослин. Виграє той зі студентів, хто першим здогадався, що це за рослина. Виявляється, що ця рослина є в'юнкою ліаною роду орхідей/*orchid* liana та швидко зростає до 1 метру за місяць, плодоносить до 25-50 років, запилюється бджілками роду *Melipona*, що живуть у Мексиці та одним видом колібрі. З їх допомогою запилюється лише 5% квіток, тому більша частина запилення здійснюється вручну. Квітне на третій рік життя та всього один день [1]. Широко використовується в кондитерському виробництві. Серед критеріїв яос-

© Смоля А., Паршикова Т., Панют О., Стороженко В., 2010

ті – довжина стручка/length of a bean. Плоди зривають незрілими, коли вони ще не мають запаху. Щоб пряність отримала запах, треба провести цілий ритуал: спочатку стручки занурюють на 20 секунд у гарячу воду (80-85°C), після чого їх загортають у вовняну ковдру та зберігають за температури 60°C. Через 1 добу їх виносять на сонце рівно на 1 годину. Наступного дня – на 1 годину та 10 хвилин. Кожного наступного дня до часу перебування стручків на сонці додають рівно 10 хвилин. І так протягом місяця. Поступово рослина починає віддавати свій запах – тонкий/delicate, солодкуватий/sweetish та освіжаючий/refreshing, набуває пряний гіркуватий смак/spicy and a little bit bitterish taste та корицевого кольору. Потім починається заключна стадія висушування. Стручки виносять на відкрите повітря, в тінь, та висушують до тих пір, поки на них не з'явиться білий наліт/white bloom. Протягом всього процесу перетворення цієї рослини пряність втрачає 2/3 своєї ваги, але набуває всі необхідні якості [2]. Зрозуміло, що мова йде про ваніль/vanilla (*Vanilla planifolia*, *Vanilla pompona*). Виявляється, що на етикетці ароматизованого ваніллю продукту обов'язково має бути зазначене співвідношення природної та штучної речовини в його складі: Vanilla ice cream – використаний екстракт або порошок тільки натуральної ванілі; Vanilla flavored ice cream – в продукті міститься до 42% штучного ваніліну; Artificial vanilla-flavored ice cream – повна відсутність натуральної ванілі.

STEP 2/Крок 2. Наступним є запитання, які особливості будови рослинної клітини. Для цього пропонуємо завдання-гру. Викладач надає опис деяких специфічних утворень та органел, притаманних лише рослинній клітині, а студенти мають назвати органели та "вписати" їх в запропоновані клітинки.

1. Запитання: як називається твердий зовнішній покрив рослинних клітин і більшості бактерій/the external firm cover of plant cells and most of bacteria?

Відповідь – клітинна стінка/cell wall / envelope

Клітинна стінка – структурне утворення на периферії рослинної клітини (за межами клітинної мембрани – плазмалеми) надає їй міцності, зберігає форму і захищає протопласт. У багаторічних рослин клітинна стінка має здатність до здерев'яніння і утворює каркас, що виконує опорну функцію. Основа клітинної стінки – високо полімерні вуглеводи: молекули целюлози, які зібрані в складні пучки (фібрили), що занурені в матрикс/matrix, який складається з геміцелюлоз та пектинових речовин. Залежно від типу тканин до складу клітинної стінки можуть входити як органічні речовини (лігнін/lignin, суберин/suberin, віск/wax, кутин/cutin, білок/pritein) так і неорганічні (солі кальцію, кремнезему) речовини. Меристематичні та молоді клітини, що ростуть, мають первинну клітинну оболонку – тонку, збагачену пектином/pectin та геміцелюлозою/hemicellulose. Первинна клітинна стінка складається з двох або трьох структурно незалежних, але взаємодіючих сіток полімерів, кожна з яких виконує свої специфічні функції. Основна сітка, яка формує каркас клітинної стінки, складається з мікрофібрил целюлози та гліканів/glycan, що її з'єднують. Друга сітка складається з пектинових полісахаридів. Третя незалежна сітка побудована зі структурних білків або фенілпропанолів. Вторинна клітинна стінка має велику кількість целюлози і утворюється переважно при досягненні клітиною певного розміру. Вона накладається шарами на первинну зі сторони протопласту [3].

Пов'язані терміни – оболонка мітохондрії/mitochondrial envelope, зовнішня клітинна оболонка/outer cell wall, клітинна оболонка органели/organelle envelope

2. Запитання: як називається компартмент у цитоплазмі, оточений мембраною, заповнений водянистою рідиною, клітинним соком; частина лізосомального компартменту клітини/the space in the cytoplasm limited

by the membrane, filled by the cell sap. It is a part of the lysosome compartment of a cell.

Відповідь – вакуоля/vacuole

Вакуоля – порожнина в цитоплазмі, заповнена водянистою рідиною – клітинним соком і оточена мембраною – тонопластом/tonoplaste. Утворюється в процесі росту клітин. Дрібні і численні вакуолі, поступово збільшуючись, зливаються одна з одною, утворюючи одну велику вакуолю, що займає майже всю клітину. Бере участь в поглинанні води і підтриманні осмотичного тиску в клітині. Містить запасні речовини, водорозчинні пігменти, гідролітичні ферменти та продукти клітинного метаболізму. До недавнього часу однією з проблем фізіології рослин було питання співіснування у вакуолях запасних речовин й гідролітичних ферментів. Зараз встановлено, що рослини мають як мінімум дві різні вакуолярні системи: одна – для зберігання, а друга – для виконання гідролітичних функцій. Ці два типи вакуолей відрізняються за кислотністю клітинного соку: запасуючі вакуолі мають нейтральний рН, а гідролітичні – кислий, що є оптимальним для роботи протеаз та інших гідролаз, які в них містяться [4].

Пов'язані терміни – велика вакуоля/large vacuole, пульсуюча вакуоля/pulsating vacuole, скорочувальна вакуоля/contractile vacuole

3. Запитання: як називається клітинна органела рослини, в якій синтезуються і запасуються органічні речовини, обмежена подвійною мембраною/ the cell organelle in which organic substances are synthesized and stored.

Відповідь – хлоропласт/chloroplast

Пластиди/plastids – органели рослинної клітини, відмежовані від цитоплазми оболонкою з двох мембран/ plastid envelope, до речі зовнішня мембрана більш проникна, ніж внутрішня, яка містить багато специфічних транслокаторів/translocator. Крім того, внутрішня мембрана пластид є місцем синтезу ліпідів у рослинних клітинах. Зовнішня мембрана містить неспецифічний поровий білок, котрий дозволяє вільний транспорт води, різноманітних іонів та метаболітів розміром до 10 кДа у міжмембранний простір. На зовнішній мембрані пластид локалізовані різні білки, в тому числі й ферменти, що беруть участь в обміні галактоліпідів. Розрізняють три типи пластид: лейкопласти/leukoplast – безбарвні пластиди, хлоропласти – зелені пластиди та хромопласти/hromoplast – жовті, оранжеві або червоні пластиди. Через мембрани пластид проходить інтенсивний обмін метаболітів в обох напрямках. Всі пластиди мають власний геном та білок синтезуючу систему. Пластиди розмножуються поділом і мають пластидну ДНК (птДНК=хлДНК/ ptDNA=ctDNA). Пластидна ДНК – це мультикопійна кільцева молекула розміром від 120 до 290 тис. п.н. Для деяких видів вищих рослин проведено секвінування птДНК. Встановлено, що ДНК пластид містить біля 100 генів, причому їх набір подібний для різних видів рослин. Всі ідентифіковані гени можна розділити на дві групи: гени, які забезпечують процеси транскрипції і трансляції пластидних білків(гени "домашнього господарства/house keeping genes") та гени білків, які забезпечують "корисну роботу" пластид, перш за все, процес фотосинтезу [5].

Пов'язані терміни – ізольований хлоропласт/isolated chloroplast, інтактний хлоропласт/ intact chloroplast занурений хлоропласт/embedded chloroplast

Для прикладу наводимо перший з трьох слайдів.

1. The external firm cover of plant cells and most of bacteria

--	--	--	--	--	--	--	--

Таким чином, на базі проведеної гри викладач узагальнює, що окрім спільних для всіх еукаріотичних клітин органел, клітини рослин мають ряд особливостей. Головні з них: наявність жорсткої клітинної стінки, вакуолей та пластид.

Граматичний блок. STEP 1/ Крок 1. Оскільки граматичний блок має бути органічно пов'язаним з біологічним блоком, ми вибрали тему "Прикметник/*The Adjective*", тому що при описі рослини саме прикметники є найбільш вживаними [6]. Починається блок з актуалізації базових понять про прикметник, як частину англійської мови. Пропонується розставити прикметники у вірному порядку по відношенню до іменника, при цьому використовується лексичний матеріал з тематики уроку. Для заучування прикметників які характеризують смак рослини (гострий/*burning*, кислий/*sour*, солодкий/*sweet*, терпкий/*tart*, гіркий/*bitter*), пропонуємо гру в парах, коли один студент має задати питання, або побудувати незакінчене речення, так, щоб другий студент у відповідь назвав один з вищезгаданих прикметників. Для цього студентам роздається допоміжний матеріал у вигляді таблички з прикметниками та іменниками (назви овочів та фруктів).

STEP 2/ Крок 2. Як відомо, особливістю прикметників в англійській мові є утворення ступенів порівняння. Для полегшення пригадування пропонуємо зведену таблицю утворення ступенів порівняння прикметників та виключення з правил. Для кращого засвоєння матеріалу була розроблена оригінальна вправа, коли студенти мають побудувати речення, використовуючи запропонований прикметники (*sweet, burning, tall, low, heavy,*

light) у різних ступенях порівняння та декілька іменників, що представлені у вигляді фотографій різних рослин. Виграє той, хто більше дасть правильних варіантів. Наприклад, на екрані – прикметник – "СОЛОДКИЙ/SWEET" та зображення банана, яблука та чорної редьки. Відповіді: *The banana is sweeter than the apple. The apple is less sweet than the banana. The banana is the sweetest one. The radish is the least sweet one.*

Наприкінці заняття пропонуємо хором виголосити скороговку.

Таким чином, знання іноземної мови студентами вищих навчальних закладів природничих факультетів в умовах інтеграції України в загальноєвропейський економічний, освітній та політичний простір є нагальною необхідністю й для студентів-рослинів. А започаткований цикл практично-ігрових занять сприяє активізації та поглибленню знань з англійської міжнародної професійної лексики та забезпечує ефективну допомогу молодим фахівцям-біологам рослин у засвоєнні навчального матеріалу.

1. Похлебкин В. В. "Все о пряностях: виды, свойства, применение". - М.: "Пищевая пр-ть", 1974. - 207с. 2. Персидская К.Г., Чипига А.П. Справочник для работников эфирномасличных предприятий. М.: Легкая и пищевая пр-ть, 2001. - 144 с. 3. Лотова Л.И., Нилова М.В., Рудько А.И. Словарь фитоанатомических терминов.-Москва: ЛКИ, 2007. - 112 с. 4. Лотова Л.И. Ботаника. Морфология и анатомия высших растений.- М.: КомКнига/URSS, 2007. - 512с. 5. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др. Физиология растений/под ред. Ермакова И.П. - М.: Академия, 2007. - 640 с. 6. Кириченко Е.Б. Русско-французско-английский словарь. Физиология и биохимия растений. - М.: Наука, 2002. - 371 с.

Надійшла до редколегії 19.05.09

УДК 372.857:881.111.1

А. Смоля, канд. біол. наук

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИВЧЕННЯ АНГЛІЙСЬКОЮ МОВОЮ ОСОБЛИВОСТЕЙ ЕФІРНИХ ОЛІЙ

Описано оригінальну методику, що поєднує вивчення біологічного матеріалу та іноземної мови. Як приклад, наведено хід практично-ігрового заняття "Ефірні олії та їх використання".

The original method, which combined the study of biology and foreign language, has been described. The practical lesson with the elements of game "The essential oils and their usage" is presented in the article.

В останні роки значна увага приділяється всебічному вивченню речовин вторинного походження або вторинного обміну у складі різноманітних лікарських рослин. Таку назву речовини отримали завдяки тому, що не мають власних шляхів синтезу, а тому утворюються в основних метаболічних процесах рослин на відгалуженнях шляхів синтезу білків, вуглеводів та ліпідів. Серед речовин вторинного походження відомі дуже важливі фізіологічно активні сполуки, а саме: органічні кислоти, феноли, глікозиди, терпени і терпеноїди, алкалоїди. Допомогти молодим фахівцям-біологам у опануванні та ретельному вивченні кожної з цих унікальних груп біологічно-активних речовин рослинного походження може використання в навчальному процесі різноманітних ігрових методик, які сприятимуть формуванню вмін у студентів застосовувати отримані теоретичні знання у прикладних сферах людської діяльності (медицина, агропромисловий комплекс, промисловість, біотехнологія тощо). Крім цього, в умовах всебічної інтеграції України до загальноєвропейської спільноти виникає необхідність у глибокому професійному знанні іноземної мови (перш за все, англійської) для студентів вищих навчальних закладів.

Метою нашої роботи була розробка та апробація циклу ігрових занять "Біологія рослин англійською мовою" по певним темам спеціалізованих курсів ("Біохімія рослин", "Біологія лікарських рослин", "Практична фіто-

терапія" тощо). Як приклад наведемо заняття "Ефірні олії та їхнє використання".

Біологічний блок. STEP1/ Крок 1. На початку заняття викладач нагадує, що ефірні олії (ЕО) належать до класу терпеноїдних сполук і за хімічною природою є сумішшю простих аліфатичних/*aliphatic* та циклічних терпеноїдів (в основному, моно- і сесквітерпенів/*monoterpenes, sesquiterpenes*), їх сполуків та кетонів з супутними похідними бензойної кислоти та фенолу пропану [1]. До аудиторії ставляться запитання, чому ці речовини отримали назву "ефірні олії" та як визначається їхня назва на англійській мові? Студенти починають гадувати визначення, доповнюючи один одного. Викладач підсумовує відповіді, пояснюючи, що ефірними ці речовини назвали за леткість, оліями – тому, що вони легші за воду і не змішуються з нею. Сам термін "ефірні олії" з'явився в середині XVIII сторіччя і зберігся дотепер. У сучасній англійській мові використовуються декілька синонімів цього терміну, таких як *essential oil, volatile oil, ethereal oil* або до слова "олія" додається видова назва рослини. На ілюстративному слайді демонструються приклади: *essential oil of anise* (анісова ЕО), *lavande / lavandin volatile oil* (лавандова / лавандинова), *mint ethereal oil* (м'ятна), *essence of foeniculum* (ЕО фенхеля) або просто *clary sage oil* (шавлії мускатної) *orange oil* (апельсинова тощо). Поряд з цим викладач зазначає, що особливо багаті на ЕО рослини родини хвойних/ *coniferous*, губоцвіти/*labiate*, зонтичні/

umbellate. Називає англійські назви лікарських рослин, що містять значну кількість ЕО: м'ята/mint, чабрець/savory, материнка/ wild marjoram, кмин/ caraway, коріандр/coriander, кріп/dill, петрушка/parsley, селера/celery, полин/ wormwood, absinth, меліса/ melissa, шавлія/ sage, сосна/pine, евкаліпт/eucalyptus, герань/geranium, лаванда/lavender та багато інших. Викладач наводить дані про кількісний вміст ЕО у різних рослинах, називає рослини (наприклад, ясенець білий/ dittany/ Dictamnus albus з родини рутові) які виділяють настільки багато ЕО, що можна підпалити сірник на відстані. Попереджає, що якщо піднести букет цих рослин до тіла, то можна одержати важкі хімічні опіки. На накопичення ефірних олій впливають різні чинники: клімат, світло, ґрунт, фаза розвитку рослин, вік і т.д. У південних районах, на відкритих місцях, пухких і удобрених ґрунтах вміст ефірних олій підвищується, але при дуже високій температурі, після випару він знижується. У молодих рослин ефірних олій міститься більше.

На наступному етапі викладач зазначає, що залежно від виду рослин, ЕО нагромаджуються в різних їх органах: квітках/flowers, листках/leaves, плодах/fruit, насінні/seeds, коренях/roots, живиці/resin, хвої/needle, кореневищах /rhizomes, корі/bark, деревині /wood, шкірці/peel.

Студентам пропонується проаналізувати групу зображень рослин та визначити ті з них, в котрих ЕО депонується в листках, квітках або плодах. Виграє той, хто дає найбільшу кількість правильних відповідей. На наступному етапі викладач наводить низку цікавих фактів стосовно фізико-хімічних властивостей ЕО, вказуючи, наприклад, рослину, ЕО якої найлегша за воду (*Pinus sabiniana*, густина 0,6962) та найважча (*Gaultheria procumbens*, густина 1,188) тощо.

Викладач наголошує, що кількість ЕО в органах рослини може змінюватися протягом доби, маючи мінімум та максимум. Наприклад, в квітках лаванди більше всього ЕО накопичується у другій половині дня, а в квітках троянд в цей час вміст ЕО найменший. Для троянди максимум накопичення ЕО – о 4-6 годині ранку. До студентської аудиторії логічно ставиться запитання, де ж саме продукуються ЕО у різних рослин? З'ясовуючи це питання викладач зазначає, що ЕО в живих тканинах рослин можуть бути дифузно розсіяні по всіх клітинах в розчиненому або емульгованому стані в протоплазмі або клітинному соці, або накопичуватись у інших рослин в спеціальних утвореннях. Таким чином,

розрізняють екзогенні /exogenous та ендогенні/endogenous видільні утворення. На наступних ілюстраціях пояснюється, що екзогенні розвиваються в епідермальній тканині та являють собою залозисті "плями"/gland cavities,ducts, залозисті волоски/hairs та залозки/glands. Така локалізація ЕО спостерігається в пелюстках троянд, конвалій, рідше в листках рослин, епідермісі покривних лусок, тополевих бруньок. Студенти розглядають будову залозистих волосків у різних рослин та відмічають, що вони можуть складатися з одно- або багатоклітинної ніжки та кулястої або овальної голівки. На наступних ілюстраціях викладач демонструє рослини, що мають ендогенні видільні утворення (кореневище айру, корені валеріани тощо) та пояснює, що ендогенні утворення розвиваються в паренхімних тканинах та являють собою ходи (каналі). Клітинна стінка таких утворень складається з двох шарів: зовнішнього, схильного до опробковіння та внутрішнього, ризогенного, що виділяє ЕО [2].

Далі пропонується згадати, яка ж біологічна значущість ЕО для самої рослини. Студенти по-черзі пригадують, що ефірні олії насамперед виконують захисні функції: захищають рослини від шкідників, хвороб, поїдання тваринами, затягують рани в корі та деревині, а також сприяють привабливості комах-запилювачів та інше.

STEP 2/Крок 2. Наступне коло питань присвячене методам одержання ЕО. Розглядаються особливості всіх методичних прийомів, що застосовуються для отримання ЕО: перегонка (з водяною парою/steam distillation або фракційна/ fractional distillation), екстракція/extraction (maceration) – органічними розчинниками/organic solvent extraction або зрідженими газами /supercritical fluid extraction, анфлераж/enfleurage, механічний метод або пресування/ expression [3]. Студентам пропонується деталізувати отриману інформацію, відповідаючи, наприклад, які органічні розчинники будуть найефективнішими для термолабільних компонентів ЕО або пояснити для яких рослин краще застосовувати пресування або зскрібання при отриманні ЕО.

STEP 3/Крок 3. Далі викладач цікавиться думкою студентів про галузі в яких використовуються ЕО й демонструє слайд з переліком галузей застосування ЕО. Особливо наголошуємо на терапевтичному застосуванні ЕО. Наводимо студентам декілька слайдів та невелику зведену таблицю з самостійного використання ЕО:

Plant / botanical name	Head ache	Sun burn	Hyper tension	Hypo tension	Fever, flu	Aphro disiac	Insect bites	Stress, insomnia
Anise / Pimpinella anisum						+		
Basil / Ocimum basilicum	+					+	+	+
Bergamot / Citrus bergamia					+	+		+
Clary Sage / Salvia sclaria				+		+		+
Eucalyptus / Eucalyptus globulus	+	+			+			
Grapefruit / Citrus paradisi	+							
Hyssop / Hyssopus officinalis			+					
Jasmine / Jasminum sambac						+		
Juniper / Juniperus communis					+			
Lavender / Lavendula angustifolia	+	+		+	+		+	+
Lemon / Citrus limonum				+	+			+
Melissa / Melissa officinalis	+			+	+		+	+
Peppermint / Mentha piperita	+				+		+	
Rosemary / Rosmarinus officinalis			+		+			

Для розрядки, невеликого перепочинку перед наступним граматичним блоком пропонується рольова гра "На прийомі у ароматерапевта". Студенти працюють парами, один грає роль пацієнта (йому викладач дає список уявної медичної симптоматики, яку він озвучує), а другий – лікаря, що має виписати рецепт на різні види лікування ЕО (масаж, інгаляція, розтирання, компреси, ванни тощо).

Під час гри викладач розповідає цікаві факти про ЕО олій цибулі та часнику, виявляється, що вони є родичами, оскільки головним компонентом ЕО в них є сірковмісні сполуки аліїн/alliin та аліцин/allicin. Вони дуже стійкі і майже не руйнуються у шлунку і тонкому кишечнику. В такому незмінному стані вони потрапляють з поживними речовинами у кров, незмінними проходять і через печінку, а далі з венозною кров'ю і до легень. Тут вони через стінки альвеол дифундують, як і вуглекис-

лий газ, у повітряний простір легень і видихаються у незмінному стані назовні, саме тому специфічний запах після вживання цибулі відчувається досить довго. На прикладі ЕО викладач пояснює й різницю у наукових термінах, що застосовуються: бактерицидна (*bactericidal*), бактериостатична (*bacteristatic*), фунгіцидна (*fungicidal*) та фунгістатична (*fungistatic*) концентрації [4].

Підсумовуючи отриману на занятті інформацію викладач зазначає, що ЕО є також фактором конкурентного впливу на інші сусідні рослини. Така хімічна взаємодія рослин між собою дістала назву "алелопатія/allelopathy". Основоположником вчення про алелопатію був німецький вчений Г. Грюмер, а в Україні – академік А.М. Гродзинський.

Оскільки наше заняття є практично-ігровим, то наприкінці біологічного блоку заняття пропонується занотувати деякі особливості використання ефірних олій в кулінарії/cooking with essential oils та наводяться декілька рецептів [5]. А закінчується перший блок заняття грою "Вгадай ефірну олію", коли аудиторія ділиться на декілька груп і кожній групі роздаються однакові набори пронумерованих зразків ефірних олій. Виграє та група, котра вірно назвала найбільшу кількість ароматів.

Граматичний блок. STEP 1/ Крок 1. Другий блок заняття – граматичний, але пов'язаний з фактичним матеріалом першого блоку. Оскільки майбутні фахівці повинні брати участь у міжнародних конференціях, вони мають вміти грамотно ставити запитання у процесі обговорення виступів колег. На вищезгаданому занятті викладач нагадує типи питань, які існують в англійській

мові, використовуючи лексику та тематику уроку, і таким чином, знімає мовний бар'єр, закріплює лексичний та граматичний матеріал [6]. Як приклад наводимо схему будови розділових запитань. Потім на екрані демонструється невеликий текст (опис відомої ефіроолійної рослини), до якого студенти мають поставити якомога більше запитань різних типів.

STEP 2/ Крок 2. Наприкінці граматичного блоку заняття студентам пропонується інтерактивна гра: викладач загадує ефіроолійну рослину, а студенти шляхом постановки кожного типу запитань (окрім прямих) та відповідей на них викладача, мають здогадатися, яка це рослина.

Досвід показує, що кожне з проведених занять сприяє активізації та поглибленню знань з англійської біологічної професійної лексики та забезпечує ефективно допомогу молодим фахівцям-біологам рослин у засвоєнні навчального матеріалу.

1. Красильнікова Л.О., Авксентьева О.О., Жмурко В.В. Біохімія рослин. – Харків: Колорит, 2007. – 188 с. 2. Красильнікова Л.О., Садовниченко Ю.О. Анатомія рослин. – Х.: Колорит, 2004. – 237 с. 3. Технология натуральных эфирных масел и синтетических душистых веществ, под ред. И.И. Сидорова, Н. А. Турнева, Л. П. Фалеевой. М.: Легкая и пищевая пр-ть, 2001. – 368 с. 4. Похлебкин В. В. Все о пряностях: виды, свойства, применение. – М.: "Пищевая пр-ть", 1974. – 207 с. 5. Персидская К. Г., Чипига А. П. Справочник для работников эфирномасличных предприятий. – М.: Легкая и пищевая пр-ть, 2001. – 144 с. 6. Кириченко Е.Б. Русско-французско-английский словарь. Физиология и биохимия растений. – М.: Наука, 2002. – 371 с.

Надійшла до редколегії 19.05.09

УДК [591.524.12:574.5] (285.33)(477)

В. Трохимець, канд. біол. наук

СЕЗОННА ХАРАКТЕРИСТИКА ФАУНИ ЛІТОРАЛЬНОГО ЗООПЛАНКТОНУ КАНІВСЬКОГО ВОДОСХОВИЩА (ВЕСНА 2006 РОКУ)

Представлені результати досліджень видового різноманіття та щільності літорального зоопланктону Канівського водосховища протягом весняного періоду 2006 року. Проведено попередній аналіз видового різноманіття зоопланктону в межах дослідних станцій різних частин Канівського водосховища. Ключові слова: гідробіологія, Канівське водосховище, зоопланктон, Україна.

The results of investigation of species composition and density of littoral zooplankton from the Kaniv reservoir in 2006 are presented. We studied changes of zooplankton's species composition from experimental stations of the Kaniv reservoir's different parts. Key words: hydrobiology, the Kaniv reservoir, zooplankton, Ukraine.

Вступ. Екосистеми планети з кожним роком зазнають все більшого прямого та опосередкованого впливу людини. Тому на даний момент багато з них знаходяться на стадії сукцесії. Гарним прикладом, що демонструє подібні процеси, є перетворення річок на водосховища, що характеризуються зовсім іншим гідрологічним режимом. Останнє спричинює зміни біотичної складової екосистем, унаслідок чого перебудовуються цілі біологічні угруповання та змінюються комплекси видів. Ці процеси спрямовані в напрямі поступової стабілізації екосистеми та досягненню гомеостазу, але вже на основі нового біорізноманіття. Саме таку ситуацію можна спостерігати на всіх водосховищах нашої країни, які є досить молодими та нестабільними. Серед них особливої уваги заслуговує каскад дніпровських водосховищ, що простяглися через усю країну з півночі на південь і характеризуються величезною площею водозбору [3]. Проте, не зважаючи на всім зрозумілу необхідність моніторингу дніпровських водосховищ, подібні роботи переважно мали епізодичний і невпорядкований характер. Остання робота, де було більш-менш повно та комплексно висвітлено стан різних груп гідробіонтів дніпровських водосховищ, датується аж 1989 роком [2]. Тому на сьогоднішній день існує нагальна потреба проведення моніторингу, який дасть повну картину стану біоти дніпровських водосховищ, а не їх окремих ділянок або

станцій, серед якої помітну роль відіграють саме представники різних груп зоопланктону.

Об'єкти та методи досліджень. Об'єктами досліджень були представники трьох груп зоопланктону: коловертки (Rotatoria), гіллястовусі ракоподібні (Cladocera) та веслоногі ракоподібні (Copepoda). Реєстрували також представників інших груп гідробіонтів, які потрапляли до знарядь відбору проб. Але в останньому випадку визначення проводили не до виду, а до вищих таксономічних категорій. У статті наведено дані щодо відбору проб літорального зоопланктону конічною планктонною сіткою [1, 4]. Зібрані об'єкти фіксували в 4%-ому розчині формаліну, визначали в камеральних умовах [5-8] та проводили аналіз за допомогою загальноприйнятих методик [1, 4, 9]. Мета досліджень – визначити видовий склад і щільність весняного зоопланктону різних ділянок Канівського водосховища вдень. Для повного аналізу водосховища було відібрано 14 станцій, із яких 6 були базовими (проби відбирали конічною сіткою та пастками "АСТ" [10] і влітку планували проводити добові дослідження) і 8 проміжних (тільки конічною сіткою вдень), у межах яких весною 2006 року в денні години було відібрано проби. У разі, якщо у межах станцій можна було виділити біотоп із вищою водною рослинністю, то проби брали в межах двох біотопів – зарослого (є хоча би залишки водоростей) і незарослого (повністю відсутня

вища водна рослинність). Додатково було проведено геоботанічну характеристику дослідних станцій, виміряні швидкість течії, температура води та її кислотність.

Результати та їх обговорення. Базова станція I. Оболонь. Станція розміщена в межах літоральної зони верхньої частини правого берега Канівського водосховища в 93 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°30.747' E 30°31.375'. Зарослий біотоп із домінуванням рогозу, дно піщане. pH середовища дорівнював 7,95, температура води – 14°C, а швидкість течії – 0,5 м/с.

У межах нечітко вираженого зарослого біотопу цієї станції було знайдено представників 14 видів зоопланктону, серед яких була чітко помітна тенденція домінування за якісними показниками ротаторного комплексу: 9 видів коловерток, 3 види гіллястовусих і 3 види веслоногих ракоподібних. Представники ротаторного комплексу домінували і за кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону: коловертки – *Asplanchna priodonta* (80 екз./м³), *Brachionus calyciflorus* (20 екз./м³), *Keratella cochlearis* (100 екз./м³), *K. quadrata* (320 екз./м³), *Notcholca acuminata* (20 екз./м³), *Polyarthra dolicoptera* (280 екз./м³), *P. vulgaris* (40 екз./м³), *Synchaeta bipalpus* (120 екз./м³) і *Cephalodella sp.* (20 екз./м³); гіллястовусі ракоподібні – *Bosmina longirostris* (260 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (120 екз./м³) і *Pleoroxus aduncus* (20 екз./м³); веслоногі ракоподібні – *Acanthocyclops americanus* (20 екз./м³) і *Eurytemora velox* (60 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів незначну щільність мали представники хірономід і нематод: Chironomidae – 40 екз./м³, Nematoda – 80 екз./м³.

Незарослий біотоп характеризується меншим видовим різноманіттям зоопланктону – 10 видів: коловертки – 6, гіллястовусі – 2 і веслоногі – 2. За щільністю також переважав ротаторний комплекс, хоча в порівнянні із зарослим біотопом вона помітно зросла для цієї групи зоопланктону: коловертки – *A. priodonta* (120 екз./м³), *K. cochlearis* (240 екз./м³), *K. quadrata* (700 екз./м³), *P. dolicoptera* (580 екз./м³), *P. vulgaris* (20 екз./м³) і *Cephalodella sp.* (20 екз./м³); гіллястовусі ракоподібні – *B. longirostris* (340 екз./м³) і *Ch. sphaericus* (20 екз./м³); веслоногі ракоподібні – *Paracyclops fimbriatus* (20 екз./м³) і *E. velox* (40 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів незначну щільність мали: Diptera larva – 40 екз./м³, Nematoda – 80 екз./м³ і Tardigrada – 20 екз./м³.

Базова станція II. Черторій. Станція розміщена в межах літоральної зони верхньої частини лівого берега Канівського водосховища в 91 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°30.621' E 30°32.025'. Вищих водних рослин не було, крім залишків минулорічних водоростей на дні. pH середовища – 7,90, температура води – 15,8 °C, а швидкість течії – 0,4–0,5 м/с.

У залишках рослинності було знайдено представників усього 8 видів зоопланктону, серед яких домінували представники ротаторного комплексу: 5 видів коловерток, 2 види гіллястовусих і 1 вид веслоногих ракоподібних. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону переважав ротаторно-кладоцерний комплекс: коловертки – *Asplanchna priodonta* (80 екз./м³), *Euchlanis dilatata* (20 екз./м³), *Keratella cochlearis* (20 екз./м³), *Trichotria truncata* (20 екз./м³) і *Cephalodella sp.* (20 екз./м³); гіллястовусі ракоподібні – *Bosmina longirostris* (80 екз./м³) і *Chydorus sphaericus* (40 екз./м³); веслоногі ракоподібні – *Cyclops strenuus* (20 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались представники Hydroacarina (20 екз./м³), Diptera larva (20 екз./м³), Chironomidae (100 екз./м³) і Nematoda (160 екз./м³).

На чистій ділянці в конічну сітку потрапили представники 6 видів зоопланктону: коловертки – 4 і гіллястовусі – 2. Статевозрілі веслоногі ракоподібні відсутні. За

щільністю помітно переважав ротаторний комплекс і його щільність значно зросла: коловертки – *A. priodonta* (120 екз./м³), *K. cochlearis* (140 екз./м³), *Lecane luna* (80 екз./м³) і *P. dolicoptera* (40 екз./м³); гіллястовусі ракоподібні – *B. longirostris* (80 екз./м³) і *Ch. sphaericus* (40 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Diptera larva – 80 екз./м³ і Nematoda – 360 екз./м³.

Проміжна станція № 1. Корчувате. Станція розміщена в межах літоральної зони правого берега Канівського водосховища в 90 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°21.836' E 30°34.058'. Зарослий біотоп був слабо виражений із домінуванням рогозу, дно піщане. pH середовища – 7,94, температура води – 15 °C, течія майже відсутня.

У межах зарослого біотопу цієї станції було знайдено представників 18 видів зоопланктону (конічна сітка), серед яких домінували представники кладоцерно-копеподного комплексу: 3 види коловерток, 8 видів гіллястовусих і 7 видів веслоногих ракоподібних. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону також переважали представники кладоцерно-копеподного комплексу: коловертки – *Asplanchna priodonta* (200 екз./м³), *Keratella cochlearis* (100 екз./м³) і *Lecane luna* (100 екз./м³); гіллястовусі ракоподібні – *Alona affinis* (400 екз./м³), *A. rectangula* (100 екз./м³), *Bosmina longirostris* (1800 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (2000 екз./м³), *Eurytemora lamellatus* (300 екз./м³), *Pleoroxus aduncus* (900 екз./м³), *P. trigonellus* (300 екз./м³) і *Scapholeberis mucronata* (600 екз./м³); веслоногі ракоподібні – *Acanthocyclops americanus* (120 екз./м³), *A. viridis* (240 екз./м³), *Eucyclops macrurus* (140 екз./м³), *E. serrulatus* (320 екз./м³), *Mesocyclops leuckarti* (320 екз./м³), *Eurytemora velox* (1500 екз./м³) і *Heterocope caspia* (240 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (100 екз./м³), Ostracoda (100 екз./м³), Diptera larva (100 екз./м³), Chironomidae (100 екз./м³) і Nematoda (800 екз./м³).

На повністю незарослій ділянці в сітку потрапили представники 8 видів зоопланктону: коловертки – 3, гіллястовусі – 4 і веслоногі ракоподібні – 1. За щільністю помітно переважав ротаторний комплекс: коловертки – *A. priodonta* (1000 екз./м³), *Euchlanis dilatata* (200 екз./м³) і *K. cochlearis* (2000 екз./м³); гіллястовусі – *A. affinis* (200 екз./м³), *B. longirostris* (800 екз./м³), *Ch. sphaericus* (600 екз./м³) і *P. trigonellus* (160 екз./м³); веслоногі – *Microcyclops varians* (240 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Chironomidae – 100 екз./м³ і Nematoda – 4700 екз./м³.

Проміжна станція № 2. Осокорки. Станція розміщена в межах літоральної зони лівого берега Канівського водосховища в 92 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°23.797' E 30°35.816'. Зарослий біотоп був слабо виражений (залишки вищої водної рослинності), дно піщане. pH середовища – 8,05, температура води – 15,5 °C, швидкість течії – 0,4–0,5 м/с.

У межах зарослого біотопу було знайдено 14 зоопланктонних видів, серед яких домінували представники ротаторно-копеподного комплексу: 6 види коловерток, 3 види гіллястовусих і 5 видів веслоногих ракоподібних. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону переважали представники ротаторного комплексу з добре вираженим домінантом *Euchlanis dilatata*: коловертки – *Asplanchna priodonta* (40 екз./м³), *E. dilatata* (1480 екз./м³), *E. pyriiformis* (80 екз./м³), *Keratella cochlearis* (40 екз./м³), *Lecane luna* (40 екз./м³) і *Cephalodella sp.* (200 екз./м³); гіллястовусі – *Alona rectangula* (40 екз./м³), *Bosmina longirostris* (160 екз./м³) і *Chydorus sphaericus* (160 екз./м³); веслоногі – *Acanthocyclops americanus* (100 екз./м³), *Eucyclops serrulatus* (140 екз./м³), *Mesocyclops leuckarti* (160 екз./м³), *Eurytemora affinis* (40 екз./м³) і *E. velox* (40 екз./м³). Серед

інших груп гідробіонтів зустрічались: Ostracoda (160 екз./м³), Diptera larva (160 екз./м³), Chironomidae (520 екз./м³) і Nematoda (460 екз./м³).

На незарослій ділянці в сітку потрапили представники 8 видів зоопланктону: коловертки – 7 і гіллястовусі – 1. Дорослі особини веслоногих ракоподібних були відсутні. За щільністю також помітно переважав ротаторний комплекс: коловертки – *A. priodonta* (80 екз./м³), *Brachionus calyciflorus* (20 екз./м³), *E. dilatata* (100 екз./м³), *E. pyriformis* (20 екз./м³), *K. cochlearis* (40 екз./м³), *K. quadrata* (40 екз./м³) і *Synchaeta bipalpus* (20 екз./м³); гіллястовусі – *Scapholeberis mucronata* (20 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (40 екз./м³), Diptera larva (60 екз./м³), Nematoda – 140 екз./м³ і Tardigrada – 40 екз./м³.

Проміжна станція № 3. Початок Трипілля. Станція розміщена в межах літоральної зони правого берега Канівського водосховища в 88 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°07.732' E 30°45.694'. Зарослий біотоп слабо виражений, дно повністю незарослої ділянки піщане. рН води – 8,00, температура – 12 °С, швидкість течії – 0,1 м/с.

У межах зарослого біотопу знайдені представники 3-х видів зоопланктону: 2 гіллястовусих і 1 веслоногого ракоподібних. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону переважали представники кладоцерного комплексу, але для достовірного аналізу щільність представників була незначною: гіллястовусі – *Alona affinis* (40 екз./м³) і *Chydorus sphaericus* (100 екз./м³); веслоногі – *Acanthocyclops americanus* (40 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (20 екз./м³), *Argulus foliaceus* (40 екз./м³), Chironomidae (20 екз./м³) і Tardigrada (40 екз./м³).

На незарослій ділянці в сітку потрапили представники 5 видів зоопланктону: коловертки – 1, гіллястовусі – 3 і веслоногі – 1. За щільністю також помітно переважав кладоцерний комплекс: коловертки – *Euchlanis dilatata* (20 екз./м³); гіллястовусі – *Bosmina longirostris* (20 екз./м³), *Ch. sphaericus* (60 екз./м³) і *Pleoroxus aduncus* (40 екз./м³); веслоногі – *Cyclops strenuus* (20 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (20 екз./м³), Diptera larva (40 екз./м³), Nematoda – 60 екз./м³ і Tardigrada – 60 екз./м³.

Проміжна станція № 4. Куйлів. Станція розміщена в межах літоральної зони лівого берега Канівського водосховища в 90 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°08.421' E 30°53.131'. Зарослий біотоп був слабо виражений, незарослий – дно піщане. рН води – 8,21, температура – 15,3 °С, швидкість течії – 0,2-0,3 м/с.

Видовий склад зоопланктону зарослого біотопу був представлений 4 видами веслоногих ракоподібних: *Cyclops strenuus* (80 екз./м³), *Eucyclops macrurus* (20 екз./м³), *E. serrulatus* (20 екз./м³) і *Eurytemora affinis* (20 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (90 екз./м³), Diptera larva (20 екз./м³) і Nematoda (90 екз./м³).

На незарослій ділянці було зібрано представників 11 видів зоопланктону з домінуванням кладоцерно-копеподного комплексу: коловертки – 1, гіллястовусі – 6, веслоногі – 4. За щільністю переважали представники копеподного комплексу, в основному завдяки одному виду *Heteroscope caspia*: коловертки – *Brachionus quadridentatus* (20 екз./м³); гіллястовусі – *Alona quadrangularis* (40 екз./м³), *Bosmina longirostris* (120 екз./м³), *Chydorus globosus* (180 екз./м³), *Ch. sphaericus* (240 екз./м³), *Pleoroxus trigonellus* (80 екз./м³) і *Rhynchotalona rostrata* (800 екз./м³); веслоногі – *Acanthocyclops americanus* (80 екз./м³), *C. strenuus* (180 екз./м³), *Microcyclops varians* (40 екз./м³) і *Heteroscope caspia* (17920 екз./м³). Серед інших груп

гідробіонтів зустрічались представники Chironomidae (20 екз./м³) і Nematoda (200 екз./м³).

Базова станція III. Ржищів. Станція розміщена в межах літоральної зони середньої частини правого берега Канівського водосховища в 88 м над рівнем моря. Географічні координати: N 49°58.457' E 31°03.706'. Зарослий біотоп був слабо виражений (трохи водоростей біля дна), дно піщане. рН середовища дорівнювала 8,18, температура води – 11,5 °С, а швидкість течії – до 1 м/с.

Зарослий біотоп характеризувався невеликим багатством видів зоопланктону – 6: 1 вид коловерток, 3 гіллястовусих і 2 веслоногих ракоподібних. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону домінували представники копепод, а саме *Thermocyclops crassus*: коловертки – *Euchlanis dilatata* (20 екз./м³); гіллястовусі – *Acroperus harpae* (80 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (40 екз./м³) і *Graptoleberis testudinaria* (20 екз./м³); веслоногі – *Eucyclops macrurus* (20 екз./м³) і *Th. crassus* (400 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів незначну щільність мали представники хірономід і нематод: Harpacticoida – 60 екз./м³, Diptera larva – 120 екз./м³, Nematoda – 120 екз./м³ і Tardigrada – 220 екз./м³.

Незарослий біотоп відрізнявся меншим видовим різноманіттям зоопланктону – 4 види, причому коловертки були відсутні: гіллястовусі – *Ch. sphaericus* (20 екз./м³); веслоногі – *Acanthocyclops americanus* (40 екз./м³), *Cyclops strenuus* (60 екз./м³) і *Th. crassus* (120 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів незначну щільність мали: Harpacticoida – 20 екз./м³, Diptera larva – 40 екз./м³, Chironomidae – 20 екз./м³ і Tardigrada – 160 екз./м³.

Базова станція IV. Старе. Станція розміщена в межах літоральної зони середньої частини лівого берега Канівського водосховища в 90 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°04.618' E 30°57.932'. Зарослий біотоп був слабо виражений, дно незарослого біотопу піщане. рН води дорівнювала 8,29, температура – 14,2 °С, а швидкість течії – 0,5 м/с.

У межах слабо вираженого зарослого біотопу було знайдено представників 5 видів зоопланктону (конічна сітка): гіллястовусі – 3, веслоногі – 2. Коловертки були відсутні. За кількісними показниками домінували представники кладоцерного комплексу: гіллястовусі – *Chydorus sphaericus* (200 екз./м³), *Pleoroxus aduncus* (40 екз./м³) і *P. trigonellus* (40 екз./м³); веслоногі – *Cyclops strenuus* (80 екз./м³) і *Microcyclops bicolor* (40 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Diptera larva – 160 екз./м³, Nematoda – 40 екз./м³ і Tardigrada – 80 екз./м³.

Зоопланктон незарослого біотопу був представлений 4 видами, серед яких як за якісними, так і за кількісними показниками домінував копеподний комплекс: гіллястовусі – *Ch. sphaericus* (80 екз./м³); веслоногі – *C. strenuus* (940 екз./м³), *M. bicolor* (80 екз./м³) і *Thermocyclops crassus* (120 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів незначну щільність мали: Diptera larva – 140 екз./м³ і Nematoda – 240 екз./м³.

Проміжна станція № 5. Ходорів. Станція розміщена в межах літоральної зони правого берега Канівського водосховища в 88 м над рівнем моря. Географічні координати: N 49°55.843' E 31°14.665'. Зарослий біотоп був слабо виражений (залишки вищої водної рослинності), дно незарослого біотопу піщане. рН середовища – 8,20, температура води – 15 °С, швидкість течії – 0,1 м/с.

У межах зарослого біотопу було знайдено представників 3 видів зоопланктону: коловертки – *Trichocerca tigris* (20 екз./м³); гіллястовусі – *Bosmina longirostris* (40 екз./м³); веслоногі – *Thermocyclops crassus* (60 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Diptera larva (20 екз./м³), Chironomidae (40 екз./м³), Mysidacea – *Limnomysis benedini* (20 екз./м³) і Nematoda (20 екз./м³).

На незарослій ділянці в сітку потрапили представники тільки 2-х видів зоопланктону при повному домінуванні босмін: гіллястовусі – *Bosmina longirostris* (660 екз./м³); веслоногі – *Th. crassus* (60 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (20 екз./м³), Diptera larva (40 екз./м³), Nematoda – 20 екз./м³, Tardigrada – 80 екз./м³ і *Hydra olygactis* – 20 екз./м³.

Проміжна станція № 6. Переяслівський рибхоз.

Станція розміщена в межах літоральної зони лівого берега Канівського водосховища в 93 м над рівнем моря. Географічні координати: N 50°03.301' E 31°29.558'. Зарослий біотоп був слабо виражений із незначною кількістю рослинності, що осіла під водою. рН води – 8,13, температура – 13,3 °С, швидкість течії – 0,2-0,3 м/с.

У межах зарослого біотопу було знайдено представників 11 видів зоопланктону, серед яких незначно домінували представники кладоцерного комплексу: коловертки – 3, гіллястовусі – 5, веслоногі – 3. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону також переважали представники кладоцерного комплексу: коловертки – *Euchlanis pyriformis* (80 екз./м³), *Lecane luna* (80 екз./м³) і *Trichocerca tigris* (80 екз./м³); гіллястовусі – *Alona quadrangularis* (160 екз./м³), *Bosmina longirostris* (160 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (2960 екз./м³), *Pleoroxus aduncus* (400 екз./м³) і *P. trigonellus* (80 екз./м³); веслоногі – *Cyclops strenuus* (160 екз./м³), *Eucyclops serrulatus* (320 екз./м³) і *Microcyclops bicolor* (240 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (240 екз./м³), Ostracoda (960 екз./м³) і Nematoda (720 екз./м³).

На незарослій ділянці в кінцеву сітку потрапили представники 6 видів зоопланктону: коловертки – 1, гіллястовусі – 2 і веслоногі – 3. За щільністю також помітно переважали особини кладоцерного комплексу (в основному, за рахунок *Ch. sphaericus*): коловертки – *Trichocerca tigris* (80 екз./м³); гіллястовусі – *Ch. sphaericus* (4000 екз./м³) і *P. aduncus* (80 екз./м³); веслоногі – *C. strenuus* (720 екз./м³), *E. serrulatus* (80 екз./м³) і *Thermocyclops bicolor* (240 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida – 80 екз./м³, Ostracoda – 480 екз./м³ і Nematoda – 400 екз./м³.

Проміжна станція № 7. Бучаки. Станція розміщена в межах літоральної зони правого берега Канівського водосховища в 89 м над рівнем моря. Географічні координати: N 49°51.123' E 31°27.143'. Зарослий біотоп був відсутній. рН води – 8,18, температура – 12,2 °С, швидкість течії велика – 1 м/с. У межах відкритої станції було знайдено представників усього 1 виду кладоцер: *Bosmina longirostris* (20 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались тільки хірономіди – Chironomidae (20 екз./м³).

Проміжна станція № 8. Циблі. Станція розміщена в межах літоральної зони лівого берега Канівського водосховища в 93 м над рівнем моря. Географічні координати: N 49°59.060' E 31°33.549'. Зарослий біотоп був слабо виражений із незначною кількістю рослинності, що осіла під водою. рН води – 8,68, температура – 12,1 °С, швидкість течії – 0,2-0,3 м/с.

У межах зарослого біотопу було знайдено представників 13 видів зоопланктону, серед яких домінували представники кладоцерного комплексу: коловертки – 2, гіллястовусі – 8, веслоногі – 3. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону також переважали представники кладоцерного комплексу: коловертки – *Notholca acuminata* (20 екз./м³) і *Cephalodella sp.* (60 екз./м³); гіллястовусі – *Acroperus harpae* (200 екз./м³), *Alona affinis* (140 екз./м³), *A. rectangula* (40 екз./м³), *Bosmina longirostris* (60 екз./м³), *Camptocercus rectirostris* (20 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (680 екз./м³), *Pleoroxus aduncus* (220 екз./м³) і *P. trigonellus* (20 екз./м³); веслоногі –

Eucyclops serrulatus (220 екз./м³), *Thermocyclops crassus* (40 екз./м³) і *Eurytemora affinis* (40 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (120 екз./м³), Ostracoda (220 екз./м³), Chironomidae (20 екз./м³), Diptera larva (20 екз./м³), Nematoda (2460 екз./м³) і Tardigrada (20 екз./м³).

На незарослій ділянці в кінцеву сітку потрапили представники 8 видів зоопланктону, серед яких домінував кладоцерний комплекс: коловертки – 1, гіллястовусі – 5 і веслоногі – 2. За щільністю помітно переважали особини кладоцерно-копеподного комплексу: коловертки – *Cephalodella sp.* (20 екз./м³); гіллястовусі – *A. affinis* (20 екз./м³), *A. rectangula* (20 екз./м³), *Ch. sphaericus* (120 екз./м³), *P. aduncus* (40 екз./м³) і *P. trigonellus* (20 екз./м³); веслоногі – *Cyclops strenuus* (60 екз./м³) і *E. serrulatus* (80 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (80 екз./м³), Ostracoda (60 екз./м³), Nematoda (2160 екз./м³) і Tardigrada (120 екз./м³).

Базова станція V. Бобриси. Станція розміщена в межах літоральної зони нижньої частини правого берега Канівського водосховища в 87 м над рівнем моря. Географічні координати: N 49°47.523' E 31°24.878'. Зарослий біотоп був слабо виражений. рН води дорівнювала 7,98, температура – 14,6 °С, а швидкість течії – до 0,5-0,7 м/с.

У межах зарослого біотопу знайдено представників 9 видів зоопланктону: коловертки – 4, гіллястовусі – 3, веслоногі – 2. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону переважали представники копеподного комплексу (в основному, завдяки домінанту *Thermocyclops crassus*): коловертки – *Asplanchna priodonta* (100 екз./м³), *Euchlanis dilatata* (40 екз./м³), *Keratella cochiliris* (80 екз./м³) і *K. quadrata* (20 екз./м³); гіллястовусі – *Bosmina longirostris* (40 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (220 екз./м³) і *Pleoroxus trigonellus* (20 екз./м³); веслоногі – *Cyclops strenuus* (60 екз./м³) і *Th. crassus* (1080 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (20 екз./м³), Ostracoda (120 екз./м³), Diptera larva (80 екз./м³) і Nematoda (500 екз./м³).

На незарослій ділянці в кінцеву сітку потрапили представники 14 видів зоопланктону, серед яких переважав ротаторно-копеподний комплекс: коловертки – 7 видів, гіллястовусі – 2 і веслоногі – 5. За щільністю також помітно переважали представники цього комплексу: коловертки – *A. priodonta* (180 екз./м³), *Brachionus calyciflorus* (80 екз./м³), *K. cochiliris* (40 екз./м³), *K. quadrata* (100 екз./м³), *Polyarthra dolicoptera* (100 екз./м³), *Synchaeta bipalpus* (80 екз./м³) і *Trichotria truncata* (760 екз./м³); гіллястовусі – *B. longirostris* (120 екз./м³) і *Ch. sphaericus* (40 екз./м³); веслоногі – *C. strenuus* (80 екз./м³), *Microcyclops varians* (20 екз./м³), *Th. crassus* (300 екз./м³), *Eurytemora velox* (180 екз./м³) і *Heterocope caspia* (40 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Harpacticoida (20 екз./м³), Ostracoda (20 екз./м³), Chironomidae (20 екз./м³), Diptera larva (20 екз./м³), Nematoda (260 екз./м³) і Tardigrada (120 екз./м³).

Базова станція VI. Зміїні острови. Станція розміщена в межах літоральної зони нижньої частини лівого берега Канівського водосховища в 89 м над рівнем моря. Географічні координати: N 49°50.728' E 31°32.706'. Зарослий біотоп був слабо виражений (біля дна минулорічна рослинність), дно незарослого біотопу піщане. рН води дорівнювала 8,14, температура – 13,7 °С, а швидкість течії – до 0,1 м/с.

У межах зарослого біотопу знайдено представників 13 видів зоопланктону: коловертки – 3, гіллястовусі – 6, веслоногі – 4. За кількісними показниками серед дорослих особин різних груп зоопланктону переважали представники ротаторного комплексу: коловертки – *Euchlanis dilatata* (80 екз./м³), *Keratella quadrata* (80 екз./м³) і *Trichotria truncata* (320 екз./м³); гіллястовусі –

– *Acroperus harpae* (480 екз./м³), *Alona affinis* (240 екз./м³), *Camptocercus rectirostris* (80 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (2200 екз./м³), *Graptoleberis testudinaria* (80 екз./м³) і *Pleoroxus aduncus* (80 екз./м³); веслоногі – *Acanthocyclops viridis* (80 екз./м³), *Eucyclops serrulatus* (160 екз./м³), *Eurytemora velox* (80 екз./м³) і *Heterocope caspia* (80 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Ostracoda (3840 екз./м³), Chironomidae (80 екз./м³) і Nematoda (3700 екз./м³).

На незарослій ділянці в конічну сітку потрапили представники всього 2 видів кладоцер: *Ch.sphaericus* (20 екз./м³) і *G. testudinaria* (20 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Chironomidae (20 екз./м³), Diptera larva (40 екз./м³) і Nematoda (60 екз./м³).

Висновки. 1. Видовий склад зоопланктону Канівсько-го водосховища у весняний період 2006 року був представлений 42 видами. 2. Основні групи зоопланктону в межах 14 станцій мали різну представленість, але загалом по водосховищу вона була майже рівнозначною: коловертки – 15 видів, гіллястовусі ракоподібні – 14, веслоногі ракоподібні – 13. 3. Загалом щільність зоопланктону по водосховищу була низькою (до 1000 екз./м³), хоча в домінантів на окремих станціях

вона була середньою (від 1000 до 10000 екз./м³): Проміжна станція №1 – 5 видів, №2 – 1, №6 – 2, Базова станція V – 1 вид, VI – 1. 4. Тільки в межах незарослого біотопу Проміжної станції №4 домінант мав досить високу щільність (більше 10000 екз./м³) – *Heterocope caspia* (17920 екз./м³).

1. Березина Н.А. Практикум по гидробиологии. – М.: Агропромиздат, 1989. – 208 с. 2. Беспозвоночные и рыбы Днепра и его водохранилищ / Зимбалевская Л.Н., Сухойван П.Г., Черногоренко М.И., Гусынская С.Л. и др. – К.: Наук. думка, 1989. – 248 с. 3. Денисова А.И. Формирование гидробиологического режима водохранилищ Днепра и методы его прогнозирования. – К.: Наук. думка, 1979. – 292с. 4. Жадин В.Н. Методы гидробиологического исследования. – М.: Высшая школа, 1960. – 192 с. 5. Кутикова Л.А. Коловратки фауны СССР. – Л.: Наука, 1970. – 744 с. 6. Мануйлова Е.Ф. Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР. – М. – Л.: Наука, 1964. – 327с. 7. Монченко В.И. Щелепнороті циклоподібні, циклопи. – К.: Наукова думка, 1974. – 450 с. – (Фауна України; Т. 27, вип. 3). 8. Монченко В.И. Свободоживущие циклопообразные копеподы Понто-Каспийского бассейна. – К.: Наукова думка, 2003. – 351 с. 9. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 287 с. 10. Трохимец В.М., Алексієнко В.Р., Серебряков В. В. Методика вивчення розподілу і поведінки зоопланктону та молоді риб у прибережній зоні водоем // Вісник Київського університету (Біологія). – 2001. – № 34. – С. 23 – 26.

Надійшла до редколегії 04.06.09

УДК: 616.34-002

Г. Толстанова, канд. біол. наук

ЛОКАЛІЗАЦІЯ VEGF В ТОВСТІЙ КИШЦІ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ КОЛІТІ

Встановлено, що в нормі основним джерелом VEGF білку є ендотеліальні клітини кровоносних судин, якими добре васкуляризована стінка товстої кишки. При розвитку запального процесу, за умов експериментального виразкового коліту – епітеліальні клітини слизової оболонки товстої кишки та інфільтровані лейкоцити.

The main source of VEGF in normal colon is the endothelial cells of blood vessels which vascularized colonic wall. Development of inflammatory process during experimental ulcerative colitis associated with increased expression of VEGF by epithelial cells and infiltrated leucocytes.

Вступ. VEGF-A – це високо-специфічний фактор росту ендотелію, який стимулює проліферацію, міграцію ендотеліоцитів, формування кровоносної трубки та проникність кровоносних судин, вважається, що саме VEGF-A відіграє провідну роль в патологічному ангіогенезі [3, 4]. VEGF-A належить до родини VEGF, що складається з 5 членів: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, фактору росту плаценти (PlGF) [3]. Всі вони мають загальну структуру по восьми цистеїновим залишкам та опосередковують свою дію через VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR/Flk-1) та VEGFR-3 (Flt-4). VEGFR-1 та VEGFR-2 мають найбільшу спорідненість до VEGF-A. Існують 4 різні ізоформи VEGF-A: VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆ у людей, яким відповідають VEGF₁₂₀, VEGF₁₆₄, VEGF₁₈₈, VEGF₂₀₅ у мишей. VEGF₁₆₅ являється домінуючою формою та часто під VEGF мається на увазі саме VEGF₁₆₅. При запальному процесі VEGF може бути синтезований різними типами клітин, а саме: ендотеліальними, гладко-м'язовими, епітеліальними клітинами, а також макрофагами, нейтрофілами, тромбоцитами, фібробластами, активованими Т лімфоцитами [4, 8].

Роботами останніх років, а також нашими дослідженнями [1, 5, 10] було знайдено позитивна кореляція між експресією VEGF та загостренням протікання хвороби у хворих на запальні захворювання кишечника (ЗЗК) та експериментальних моделях ЗЗК. Ми показали, що у ІЛ-10 нокаутованих мишей, у яких ЗЗК виникає спонтанно та характеризується хронічним протіканням та погіршенням стану з віком, відбувається прямо пропорційне підвищення експресії білку та mРНК VEGF з віком тварини [1]. Не дивлячись на, чисельність даних, щодо підвищеного рівня VEGF при ЗЗК, відомості про його клітинну локалізацію обмежені, також відсутні дані, щодо визначення клітин, які є основним джерелом VEGF при ЗЗК [6, 11]. Мета роботи: дослідити імуногістохімічну локалізацію VEGF в слизовій оболонці товстої кишки

щурів та визначити індекси ступеню прояву позитивного забарвлення на VEGF різними типами клітин в процесі розвитку запалення при експериментальному коліті.

Об'єкт та методи дослідження. Дослідження проведено на щурах самицях лінії Sprague-Dawley вагою 160-200 г. Виразковий коліт викликали одноразовим ректальним введенням 0,1 мл 6%-го розчину йодоацетаміду (Sigma, США) розчиненого в 1%-ному розчині метилцелюлози (Sigma, США) (7 см від анального отвору, використовуючи гумовий катетер S8 (Rüsch, Німеччина)), контрольній групі тварин вводили 0,1 мл 1%-го розчину метилцелюлози [9]. Щурів уживали через 0,5 та 6 год. після введення ІА, видаляли ділянку товстої кишки 7 см від анального отвору та фіксували у 10% буферному формаліні. Зафіксований сегмент товстої кишки обробляли за традиційними гістологічними методами для виготовлення парафінових зрізів.

Імуногістохімічне забарвлення виконували на парафінових зрізах товстої кишки товщиною 3 мкм. Зрізи депарафінізували, обезводнювали та блокували ендогенні пероксидази 3% H₂O₂/H₂O. Відновлення епітопів здійснювали шляхом підігрівання в мікрохвильовій печі використовуючи Dako відновлюючий розчин pH=10.00 (BD Pharmingen, США). Охолодженні зрізи інкубували 12 год. при температурі 4°C з первинним антитілом проти VEGF-A (1:200; Santa Cruz Biothec., США). В якості вторинного антитіла використовували біотинильоване антитіло, з наступною інкубацією в стрептавідин-біотином мічені пероксидази. Для детекції використовували ABC (авідин-біотин-пероксидаза комплекс) метод. Для визначення специфічності первинного антитіла, виконували імуноабсорбцію антитіла як контроль. Імуногістохімічно забарвлені ділянки товстої кишки аналізували на системному мікроскопі Olympus CX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія). Позитивно забарвлені клітини рахували при збільшенні x 400. В кожному пре-

© Толстанова Г., 2010

параті аналізували не менше 5-ти полів зору. Для оцінки результатів імуногістохімічного дослідження тканини на наявність та характер локалізації VEGF білку нами було запропоновано визначення індексів ступеню прояву позитивного забарвлення тканинних структур на зазначений глікопротеїн. Індеси являли собою відношення відсоткового вмісту (%) позитивно забарвлених елементів до відповідних елементів, але з негативним забарвленням. Таким чином підраховували зазначені індекси для епітеліоцитів ($I_{\text{епітеліоцити}}$), лейкоцитів ($I_{\text{лейкоцити}}$) та ендотеліоцитів як структурних елементів судин слизового та підслизового шарів ($I_{\text{ендотелій}}$). Так, $I_{\text{епітеліоцити}} = \% \text{ VEGF-позитивних стовпчастих епітеліоцитів} / \% \text{ VEGF-негативних стовпчастих епітеліоцитів}$; $I_{\text{ендотелій}} = \% \text{ VEGF-позитивних судин} / \% \text{ VEGF-негативних судин}$;

$I_{\text{лейкоцити}} = \% \text{ VEGF-позитивних лейкоцитів} / \% \text{ VEGF-негативних лейкоцитів}$.

Статистичну обробку результатів проводили за t -тестом Ст'юдента. Дані представлені у вигляді $M \pm \sigma$, n – кількість тварин у групі. Статистично значущою для всіх показників вважали різницю $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. В результаті проведеного імуногістохімічного дослідження тканини товстої кишки ми констатували, що особливості синтезу та локалізації VEGF білку корелюють з рівнем функціональної активності зазначеної тканини, а отже відрізняються в нормі та на різних стадіях перебігу запального процесу при експериментальному виразковому коліті. Після введення метилцелюлози (контрольна група) нами відмічалася переважно ендотеліальна локалізація VEGF протеїну (рис. 1Б).

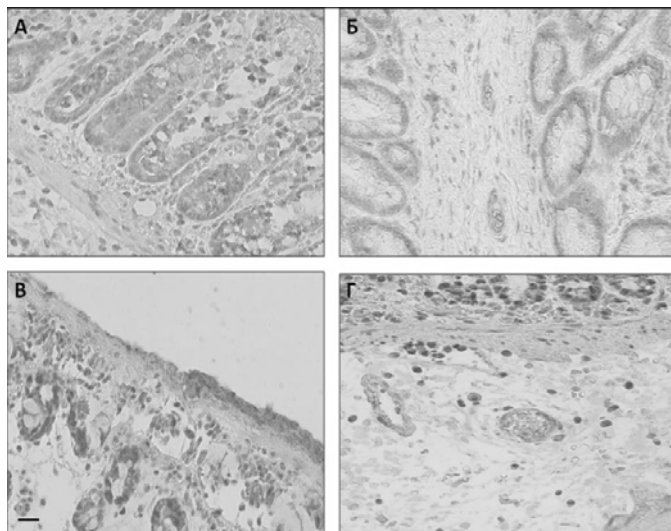


Рис. 1. Імуногістохімічна локалізація VEGF в стінці товстої кишки щурів в різний термін йодоацетамід-викликаного виразкового коліту. А-негативний контроль; Б – 1% метилцелюлоза (норма); 0,5 год. (В) та 6 год. (Г) після введення йодоацетаміду. $n=5$; $X200$, лінійка=25 мкм

Однак, треба відмітити, що ендотеліальні клітини далеко не всіх судин характеризувалися позитивним забарвленням на зазначений білок. Так, індекс ступеню прояву позитивного забарвлення на VEGF для даної локалізації ($I_{\text{ендотелій}}$) склав $1,27 \pm 0,023$. Іншими словами, в середньому лише 56% судин характеризувалися наявністю ендотеліоцитів, які синтезували VEGF. В той же час в кожному препараті відмічались поодинокі лейкоцити з позитивним забарвленням на зазначений глікопротеїн, при цьому відповідний індекс ($I_{\text{лейкоцити}}$) склав в середньому $0,14 \pm 0,072$ при межах коливання індивідуальних показників від 0,10 до 0,47. Внутрішньоепітеліальна локалізація VEGF характеризувалася коливанням показника $I_{\text{епітеліоцити}}$ від 0 (86% препаратів) до 0,08 (14% випадків), що в середньому становило $0,011 \pm 0,003$. При цьому, виходячи з інтенсивності забарвлення, епітеліальні клітини характеризувалися повільним, неактивним синтезом зазначеного глікопротеїну.

На відміну від попередньої групи, при дослідженні тканини товстої кишки через 0,5 год. після введення йодоацетаміду нами було документовано переважно внутрішньоепітеліальну локалізацію VEGF (рис. 1В) зі значенням відповідного індексу – $2,8 \pm 0,004$ ($p \leq 0,5$, відносно контролю). Однак внутрішньоендотеліальна локалізація VEGF також мала місце в усіх досліджених препаратах, проте відповідний індекс був вірогідно нижчим – $0,69 \pm 0,011$ ($p \leq 0,05$, відносно контролю). Крім того, всі препарати зазначеної групи тварин характеризувалися достовірним збільшенням кількості лейкоцитів з позитивним забарвленням на VEGF. Індекс прояву

відповідного забарвлення лейкоцитів при межах коливання від 0,72 до 3,1 в середньому дорівнював $1,56 \pm 0,048$ ($p \leq 0,05$, відносно контролю). Це означає, що майже дві третини всієї популяції лейкоцитів (в середньому 61% клітин) характеризувалися синтезом VEGF.

Імуногістохімічна картина стінки товстої кишки через 6 год. після введення йодоацетаміду виразно відрізнялася від такої попередньої досліджуваної групи за рахунок зміни локалізації VEGF білку. Так, якщо у групі тварин, взяття матеріалу яких відбувалося через 0,5 год. після введення йодоацетаміду, VEGF локалізувався переважно в стовпчастих епітеліоцитах, то через 6 год. відповідно ми відмічали його локалізацію здебільшого в поліморфноядерних лейкоцитах, кількість яких помітно зростає у цей період (рис. 1Г). Так, $I_{\text{лейкоцити}}$ при межах коливання від 4,9 до 10,1 в середньому склав $7,3 \pm 0,026$ ($p \leq 0,05$, відносно 0,5 год. після введення йодоацетаміду). Відповідний індекс для епітеліоцитів при загальному зменшенні кількості зазначених клітин на одиницю площі був дещо нижчим попередньої досліджуваної групи та становив $2,0 \pm 0,091$. Достовірно зменшувався також індекс ступеня прояву позитивного забарвлення ендотеліоцитів на VEGF – в середньому $0,35 \pm 0,007$ ($p \leq 0,05$, відносно 0,5 год. після введення йодоацетаміду).

Отримані нами дані, щодо збільшення експресії VEGF білку інфільтрованими лейкоцитами при 33К, співпадають з даними інших авторів. Так, Гріга та співав. [5] показали, що моноцити пацієнтів з активною формою хвороби Крона чи виразкового коліту продуку-

ють значно більше VEGF в порівнянні з цим показником в період ремісії. Цією ж групою дослідників [6] було встановлено кореляція між імуністохімічним забарвленням для лейкоцитів та VEGF. Відомо, що VEGF, окрім про-ангіогенних властивостей, здатний стимулювати експресію молекул адгезії лейкоцитів і тим самим сприяти акумулюванню лейкоцитів та їх інфільтрації [7]. Отже за умов ЗЗК, створюється своєрідне замкнене коло, коли збільшена експресія VEGF лейкоцитами сприяє ще більшій їх інфільтрації, що призводить спочатку, до пролонгування, а в решті решт, хронізації процесу запалення. Також, ми спостерігали вірогідне збільшення експресії VEGF колоноцитами в перші години розвитку запалення, коли за нормальних умов VEGF переважно експресується ендотеліоцитами. На користь наших даних є дослідження на культурах клітин кишечника (T84, LS174, Caco2/TC7 та INT407) в яких інфікування клітин *E. coli* штамм C1845 призводило до збільшення експресії VEGF білку та мРНК [2].

Висновки. 1. За нормальних умов, основним джерелом VEGF білку є ендотеліальні клітини судин, якими добре васкуляризована стінка товстої кишки. 2. При розвитку запального процесу за умов експериментального виразкового коліту, збільшується експресія VEGF епітеліальними клітинами слизової оболонки товстої кишки та інфільтрованими лейкоцитами.

Подяка Танасійчук І.С. (Інститут сорбції і проблем ендоекології НАН України, лабораторія ендоекології та техногенно-індукованої патології) за допомогу при підготовці статті.

Виконана за рахунок гранту президента України (розпорядження від 17.11.2008р. № 319/2608-рп "Про призначення грантів

Президента України для обдарованої молоді на 2009 рік"). Проект здійснено за кошти гранту.

1. Толстанова Г.М., Берегова Т.В., Остапенко Л.І. Зміни експресії васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) та VEGFR-2 рецептора при експериментальних запальних захворюваннях кишечника // Фізика живого. – 2009. – Т.17, №1. – С.150-154. 2. Cane G., Moal V.L., Pagès G., Servin A.L., Hofman P., Vouret-Craviari V. Up-regulation of intestinal vascular endothelial growth factor by Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli* // PLoS ONE. – 2007. – Vol. 2. – P. 1359. 3. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress // Endocr Rev. – 2004. – Vol. 25. – P. 581-611. 4. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors // Nat Med. – 2003. – Vol. 9. – P. 669-676. 5. Griga T., Gutzeit A., Sommerkamp C., May B. Increased production of vascular endothelial growth factor by peripheral blood mononuclear cells in patients with inflammatory bowel disease. // Eur J Gastroenterol Hepatol. – 1999. – Vol.11. – P. 175-179. 6. Griga T., May B., Pfisterer O., Müller K.M., Brasch F. Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor in colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease // Hepatogastroenterology. – 2002. – Vol. 49. – P. 116-23. 7. Kim I., Moon S.-Ok, Park S.K., Chae S.W., Koh G.Y. Angiopoietin-1 Reduces VEGF-Stimulated Leukocyte Adhesion to Endothelial Cells by Reducing ICAM-1, CAM-1, and E-Selectin Expression // Circ Res. – 2001. – Vol. 89. – P. 477-479. 8. Mor F., Quintana F.J., Cohen I.R. Angiogenesis-inflammation cross-talk: vascular endothelial growth factor is secreted by activated T cells and induces Th1 polarization // J Immunol. – 2004. – Vol. 172. P. 4618-2623. 9. Satoh H., Sato F., Takami K., Szabo S. New ulcerative colitis model induced by SH blockers in rats and the effects of antiinflammatory drugs on the colitis. // Jpn J Pharmacol. – 1997. – Vol. 73. – P. 299-309. 10. Scaldaferrì F., Vetrano S., Sans M., Arena V., Straface G., Stigliano E., Repici A., Sturm A., Malesci A., Panes J., Yla-Herttuala S., Fiocchi C., Danese S. VEGF-A links angiogenesis and inflammation in inflammatory bowel disease pathogenesis // Gastroenterology. – 2009. – Vol. 136. – P. 585-595. 11. Tsiolakidou G., Koutroubakis I.E., Tzardi M., Kouroumalis E.A. Increased expression of VEGF and CD146 in patients with inflammatory bowel disease // Dig Liver Dis. – 2008. – Vol. 40. – P. 673-679.

Надійшла до редколегії 25.05.09

УДК 612.821.83; 612.821

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

ЕФЕКТ НАВЧАННЯ ПРИ БАГАТОРАЗОВОМУ ПРОХОДЖЕННІ ЕМОЦІЙНОГО СТРУП-ТЕСТУ

При багаторазовому проходженні емоційного Струп-тесту із введенням гальмівним подразником ефект навчання проявляється внаслідок поступового зменшення часу реакції на нейтральні подразники, як менш біологічно значущі для організму, тоді як час реакції на емоційні подразники залишається незмінним внаслідок їх вищої біологічної значущості.

Under multiple performance of emotional Stroop test with inhibiting stimulus training effect appears due to successive decrease of reaction time on neutral stimuli as less biologically significant to the organism, while reaction time on emotional stimuli remain without changing due to their higher biological significance.

Вступ. Суть дослідження ефекту Струпа полягає у тому, що обстежуваному подається слово, яке означає певний колір, написане або відповідним кольором (напр., "червоне" – червоним), або білим кольором (нейтральне), або невідповідним кольором ("червоне" – зеленим). При співпадінні семантичного значення і кольору реакції здійснюються найшвидше, при неспівпадінні – найповільніше, при реагуванні на нейтральні подразники латентний період реакції (ЛП) займає проміжне значення. В оригінальному тесті була використана дещо інша методика [9], але саме явище, яке полягає у інтерференції або підсиленні інформаційних потоків, від чого не змінюється. Емоційний ефект Струпа за своїми механізмами, ймовірно, дещо відрізняється від звичайного ефекту Струпа [6]. В будь-якому випадку, і в емоційних Струп-тестах спостерігається взаємодія декількох потоків інформації. Ідея базується на тому, що емоційно значуща інформація довгий час обробляється в нейронних мережах, оскільки вона зачіпає значущі для організму стимули, на відміну від нейтральних [6, 8, 10]. У осіб із різним рівнем креативності інформація теж по-різному обробляється в емоційних системах мозку [7]. Нейронні мережі у осіб із високим рівнем креативності більш розгалужені, що дозволяє генерувати більшу кількість ідей. Особливості тесту, який був нами

використаний для дослідження емоційного ефекту Струпа [2], полягають в тому, що обстежуваний має аналізувати значення слів, на які він реагує, віддиференціюючи гальмівний подразник. Отже, в даному випадку активована когнітивна компонента, яка може пригнічувати емоційну. Нами було показано, що введення гальмівного подразника при дослідженні ефекту Струпа пригнічує цей ефект, і при першому проходженні тесту він не проявляється; при повторних проходженнях тесту емоційний ефект Струпа було виявлено лише для висококреативних обстежуваних [4]. Але постає питання: за рахунок чого проявляється ефект Струпа при його чотириразовому проходженні – за рахунок зміни ЛП реакції на нейтральні подразники, на емоційні подразники, чи на ті і інші? Вирішенню цього питання і присвячена дана стаття.

Об'єкт і методи. Обстежено 60 студентів біологічного факультету віком 18 – 22 роки, 30 чоловіків та 30 жінок. Обстеження проводились за наступними тестами: тест на вербальну креативність "Трійки слів" [1] та тест на вербальну креативність "Незвичне використання предмету" [5]. Для складання каталогу відповідей для тестів "Трійки слів" та "Незвичне використання" було обстежено 128 студентів біологічного факультету віком 18 – 22 роки. Каталог відповідей складався з ме-

тою оцінки вербальної креативності відносно вибірки. Емоційний "Струп-тест" обстежувани проходили чотири рази підряд без перерви [2]. Обстежуваному на екран монітору комп'ютера виводилась інструкція: "Якщо слово на екрані з'явилося ліворуч – натиснути "Q" (ліва рука), якщо праворуч – натиснути "P" (права рука). Якщо рослина – реакція не потрібна". Обстежуваному пред'являється серія з 240 слів. Емоційно-значущі, емоційно-нейтральні слова та назви рослин подавались по чергово зліва і справа від точки фіксації погляду. Аналізувались латентні періоди (ЛП) реакцій на емоційно-значущі та нейтральні слова. Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2001). Нормальність розподілів змінних перевірялась тестом Ліліфора, який є модифікацією тесту Колмогорова – Смірнова. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним $p=0,05$. На графіках позначено: * – відмінність показників з рівнем значущості $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$.

Результати та їх обговорення. Отримані результати представлені на рис.1. За результатами факторного аналізу досліджуваних показників креативності поділ обстежуваних на підгрупи за рівнем креативності проводився за показником "трійки слів, оригінальність" [4]. В даній статті представлені результати реагування на подразники, які подавались справа і на які реакції здійснювались, відповідно, правою рукою. Аналогічні результати були отримані для лівої руки. Найбільші відмінності виявлені між високо- та середньокреативними обстежуваними. Висококреативні обстежувані при всіх чотирьох проходженнях тесту мають довші ЛП сенсомоторних реакцій у порівнянні із середньокреативними, тоді як низькокреативні особи займають за цим показником проміжне значення і не відрізняються від обстежуваних жодної із інших груп за реакцією на нейтральні подразники (див. рис.1).

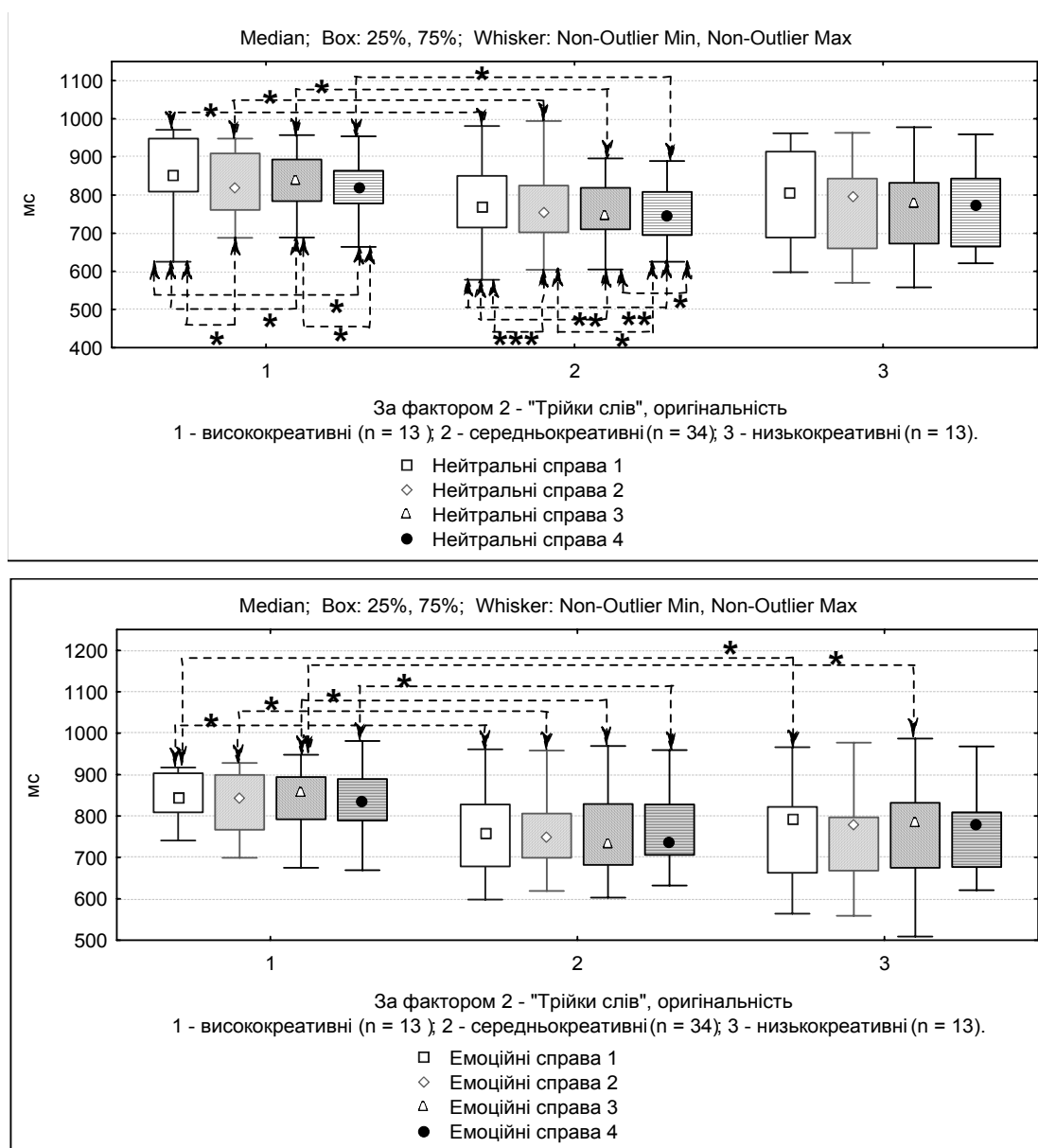


Рис. 1. Відмінності латентних періодів реакції на нейтральні та емоційні подразники (при їх пред'явленні справа) у обстежуваних з різним рівнем креативності при проходженнях емоційного Струп-тесту чотири рази

Ми пояснюємо такий результат найбільшою жорсткістю нейронних мереж низькокреативних обстежуваних і, як наслідок, найбільшою стійкістю обробки інформації. Найдовші ЛП реакцій висококреативних обстежу-

ваних узгоджуються із нашими попередніми результатами [3] і, ймовірно, свідчать про більшу розгалуженість нейронних мереж у осіб даної групи.

При повторних проходженнях тесту відбувається зменшення ЛП реакцій на нейтральні подразники у високо- та середньокреативних обстежуваних (позначення на рис. знизу). Змін ЛП реакцій на емоційні подразники у осіб жодної із обстежуваних груп не відбувається (див. рис.). Отриманий результат свідчить про те, що ефект навчання відбувається саме на нейтральні подразники, на відміну від емоційних, внаслідок вищої біологічної значущості останніх.

Висновки. При багаторазовому проходженні емоційного Струп-тесту із введенням гальмівних подразників ефект навчання проявляється внаслідок поступового зменшення часу реакції на нейтральні подразники, як менш біологічно значущі для організму, тоді як час реакції на емоційні подразники залишається незмінним внаслідок їх вищої біологічної значущості.

1. Воронин А. Н. Интеллект и креативность в ситуациях межличностного взаимодействия: Сб. науч. тр. // Ред.-сост. – М.: РАН. Ин-т психологии. – 2001. – 275 с. 2. Костенко С.С., Кравченко В.І., Макачук М.Ю. Тест для оцінки явища інтерференції під час обробки нерелевантних емо-

ційно значущих стимулів // Науковий вісник Волинського університету імені Лесі Українки. Серія "Біологічні науки". Вип.3. – 2008. – С. 70-73. 3. Куценко Т.В., Артикула А.В. Дослідження зв'язків креативності з психофізіологічними функціями у студентів // Тези конф. "Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології". Київ, 2002. – С.71. 4. Куценко Т.В., Філімонова Н.Б., Новицька О.К. Прояв емоційного ефекту Струпа в осіб з різним рівнем вербальної креативності // Вісник Луганського національного університету "Біологічні науки" Бюлетень Вак України. – 2009. – №24(187). – С. 26-32. 5. Хеллер К. А., Перлет К., Сьервальт В. Лонгитюдное исследование одаренности // Вопросы психологии. – 1991. – №2. – С. 120 – 127. 6. Algom D., Chajut E., Lev Sh. A rational look at the emotional Stroop phenomenon: a generic slowdown, not a Stroop effect // Journal of Experimental Psychology: General. – 2004. – Vol. 133, No. 3. – P. 323–338. 7. Carlsson. I., Wendt P.E., Risberg J. On the neurobiology of creativity. Differences in frontal activity between high and low creative subjects // Neuropsychologia. – Jun 2000. – Vol. 38, № 6. – P.873-885. 8. Strauss G.P., Allen D.N. Test-retest reliability of standard and emotional Stroop tasks: an investigation of color-word and picture-word versions // The Journal of Positive Psychology. – 2002. – P. 105 – 111. 9. Stroop J.R. Studies of interference in serial verbal reactions // Journal of experimental psychology. – 1935, 18. – P. 643-662. 10. Van Strein J.W., Valstar L.H. The lateralized emotional Stroop task: left visual field interference in women // Emotion, 2004. – Vol.4, No.4. – P. 403-409.

Надійшла до редколегії 18.06.09

УДК 573.1

Ю. Юзефович, студ.,
В. Ковальова, канд. біол. наук

МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ШЛУНКОВОГО УЛЬЦЕРОГЕНЕЗУ

У статті зібрані відомості щодо особливостей морфології шлунка в процесі розвитку виразкового захворювання. Описані тонкі механізми та риси патогенезу, регенеративні процеси, висвітлені погляди на можливі причини хронізації патології. Означена необхідність подальших детальних досліджень з метою одержання надійних діагностичних критеріїв та створення ефективних методів лікування.

The article compiles the data on character of gaster morphology during the ulcer disease progression. The delicate mechanisms and features of the pathogenesis, regenerative processes and probable causes of the chonisation of the disease are also described. The necessity of the further detailed investigations to find the reliable diagnostic indications and effective medical treatment is pointed out.

Виразкова хвороба (ВХ) визначається як рецидивуюче захворювання, основною ознакою якого є утворення дефекту в стінці шлунка чи дванадцятипалої кишки (ДПК), що проникає в підслизову основу. Морфологічним субстратом ВХ являються виразка та запалення гастродуоденальної слизової оболонки [1].

Єдиної класифікації ВХ на сьогодні немає. Доцільно використовувати наступну класифікацію, побудовану на основі Уніфікованої клініко-статистичної класифікації хвороб органів травлення, що затверджена МОЗ України в 2004 році:

1. Локалізація: шлунок; ДПК; виразка анастомозу; поєднані.

2. Етіологія: асоційована з *Helicobacter pylori* (Н.р.); неасоційована з Н.р.; симптоматичні виразки (медикаментозні; стресові; виразки внаслідок гіперсекреції – синдром Золлінгера-Еллісона).

3. Стадія захворювання (фаза): активна (загострення); виразка, що рубцюється; стадія рубця; виразка, що тривалий час не рубцюється.

4. Ускладнення: пенетрація, перфорація, кровотеча, стеноз, малігнізація, морфологічні зміни слизової гастродуоденальної зони [1].

Виразки шлунка (ВШ) у 85% випадків бувають поодинокими, в 15% – множинними. В 3% випадків трапляється поєднання ВШ та виразки ДПК [12].

У переважній більшості випадків виразка шлунка при ВХ локалізується на малій кривизні шлунка чи на відстані 2,5 см від неї (65-88% від усіх випадків) у препілоричному та пілоричному відділах, значно рідше – у кардіальному та субкардіальному [3].

За даними М.Оі 95% всіх ВШ розташовуються на малій кривизні в області кута шлунка, на рівні переходу від зони фундальних (власних шлункових) до зони пілорич-

них залоз, в ділянці, обмеженій передніми і задніми косими м'язовими волокнами, де під час скорочення шлунка відбувається найбільше розтягнення стінки.

Розвитку виразок на малій кривизні сприяють також деякі особливості її кровообігу – кровеносні судини тут довші, з тонкими стінками і дуже слабо розвиненою сіткою анастомозів [3].

Лише 5-10% ВШ виникають на великій кривизні [6].

Симптоматичні виразки та виразки, викликані нестероїдними протизапальними препаратами, локалізуються переважно у фундальному відділі шлунка.

Розміри виразки коливаються від кількох міліметрів до 5-6 см і навіть 10 см (так звані "гігантські виразки"), проте переважають у шлунку виразки розміром 10-15 мм. За даними J.Thomas та співавторів середня площа їх складає 491 мм², найбільші виразки розташовані в середній третині шлунка (66,11 мм²), площа виразок в нижній третині значно менша (28,21 мм²). Глибина виразок складає 5-20мм і є не однаковою в різних ділянках [3, 5].

За формою виразки можуть бути округлими, овальними, можуть мати неправильну форму. Зрідка виникають хронічні лінійні виразки на малій кривизні шлунка при вроджених стенозах ворота [3].

Морфологічно слід розрізняти: 1) ерозії та гострі виразки; 2) хронічні виразки; 3) пенетруючі виразки; 4) виразка у фазі загоювання; 5) рубцеві зміни внаслідок загоювання виразки [6].

Ерозії слизової оболонки являють собою поверхневий дефект, що поширюється в межах слизового шару без ураження підслизової основи та м'язового шару. Ерозії, як правило, численні, мають різноманітну форму. Розміри їх коливаються від 1-2 мм до кількох сантиметрів. При мікроскопічному дослідженні в дні і краях ерозивного дефекту спостерігається вузька зона некро-

тизованих тканин, глибше – невелика зона лейкоцитарної інфільтрації. Загоюються ерозії за 3-4 дні, не залишаючи рубців, а при прогресуванні некрозу ерозія перетворюється в гостру виразку [5, 8].

Гостра виразка характеризується дефектом, що поширюється через підслизову основу на глибші шари шлунка, нерідко аж до серозної оболонки. Найчастіше гострі виразки поодинокі. Мають зону некротизованих тканин з переульцерозною лейкоцитарною інфільтрацією, зміненими судинами (паралітичне розширення, стаз, фібринозний некроз стінок). В.П. Буянов виділив два можливих варіанти гострих виразок: плоскі та глибокі. Гостра плоска виразка характеризується вираженою контрастністю по відношенню до оточуючої тканини, її діаметр не перевищує 2 см, вона має округлу чи овальну форму, плоске дно, вкрите білим некротичним нальотом. Поверхня дна гладенька, краї виразки чітко окреслені, поступово переходять у дно. Гостра глибока виразка являє собою дефект слизової оболонки діаметром 1-2 см, інколи зустрічаються гігантські виразки діаметром 3-4 см. Краї виразки високі, обривисті з добре вираженим інфільтративним валом. Запальний набряк та інфільтрація поширюються на оточуючу слизову оболонку. Гострі глибокі виразки найчастіше локалізуються в області кута шлунка. Повна епітелізація гострих виразок відбувається протягом 2-4 тижнів без деформації поверхні слизової оболонки шлунка (СОШ) [5, 7, 8].

При посиленні запальних процесів, відсутності тенденції до загоювання гостра виразка перетворюється на хронічну. Розміри хронічної виразки коливаються від 1-3 до 10 см. В активній стадії вона має завжди округлу чи овальну форму. Інші описані форми, включаючи лінійну, щілиноподібну, неправильної форми, з'являються в процесі загоювання. Відмінною рисою хронічних виразок є (за рахунок розростання сполучної тканини) поступове, прогресуюче ущільнення її країв і дна. Початково ущільнення буває незначним, виразка залишається м'якою (*ulcus simplex*), але надалі розвиток сполучної тканини стає все більше вираженим, остання склеротизується, і краї виразки стають твердими, щільними (*ulcer callosum*) [5, 6].

Краї хронічної виразки зазвичай високі, рівні, чітко окреслені, схили кратера виразки обривисті. Вертикальна вісь (по відношенню до стінки шлунка) зазвичай змещена до кардії і тому проходить дещо нависі (тому на поперечному розрізі виразка має вигляд зрізаної піраміди, вузький кінець якої звернений у бік стравоходу). Край, звернений до входу у шлунок, підритий, і слизова оболонка нависає тут над виразковим дефектом (вона може навіть повністю закривати дрібні виразки). Протилежний край пологий, має вигляд тераси, сходинки якої утворені шарами стінки: слизовою оболонкою, підслизовим і м'язовим шарами. Такий вигляд країв пояснюється зміщенням шарів при перестальтиці шлунка, що йде від стравоходу до воротаря. Нерідко краї виразок виглядають симетричними. Зустрічається і протилежна картина, коли пілоричний край підритий, а кардіальний – пологий. Ймовірно причиною цього може слугувати неправильна перестальтика. До виразкового дефекту сходяться (конвергують) потовщені складки слизової оболонки [3, 12].

Внаслідок вираженого переульцерозного запалення поблизу виразки слизова оболонка характеризується набряком та гіперемією, має вигляд припіднятого валика, який чітко відмежований від оточуючої слизової і здійснюється над нею. Зона гіперемії звичайно ширша від набряклого запального валу. Слизова оболонка довкола виразки надмірно вразлива, тому може кровоточити [8]. На гістологічному рівні відмічені зміни у спів-

відношенні товщини шару слизової та підслизової оболонок у переульцерозній зоні, що проявляються збільшенням товщини останньої. Це пов'язують зі склеротизацією та гіалінізацією підслизової основи, що сприяє хронізації виразкового дефекту [13]. По мірі віддалення від виразкового дефекту слизова оболонка набуває вигляду, характерного для даного відділу шлунка. Глибина виразки буває різною, дно вкрите білим чи жовтуватим сірим нальотом, але при виразкових кровотечах може бути геморагічним.

Різновидом хронічної виразки є пенетруючі виразки, що проникають крізь усі шари стінки шлунка і утворюють перфорації, але не у вільну черевну порожнину. В такому випадку дно виразки зливається з іншими сусідніми органами; утворюється так зване "нове дно", що формується з тканин іншого органу. Таким чином виразка проникає у відповідний найближче розташований орган (підшлункова залоза, печінка) [6].

Мікроскопічна картина хронічних виразок відрізняється в різні періоди протікання хвороби (загострення та ремісії).

У дні виразки при загостренні розрізняють 4 зони, описані ще у 1922 році М. Askanazi: ексудації, фібриноїдного некрозу, грануляційної тканини і рубця.

Зона ексудації являє собою поверхневий шар шириною приблизно 1-2 мм, утворений безструктурними некротичними масами, слизом, фібрином, десквамованим епітелієм, лейкоцитами та еритроцитами.

Глибше розташована зона фібриноїдного некрозу. Фібриноїдний некроз вважається одним із наслідків фібриноїдного набухання і характеризується повною деструкцією волокон і основної речовини сполучної тканини з макрофагальною реакцією по периферії. У ході фібриноїдного набухання формується фібриноїд, головними факторами морфогенезу якого являються деструкція колагенових волокон, зміна полісахаридного складу основної речовини сполучної тканини та підвищення проникності судин [3].

Л.І. Аруін та співавтори в зоні фібриноїдного некрозу виділили два шари: поверхневий і глибокий. З них лише поверхневий шар є некротичним (має структуру окремо розташованих брилок, дифузно інфільтрований макрофагами та нейтрофілами), а глибокий, розташований на грануляційній тканині чи на рубці, являє собою фібриноїд, утворений сплетінням колагенових фібрил та елементів фібрину разом із вцілілими клітинами сполучної тканини (фібробластами, до 30% яких зазнає повної деструкції, та міофібробластами). У зв'язку з відносною структурною цілісністю більшості клітинних елементів Л.І. Аруін пропонує називати глибокий шар зони фібриноїдного некрозу фібриноїдним набуханням.

Існує чіткий градієнт змін від глибоких до поверхневих шарів зони фібриноїдного некрозу, поступово збільшується ступінь клітинної деструкції, а також деструкції і лізису колагенових фібрил і волокон, змінюється співвідношення фібрин/колаген на користь фібрину, зменшується вміст організованого фібрину, збільшується число нейтрофілів та макрофагів. Це свідчить про те, що некротичні зміни настають у напрямку до просвіту шлунка, а фібриноїдне набухання переходить у фібриноїдний некроз.

Зазначене вище розташування шарів трапляється найчастіше, однак в окремих випадках спостерігаються й інші варіанти: 1) інвертне розташування (поверхневий шар – фібриноїдне набухання, глибокий шар – фібриноїдний некроз); 2) тришарова структура: фібриноїдне набухання, некроз, фібриноїдне набухання; 3) вся зона представлена фібриноїдним некрозом; 4) вся зона представлена фібриноїдним набуханням.

Значення фібриноїда в ділянці дна виразки неоднозначне. Він перешкоджає повноцінній епітелізації виразкового дефекту, з одного боку, з іншого – забезпечує захист позбавленої слизової оболонки стінки шлунка. Таким чином, формується механізм, що хоч і оберігає стінку шлунка від повного руйнування, але поряд з тим слугує однією з головних причин хронічного перебігу ВХ [4].

Третя зона утворена грануляційною тканиною з великою кількістю властивих їй вертикальних судин і фібробластів з різним ступенем прояву лімфоплазматичної інфільтрації та склерозу.

На початкових етапах формування грануляційна тканина представлена запальними клітинами і макрофагами, пізніше до них приєднуються і фібробласти. Клітини сполучної тканини секретують компоненти екстрацелюлярного матриксу. Починаються процеси ангіогенезу (новоутворення мікросудин). За даними А.Б. Шехтера та співавторів поверхневий шар грануляційної тканини має декілька різновидів, що відрізняються ступенем зрілості. Там, де грануляційна тканина розташовується безпосередньо під зоною ексудату, вона характеризується найменшою зрілістю і найбільшим ступенем запальних проявів. Спостерігається виражений набряк, фібриозна ексудація і нейтрофільна інфільтрація. Добре виражена лімфоцитарна інфільтрація, серед лімфоцитів переважають Т-хелпери.

У дні виразки, в зоні грануляційної тканини розташовані лише поодинокі клітини, що містять IgA, IgM, IgG. В зоні склерозу дна виразки, а також між м'язовими волокнами виявлені скупчення клітин, що секретують тільки IgA та IgG.

Більш зріла грануляційна тканина міститься під зоною фібриноїда. Набряк і запальна інфільтрація тут виражені значно менше. Стінки судин товстіші, частіше зустрічається міграція лейкоцитів і моноцитів. Збільшується кількість зрілих диференційованих форм фібробластів з активною колагенпродукуючою функцією.

Найбільш диференційована грануляційна тканина виявляється в краях виразки під регенеруючим епітеліальним пластом. При імуноморфологічному дослідженні в найбільш зрілій грануляційній тканині переважання Т-хелперів серед лімфоцитів не виявлено, а в краях виразки навіть превалюють Т-супресори. Можливо, таким шляхом здійснюється регуляція росту та дозрівання сполучної тканини, тобто репаративний процес у виразці.

Глибокий шар грануляційної тканини у всіх виразках має однакову будову, хоча товщина його коливається в широких межах. Він представлений зрілою грануляційною тканиною, утвореною переважно пучками колагенових волокон, орієнтованих у горизонтальному напрямку чи хаотично переплелих. З наближенням до зони рубця упаковка колагенових волокон стає щільнішою. Загальний вміст судинних та клітинних елементів зменшується. Клітинна інфільтрація незначна, переважають лімфоцити, плазматичні клітини і макрофаги. Знижується також і вміст фібробластів.

Четверта зона представлена сполучною тканиною різної зрілості (зона рубця). Вона завжди поширюється далеко за межі самого виразкового дефекту, проникаючи в підслизову й субсерозну основу, між волокнами власної м'язової оболонки, викликаючи її склероз і своєрідну фрагментацію.

За структурою та гістохімічними особливостями в рубцевій тканині виділяють стабільні та нестабільні зони. Стабільний рубець складається зі щільних колагенових пучків з невеликою кількістю глікозаміногліканів і містить помірне число фібробластів, серед яких переважають неактивні форми – фіброцити. У порівнянні з

зоною грануляційної тканини значно збільшується число фіброкластів, що грають важливу роль у ремоделюванні рубця. В крайових зонах відмічені міграція та проліферація фібробластів і активна продукція ними колагену, за рахунок чого може йти ріст рубцевої тканини за межі проекції виразки.

Ділянки нестабільного рубця характеризуються підвищеною деструкцією фібробластів, розриванням та деструкцією колагенових волокон, дистрофією та десквамацією ендотелію мікросудин, набуханням та багат шаровістю базальних мембран. Тут спостерігаються ознаки повторного формування грануляційної тканини. Такі ділянки стають осередками пролонгованого хронічного запалення.

В зоні виразкового дефекту в усіх випадках значних змін зазнають кровоносні судини та нервові волокна. Найбільш ураженими виявляються кровоносні судини в області дна, по краях виразки та в ділянках, що до неї дотикаються. Артерії зазнають запальної інфільтрації, фібринозного некрозу, тромбозу, змін, що властиві продуктивному ендартерейту. При цьому вони деформуються, набувають звивистої форми, стінки їх потовщуються, а просвіт звужується (внаслідок гіперплазії інтими, набухання ендотелію). Пізніше виникає гіпереластоз за рахунок розростання внутрішньої еластичної мембрани, місцями гіпертрофується медія, місцями вона атрофується і зникає. У венах виникає виражений склероз стінок, гіпереластоз і звуження просвіту. Зміни судин в зоні виразки є вторинними, але, виникнувши, вони порушують кровопостачання уражених ділянок, що може слугувати однією з причин, що перешкоджають загоєнню виразки [3, 11].

В інтрамуральних сплетіннях відмічені вакуолізація цитоплазми, пікноз ядер гангліозних клітин, лімфоїдноклітинна інфільтрація. Постійно розростаються нервові волокна по типу ампутаційних невром [3]. Патологічні зміни нейронів інтрамуральних гангліїв, фрагментація і руйнування нервових волокон спостерігаються, хоч і меншою мірою, не лише в ділянці виразкового дефекту, а й у СОШ в пілороантральному відділі і на малій кривизні [2].

ВХ шлунка в усіх випадках супроводжується змінами у слизовій оболонці на віддалі від виразки, поширення яких і ступінь вираженості залежить від локалізації виразки.

При ВХ зустрічається локалізований, рідше генералізований запальний процес. Зовні це виявляється рядом ознак: внаслідок запального процесу шлункові поля сплющуються, шлункові ямки здавлюються, борозенки між шлунковими полями стають вузькими і дрібними, оскільки заповнюються запальним ексудатом і нальотом фібрину, що надає слизовій оболонці своєрідний вигляд (яскраво-рожеві шлункові поля, оточені ніжними білими смужками). У ряді випадків виявляються ділянки атрофії слизової оболонки, переважно в переульцерозній зоні (при цьому слизова має дрібноплямистий вигляд, на рожевому фоні чітко помітні заглиблення округлої форми сірувато-білого кольору, що мають гладеньке дно і добре помітні кровоносні судини). На фоні атрофії нерідко трапляються ділянки гіперплазії. Зазначені ознаки є проявом гастричних змін слизової оболонки.

Поверхневий гастрит діагностується при виявленні дистрофічних змін покривного епітелію слизової оболонки і його сплюсненні, нечіткості міжклітинних меж і поліморфноклітинній інфільтрації, яка інколи виявляється навіть у власному шарі слизової на рівні ямок. Спостерігається деяке збільшення ШИК-позитивних речовин в клітинах поверхневого та ямкового епітелію. При хронічному гастриті з ураженням залоз без атрофії (інтерстиціальний гастрит) описані вище зміни більш вираже-

ні і розповсюджуються на залозистий апарат СОШ. Поряд із дистрофічними змінами у головних та обкладових клітинах спостерігається їх мукоїдизація. Хронічний атрофічний гастрит без перебудови залоз характеризується потоншенням слизової оболонки, зменшенням числа шлункових залоз і маси спеціалізованих клітин в них. Різко потоншується шар ШИК-позитивних речовин, що вказує на порушення слизоутворюючої функції покривного епітелію. При хронічному атрофічному гастриті з перебудовою епітелію спостерігається патологічна регенерація, яка перш за все проявляється у формі кишкової метаплазії (на місці шлункових залоз утворюються кишкові крипти). Перебудові залоз зазвичай передусє перебудова поверхневого епітелію. Атрофія та метаплазія при ВХ локальна, переважно з ураженням слизової оболонки в преульцерозній зоні та пілоричному відділі шлунка. Часто атрофічні процеси в СОШ, особливо у вихідному відділі шлунка, супроводжуються гіперпластичними процесами (атрофічний гіперпластичний гастрит) [8].

При локалізації виразки в тілі шлунка спостерігаються дифузні атрофічні зміни слизової оболонки цього відділу, в антральному відділі часто діагностується хронічний дифузний гастрит. При виразці антрального відділу атрофічний процес слизової локалізується переважно в антральному відділі, в тілі шлунка гастрит при цьому відсутній або ж спостерігається картина поверхневого гастриту. Чим ближче розташована виразка до воротаря, тим сильніші і необоротніші атрофічні зміни слизової оболонки вихідного відділу шлунка. Атрофія слизової оболонки при цьому поєднується з гіперплазією гладеньком'язевих клітин (ГМК), що витісняють пілоричні залози. Виникають різні форми перебудови залозистого епітелію, включаючи кишкову метаплазію. Вираженість гастричних змін з віддаленням від виразки, як правило, зменшується, особливо в тілі шлунка. Однак в пілоричному відділі шлунка незалежно від локалізації виразки структурні та запальні зміни у всіх випадках значно більше виражені. При розповсюдженні атрофічного гастриту на верхню третину і фундальний відділ шлунка відмічають загоювання виразкового дефекту антрального відділу шлунка [5,7,8].

За допомогою гістоензимологічних та електронномікроскопічних методів в СОШ при ВХ виявлено зміни активності ряду ферментів та ультраструктурної організації клітин слизової. Так при ВХ активується лізосомальний апарат клітин, тобто збільшується кількість елементів лізосомальної системи (пухирців Гольджі першого порядку, первинних і вторинних лізосом), а також з'являються численні дрібні осередки сегрегації та мієлінові фігури, що являються залишками субклітинних органел, недорозщепленими лізосомальними протеазами, і підвищується активність лізосомальних ферментів – кислій фосфатази та арилсульфатази. При чому вище зазначені явища спостерігаються в генеративній зоні і зоні тіл головних залоз шлунка, де знаходяться молоді та найбільш функціонально активні клітини, що свідчить про катаболічну спрямованість метаболічних процесів у СОШ. Крім того, при ВХ порушуються процеси енергоутворення в слизовій оболонці, про що свідчить порушення ультраструктурної організації мітохондрій (набухання і просвітлення матриксу, редукція крист) в клітинах слизової та зниження активності ферментів, що забезпечують аеробне окиснення: сукцинатдегідрогенази і меншою мірою цитохромоксидази на фоні підвищення одного з основних ферментів гліколізу – лактатдегідрогенази. Виявлено також зниження активності АТФази та лужної фосфатази в СОШ в ході розвит-

ку виразкового дефекту, що вказує на порушення функціонування капілярної сітки мікроциркулярного русла. Отже, переважання катаболічних процесів, гіпоксія, порушення мікроциркуляції знижують резистентність СОШ, що стимулює патологічні процеси при ВХ [9, 10].

Насьогодні відомо, що Н.р.-асоційовані виразки характеризуються складним каскадом порушень секреторної функції шлунка. Морфологічно це проявляється змінами, що відбуваються із HCl-секреторними елементами шлункових залоз. Так у частини хворих прогресує гіперплазія G-клітин і гіпергастринемія, збільшується дефіцит D-клітин в антральному відділі. Тривала гастринемія призводить до гіперплазії ECL-клітин, збільшення синтезу гістаміну і до наступної стійкої гіперхлоргідрії – важливої причини формування виразки. Крім того, у хворих на ВХ збільшена кількість парієтальних клітин і чутливість їх рецепторів до гастрину [1].

Внаслідок послаблення дії пошкоджуючих факторів у зоні виразкового дефекту можуть активізовуватися регенеративні процеси, що призводить до загоєння виразки. Однак повного структурно-функціонального відновлення СОШ не відбувається [11]. Такий тип регенерації отримав назву субституції [3].

Виразка у фазі загоєння характеризується зменшенням периульцерозного запального валу, інколи помітна в оточуючій слизовій оболонці конвергенція складок. Змінюється форма виразки: вона нерідко приймає овальну та щілоподібну форму, поділяється на кілька дрібніших виразок, зменшується її глибина. Виразка стає більш поверхневою як внаслідок зменшення набряку та гіперемії оточуючої слизової, так і завдяки розростанню грануляційної тканини в її дні. Загоєння супроводжується відторгненням частин фібринозного нальоту, при цьому грануляційна тканина викривається циліндричним епітелієм, що наповзає з країв у напрямку до центру [8]. Регенерувати може і м'язова пластинка СОШ. Власна м'язова оболонка стінки шлунка не відновлюється, а заміщується фіброзною тканиною, серед якої зустрічаються групи ГМК [11].

Поствиразковий рубець найчастіше характеризується появою на місці кратера виразки ніжних блискучих рожевих гладеньких вгнаний чи підвищень у вигляді зірчастого чи лінійного рубчика. Це так званий незрілий "червоний рубець" – свіжий, з великою кількістю судин, гіперемований поствиразковий рубець, утворений грануляційною тканиною. З'являються незрілі залози типу псевдопілоричних. Згодом грануляційна тканина заміщується волокнистою сполучною тканиною, рубець набуває білого кольору (стадія зрілого "білого рубця"). Як правило, в цій фазі загоювання виразок ознаки запалення відсутні або мінімальні. Найчастіше рубцювання хронічних виразок призводить до видимого порушення рельєфу слизової оболонки, однак грубі спотворюючі рубці, що викликають деформацію стінки органу, зазвичай бувають результатом лише частих загострень і загоювання глибоких хронічних виразок. Для хронічних, тривалий час існуючих і рецидивуючих виразок, в краях яких багато фіброзної тканини, не є властивою повна епітелізація. Якщо навіть у подібних випадках відбувається епітелізація виразки, то під епітелієм зберігаються ділянки запалення і лейкоцитарної інфільтрації [3, 7, 8].

Растрова електронна мікроскопія на місці загоєння виразок виявляє розширені ямки, що мають вигляд кратерів, оточених гребенями зменшених в об'ємі епітеліоцитів, майже повністю позбавлених мікрроворсинок. Зустрічаються і більш широкі кратери, в які відкриваються по 3-4 ямки, розділені сплосченими валиками. Над центральними відділами таких виразок нависає

слизова оболонка, від якої відходять тонкі тяжі, що мають хвилясті контури [3].

Як видно з літературних даних, на сьогодні накопичено великий обсяг інформації у галузі патоморфології ВШ. Останнім часом досягнуті значні успіхи у вивченні різних аспектів етіології, патогенезу та лікування ВХ. Але попри незліченну кількість досліджень, наукових праць та публікацій, присвячених цьому захворюванню, попри те, що критерії діагностики є добре відомими і запропонована величезна кількість засобів і методів лікування, все ж залишається широке коло не вирішених та суперечливих питань, продовжує зростати рівень захворюваності на ВХ. Нез'ясовані остаточно причини виразкоутворення, тонкі механізми ульцерогенезу, особливості будови, патологічні зміни структури стінки шлунка, що сприяють розвитку та хронізації даного дефекту, фактори, що перешкоджають епітелізації та повноцінному загосненню виразкового ураження, характерні ознаки СОШ при передвиразковому стані. Дослідження особливостей формування ВШ відкриває перспективу пошуку нових, ефективніших засобів та методик комплексного лікування хвороби, отримання додаткових і більш надійних діагностичних критеріїв уражен-

ня, необхідних для створення нових і удосконалення існуючих методів діагностики.

1. Дубінін С.І., Харченко О.В. Морфологічні зміни нейронів інтрамуральних гангліїв підслизового сплетіння шлунка хворих на хронічну виразку шлунка // Вісник проблем біології і медицини. – 2001. – №5. – С. 44-48.
2. Харченко Н.В., Бабак О.Я. Гастроентерологія. – К.: 2007. – 720 с.
3. Аруин В.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Трида-Х, 1998. – 496 с.
4. Аруин Л.И., Шехтер А.Б., Милованова З.П., Городинская В.С. Фибриноид и фибриноидный некроз в морфогенезе хронических язв желудка // Архив патологии. – 1989. – № 12. – С. 16-22.
5. Богер М.М. Язвенная болезнь. – Новосибирск: Наука, 1986. – 256 с.
6. Василенко В.Х., Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Язвенная болезнь. – М.: Медицина, 1987. – 288 с.
7. Григорьев П.Я. Диагностика и лечение язвенной болезни желудка и двенадцатипалой кишки. – М.: Медицина, 1986. – 277 с.
8. Дегтярева И.И., Матвиенко А.В., Родонезская Е.В. Морфологические изменения слизистой оболочки желудка у больных язвенной болезнью // Врачебное дело. – 1984. – № 11. – С. 84-87.
9. Дегтярева И.И., Харченко Н.В. Язвенная болезнь (современные аспекты диагностики и лечения). – К, 1996. – 333 с.
10. Дмитриев И.В., Доросевич А.Е. Морфологические и морфогенетические особенности язвенной болезни желудка // Архив патологии. – 1996. – №5. – С. 74-78.
11. Комаров Ф.И., Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Руководство по гастроэнтерологии. – М.: Медицина, 1995. – 672 с.
12. Масевич Ц.Г., Рысс С.М. Болезни органов пищеварения. – Л.: Медицина, 1975. – 688 с.
13. Щербинина М.Б., Короленко А.С. Язвенная болезнь желудка: особенности морфогенеза // Морфология. – 2007. – №1. – С. 124-129.

Надійшла до редколегії 19.02.09

УДК 576.3

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

ВПЛИВ АЛОГЕННОЇ ПЛАЗМИ НА МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛІНІЇ КЛІТИН RK-13

В роботі було проведено комплексний порівняльний морфологічний та морфометричний аналіз клітин культури RK-13, культивованих на скляному та пластиковому субстратах у середовищі DMEM з додаванням ембріональної телячої сироватки або інактивованої та неінактивованої алогенної плазми. При культивуванні у середовищах, що містили алогенну плазму було виявлено появу нетипових морфологічних форм, утворення атипичних конгломератів та зміну ядерно-цитоплазматичного співвідношення.

Complex comparative morphological and morphometrical analysis of RK-13 cell culture that was grown on glass and plastic substrate in DMEM supplemented with fetal calf serum or inactivated and non-inactivated allogeneic plasma were performed in present work. RK-13 cells cultured in media which contained allogeneic plasma had changed the nuclear cytoplasmic rate along with the appearance of atypical cell forms and cell conglomerates.

Вступ. Для підтримання морфо-фізіологічної стабільності клітинних культур є важливим не лише підбір основного поживного середовища, але й застосування спеціальних біологічних рідин, що містять ростові фактори та гормони. Однак при застосуванні таких додатків виникає ряд проблем, пов'язаних зі стандартизацією, оскільки їх якісний склад відрізняється у різних партіях комерційного продукту [8], генетичною чужорідністю та можливістю контамінації. Крім того сироватка заважає тестуванню впливу на клітини різноманітних хімічних сполук, оскільки здатна взаємодіяти з ними. В такому випадку постає необхідність у застосуванні безсироваткових поживних середовищ [7, 4, 1], які, однак, виявляються не здатними підтримувати постійний рівень проліферації та колонієутворення [5].

Для уникнення цих проблем розробляються численні підходи, в тому числі, розглядається можливість використання аутологічних та алогенних біологічних рідин. Так, наприклад, при культивуванні на середовищах з аутологічною плазмою кордової крові CD34⁺-клітин була показана їх спроможність зберігати здатність до більш широкої диференціації ніж при культивуванні на плазмі дорослої крові [2].

Крім того аутологічна плазма знайшла своє застосування при культивуванні трансплантатів рогівки, ротового епітелію та фібробластів шкіри людини, які давали нормальний ріст та цитоархітектоніку [6]. До того ж

виявлена здатність аутологічної плазми довгий час підтримувати життєздатність клітин, не здатних до поділу, що було показано при роботі зі здоровими та хворими на уремію донорами [3].

Метою даної роботи було визначення впливу різних концентрацій термічно інактивованої та неінактивованої алогенної плазми на морфо-фізіологічні характеристики лінії клітин RK-13.

Матеріали та методи. Алогенна плазма була отримана від здорового кроля за стандартною методикою. Термічна інактивація проводилась впродовж 30 хвилин при 58°C.

Клітини лінії RK-13 культивувалися у базовому середовищі DMEM без додатків протягом доби. На другу добу частина матеріалу фіксувалась для використання в якості добового контролю. Інша частина культивувалась протягом ще трьох діб у середовищах, що містили 5% та 15% інактивованої або неінактивованої плазми на скляному та пластиковому субстратах (контрольна культура культивувалась у середовищі з 10% ембріональної телячої сироватки (ЕТС)).

Для проведення морфо-фізіологічного аналізу стану культур використовувалось забарвлення за методом Романовського-Гімза з деякими модифікаціями.

Результати та їх обговорення. В результаті проведення морфометричного аналізу клітин RK-13 контрольних та дослідних культур був визначений характер змін їх ядерно-цитоплазматичного співвідношення (ЯЦС) (табл. 1).

Отримані результати свідчать про збільшення ЯЦС у контрольних культурах після 4-добового культивування в порівнянні з першою добою. У культивованих з 5% інактивованої плазми на скляному субстраті клітин ЯЦС зростало в порівнянні з контрольними 4-добовими культурами, тоді як на пластиковому субстраті – зменшувалося. При культивуванні клітин в 15% інактивованої плазми достовірної зміни їх ЯЦС не виявлено, хоча спостерігалась тенденція до його збільшення у культурах вирощених на скляному субстраті та зменшення – на пластиковому. У клітин, культивованих у 5% неінактивованої плазми на скляному субстраті спостерігалась лише тенденція до зменшення їх ЯЦС, тоді як на пластиковому – достовірне збільшення порівняно з 4-добовим контролем. При культивуванні клітин у 15% неінактивованої плазми на скляному та пластиковому субстраті достовірних змін ЯЦС не виявлено, лише тенденція до зменшення у першому та зростання – у другому випадках.

Аналіз морфологічних особливостей культур клітин лінії RK-13, вирощених на різних субстратах, показав,

що при культивуванні на середовищі DMEM з додаванням різних концентрацій інактивованої та неінактивованої алогенної плазми утворювались нетипові форми клітин. Так при застосуванні 5% інактивованої плазми та вирощуванні на скляному та пластиковому субстратах, спостерігались формування клітинами довгих тонких відростків та поява нетипових дрібних, багатоядерних, гігантських та вакуоляризованих клітин. Серед клітин, культивованих на пластиковому субстраті частіше зустрічались розпластані та багатокутні форми. При культивуванні з 15% інактивованої плазми на скляному субстраті клітини, що формували тонкі тяжі мали близьку до прямокутної форму та були короткими, а при щільному рості – мали видовжену та багатокутну форму. Для клітин, культивованих на пластиковому субстраті, були характерні всі морфологічні особливості культивованих на склі клітин, але частіше зустрічались багатоядерні клітини та клітини з вакуолею.

Таблиця 1. Зміни ядерно-цитоплазматичного співвідношення клітин під дією алогенної плазми

Назва групи	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення
контроль 1 доба	0,246±0,009
контроль 4 доба	0,347±0,007*
5% інактивованої плазми, скляний субстрат	0,378±0,008°
5% інактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,316±0,007°
15% інактивованої плазми, скляний субстрат	0,381±0,016
15% інактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,329±0,007
5% неінактивованої плазми, скляний субстрат	0,328±0,008
5% неінактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,376±0,010°
15% неінактивованої плазми, скляний субстрат	0,326±0,012
15% неінактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,356±0,009

Примітка: дані є статистично достовірними при $p \leq 0,05$.

* – в порівнянні з контролем 1 доби

° – в порівнянні з контролем 4 доби

При культивуванні у 5% неінактивованої плазми на скляному субстраті зустрічались короткі та видовжені клітини близької до прямокутної форми, а також дрібні клітини з кількома тонкими відростками, зовсім округлі, багатоядерні нормальних розмірів та нетипові гігантські багатоядерні та одноядерні клітинні форми. У культурах з пластикового субстрату часто зустрічались клітини нормальних розмірів з багатьма дрібними ядрами та одиночні клітини з 2-3-ма довгими тонкими відростками. При культивуванні у 15% неінактивованої плазми переважали багатоядерні видовжені клітини.

При культивуванні у 5% інактивованої плазми спостерігалось утворення видовжених клітинних конгломератів у вигляді ланцюжків, товщиною в 1-3 клітини. При культивуванні з 15% інактивованої плазми на скляному субстраті клітини найчастіше формували "ланцюжки", товщиною в клітину та конгломерати з кількох клітин з довгими тонкими відростками. Клітини з пластикового субстрату не росли суцільним шаром, а формували "мережу ланцюжків", що переплітаються. У культурах, що були оброблені 5% неінактивованої плазми і росли на скляному субстраті короткі прямокутної форми клітини формували довгі "ланцюжки". Клітини з пластикового субстрату росли не суцільним шаром, а формували дрібні скупчення відростатих клітин або мережу "ланцюжків". При культивуванні у 15% неінактивованої плазми клітини видовжуються, формуються тяжі паралельно направлених видовжених клітин.

Висновки. Дані, отримані в результаті морфологічного та морфометричного аналізу дають можливість припустити наявність цитотоксичного ефекту високих концентрацій (5%-15%) алогенної плазми та вказують на його відсутність у 10% ембріональної телячої сироватки.

1. Amit M., Shariki C., Margulets V. Feeder layer- and serum-free culture of human embryonic stem cells // *Biol Reprod.* – 2004. – Vol.70. – P.837–845.
2. Borrás F E, Matthews N C, Patel R., Navarrete C. Dendritic cells can be successfully generated from CD34+ cord blood cells in the presence of autologous cord blood plasma. // *Nature.* – 2000. – Vol. 26. – № 4. – P. 371–376.
3. Cendorglo M., Jaber B. L., Balakrishnan V. S., Perianayagam M., King A. J. Neutrophil Apoptosis and Dysfunction in Uremia. // *J Am Soc Nephrol.* – 1999. – № 10. – P.93–100.
4. Li Y., Powell S., Brunette E. Expansion of human embryonic stem cells in defined serum-free medium devoid of animal-derived products. // *Biotechnol Bioeng.* – 2005. – № 91. – P.688–698.
5. Meda M., Noda K., Tanakai K., Yamane I., Matsuya Y. Cultivation of V79 Cells in Serum-Free Medium Containing Bovine Serum Albumin and the Use of Gelatin as an Attachment Factor. // *Tohoku J. exp. Med.* – 1983. – № 141. – P. 99–106.
6. Nakamura T., Ang L. P. K., Rigby H., Sekiyama E., Inatomi T. The Use of Autologous Serum in the Development of Corneal and Oral Epithelial Equivalents in Patients with Stevens-Johnson Syndrome // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2006. – № 47. – P.909–916.
7. Shipley G. D., Ham R. G. Improved medium and culture conditions for clonal growth with minimum serum protein and for enhanced serum-free survival of Swiss 3T3 cells. // *In Vitro.* – 1981. – Vol.17. – P.656–670.
8. Zheng X., Baker H., Hancock W.S. Proteomic analysis for the assessment of different lots of fetal bovine serum as a raw material for cell culture. Part IV. Application of proteomics to the manufacture of biological drugs. // *Biotechnol Prog.* – 2006. – Vol.22. – P.1294–1300.

Надійшла до редколегії 03.06.09

УДК 576.3

О. Маслова, студ., Н. Скрипник, доц.,
О. Дерябіна, доц., М. Дзержинський, проф.

ВПЛИВ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ НА ФЕНОТИПОВІ ОЗНАКИ КУЛЬТУР КЛІТИН HEK293

В роботі було проведено комплексний порівняльний морфологічний та морфометричний аналіз клітин культури HEK 293, культивованих на середовищі DMEM з додаванням ембріональної телячої сироватки, збагаченої тромбоцитами плазми та інактивованої збагаченої тромбоцитами плазми та визначення рівня активності їх генетичного матеріалу. Виявлено появу нетипових морфологічних форм, зниження ядерно-цитоплазматичного співвідношення при одночасному зростанні активності ядерного матеріалу при використанні збагаченої тромбоцитами плазми.

Complex comparative morphological and morphometrical analysis of HEK 293 cell culture that was grown on DMEM supplemented with fetal calf serum or inactivated and non-inactivated platelet rich plasma and estimation of the genetic material activity level were performed in the present work. HEK 293 cells cultured in media which contained platelet rich plasma had increased their nuclear activity, while decreasing the nuclear cytoplasmic rate. The appearance of atypical cell forms has been detected.

Вступ. Підбір оптимального складу середовища є однією з найбільш актуальних проблем, що виникають при культивуванні клітин. У зв'язку з різкими відмінностями у потребах різних типів клітин, підбір найбільш ефективних складових культурального середовища у відповідних концентраціях є складним завданням [1]. Поживні середовища, що широко використовуються, є недостатньо ефективними та вимагають внесення додаткових поживних речовин. Проте, відомі добавки до культуральних середовищ можуть справляти певний, інколи суттєвий, негативний ефект [1, 2]. Так, найпоширеніший додаток – ембріональна теляча сироватка (ЕТС) – значно підвищує ризик контамінації культури, є нестандартизованим матеріалом, справляє цитотоксичну дію на деякі типи клітин, містить неповний набір ростових факторів. Тому не втрачають актуальності питання розробки середовищ на основі нових джерел ростових факторів [2].

Одним з найновіших, найменш досліджених але перспективних компонентів поживних середовищ вважається збагачена тромбоцитами плазма (ЗБТП), яка є концентратом тромбоцитів у невеликому об'ємі плазми [3]. ЗБТП є джерелом більш, ніж 30 ростових факторів, що беруть участь у процесі загоювання ран *in vivo*, та *in vitro* впливають на розвиток культур клітин. Проте, як додаток до поживних середовищ, вона зазвичай не використовується [2-4]. Основною сферою використання ЗБТП є стоматологія та ортопедія. Тромбоцитарний концентрат використовується при виробництві протезів, для покращення загоювання ран, а також для стимуляції остеогенезу мезенхімальних стовбурових клітин [4, 5].

Культура ембріональних клітин нирок людини (HEK 293) є зручним об'єктом для тестування ефективності використання нових додатків до поживних середовищ [1, 2]. Крім того, ця культура достатньо широко використовується для вивчення аденовірусних захворювань людини, тому підбір найбільш ефективних умов її культивування дасть змогу вирішити ряд практичних питань, пов'язаних з лікуванням аденовірусних захворювань людини.

Дана робота є піонерською у визначенні можливості застосування ЗБТП у якості додатка до поживного середовища при культивуванні клітин HEK 293.

Матеріали та методи. Використовуючи класичні цитологічні методи фіксації та забарвлення гематоксилином та еозином, а також флуоресцентним інтеркалюючим барвником Hoechst 33342, адаптовані до використання на клітинних культурах, в даній роботі було проведено комплексний порівняльний морфологічний та морфометричний аналіз клітин культури HEK 293, культивованих на середовищі DMEM з різними добавками (ЕТС, ЗБТП та інактивована ЗБТП), та визначення рівня активності їх генетичного матеріалу. Контролем слугувала культура, вирощена в середовищі без додат-

ків. Для морфометричних обрахунків було застосовано програму ImageJ. Культивування та отримання ЗБТП проводили за стандартними методиками. Інактивація ЗБТП проводилась шляхом термічної обробки при 58°C.

Результати та обговорення. При культивуванні HEK 293 у середовищах з різним складом виявилась очевидна відмінність як у морфології культивованих клітин так і у типах формування ними моношару. Так, при додаванні стандартної концентрації ЕТС клітини формували епітеліоподібні структури, мали полігональну або виражену видовжену форму, формували велику кількість міжклітинних контактів, розташовувались досить щільно, порівняно з контрольною культурою, але проявляли низьку проліферативну активність. При додаванні ЗБТП (як неінактивованої, так і інактивованої) відмічалась поява великої кількості проліферативно активних клітин, що формували більш щільний, порівняно з культурами контрольною та вирощеною з додаванням ЕТС, шар, який, в деяких випадках, перетворювався з моношару на багатoshарове утворення. Більша кількість багатoshарових агрегатів виникала при додаванні інактивованої ЗБТП. При додаванні ЗБТП, з'являлась велика кількість клітин з нетиповою морфологією: прямокутні, ромбовидні, голковидні та поліморфні клітини, та зростала кількість багатоядерних клітин.

Клітини, культивовані з різними добавками, виявили різний ступінь базofilії та ацидофилії цитоплазми. Так, контрольні клітини та клітини, культивовані з додаванням ЕТС, мали більш високий рівень базofilії, а клітини, що культивувались у ЗБТП-вмісному середовищі, – ацидофилії. Не виключено, що це є наслідком певних метаболічних перетворень, спричинених впливом компонентів культурального середовища.

Активність генетичного матеріалу визначалась за ступенем забарвлення флуоресцентним барвником Hoechst 33342. Даний критерій не є абсолютно точним, проте дає змогу наочно продемонструвати загальні тенденції зміни активності хроматину у популяціях клітин. Так, при порівнянні триденних культур HEK 293, що були вирощені на середовищах з різними добавками, була виявлена суттєва відмінність за цим показником. Так, підвищення активності хроматину спостерігалось у зразках, культивованих у середовищах з додаванням ЗБТП (неінактивованої та інактивованої), що може бути пов'язано з впливом комбінації ростових факторів на стан хроматину та регуляцію клітинного циклу. Багатoshарові клітинні конгломерати, що виникали при використанні ЗБТП виявляли значно вищу ядерну активність. Тоді як клітини, культивовані на середовищах з додаванням ЕТС а також без додатків, мали практично однаковий та суттєво нижчий, порівняно з клітинами, культованими з додаванням ЗБТП, рівень активності генетичного матеріалу.

Використання морфометричного аналізу дозволило оцінити рівень метаболічної активності клітин культивованих з різними додатками за визначенням ЯЦС. У роботі застосували виборку з 300 клітин з кожної культивованої групи у 6 повторях. Значення ЯЦС клітин, що культивувались без додатків до поживного середовища дорівнювало $0,391 \pm 0,021$, зі стандартним додаванням

ЕТС – $0,311 \pm 0,019$, з додаванням інактивованої ЗБТП – $0,268 \pm 0,024$, неінактивованої ЗБТП – $0,211 \pm 0,020$. Отже, біологічно активні добавки до поживних середовищ вочевидь спричиняють зниження показників ЯЦС клітин культур (рис.1). З'ясування механізмів цього ефекту потребує подальших досліджень.

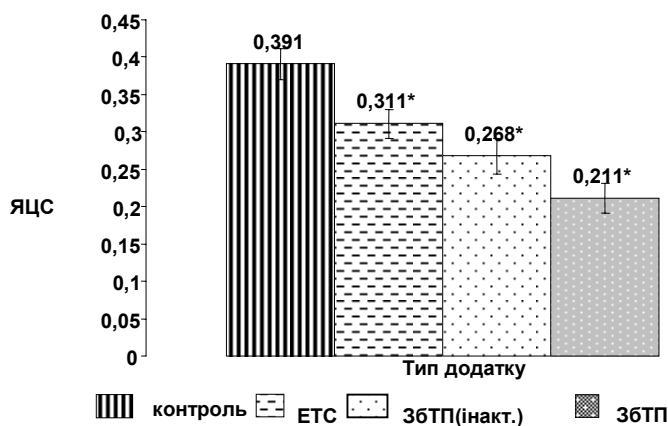


Рис.1. Залежність значення ЯЦС від типу добавки до поживного середовища (* $p \leq 0,05$)

Висновки. При культивуванні клітин НЕК 293 на середовищі DMEM з додаванням ЗБТП виявлена поява значної кількості нетипових форм клітин, багатоядерних клітинних конгломератів, відзначається підвищена щільність культури. Клітини, що культивувались з додаванням неінактивованої та інактивованої теплової шляхом ЗБТП мали знижене ЯЦС, що може свідчити про певні зміни метаболічної активності, але виявляли посилену активність ядерного матеріалу. Інактивована ЗБТП спричиняла стимулюючий ріст ефект, хоч і у меншій, ніж неінактивована ЗБТП, мірі. Оцінка сумарного ефекту впливу ЗБТП на клітинні культури потребує подальших досліджень.

1. Freshney R.I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, Wiley-Liss: 5th ed., 2005. – 672p.
2. Mannello F., Tonti G.A. All That Glitters Is Not Gold! Serum-Free, Serum Replacement Nonconditioned Medium, or Ad Hoc Formula? Medium with Fetal Calf Serum, Human Serum, or Enriched Plasma // Stem Cells. – 2007. – Vol.25. – P. 1603-1609.
3. Marx R.E. Platelet-Rich Plasma: Evidence to Support Its Use // J Oral Maxillofac Surg. – 2004. – Vol.62. – P.489-496.
4. Johansson L., Klinth J., Holmqvist O., Ohlson S. Platelet lysate: a replacement for fetal bovine serum in animal cell culture? // Journal Cytotechnology. – 2003. – Vol.42, № 2. – P.67-74.
5. du Toit D.F., Kleintjes W.G., Otto M.J., Mazyala E.J., Page B.J. Soft and hard-tissue augmentation with platelet-rich plasma: Tissue culture dynamics, regeneration and molecular biology perspective // Int J Shoulder Surg. – 2007. – Vol.1. – P.64-73.

Надійшла до редколегії 30.05.09

УДК 577.543.426

А. Майданюк, канд. біол. наук,
В. Пивоваренко, канд. хім. наук

МЕТОД КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АТР В РОЗЧИНАХ ЗА ДОПОМОГОЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДУ

Запропоновано спосіб визначення концентрації АТР у водних розчинах за допомогою флуоресцентного зонду -3 гідрокси -4'-диметиламінофлавоу.

Fluorometric method for quantitative detection of ATP in water solution was developed.

Вступ. Порушення пуринового обміну та вмісту пуринів в клітинах у післяпроменевий період, являється одним із ранніх і характерних процесів апоптозу тимоцитів [2, 3]. Апоптоз – енергозалежний процес, опосередкований молекулярними, біохімічними механізмами наявними у кожній клітині організму. Центральну роль у здійсненні апоптозу відіграють цистеїнові протеази – каспази. Усі вони синтезуються клітиною у неактивній формі і активуються шляхом обмеженого протеолізу у відповідь на вплив апоптогенного сигналу. Активізація каспаз, що здійснюють деструкцію клітинних компонентів відбувається різними шляхами. Незважаючи на численні докази щодо зміни активності ферментів і метаболізму клітин у процесі апоптозу, питання про те, що служить безпосередньою причиною їх загибелі остаточно не вирішене. Одне із пояснень зв'язує загибель клітин за апоптозу з енергетичним голодом, який

викликається витратами АТР на роботу з репарації ДНК та зниженням функцій мітохондрій. Зниження концентрації аденолових нуклеотидів відбувається за рахунок їх посиленого катаболізму за схемою: $ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow$ аденозин $\rightarrow$ гіпоксантин і виходу із клітини, що в часі співпадає з максимальним накопиченням полідезоксинуклеотидів (ПДН) і розпадом хроматину[3]. Вважається, що прискорення катаболізму аденіннуклеотидів являється загальною реакцією клітини на дію будь-яких стресорних факторів. Згідно приведеної схеми прискорений катаболізм аденолових нуклеотидів буде мати своїм наслідком зменшення внутрішньоклітинної концентранції АТР. Зниження вмісту АТР зареєстроване в ході прямих досліджень апоптичних клітин [2, 5]. Експериментально встановлено, що клітини, в яких рівень АТР становив менше 50 % від контрольних значень, гинули за варіантом некрозу, а

при більш високих значеннях макроергу спостерігався розвиток апоптичної загибелі [3]. Враховуючи все вищенаведене можна заключити, що розробка швидкого та чутливого методу кількісного визначення АТР являє собою актуальне завдання при дослідженні біохімічних механізмів апоптозу.

Метою роботи було дослідити флуоресцентний зонд 3-гідрокси-4'-диметиламінофлаво́н на його придатність для кількісного визначення концентрації АТР у водному середовищі флуориметричним методом.

Об'єкт та методи досліджень. Аденозин-5'-трифосфорної кислоти динатрієва сіль (АТР) виробництва фірми Reanal (Угорщина), 3-гідрокси-4'-диметиламінофлаво́н (Україна). Визначали концентрацію АТР у стандартних розчинах, загальний об'єм проб був 2 мл, спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Scinco SUV-2120 (Германія), спектрофлуориметричним методом на спектрофлуориметрі RF-510 фірми Shimadzu (Японія). Величини поглинання (екстинції) $E_{260-290}$ у випадку спектрофотометричного аналізу та інтенсивність флуоресценції (емісії) I_f (або їх відношення) у випадку флуоресцентного аналізу відкладали на осі ординат (Y), на осі абсцис (X) – концентрацію стандартних розчинів АТР (моль/л), (або у логарифмічних координатах) для побудови калібрувального графіку або використовували ці значення для визначення коефіцієнтів рівняння лінійної регресії та коефіцієнта

кореляції (r) згідно програми [1]. Математично коректними вважали значення не нижчі 0,8.

Результати та їх обговорення. Інтенсивність флуоресценції (em) вимірювали на довжині хвилі 540 нм. Числові значення відношення інтенсивностей емісії при збудженні (ex) на 480 та 410 нм (I_f 480/ I_f 410) використовували як ось ординат. За значення (Y) брали також відношення інтенсивності флуоресценції стандартних розчинів АТР (I_f) до контрольного розчину (без АТР) – (I_{f0}) на (ex) – 480 нм (I_f / I_{f0} 480) та відношення (I_f / I_{f0} 480/ I_f / I_{f0} 410) Раніше було показано [7], що взаємодія флуоресцентного зонду – 3 гідрокси-4'-диметилфлаво́ну (ДМАФ) з АТР приводить до утворення комплексу ДМАФ АТР і це має своїм наслідком зміщення смуги збудження (ex) з 405 – 410 нм (характерного для ДМАФ у водному розчині) до (ex) на 475 – 480 нм. Проте положення максимуму випромінювання флуоресценції (em) при цьому не змінюється (540 -550 нм). Специфічність цього ефекту тільки для АТР показана [7] і в наших дослідженнях (Табл.1 А). Оскільки збільшення концентрації АТР призводить до зростання інтенсивності випромінювання флуоресценції при збудженні на 480 нм, ця властивість використана для розробки методу кількісного визначення АТР у водному розчині [4, 6] та в даній роботі (Табл. 1 В) Результати першої частини таблиці (Табл. 1 А) свідчать, що ефект зсуву смуги збудження є специфічним для АТР і не проявляється у присутності високих концентрацій ADP (5×10^{-4} M).

Таблиця 1. Результати спектрофотометричного (СФ) та спектрофлуориметричного (ФЛ) визначення концентрації АТР у водних розчинах (n=8)

А	Нуклеотид	Відношення параметрів флуоресценції				
		I _ф / I _{ф0} 480		I _ф 480/ I _ф 410	I _ф / I _{ф0} 480/I _ф /I _{ф0} 410	
	5x10 ⁻⁴ M,ATP	4,1	1,4	3,2		
	5x10 ⁻⁴ M,ADP	0,9	0,5	0,7		
В	Метод	Задана концентрація АТФ, мкмоль/л				
		10	100	250	500	750
		Визначена концентрація АТФ, мкмоль/л				
	СФ	9,50	100,05	250,04	499,93	749,81
	ℓ = 0,2 см у= E ₂₆₀₋₂₉₀ х= [АТФ] г= 0,99					
	ФЛ	16,05	86,13	231,62	466,50	799,93
	ℓ = 1,0 см у= I _ф / I _{ф0} 480 х= ℓg[M] г= 0,97					
	ФЛ	10,20	102,73	237,63	517,16	712,19
ℓ = 1,0 см у= I _ф 480/ I _ф 410 х= ℓg[M] г= 0,98						
ФЛ	—	111,51	235,79	493,66	779,32	
ℓ = 1,0 см у= I _ф / I _{ф0} 480/I _ф /I _{ф0} 410 х= ℓg[M] г= 0,98						

Аналіз результатів наведених, в другій частині таблиці (Табл. 1 В) дозволяє заключити, що залежність відносних параметрів флуоресценції від $\lg [ATP]$ є лінійною, що засвідчується високими значеннями розрахованих коефіцієнтів кореляції (0,97-0,98). Найближчі до заданих значень концентрації АТР визначаються за відношеннями I_f 480/ I_f 410 або I_f / I_{f0} 480/ I_f / I_{f0} 410. Похибка методу при цьому, за винятком крайніх точок, не перевищує 5–10 %.

Висновки. Установлено, що в діапазоні концентрацій – 10^{-5} – $7,5 \times 10^{-4}$ M маємо лінійну залежність дослі-

джених параметрів флуоресценції від $\lg [ATP]$, тобто обґрунтовану підставу для побудови калібрувальних графіків. Визначена похибка методу становить 5–10 %.

1. Войцицкий В.М., Бабенюк Ю.Д., Рудич В.В., Марченков Ф.С. Общие принципы организации биохимических исследований. – К. 1989. – С. 40. 2. Дворченко К.О., Матишевська О.П., Майданюк А.В. Дослідження вмісту адениннуклеотидів аденозину й аденіну у опромінених тимоцитах щурів // Вісн. Київ. ун-ту. ім. Т. Шевченка. Біологія – 2005 – Вип. 45–46. – С. 52–53. 3. Кучеренко М.С. (загальна редакція) Радіаційно – індуквана структурно – метаболічна модифікація ентероцитів та лімфоїдних клітин. К. 2006. – 211с. 4. Майданюк А., Матишевська О., Пивоваренко В. Чутливий спектрофлуориметричний метод кількісного

визначення АТФ // Вісн. Київ. ун-ту. ім. Т. Шевченка. Біологія – 2006 – Вип. 47–48 – С. 16-18. 5. Тронов В.А., Константинов Е.М., Крамаренко И.И. Роль эксцизионных механизмов репарации ДНК в индукции апоптоза // Биохимия – 2002 – Т. 67 – №7 – С.882-889. 6. Патент на винахід №75448 UA. Спосіб флуориметричного визначення концентрації аденозин-5'-трифосфату (АТФ) у розчині / Пивоваренко В.Г., Вадзюк О.Б.,

Костерін С.О. Заявл. 15.03.2004., Опубл. 17.04.2006. 7. Pivovarenko V.G., Vadzyk O.B., Kosterin S.O. Fluorometric detection of adenosine triphosphate with 3-hydroxy-4'-(dimethylamino) flavones in aqueous solutions // Journal of Fluorescence. – 2006 – V. 16, №1 – P. 9-15.

Надійшла до редакції 05.06.09

УДК.6/6.34+577.115

А. Сергійчук, студ., В.Ковальова, канд. біол. наук,
О. Моргаєнко, асист., Л. Остапченко, д-р біол. наук

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ У СЛИЗОВІЙ ШЛУНКА ЗА УМОВ ДІЇ РІЗНИХ ЧИННИКІВ

Установлено, що препарати природного походження – амівіт і сквален нормалізують активність СОД в клітинах слизової оболонки шлунка щурів за умов етанолової моделі виразки.

The intensification of the lipid peroxidation and the depression of superoxide dismutase activity under experimental model stomach ulceration in the mucosae cells of Wistar rats is occurred. Ammivit and squalen normalized the activity of superoxide dismutase.

Вступ. Протягом останніх десятиріч у сфері інтенсивних наукових досліджень знаходяться патології органів травлення, серед яких домінує виразкова хвороба шлунка. Виразковий процес в шлунку є кінцевим етапом складного захворювання, в патогенез якого залучені процеси нейрогуморальної і ендокринної регуляції, біогенні аміни та поліпептиди травної системи. Крім того, в механізмах утворення виразки беруть участь місцеві агресивні фактори та порушення механізмів захисту епітелію слизової оболонки.

Виразкова хвороба має низку фонових та основних факторів, які можна поділити на неспецифічні (екзогенні) та ендогенні. Однією з найбільш поширених вважається етанолова виразка. Алкоголь у невеликій кількості має протективну дію, а надмірне вживання міцних спиртних напоїв стимулює секрецію кислоти та дезорганізує слизовий бар'єр шляхом злущування епітелію слизової оболонки і зниження продукції полісахаридів. Суть агресивного впливу кислотно-пептичного фактору полягає у зворотній дифузії протонів у стінку шлунка при виникненні їх надпорогової концентрації чи у випадку порушення бар'єрної функції покривних тканин. Таким чином етанол має подвійну дію: чинить пригнічуючий вплив на "захисний бар'єр" слизової оболонки гастродуоденальної системи, а також викликає гіперплазію гастринпродукуючих клітин слизової оболонки шлунка [1]. Незважаючи на зроблений за останнє десятиріччя дійсний "прорив" у розумінні тонких молекулярних механізмів виразкової хвороби шлунка, істотного прогресу в лікуванні цієї хвороби досягти не вдалось. Застосування сучасних засобів лікування не дає бажаних результатів, у зв'язку з цим хвороба набуває затяжного характеру. Останнім часом помітно активізувалися дослідження, які спрямовані на розробку нових противиразкових препаратів природного походження, а саме антиоксидантів. До таких природних антиоксидантів можна віднести сквален і амівіт.

Сквален – це вуглецева сполука, яка є похідною ізопрена, попередник тритерпенів та стероїдних сполук. Відомим джерелом сквалену є амарантове масло. Препарат має широкий спектр позитивних фармакологічних властивостей, сприяє підвищенню загальної резистентності організму. Сквален здатний підвищувати стан імунної системи, забезпечуючи тим самим стійкість організму до різних захворювань. Сквален володіє радіопротекторними властивостями, має високу проникну здатність, оскільки входить до складу клітин покривів шкіри. Амівіт – препарат, до складу якого входять амінокислоти та вітаміни. При моделюванні запальних

процесів було показано, що амівіт діє на речовини, які супроводжують запальний процес – простагландини, лейкотрієни та систему комплементу. При цьому амівіт не тільки гальмує процеси перекисного окиснення ліпідів у мембранах, а також нормалізує концентрацію цитокінів та лімфоцитів, що відповідають за клітинний імунітет. Тобто амівіт проявляє антизапальні та імуномодуючі властивості [2].

Метою даної роботи було визначити активність супероксиддисмутази в клітинах слизової оболонки шлунка щурів у динаміці експериментальної (етанолової) виразки та оцінити вплив препаратів природного походження амівіту та сквалену на ці процеси.

Об'єкти і методи дослідження. В досліді використовували білих щурів лінії Вістар обох статей масою 130-150 г. Щурів утримували на стандартному раціоні виварію. За добу до проведення дослідів щури мали доступ лише до води. Модель експериментальної виразкової хвороби шлунка створювали за методом Окабе [3]. Ізольовані клітини слизової оболонки шлунка отримували за модифікованим методом Левіна та ін. [4]. Активність СОД у клітинах слизової оболонки шлунка визначали за методом, описаним у роботі [5]. Усі показники перераховано на 1 мг білка. Амівіт вводили по 50 мкл 2 рази на добу per os. Сквален вводили одноразово в комбінації з амівітом per os.

Результати та їх обговорення. Супероксиддисмутаза (СОД) – один з ключових антиоксидантних ферментів – каталізує дисмутацію супероксиданіона до пероксида водню та молекулярного кисню. Методи визначення активності СОД базуються на їх здатності інгібувати перетворення деякої індикаторної молекули, при дії супероксидного аніон-радикалу. Це пов'язано з тим, що СОД конкурує за аніон-радикал з індикаторною "пасткою" супероксидного аніона. СОД локалізована та функціонує зазвичай разом з каталазою, що швидко та ефективно розкладає H_2O_2 . Швидкість СОД – реакцій досить велика, константа швидкості другого порядку досягає $2 \cdot 10^9$ моль⁻¹·с⁻¹. Активний центр ферменту містить метали зі змінною валентністю [5].

В результаті дослідження активності СОД в клітинах слизової оболонки шлунка щурів встановлено, що етанолова виразка призводить до суттєвих змін в антиоксидантній захисній системі шлунка щурів. Встановлено, що в динаміці етанолової виразки активність СОД знижується вже на першу добу в 1,3 рази, на п'яту – в 1,75 порівнюючи з контролем і в подальшому залишається зниженою (табл. 1).

Таблиця 1. Активність СОД в клітинах слизової оболонки шлунка щурів за дії різних чинників (M±m, n=10)

Активність СОД (ум.од.активності)	Групи тварин	Контроль	Контроль +амівіт	Контроль+амівіт +скален	Етанолова модель	Етанол+амівіт	Етанол+амівіт+ скален
		1,75±0,14			1,31±0,10*		
	3 доби	1,58±0,13	1,45±0,12		1,23±0,01*	1,49±0,12*	
	5 діб	1,70±0,14	1,68±0,13	1,73±0,14	1,0±0,08*	1,70±0,14*	1,72±0,14*
	7 діб	1,65±0,13	1,55±0,12	1,57±0,13	1,02±0,08*	1,50±0,12*	1,80±0,14*

* - p≤0,05 у порівнянні з контролем

Отримані результати свідчать про те, що в динаміці етанолової експериментальної виразки шлунка знижується здатність антиоксидантної системи до дисмутації супероксиданіона, відбувається його надлишкове накопичення, що супроводжується збільшенням кількості продуктів пероксидації, що і було встановлено нашими попередніми дослідженнями. Після введення щурам з виразковими ураженнями амівіту активність СОД на третю та п'яту доби майже не відрізнялася від її значень контрольної групи тварин з амівітом, що свідчить про антиоксидантні властивості даного препарату. Проте на сьому добу активність СОД зменшилась. Після комплексного введення антиоксидантів природного походження амівіту і скалену було встановлено нормалізацію активності СОД на п'яту добу у щурів з ерозивно-виразковими ушкодженнями слизової, викликаними етанолом, і навіть підвищення рівня активності фермента на сьому добу у порівнянні з контролем. Таким чином, припустимим є відновлення функціонального гомеостазу клітин слизової оболонки шлунка при використанні препаратів природного походження. Одержані результати обумовлюють необхідність використання

прямих антиоксидантів для компенсації процесів пероксидації за даної патології.

Висновки. Дослідження дії біологічно активних речовин на активність супероксиддисмутази при виразкоутворенні показало, що скален і амівіт характеризуються корегуючими антиоксидантними та цитопротекторними властивостями і можуть бути рекомендованими до використання при створенні засобів комплексного лікування виразкової хвороби.

1. Иваницкий В.Т., Лапина Т.Л. Хронический гастрит: современные представления, принципы диагностики и лечения // РМЖ. Болезни органов пищеварения. – 2001. – Т.5.№2. – с.54-60. 2. Передерий В.Г., Ткач С.М., Швец Н.И., Цветков А.В., Яценко О.В. Язвенная болезнь или пептическая язва? // Киев – 1997. – С. 10–32. 3. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Библ. Указ. ВИНТИ. Деп. Рукописи. – 1979. – №12. – Б/о 131. 4. Таиров М.М., Берсимбаев Р.И., Аргутинская С.В., Салганик Р.И. Клеточная локализация аденилатциклаза, стимулируемых гистамином и простагландином Е2, в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции. – Биохимия. – Т.48, вып. 6, 1983. – С. 1035-1041. 5. Чевари С., Андел Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб.дело. – 1991. – №10. – С.9-13.

Надійшла до редколегії 06.04.09

УДК 595.422(477); 595.443

С. Сінгаєвський, асп.,
П. Балан, канд. біол. наук

ПАВУКОПОДІБНІ (ARACHNIDA: ACARI (PARASITIFORMES: MESOSTIGMATA); ARANEI) ЗЕЛЕНИХ ЗОН КИСВА ТА ПЕРЕДМІСТЬ

Досліджено видовий склад двох груп павукоподібних, мезостигматичних кліщів та павуків в зелених зонах міста Києва та передмісті. Показано, що видове різноманіття мезостигмат у міських парках менше ніж зелених зонах передмістя. Виявлено: 63 види мезостигматичних кліщів з 30 родів та 10 родин, 104 види павуків які репрезентують 67 родів та 16 родин. Наведено розподіл видів павуків за типом та ярусом рослинності. Наведено коефіцієнти фауністичної подібності за Чекановським-Сьєренсеном для досліджених біотопів. Вид *Achaearanea tabulata* Levi, 1980 (родина Theridiidae) відмічено вперше для Лісостепу України.

The species composition of the two groups of arachnids, the mesostigmatic mites and the spiders, in green zones of Kyiv city and suburb was investigated. The species richness of the mesostigmatic mites in city parks is lower than in suburban green zones. 63 species of mesostigmatic mites from 30 genera and 10 families and 104 spider species which represent 67 genera from 16 families were found. Habitat distribution of the spider species is tabulated. Faunistical similarity of the examined biotopes is estimated by means of the index of Chekanowsky-Sorensen (Ics). One theridiid spider species, *Achaearanea tabulata* Levi, 1980 is recorded at first time for the forest-steppe zone of Ukraine.

Вступ. Одне з актуальних питань сьогодення – вивчення видового складу та екологічних особливостей тварин великих міст та їхніх околиць, адже тварини міста – важливий компонент санітарного та емоційного середовища людини. А павуки, як активні хижакі, відіграють важливу роль у регуляції чисельності комах, серед яких багато шкідників та кровососів. Зокрема Національною програмою збереження біологічного різноманіття України на 1998–2015 роки передбачене дослідження міських екосистем та екосистем передмістя, з метою їх оптимізації. Разом з тим, фауна міст України вивчена ще недостатньо. У першу чергу це стосується безхребетних тварин, зокрема павукоподібних. Саме це і зумовило мету наших досліджень.

Об'єкт та методи досліджень. Мезостигматичні кліщі (Acari: Mesostigmata). Матеріал по кліщам збирався протягом 1988–1999 років на території міста Києва (парки Нивки, Володимирська гірка, Ботанічний сад

Київського національного університету ім. академіка О.В. Фоміна) та його передмість (Лютетське та Феофанійське лісництва).

Павуки (Aranei). Матеріал по павукам збирали протягом 2007–2008 років з використанням загальноприйнятих методик таких як косіння ентомологічним сачком, ґрунтові пастки Барбера, обтрушування крони дерев [2] та ручний збір за допомогою екстаустера. Обстежено наступні ділянки: I – Голосіївський парк (мішаний ліс); II – садово-дачні ділянки "Воскресенські сади" (фруктовий сад); III – західна частина Пушча-Водицького лісу, урочище "Синяки" (мішаний ліс з переважанням широколистяних порід); IV – Святошинський ліс, урочище "П'ята просіка" (мішаний ліс з переважанням дрібнолистяних порід). Усього в обстежених ділянках зібрано 1296 екземплярів павуків, матеріал зберігається у колекції першого автора. Для

порівняння коефіцієнту фауністичної подібності використано індекс Чекановського-Сьєренсена [3].

Результати та їх обговорення. Мезостигматичні кліщі (Acari: Mesostigmata). На території Києва найбільше видів кліщів виявлено у ґрунті та рослинних рештках парків Володимирська гірка та Нивки – по 15. На території парку Володимирська гірка виявлені такі види мезостигмат: *Parasitus (Eugamasus) lunulatus*, *Veigaia nemorensis*, *Ameroseius corbicula*, *Lasioseius berlessei*, *L. youcefi*, *Cheiroseius borealis*, *Gamasellodes bicolor*, *Dendrolaelaps arviculus*, *Rhodacarellus silesiacus*, *Macrocheles (Macholaspis) evansi*, *Pachylaelaps magnus*, *Hypoaspis (Geolaelaps) aculeifer*, *H. (G.) praesternalis*, *H. (Cosmolaelaps) vacua*, *Alliphis siculus*. Найбільше видове різноманіття (12 видів) відзначено у рослинних рештках, дещо менше (10 видів) – у деревині, що розкладається, та у шарі ґрунту завтовшки 0-5 см (8 видів). Найменше видів – усього три – зареєстровано у шарі ґрунту завтовшки 5-10 см. У рослинних рештках, деревині, що розкладається, а також у шарах ґрунту завтовшки 0-5 см та 5-10 см домінували *G. bicolor* та *A. siculus*. Всі інші види мезостигмат були відзначені лише в поодиноких екземплярах. 4 ♀♀ *M. (M.) evansi* було знято з жука-гною *Geotrupes stercorearius* L. На території парку Нивки були виявлені такі види мезостигмат: *V. nemorensis*, *A. corbicula*, *Cheiroseius curtipes*, *Arctoseius cetratus*, *A. semiscissus*, *Proctolaelaps pygmaeus*, *M. (M.) evansi*, *Holostaspella exomata*, *Geholaspis (Longicheles) longulus*, *G. (L.) longispinosus*, *R. silesiacus*, *G. bicolor*, *H. (G.) aculeifer*, *A. siculus*, *Eviphis ostrinus*. Домінували 4 види: *E. ostrinus*, *G. bicolor*, *V. nemorensis*, а також *Ch. curtipes*.

Як і на території парку Володимирська гірка, найбільше видів (13) зареєстровано у рослинних рештках, трохи менше – у деревині, що розкладається та у шарі ґрунту завтовшки 0-5 см (9 та 7 видів відповідно). У шарі ґрунту завтовшки 5-10 см були виявлені лише поодинокі екземпляри 3 видів мезостигмат. На території ботанічного саду КНУ імені Тараса Шевченка у рослинних рештках, шарі ґрунту завтовшки 0-5 см та деревині, що розкладається, зареєстровано 10 видів мезостигмат (*Pergamasus misellus*, *P. (E.) lunulatus*, *Zerconopsis decemremiger*, *Z. remiger*, *Zercoseius spathuliger*, *P. magnus*, *Rhodacarus (Rhodacarus) clavulatus*, *H. (C.) vacua*, *Zercon (Zercon) hungaricus*, *Z. (Z.) joduthae spatulisetosus*). По 4 види кліщів зареєстровано у підстилці та верхньому (0-5 см завтовшки) шарі ґрунту. У підстилці домінував *P. (L.) misellus*, у верхньому шарі ґрунту – *H. (C.) vacua* та *Z. (Z.) joduthae spatulisetosus*. Більше видове різноманіття віЛЬНОЖИВУЧИХ мезостигматичних кліщів характерне для приміських зелених зон: Лютезького лісництва, розташованого на північ від міста, та Феофанійського, яке знаходиться на його південній околиці. Лютезьке лісництво належить до зони змішаних лісів.

Тут виявлено 23 види: *Parasitus (Coleogamasus) celer*, *P. (C.) lunaris*, *P. (C.) mustelarum*, *P. (C.) fimetorum*, *Gamasodes bispinosus*, *Pergamasus jugincola*, *V. nemorensis*, *Iphidozercon minutus*, *Lasioseius ometes*, *L. berlessei*, *Asca bicornis*, *A. aphidioides*, *D. arviculus*, *Hypoaspis (Geolaelaps) asperatus*, *H. (G.) kargi*, *H. (G.) helianthi*, *H. (G.) lubrica*, *H. (Euandrolaelaps) karawaiewi*, *H. (C.) vacua*, *Laelaspis markewitschi*, *Ololaelaps placentula*, *O. veneta*, *A. siculus*. Найбільше видів – 22 – відзначено у підстилці соснового та змішаного лісів, у деревині, що розкладається, зареєстровано 16 видів, у шарі ґрунту завтовшки 0-5 см – 14 видів, у шарі ґрунту завтовшки 5-10 см – 7 видів (усі види представлені поодинокими екземплярами). У підстилці домінували *L. ometes* та *H. (C.) vacua*, у верхньому шарі ґрунту – *V. nemorensis*, *L. ometes* та *H. (C.) vacua*, у

деревині, що розкладається – *A. siculus*. У грабовій діброві Феофанійського лісництва виявлено 34 види мезостигмат: *P. (C.) mustelarum*, *P. (C.) celer*, *P. (Vulgarogamasus) hyalinus*, *Pergamasus jugincola*, *Gamasodes spiniger*, *G. bispinosus*, *G. fimbriatus*, *Veigaia exigua*, *V. cervus*, *V. nemorensis*, *Ameroseius plumea*, *A. corbicula*, *Lasioseius ometes*, *Leioseius elongatus*, *Ch. curtipes*, *Arctoseius eremitus*, *A. semiscissus*, *Asca nova*, *A. aphidioides*, *G. bicolor*, *R. silesiacus*, *D. arviculus*, *P. magnus*, *Pachyseius humeralis*, *H. (G.) aculeifer*, *H. (G.) praesternalis*, *H. (G.) helianthi*, *H. (C.) vacua*, *A. siculus*, *E. ostrinus*, *Prozercon ukrainicus*, *Zercon (Zercon) colligans*, *Z. (Z.) foveolatus*, *Z. (Z.) triangularis*. У підстилці та верхньому шарі ґрунту (0-5 см завтовшки) домінували види *V. exigua*, *V. nemorensis*, *A. semiscissus*.

На території Феофанійського лісництва досліджено сезонний хід чисельності мезостигмат: найвищу щільність цих кліщів у підстилці спостерігали влітку (до 15,76 тис. екз./м²), найнижчу – взимку (3,86 тис. екз./м² у грудні). Загалом щільність мезостигмат у підстилці поступово знижується з літнього періоду до зимового, а навесні знову повільно зростає. При порівнянні ступеню фауністичної подібності видових комплексів мезостигмат парків Києва та зелених зон передмість (за Чекановським-Сьєренсеном) отримані такі результати. Найбільший ступінь фауністичної подібності притаманний видовим комплексам мезостигмат парків Володимирська гірка та Нивки (значення коефіцієнту фауністичної подібності – 0,47), парку Володимирська гірка та Феофанійського лісництва (0,41), а також Лютезького та Феофанійського лісництв (0,39). Досить своєрідний видовий комплекс мезостигмат ботанічного саду КНУ: значення коефіцієнту фауністичної подібності при порівнянні з іншими місцями зборів коливалися від 0 (при порівнянні з видовим комплексом мезостигмат парку Нивки) до 0,09 (при порівнянні з видовим комплексом мезостигмат Феофанійського лісництва). Павуки (Aranei). Усього в лісах та парках міста Києва та його передмість нами знайдено 104 види павуків, які належать до 67 родів з 16 родин. Розподіл видів по біотопах згідно системи Нормана Платніка [7] наведено в табл. 1. Найбільш широко представлені родини Linyphiidae та Theridiidae – 28 та 14 видів відповідно. Найбільше видів павуків виявлено в кронах дерев та підстилці, найменше – в трав'яному ярусі.

В урочищі "П'ята просіка" виявлено 65 видів, домінує *Linyphia triangularis*. Цей вид відмічений як у кроні дерев так і у підстилці. Субдомінантом виступає *Theridion varians*, знайдений лише у кроні. Спільними для крони і підстилки є 4 види: *Enoplognatha ovata*, *L. triangularis*, *Metellina segmentata*, *Evarcha arcuata*. Загалом для крони і підстилки виявлено 44 та 24 види відповідно. У трав'яному ярусі відмічено 9 видів, два з них є спільними для підстилки (*Pachygnatha degeeri* та *Euophrys frontalis*), а один, спільний і для крони, і для підстилки (*E. arcuata*).

В урочищі "Синяки" виявлено 48 видів: 26 у кроні дерев, 19 у підстилці і 9 у трав'яному ярусі, вид *L. triangularis* знайдений у всіх трьох ярусах. Домінуючим видом є *Th. varians*, субдомінантом *Trochosa terricola*. Спільними видами для підстилки і трав'яного ярусу є *E. ovata*, *Th. varians* та *Gongylidiellum murcidum*. Вид *Sintula spiniger* знайдений нами у підстилці, відмічається вперше для Східної Європи. Раніше були відомі знахідки з Австрії, Словаччини та Угорщини [4–6].

У Голосіївському лісі відмічено 44 види павуків. Домінуючим є *E. ovata* вид, який зустрічався як у кроні так і у підстилці. Спільними для крони та підстилки також виявились *Drapetisca socialis*, *Linyphia triangularis*,

Ozyptila praticola. Найменше видове різноманіття зареєстровано у фруктових садах – 37 видів. Для крон та трав'яного ярусу спільним є лише один вид *E. ovata* цей же вид домінує у трав'яному ярусі. Вперше для Середнього Придніпров'я виявлений вид-космополіт *Achaearanea tabulata*. В зібраному матеріалі присутні особини обох статеїв. Раніше цей вид відмічався в південно-східних областях [1].

Також в зелених насадженнях Києва знайдено північноамериканський вид *Agelenopsis potteri*, інтродукований в країни Європи. Він успішно розмножується в умовах нашого клімату, про що свідчать знахідки нестатевозрілих особин. Для видових комплексів павуків зеле-

них насаджень Києва індекс фауністичної подібності за Чекановским-Сьєренсеном, варіював в межах 0,23 – 0,34. Найвищий ступінь фауністичної подібності відзначено для угруповань павуків Голосіївського лісу і урочища "Синяки" та урочищ "П'ята просіка" і "Синяки" (значення коефіцієнту фауністичної подібності – 0,34 в обох випадках). Для Голосіївського лісу і урочища "П'ята просіка" – цей показник становив 0,29, для Голосіївського лісу і фруктових садів – 0,24. Найнижчий показник ступеню фауністичної подібності (0,23) характерний для видових комплексів павуків фруктових садів та урочища "Синяки".

Таблиця 1. Видовий розподіл павуків в досліджених біотопах

	М і с ц я з б о р у м а т е р і а л у									
	I		II		III			IV		
Вид	Крона	Підстилка	Крона	Хортобій	Крона	Підстилка	Хортобій	Крона	Підстилка	Хортобій
Pholcus opilionoides (Schrank, 1781)								+		
Harpactea rubicunda (C.L. Koch, 1838)		+								
Achaearanea lunata (Clerck, 1757)	+				+			+		
Achaearanea riparia (Blackwall, 1834)		+								
Achaearanea tabulata Levi, 1980			+							
Achaearanea tepidariorum (C.L. Koch, 1841)	+		+		+			+		
Crustulina guttata (Wider, 1834)						+			+	
Dipoena melanogaster (C.L. Koch, 1837)	+		+		+			+		
Enoplognatha ovata (Clerck, 1757)	+	+	+	+	+		+	+	+	
Keijia tinctoria (Walckenaer, 1802)	+		+		+			+		
Neottiura bimaculata (Linnaeus, 1767)	+				+			+		
Robertus lividus (Blackwall, 1836)						+				
Theridion impressum L. Koch, 1881				+				+		
Theridion mystaceum L. Koch, 1870								+		
Theridion pinastri L. Koch, 1872								+		
Theridion varians Hahn, 1833	+		+		+		+	+		
Agyneta subtilis (O.P.-Cambridge, 1863)								+		
Araeoncus humilis (Blackwall, 1841)			+							
Bathypantes nigrinus (Westring, 1851)		+							+	
Centromerus sylvaticus (Blackwall, 1841)		+				+			+	
Diplocephalus cristatus (Blackwall, 1833)								+		
Diplocephalus picinus (Blackwall, 1841)		+								
Diplostyla concolor (Wider, 1834)		+				+			+	
Drapetisca socialis (Sundevall, 1833)	+	+								
Entelecara acuminata (Wider, 1834)								+		
Gongylidiellum murcidum Simon, 1884			+		+		+	+		
Lepthyphantes alutacius Simon, 1884									+	
Lepthyphantes angulipalpis (Westring, 1851)						+				
Lepthyphantes flavipes (Blackwall, 1854)							+	+	+	
Lepthyphantes mengei Kulczyn'ski, 1887		+				+			+	
Lepthyphantes minutus (Blackwall, 1833)	+					+				
Lepthyphantes tenebricola (Wider, 1834)		+							+	
Linyphia hortensis Sundevall, 1830		+								
Linyphia triangularis (Clerck, 1757)	+	+	+		+	+	+	+	+	
Macrargus rufus (Wider, 1834)									+	
Meioneta saxatilis (Blacwall, 1844)									+	
Microneta viaria (Blackwall, 1841)						+				
Nereine clathrata (Sundevall, 1830)		+							+	
Sintula spiniger (Balogh, 1835)						+				
Trematocephalus cristatus (Wider, 1834)	+		+		+			+		
Trichoncus hackmani Millidge, 1956						+				
Walckenaeria alticeps (Denis, 1952)						+				
Walckenaeria artrotibialis O.P.-Cambridge, 1878		+								
Metellina mengei (Blackwall. 1869)		+								
Metellina segmentata (Clerck, 1757)		+	+		+			+	+	
Pachygnatha clercki Sundevall, 1823						+				
Pachygnatha degeeri Sundevall, 1830		+	+			+			+	+
Pachygnatha listeri Sundevall, 1830		+		+		+			+	
Tetragnatha montana Simon, 1874			+					+		
Tetragnatha nigrita Lendl, 1886			+							
Tetragnatha obtusa C.L. Koch, 1837			+					+		
Tetragnatha pinicola L. Koch, 1870	+						+	+		+
Tetragnatha striata L. Koch, 1862								+		
Araneus diadematus Clerck, 1757			+					+		
Araniella cucurbitina (Clerck, 1757)	+		+		+			+		

Закінчення табл. 1

	М і с ц я з б о р у м а т е р і а л у									
	I		II		III		IV			
Вид	Крона	Підстилка	Крона	Хортобій	Крона	Підстилка	Хортобій	Крона	Підстилка	Хортобій
Araniella proxima (Kulczyn'ski, 1885)					+			+		
Argiope bruennichi (Scopoli, 1772)				+				+		+
Gibbaranea bituberculata (Walckenaer, 1802)								+		
Larinioides patagiatus (Clerck, 1757)								+		
Mangora acalypha (Walckenaer, 1802)			+							+
Neoscona adianta (Walckenaer, 1802)				+						+
Singa hamata (Clerck, 1758)			+							
Aulonia albimana (Walckenaer, 1805)		+								
Pardosa lugubris (Walckenaer, 1802)		+			+				+	
Trochosa terricola Thorell, 1856		+				+			+	
Xerolycosa nemoralis (Westring, 1861)							+		+	
Pisaura mirabilis (Clerck, 1757)		+		+						
Agelenopsis potteri (Blackwall, 1846)		+				+			+	
Argenna subnigra (O.P.-Cambridge, 1861)	+									
Cicurina cicur (Fabricius, 1793)		+								
Dictyna arundinacea (Linnaeus, 1758)			+		+			+		
Dictyna major Menge, 1869					+					
Dictyna pusilla Thorell, 1856							+			
Dictyna uncinata Thorell, 1856	+		+					+		
Nigma flavescens (Walckenaer, 1830)			+					+		
Anyphaena accentuata (Walckenaer, 1802)	+		+					+		
Agroeca brunnea (Blackwall, 1833)										
Phrurolithus festivus (C.L. Koch, 1835)		+								
Clubiona caurelescens L. Koch, 1867	+									
Clubiona marmorata L. Koch, 1866					+					
Clubiona lutescens Westring, 1851			+					+		
Clubiona pallidula (Clerck, 1757)		+	+							
Clubiona terrestris Westring, 1851									+	
Haplodrassus silvestris (Blackwall, 1833)						+				
Philodromus albidus Kulczyn'ski, 1911			+					+		
Philodromus aureolus (Clerck, 1757)	+		+		+					
Philodromus cespitum (Walckenaer, 1802)					+			+		
Philodromus dispar Walckenaer, 1826					+			+		
Philodromus rufus Walckenaer, 1826								+		
Tibellus oblongus (Walckenaer, 1802)				+				+		+
Coriarachne depressa (C.L. Koch, 1837)								+		
Diaea dorsata (Fabricius, 1777)	+				+					
Ebrechtella tricuspidata (Fabricius, 1775)				+						
Ozyptila praticola (C.L. Koch, 1837)	+	+	+						+	
Pistius truncatus (Pallas, 1772)					+					
Thomisus onustus Walckenaer, 1806				+						
Xysticus audax (Schränk, 1803)					+					
Ballus chalybeius (Walckenaer, 1802)	+				+			+		
Euophrys frontalis (Walckenaer, 1802)						+			+	+
Evarcha arcuata (Clerck, 1757)			+		+			+	+	+
Heliophanus cupreus (Walckenaer, 1802)							+	+		+
Heliophanus dubius C.L. Koch, 1835					+					
Salticus zebraneus (C.L. Koch, 1837)			+					+		

Висновки. Отримані результати свідчать про те, що зелені зони передмість Києва характеризуються більшим видовим різноманіттям мезостигматичних кліщів порівняно з міськими парками (від 10 до 15 видів на території міських парків та від 23 до 34 видів на території зелених зон передмістя). Загальна кількість виявлених видів кліщів-мезостигмат становить 63, вони репрезентують 30 родів з 10 родин.

В зелених насадженнях міста Києва та його передмість знайдено 104 види павуків з 67 родів та 16 родин. Вид *Achaearanea tabulata* знайдено вперше для території лісостепу України. Для західноєвропейського виду *Meioneta saxatilis* встановлена крайня східна точка меж ареалу. *Sintula spiniger* відмічений вперше для Східної Європи. Для досліджених біотопів показано, що для певних типів рослинності та окремих ярусів існують характерні видові комплекси павуків.

Автори висловлюють подяку кандидату біологічних наук В.А. Гнелиці (Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка) за цінну допомогу при визначенні павуків родини linyphiidae.

1. Сингаевский Е.Н., 2009. Интересные находки пауков семейства Theridiidae в Среднем Приднпровье Украины. // Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів – 2009 (м. Київ, Інститут зоології НАН України, 8–9. 04 2009 р.). – (Зоологічний кур'єр, № 3). – Київ, 2009. – с. 49–50. – <http://izan.kiev.ua/KMDZ09-abstr.pdf>. 2. Уточкин А. С. Пауки Сараловского лесничества Волжско-Камского заповедника // Вопросы арахноэнтомологии. Фауна и экология насекомых и других кровососущих членистоногих. – Пермь. – 1977. – С. 69-80. 3. Чернов Ю. И. Основные синэкологические характеристики почвенных беспозвоночных и методы их анализа // Методы почвенно-зоол. исслед. – М.: Наука. – 1975. – С. 160-216. 4. Denis J. Notes sur les érigonides. XXXVI. Le genre Sintula Simon // Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse. – 1967. – Vol. 103. – P. 369-390. 5. Heimer S., Nentwig W. Spinnen Mitteleuropas: Ein Bestimmungsbuch. Berlin: Verlag Paul Parey, 1991. – 543 s. 6. Miller F. Sintula buchari sp. n., eine neue Zwergspinne aus der Tschechoslowakei (Araneidea, Micryphantidae) // Acta ent. Bohemoslavaca. – 1968. – Vol. 65. – S. 241-245. 7. Platnick N.I., 2009. The world spider catalog, version 9.5. American Museum of Natural History, online at <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>.

Надійшла до редколегії 24.09.09

УДК 576.36, 577.25, 616.006.6

В. Кухарчук, студ., А. Хоруженко, канд. біол. наук,
О. Чередник, канд. біол. наук, В. Філоненко, д-р біол. наук

ІМУНОЦИТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ВМІСТУ S6K У КЛІТИНАХ ЛІНІЇ MCF-7 НА РІЗНИХ СТАДІЯХ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ

Досліджено внутрішньоклітинний вміст і локалізацію кіназ рибосомного білка S6 у кожній фазі клітинного циклу на клітинах лінії карциноми молочної залози людини MCF-7 за умов культури клітин in vitro. Виявлено, що вміст S6K значно зростає під час мітозу, порівняно з інтерфазою.

The subcellular localization and content of the ribosomal protein S6 kinase (S6K) were investigated during cell cycle using human breast cancer cell line. It was revealed, that the content of S6K increased during mitosis, in comparison with interphase.

Вступ. Кінази рибосомного білка S6 (S6K) беруть участь у внутрішньоклітинній сигналізації як нижня ланка PI3 кіназного каскаду [2,6]. У клітинах ссавців функціонує дві гомологічні форми цих кіназ: S6K1 та S6K2 з молекулярними масами відповідно 70 кДа і 54кДа. Для S6K1 та S6K2 характерна наявність як ядерної, так і цитоплазматичної ізоформ – S6K1 I, S6K2 I та S6K1 II, S6K2 II відповідно [5].

Шляхом фосфорилювання низки субстратів S6K беруть участь у контролі над процесами, залученими до росту, розвитку, виживання клітин. Достеменно відомо, що фосфорилювання S6 кіназою рибосомного білка S6 є важливим для формування полісом і транскрипції 5'TOP іРНК, що кодує рибосомні білки і фактори елонгації трансляції [3, 9]. Завдяки фосфорилюванню інших субстратів, а саме кінази eEF2 (еукаріотичний фактор елонгації трансляції 2), а також eIF4B (еукаріотичний фактор ініціації трансляції 4B), S6K беруть участь у регуляції ініціації та елонгації трансляції [9]. Сучасні дослідження показують, що ці кінази залучені і до регуляції апоптозу, оскільки, одним із субстратів є також проапоптичний білок BAD. Необхідно звернути увагу, що гомологи виконують функції, які перекриваються лише частково. Так, S6K2 не впливає на розмір клітин, на відміну від S6K1. Нещодавно отримані результати, які дозволяють припустити, що S6K відіграють важливу роль у проліферації клітин. Так, експериментально показано, що високий вміст S6K1 спостерігається у М фазі клітинного циклу, а S6K2 – у G2 та М фазах [1]. Підвищений вміст S6K1 виявлений у проліферуючих клітинах лінії раку прямої кишки LoVo, SW480, CaCO2, CaRi, DLD-1, COLO205 [7]. Непряме інгібування S6K призводить до зупинки клітинного циклу в G1 періоді [4]. Нещодавно виявлено новий субстрат S6K1 – шаперонін вмісний мульти-субодиничний комплекс TCP-1, що відповідає за фолдинг білка в еукаріотичних клітинах. TCP-1 залучений до фолдингу актину, тубуліну і таких регуляторів клітинного циклу, як циклін E, cdc20, pololike kinase 1 (PLK1). Отже, TCP-1 відіграє істотну роль у регуляції клітинного поділу та організації цитоскелету. S6K1 разом з RSK фосфорилює субодиницю β TCP-1 по сайту Ser-260, що призводить до активації даного комплексу [10]. У існуючій літературі не наводиться інформація про вміст, локалізацію та субстратну специфічність S6K1 та S6K2 на різних стадіях клітинного циклу.

Зважаючи на наведені вище дані, метою представленої роботи було дослідження вмісту та особливостей субклітинної локалізації S6K на усіх стадіях проліферації. Особлива увага зверталась на локалізацію і зміну вмісту S6K1 та S6K2 під час різних фаз мітозу.

Низкою досліджень показано, що PI3K сигнальний шлях гіперактивується у різних типах злоякісно трансформованих тканин, саме тому компоненти PI3K каскаду вважаються перспективними мішенями для протира-

кової терапії. Виявлення вмісту S6K наразі використовується як маркер активності даного сигнального шляху та чутливості пухлин до інгібіторів PI3K, mTOR. Але використання рапаміцину, вортманіну та інших інгібіторів призводить до неспецифічного порушення не лише проліферативної активності клітин, але й їх метаболізма, виживання, росту, старіння. Дослідження функцій нижніх ланок PI3K каскаду дозволить більш специфічно регулювати процеси життєдіяльності як нормальних, так і трансформованих клітин.

Об'єкт та методи дослідження. У роботі використовували культуру клітин карциноми молочної залози людини MCF-7, яка характеризується високим рівнем експресії досліджуваних кіназ і тому не потребує систем підсилення імунцитохімічної реакції. Візуалізацію вмісту та локалізації S6K на кожній стадії клітинного циклу проводили за допомогою імунцитохімічного методу з наступною флюоресцентною мікроскопією.

Культивування клітин. Лінію клітин карциноми молочної залози людини MCF-7 вирощували в середовищі DMEM, з додаванням 10% телячої ембріональної сироватки (ТЕС). Після досягнення моношару, клітини перенесли на покривні скельця, які попередньо кип'ятили у бідистильованій воді протягом 30 хвилин та автоклаували за температури 120°C протягом 1 години.

Подвійний імунцитохімічний аналіз клітин MCF-7. Клітини, культивовані на покривних скельцях, промивали фосфатно сольовим буфером (ФСБ) і фіксували метанолом протягом 10 хв за кімнатної температури. Клітинні мембрани пермеабілізували розчином 0,2 % Triton X-100 на ФСБ протягом 15 хв. Автофлюоресценцію пригнічували шляхом інкубації з розчином CuSO₄ (10 mM), CH₃COONH₄ (50 mM), pH 5,0 протягом 30хв за кімнатної температури. Для уникнення неспецифічного зв'язування антитіл, клітини інкубували з 10% ТЕС в ФСБ протягом 40хв при 37°C. Суміш первинних антитіл наносили у розчині 10 % ТЕС в ФСБ у розведеннях: моноклональні мишачі проти Ki-67 1:1000, поліклональні кролячі проти S6K1/S6K2 1:100. Інкубацію з первинними антитілами проводили протягом 60хв при 37°C у вологій камері. Після інкубації зразки промивали ФСБ та наносили суміш вторинних антитіл у розчині 10% ТЕС в ФСБ у розведеннях: анти-мишачі антитіла, мічені FITC 1:400, анти-кролячі антитіла, мічені Texas Red 1:400 та інкубували протягом 40хв за температури 37°C у вологій камері. Препарати промивали ФСБ та заключали у середовище, що містило 0,1 М лимонну кислоту, 0,2 М Na₂HPO₄, 50% гліцерину, pH 5,5.

Імунцитохімічне дослідження клітин MCF-7 з наступним дофарбовуванням Hoechst 33258. Як було описано вище, клітини фіксували метанолом, інкубували з Triton X-100, буфером для пригнічення автофлюоресценції, 10% телячої ембріональної сироватки. Первинні моноклональні мишачі антитіла проти S6K1

використовували у розведенні 1:50, а проти S6K2 – 1:100. Вторинні анти-мишачі антитіла, мічені FITC, наносили у такому ж розведенні як і для подвійної імуноцитохімії. Після інкубування з вторинними антитілами, для детекції клітин на стадії поділу, препарати дофарбовували Hoechst 33258 у розведенні 0,25 мкг/мл протягом 3 хв.

Для морфологічних досліджень використовували люмінесцентний мікроскоп Leica DM 1000, обладнаний цифровою фотокамерою Canon Power Shot S70.

Статистичну обробку проводили за допомогою тетрагоричного показника кореляції. Для цього підраховували кількість Ki-67-позитивних клітин та клітин з підви-

щеною імунохімічною реакцією на S6K у трьох ділянках препарату з кількістю клітин не менше 300. $p < 0,01$ вважали статистично вірогідним.

Результати та обговорення. Для проведення імуноцитохімічного дослідження були використані клітини, що досягли 70-відсоткового конфлюентного моношару. Імунофлюоресцентна реакція виявила, що клітинам, які знаходяться на стадії інтерфази, властива переважно цитоплазматична локалізація S6K1 та S6K2, у ядрах спостерігається незначна позитивна імунохімічна реакція (Рис.1).

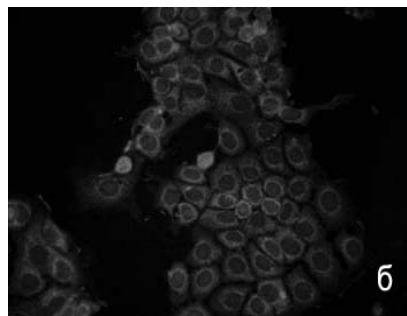
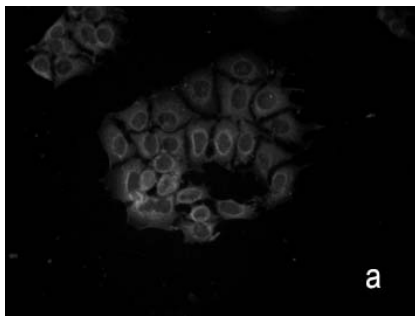


Рис.1. Локалізація S6K у клітинах MCF-7 на стадії інтерфази. а-імунохімічна реакція на S6K1, б-імунохімічне виявлення S6K2. Ок.10х, об. 40х

Отримані дані можуть свідчити про те, що на цій стадії клітинного циклу S6K фосфорилують цитоплазматичні субстрати, а саме рибосомний білок S6, eEF2K, eIF4B [9]. Отже, припускається, що основною функцією S6K під час інтерфази є регуляція апарату біосинтезу білка [3]. Проте, роль S6K1 та S6K2 у цитоплазмі клітин дещо відрізняється. Так, відомо, що для S6K2, на відміну від S6K1, характерна перичентросомна локалізація протягом усього клітинного циклу, але причина цього явища наразі невідома [8].

Незначна позитивна імуноцитохімічна реакція на S6K у ядрах клітин MCF-7 може бути спричинена транспортуванням кіназ у ядро та їх взаємодією з ядерними субстратами, а саме транскрипційним фактором CREM, субодиноцею кеп-зв'язувального комплексу CBP80, білком SKAR [9]. Механізми релокалізації S6K1 та S6K2 у ядро та зворотного експорту в цитоплазму відрізняються. Так, попередні дослідження виявили, що

транспортування S6K2 у ядро регулюється фосфорилуванням даної кінази по сайту Сер 486, що розміщується у С-кінцевому сигналі ядерної локалізації, протеїнкіназою С (PKC). Також відомо, що S6K1 експортується з ядра внаслідок опосередкованого казеїнкіназою 2 (CK2) фосфорилування Сер17 в межах послідовності сигналу ядерної локалізації, що розташований на N-кінці. Причини та наслідки релокалізації S6K достеменно не відомі і зараз активно досліджуються.

Подвійна імунофлюоресцентна реакція дозволила виявити, що клітинам MCF-7 на стадії поділу властиве суттєве підвищення вмісту S6K1 та S6K2, порівняно з інтерфазними клітинами (Рис.2). Аналіз кореляції присутності антигену Ki-67 та посиленої реакції на S6K1/S6K2 підтвердив наявність зв'язку між процесом активації проліферації та зростанням вмісту кіназ рибосомного білка S6.

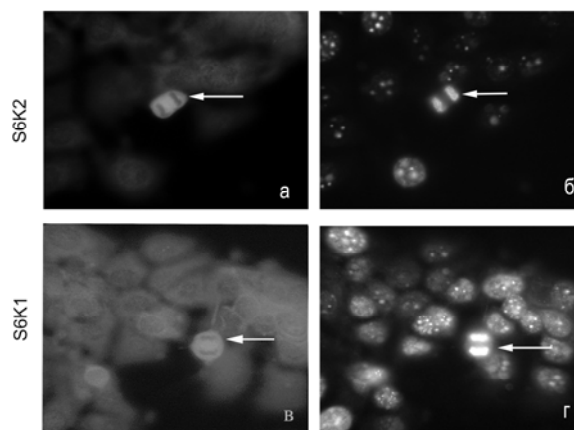


Рис. 2. Імунофлюоресцентна реакція на Ki-67, S6K1, S6K2 у клітинах лінії MCF-7. а, в – виявлення S6K1/S6K2; б, г – виявлення Ki-67; Клітини на стадії поділу позначені стрілками. Ок. 10х, об. 100х

Імуноцитохімічний аналіз вмісту S6K1 та S6K2 на кожній фазі мітозу показав, що під час профази спостерігається незначне підсилення реакції, хоча у цей період відбувається зниження кількості полісом у цитоплазмі та рибосом на грЕПС, що свідчить про пониження рівня синтезу білка. Виявлено, що протягом метафази, анафази та телофази вміст досліджуваних кіназ суттєво зростає. Відзначається посилення реакції у цитоплазмі клітин, при цьому зв'язування із хромосомами відсутнє (Рис. 3). На рис.3 представлені результати лише для S6K1, для S6K2 отримані подібні дані. Під час ме-

тафази, анафази та телофази у клітині має місце міграція хромосом до полюсів клітини, внаслідок реорганізації веретена поділу, а також відновлення ядерної мембрани у телофазі. Відомо, що один із субстратів S6K – TCP1, бере участь у фолдингу актину і тубуліну, які залучені до формування веретена поділу під час мітозу [10]. Показано, що мутації в генах, які кодують TCP1, призводять до аномалій у ході каріокінезу, порушення взаємодій мікротрубочок веретена поділу із хромосомами і втрати частини хромосом.

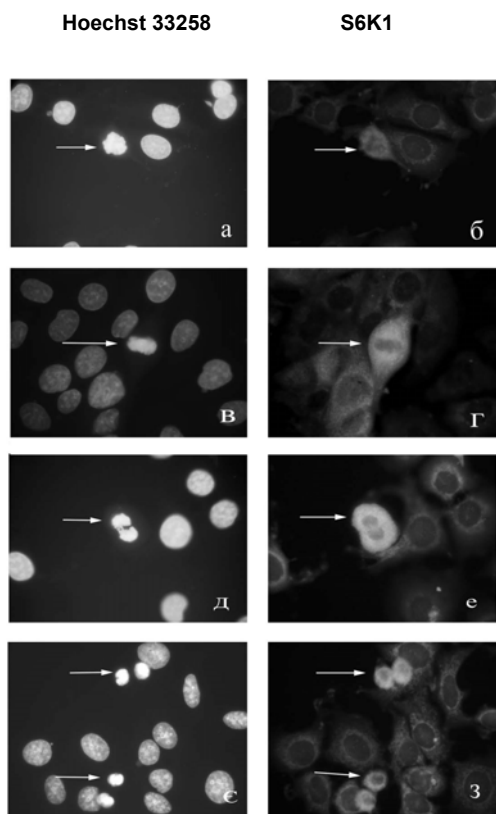


Рис. 3. Імунофлуоресцентне виявлення S6K1 у клітинах MCF-7 на різних стадіях мітозу.

а, б – профаза; в, г – метафаза; д, е – анафаза, з, 3 – телофаза. Клітини на відповідних стадіях позначені стрілками.
а, в, д, е – морфологічне визначення різних фаз мітозу. ДНК дофарбовано Hoechst 33258.
б, г, е, з – локалізація та вміст S6K1 на відповідних стадіях поділу. Ок. 10х, об. 100х

Отримані нами результати співпадають із даними дослідження, у якому за допомогою проточної цитофотометрії виявлено підвищення вмісту S6K у М-фазі клітинного циклу [1]. Однак, у нашій роботі вперше проаналізовано характер субклітинної локалізації та вмісту S6K на різних стадіях мітозу. Явище зростання вмісту досліджуваних кіназ під час поділу клітин у доступній літературі поки що не висвітлено. Зважаючи на відкриття нового субстрату S6K – TCP-1, який відповідає, у тому числі, за фолдинг цикліну Е та отриманих у нашій лабораторії даних про взаємозв'язок MAPK сигнального каскаду і S6K, можна зробити припущення про безпосередню участь S6K у регуляції клітинного циклу.

Висновки. Виявлено, що вміст S6K у клітинах карциноми молочної залози людини MCF-7 значно зростає при переході до мітозу. За допомогою тетрахоричного показника кореляції підтверджено зв'язок між підвищеною імунофлуоресцентною реакцією на S6K та наявністю позитивної реакції на антиген проліферації Ki-67. Вперше досліджено особливості субклітинної локаліза-

ції та вмісту S6K1 і S6K2 на різних стадіях мітозу. Показано, що найяскравіша імуноцитохімічна реакція спостерігається під час метафази, анафази та телофази, тоді як у профазі підсилення реакції є незначним, порівняно з інтерфазними клітинами. Посилення імуноцитохімічної реакції відбувається в цитоплазмі клітин, зв'язування з хромосомами відсутнє. Це дозволяє зробити висновок про залучення S6K до процесу регуляції клітинного циклу. Отримані дані ідентичні для S6K1 та S6K2, що може свідчити про участь обох форм кіназ рибосомного білка S6 у регуляції проліферації. Розробка даного напрямку потребує подальших досліджень з метою з'ясування механізмів описаного явища.

1. Boyer D., Quintanilla R., Lee-Fruman K. Regulation of catalytic activity of S6 kinase 2 during cell cycle // *Mol. Cell. Biochem.* – 2008. – Vol. 307. – № 2. – P. 59-64.
2. Carracedo A., Pandolfi P. The PTEN–PI3K pathway: of feedbacks and cross-talks // *Oncogene.* – 2008. – Vol. 27. – P. 5527-5541.
3. Dufner A., Thomas G. Ribosomal S6 Kinase Signaling and the Control of Translation // *Experimental Cell Research.* – 2000. – Vol. 253. – P. 100-109.
4. Francesc V., Chambard J., Pouysse'gur J. p70 S6 Kinase-mediated Protein Synthesis Is a Critical Step for Vascular Endothelial Cell Proliferation

// J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274. – № 38. – P. 26776-26782. 5. Gout I., Minami T., Hara K., Filonenko V. Molecular cloning and characterization of a novel p70 S6 kinase, p70 S6 kinase beta containing a proline-rich region // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273. – № 46. – P.3061-3064. 6. Hanks S., Hunter T. Protein kinases 6. Jastrzebski K., Hannan K. Coordinate regulation of ribosome biogenesis and function by the ribosomal protein S6 kinase, a key mediator of mTOR function // Growth Factors. – 2007. – Vol. 25. – № 4. – P. 209-226. 7. Nozawa H., Watanabe T., Nagawa H. Phosphorylation of ribosomal p70 S6 kinase and rapamycin sensitivity in human colorectal cancer // Cancer Letters. – 2007. – Vol. 251. – P. 105-113.

8. Rossi R., Pester J., McDowell M. Identification of S6K2 as a centrosomelocated kinase // FEBS Lett. – 2007. – Vol.581. – P. 4058-4064. 9. Ruvinsky I., Meyuhas O. Ribosomal protein S6 phosphorylation: from protein synthesis to cell size // Trends Biochem Sci. – 2006. – Vol.31. – P. 342-348. 10. Yuki Abe, Sang-Oh Yoon, Kazuishi Kubota. RSK and S6K link phosphorylation of the eukariotic chaperonin containin TCP-1 (CCT) to growth factor, insulin and nutrient signaling // JBS. – 2009. – Vol. 280. – P. 10654-10662.

Надійшла до редколегії 16.10.09

УДК 599.722 (477)

М. Ільєнко, д-р біол. наук, Г. Романюк, асп.

ПОРІВНЯННЯ ЖУВАЛЬНОГО АПАРАТУ ПРЕДСТАВНЕКІВ РОДИНИ СОБАЧИХ ТА ПЛЯМИСТОЇ ГІЄНИ (*CROCUTA CROCUTA*)

Наше дослідження вивчає пристосування хижаків до розгризання кісток. Для цього проведений біомеханічний аналіз щелепного апарату собак у порівнянні з плямистою гієною.

This investigation research crack bone adaptation of carnivorous mammals. For that biomechanical analysis of jaw apparatus of canine relatively with spotted hyena are discussed.

Вступ. Хижі представники ряду *Carnivora* живляться переважно хребетною здобиччю. При цьому вони стикаються з рядом проблем, пов'язаних з захватом, вбивством та подрібненням здобичі, що спричинюють навантаження на жувальний апарат хижаків. Різні трофічні стратегії впливають на черепно-лицьовий скелет ссавців і форму окремих кісток в ньому [1, 3]. Дослідивши зв'язок морфо-функціональних параметрів жувального апарату з трофічною спеціалізацією тварин можна передбачити його принципові функціональні можливості, що може бути використане в палеозоології та для систематики.

Особливістю трофічних стратегій собак та гієнових є розгризання кісток великого діаметру. Для цього собаки використовують премолари (P_4), а гієнові – моляри (M_1). Метою цього дослідження є порівняння жувального апарату представників родини собак та плямистої гієни у

зв'язку з пристосуванням до поїдання твердої їжі. Для цього нижня щелепа моделювалася як консольна балка, що дозволяє аналізувати конструкцію щелепи, використовуючи механічні принципи роботи важеля.

Об'єкти та методи дослідження. Досліджувалися нижні щелепи 9 видів родини *Canidae* (*Alopex lagopus*, *Canis latrans*, *C. lupus*, *Speothos venaticus*, *Lycaon pictus*, *Chrysocyon brachyurus*, *Nyctereutes procyonoides*, *Vulpes vulpes*, *V. corsac*) та 1 вид родини *Hyaenidae* (*Crocota crocuta*).

В даному дослідженні нижні щелепи собак та гієни розглядалися як важелі. Були виміряні довжини робочої і балансуєчої сторони плеча важеля (рис. 1).

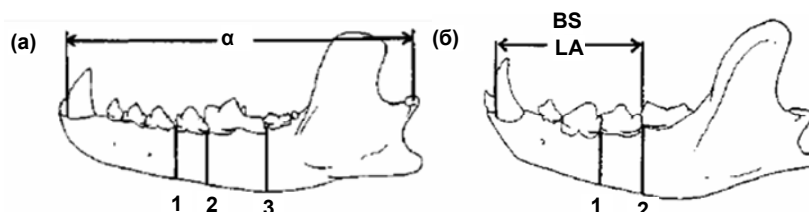


Рис. 1. Лінійні проміри та розташування міжзубних проміжків у а) собак та б) гієнових.

Скорочення: DL – довжина нижньої щелепи (ДНЩ); WSLA – робоча сторона плеча важеля (РСПВ); BSLA – балансуєча сторона плеча важеля (БСПВ). Плечі важеля ілюстровані для міжзубного проміжку P_4M_1 . Міжзубні проміжки: 1) P_3P_4 , 2) P_4M_1 та 3) M_1M_2

Довжина робочої сторони плеча важеля (РСПВ) вимірювалася як відстань від центра обертання нижньощелепного відростка до міжзубного проміжку між P_4 та M_1 (далі РМ) у собак та до проміжку між M_1 та M_2 (далі ММ) у гієни. Довжина балансуєчої сторони плеча важеля (БСПВ) вимірювалася як відстань від відповідного міжзубного проміжку (РМ для собак, ММ для гієни) до міжзубного проміжку між I_3 та нижнім іклом. Були виміряні також такі показники як ширина нижньої щелепи (ШНЩ) та довжина нижньої щелепи (ДНЩ).

Результати та їх обговорення. Собаки мають досить багато морфологічно примітивних щічних зубів (у більшості). Переважне місце обробки кісток у них локалізоване в молярах, що дозволяє збільшити оклюзійну

силу, порівняно з премоларами, оскільки довжина робочої сторони важеля до молярів коротша, ніж до премоларів. Однак, каудальна позиція молярів зменшує діаметр кісток, які можуть оброблятися цими зубами.

Гієни використовують техніку вбивства собак [2] і мають подібну до них довжину нижньої щелепи. Нижні щелепи гієни, з іншого боку, демонструють значну адаптацію до поїдання твердої їжі. Кількість кутніх зубів у неї зменшена. Кістки обробляються премоларами, що дає змогу розгризати кістки великого діаметру, завдяки можливості збільшити розкриття щелеп. Дійсно, досліджуючи відношення РСПВ до ДНЩ, плече важеля від нижньощелепного суглоба до премоларів у гієни більше, ніж у собак до молярів (рис. 2).

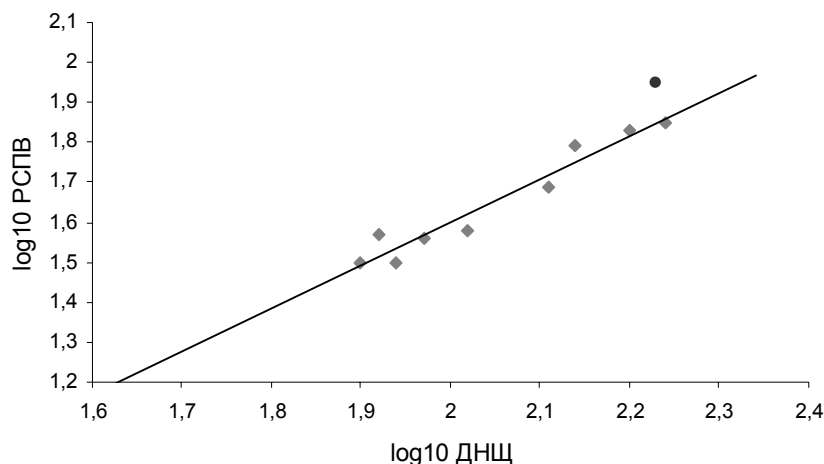


Рис. 2. Log-log-графік довжини робочої сторони плеча важеля (РСПВ) до довжини нижньої щелепи (ДНЩ).

Позначення: ■ – собачі, ● – гієна. Лінія – це лінія тренда для собачих

Збільшене розкриття щелеп повинне призводити до деякої втрати сили укусу. Але премоляри гієни розташовані ближче до щелепного суглоба відносно довжини

нижньої щелепи, ніж моляри собачих (відношення БСПВ до ДНЩ), тому важіль, пов'язаний з балансуєючою стороною сил через симфіз, у гієни коротший (рис. 3).

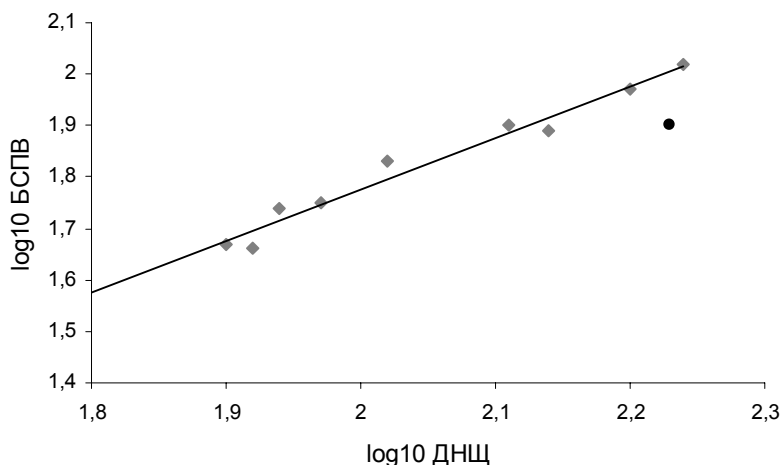


Рис. 3. Log-log-графік довжини балансуєючої сторони плеча важеля (БСПВ) до довжини нижньої щелепи (ДНЩ).

Позначення як в рис. 1

Коротша балансуєча сторона плеча важеля повинна відповідати більшому вкладу контралатеральних сил жувального м'яза в силу укусу під час розгризання кісток премолярами на робочій стороні. Тому гієна ефективніше використовує не тільки іпсілатеральні, а і контралатеральні сили для великих оклюзійних сил в премолярах.

Висновки. Завдяки обробці кісток премолярами (що дозволяє розміщувати кістки більшого діаметру) та скороченню довжини балансуєючої сторони плеча важеля відносно довжини нижньої щелепи гієна ефективніше використовує контралатеральні жувальні сили та демонструє більшу пристосованість до споживання

твердої їжі, ніж собачі, які обробляють кістки молярами (що збільшує силу жування, але не дозволяє розміщувати кістки великого діаметру).

1. Biknevicius A. R., Ruff C. B. The structure of the mandibular corpus and its relationship to feeding behaviours in extant carnivores // J. Zool. (London). – 1992a. – Vol. 228. – P. 479-507.
2. Kruuk H. The Spotted Hyena. – Chicago: Univ. Chicago Press, 1972. – 39 p.
3. Van Valkenburg B., Koeplli K.-P. Cranial and dental adaptations to predation in canids // Symp. Zool. Soc. Lond. – 1993. – Vol. 65. – P. 15-37.

Надійшла до редколегії 16.10.09

УДК 578.89

Ю. Зубик, асп., Т. Шевченко, канд. біол. наук,
В. Поліщук, д-р біол. наук

ДЕТЕКЦІЯ ВІРУСІВ, ЩО ІНФІКУЮТЬ ПРЕДСТАВНИКІВ ПРІСНОВОДНИХ ВОДОРОСТЕЙ ВІДДІЛУ *CHLOROPHYTA*

У статті розглядаються основні підходи детекції вірусів прісноводних водоростей у прісних водоймах. Для детекції використовувалися методи біотестування і електронної мікроскопії з попереднім диференційним центрифугуванням.

In this article we discuss main approach to detection limnetic algae viruses in free-salined water. For detection we used bioassay and electron microscopy investigation with previous differential centrifugation of specimens.

Вступ. Останнім часом все більше дослідників приділяє увагу вивченню вірусів водоростей. У перших повідомленнях, затверджених Міжнародним комітетом таксономії вірусів (ICTV), всі віруси, що інфікують фітопланктон, було згруповано в одну родину *Phycodnaviridae*, яка об'єднувала чотири роди та нараховувала приблизно 60 представників. У опублікованому 25 травня 2005 р. восьмому повідомленні ICTV представники альговірусів вже розділені на дві родини РНК-вмісні *Marnaviridae* та ДНК-вмісні *Phycodnaviridae*. Родина *Phycodnaviridae* об'єднує близько 120 представників, розділених на 6 родів, та біля 20 з невстановленим таксономічним положенням. До родини *Marnaviridae* поки що входить лише один рід з одним типовим представником. Сьогодні віруси, що уражують одноклітинні мікроводорості, є однією з найбільш динамічно зростаючих груп.

Така увага до представників альговірусів не випадкова, оскільки вони беруть безпосередню участь у біологічних процесах, що відбуваються у Світовому океані. Деякі віруси водоростей досліджуються перш за все внаслідок їх важливості у регуляції чисельності фітопланктону у водних екосистемах. Відомості про те, що альговіруси, які індукують вірусний лізис, є причиною загибелі більш, ніж 25% цвітіння фітопланктону [1, 2], мають важливе господарське значення, бо таким чином можна запобігти забрудненню води токсинами та продуктами метаболізму водоростей, що в свою чергу сприяє збільшенню аквафауни. З іншого боку, водорості, і зокрема мікроводорості, лежать в основі харчової піраміди водойм і є основним продуцентом первинної продукції водних харчових ланцюгів [3]. Ще одним стимулом для розвитку досліджень біології альговірусів стало їх прикладне значення. Оскільки сьогодні водорості розглядаються також як перспективні харчові, енергетичні та лікарські ресурси, то віруси таких водоростей розглядаються як причина вагомих втрат сировини, і як наслідок – втрат фінансових. Тому вивчення екології альговірусів має як наукове, фундаментальне, так і практичне значення [2].

Важлива господарча роль, центральне місце в перебігу екологічних процесів призвело до активних досліджень альговірусів. Однак слід зауважити, що успіхи останніх років, пов'язанні з широким вивченням біологічних, морфологічних, генетичних та молекулярно-біологічних особливостей вірусів, стосуються лише представників, що інфікують морські мікроводорості. Нечисленні представники належно описаних та систематизованих вірусів зелених прісноводних водоростей (відділ *Chlorophyta*) належать до роду *Chlorovirus*. Ще кілька десятків повідомлень про виділення та опис вірусоподібних часток у представників прісноводних водоростей не отримали належної оцінки і не затверджені Міжнародним комітетом таксономії вірусів. Незважаючи на перегляд та ускладнення таксономічної структури групи вірусів, що уражують водорості, вона і досі є дуже суперечливою та продовжує втрачати свою актуальність [4].

З огляду на недостатню вивченість вірусів прісноводних водоростей, метою наших досліджень була детекція вірусів, що інфікують представників прісноводних водоростей відділу *Chlorophyta* в різних водоймах міста Києва.

Матеріали та методи. У якості тестових культур використовувалися зразки мікроводоростей *Planophila* sp., *Chlorella* sp., *Carteria crucifera*, *Chlorococcum* sp., *Chlamydomonas heterogama*, *Scenedesmus* sp., *Borodina* sp., *Oocystis* sp., надані співробітниками кафедри ботаніки Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

У роботі було використовувалося 16 зразків води. Для первинного пошуку вірусів прісноводних водоростей було проведено забори води в кількох озерах Оболонського та Голосіївського районів, а також з р. Дніпро в районі Оболонської набережної. Після відбору проби води фільтруються через бактеріальний фільтр (millex GV 0,22).

Для індикації вірусів у відібраних пробах використовувалися методи біотестування та електронної мікроскопії з попереднім диференційним центрифугуванням зразків.

Культури водоростей вирощувалися за стандартними методиками на рідкому та агаризованому поживному середовищі BBV (Bold's Basal Medium). У пробірки наливають по 2 мл суспензії культур водоростей та додають 2 мл поживного середовища BBV (Bold's Basal Medium). Очікуваний ефект активного росту настає на 5 – 7 добу. Свіжу суспензію можна знов використовувати для пересіву (2 – 4 мл поживного середовища BBV Bold's Basal Medium) та 2 мл свіжої суспензії водорості). Однак при такому способі культивування на 10 – 15 добу від початку культивування після стадії активного росту настає загибель культур.

Також виявилось, що тест-культури погано культивувалися в колбах великих об'ємів (0,25 – 0,5 л). На 2 – 3 добу активного росту спостерігалось осідання водоростей на дно колби чи зосередження росту лише по поверхні середовища. Дані ефекти, ймовірно, всього, спостерігаються як наслідок погіршення аерації середовища при збільшенні його об'єму, тому для покращення кисневого обміну пробірки та колби з культуральною суспензією слід час від часу перемішувати.

Хоча наведена вище методика добре зарекомендувала себе для накопичення культур мікроводоростей в об'ємі, у нашому випадку вона виявилася не ефективною для довготривалого зберігання активних культур. З метою довготривалого зберігання культур мікроводоростей в активному стані проводилося їх вирощування на агаризованому поживному середовищі. На скоси з 1,5 % агаризованим середовищем BBV петлею висівалися зразки 5 – 7 денних тест-культур. Ріст водоростей спостерігався на 3 – 4 добу. У такому стані зразки мікроводоростей зберігалися активними протягом 2 – 3 тижнів без додаткового пересіву чи додавання нових порцій поживного середовища.

При вирощуванні зразків виявилось, що культури *Chlorella* sp., *Carteria crucifera*, *Chlorococcum* sp., *Borodina* sp. контаміновані сторонніми мікроорганізмами.

мами, на агаризованому BBV разом з водоростями спостерігався ріст прозорих колоній. Для очистки зазначених зразків культури мікроводоростей було пересіяно на агаризоване середовище методом виснажливого штриха з подальшим перенесенням окремих колоній в пробірки з рідким середовищем BBV.

Слід зауважити, що альговіруси здатні ефективно інфікувати лише ті культури, які знаходяться на активній стадії росту. З цією метою за 2 – 3 доби до біотестування проводиться попередня підготовка зразків мікроводоростей. У пробірки вносять по 1 мл семиденної суспензії культур водоростей та додають 3 мл поживного середовища BBV.

Результати та їх обговорення. Біотестування віібраних проб проводилося за такою схемою: у пробірки додають по 2 мл попередньо підготовлених зразків мікроводоростей *Planophila* sp., *Chlorella* sp., *Carteria crucifera*, *Chlorococcum* sp., *Chlamydomonas heterogama*, *Scenedesmus* sp., *Borodinella* sp., *Oocystis* sp. та 2 мл профільтрованих через бактеріальний фільтр проб води.

Оскільки за літературними даними альговіруси в природних місцях росту мікроводоростей зустрічаються у досить високих концентраціях, очікуваний ефект лізису може спостерігатися на 5 – 7 добу. Також було проведено біотестування проб на агаризованому поживному середовищі. В чашку Петрі вносимо 1 мл. мікроводорості та розділяємо скляним стерильним шпателем по поверхні середовища. Після утворення рівномірного газону дно чашки ділимо на 10 секторів і на кожен з них наносимо по 0,1 мл профільтрованих проб води.

Біотестування проб на агаризованому поживному середовищі не дало однозначних результатів, можливо, це пов'язано з невеликою кількістю проб води, нанесених на газон тест-культур.

За результатами біотестування проб води в рідкому середовищі було виявлено, що зразки, віібрані з системи озер Опечень Оболонського району (оз. Вербне (№1), оз. Великий Опечень (№2)) та системи озер парку ім. Рильського (№6), здатні лізувати тест культури *Planophila* sp. та *Chlamydomonas heterogama*.

Таблиця 1. Результати біотестування проб на тест-культурах

	Віібрані з оз. Вербного	Віібрані з оз. Великий опечень	Віібрані з системи озер парку ім. Рильського	Контроль
<i>Planophila</i> sp.	-	-	-	+
<i>Chlorella</i> sp.	+	+	+	+
<i>Carteria crucifera</i>	+	+	+	+
<i>Chlorococcum</i> sp.	+	+	+	+
<i>Chlamydomonas heterogama</i>	-	-	-	+
<i>Scenedesmus</i> sp.	+	+	+	+
<i>Borodinella</i> sp.	+	+	+	+
<i>Oocystis</i> sp.	+	+	+	+
Контроль	-	-	-	

Примітки: – -лізис тест культури (відсутність росту);
+ -нормальний ріст тест-культури.

У подальшому зразки, які призвели до лізису культур водоростей, досліджувалися методом електронної мікроскопії. В результаті проведення електонно-мікроскопічних досліджень нам не вдалося ідентифікувати в культуральному лізаті вірусоподібні частки. На нашу думку, це пов'язано з тим, що концентрація часток не достатня для їх виявлення на електронно-мікроскопічних зображеннях, а об'єм лізату не достатній для проведення диференційного центрифугування та концентрації вірусних часток.

Вивчення екології альговірусів має як наукове, фундаментальне, так і практичне значення. Успіхи останніх років, пов'язанні з широким вивченням біологічних, морфологічних, генетичних та молекулярно-біологічних особливостей вірусів, в основному стосуються лише представників, що інфікують морські мікроводорості. За

результатами біотестування проб води в рідкому середовищі було виявлено, що зразки віібрані з оз. Вербного, оз. Великий Опечень (система озер Опечень Оболонського району) та системи озер парку ім. Рильського здатні лізувати тест культури *Planophila* sp. та *Chlamydomonas heterogama*.

1. Castderly T. Algal viruses: Characteristics and ecological effects. – PY: Dep.of Micr., University of Bergen, 2001. – 204 p. 2. Степанова О.А. "Екология аллохтонных и автохтонных вирусов Черного моря". – Севастополь: "Мир", 2004. – 308 с. 3. Keizo Nagasaki, Yuji Tomaru, Noriaki Katanozaka, Yoko Shirai, Kensho Nishida, Shigeru Itakura, and Mineo Yamaguchi. Isolation and Characterization of a Novel Single-Stranded RNA Virus Infecting the Bloom-Forming Diatom *Rhizosolenia setigera* // Applied and Environmental Microbiology, February 2004, p. 704-711, Vol. 70, No. 2 4. Willie Wilson Giant algal viruses: lubricating the great engines of planetary control // Microbiology to dayvol 29/NOV02

Надійшла до редколегії 26.10.09

УДК 616.33:577.125.33

К. Дворченко, канд. біол. наук, С. Вакал, студ.,
У. Савко, студ.

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У СУБКЛІТИННИХ ФРАКЦІЯХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВИКЛИКАНОЇ ВИРАЗКИ

Показано, що за умов експериментальної виразки шлунка найбільш інтенсивно відбувались процеси перекисного окиснення ліпідів у мітохондріальній фракції слизової оболонки шлунка щурів.

It fixed that at experimental stomach ulcer most intensively lipid peroxidation processes taken place in the mitochondrial fraction of gastric mucosa of rats.

Вступ. За умов дії на організм людини негативних факторів (стрес, паління, використання нестероїдних протизапальних препаратів тощо) підвищується небезпека розвитку ерозивно-виразкових ушкоджень слизо-

вої оболонки шлунка (СОШ). Значну роль у механізмі розвитку деструктивних процесів у СОШ відіграє активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), в

результаті якої спостерігається накопичення в клітинах вільних радикалів [6, 7].

Для отримання цілісного уявлення про зміни окисно-антиоксидантної рівноваги у епітеліоцитах шлунка за умов розвитку виразкових уражень доцільно дослідити процеси ПОЛ на субклітинному рівні. Метою нашої роботи було визначити вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідях використовували щурів лінії Вістар обох статей вагою 180–230 г., яких утримували на стандартному раціоні віварію. Для створення стресової виразки шлунка у тварин використовували модель імобілізаційного водоімерсійного холодового стресу [9]. Після імобілізації щурів у спеціальних патронах, тварин розміщували в резервуарах з водою, температура якої складала 23°C. Через 3 години щурів виймали з патронів та декапітували. Етанолову модель виразки шлунка створювали за методом [8]. Для цього щурам перорально вводили етиловий спирт (1 мл 96% C₂H₅OH на 200 г ваги) та через 1 годину декапітували. Після декапітації тварин, з гомогенату слизової оболонки шлунка щурів виділяли субклітинні

фракції (ядра, мітохондрії та цитозоль) загальноприйнятим методом [3]. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом [1], шиффових основ – флюориметричним методом [2]. Вміст ТБК-активних сполук визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [5]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [4]. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

Результати та їх обговорення. Інтенсивність ліпідної пероксидації у субклітинних фракціях СОШ за умов експериментальної виразки оцінювали за вмістом продуктів ПОЛ: первинних – дієнових кон'югатів, проміжних – ТБК-активних продуктів та кінцевих – шиффових основ.

Встановлено, що при впливі стресового фактору вміст дієнових кон'югатів у субклітинних фракціях СОШ зростає: у ядрах – на 69%, у мітохондріях – на 146% та цитозолі – на 76% відносно контролю (табл. 1). За умов дії етанолу також спостерігалось збільшення рівня первинних продуктів ПОЛ: у ядрах – на 46%, у мітохондріях – на 54% та цитозолі – на 35% по відношенню до контрольних тварин (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст дієнових кон'югатів у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки, нМоль х мг білка⁻¹, (M ± m, n=10)

Група тварин	контроль	стрес	етанол
Фракції			
Ядра	179,57 ± 15,28	304,16 ± 30,54*	261,22 ± 24,11*
Мітохондрії	174,08 ± 15,23	428,24 ± 39,15	268,08 ± 25,83
Цитозоль	85,23 ± 8,09	150,24 ± 14,17	114,69 ± 9,52

*- p<0,05 щодо контролю

Показано, що за умов обох моделей експериментальної виразки шлунка вміст проміжних продуктів ПОЛ був статистично значиме збільшений лише у мітохондріях СОШ, відповідно при стресі – на 89% та при дії етанолу – на 63% відносно контролю (табл. 2). У ядер-

ній та цитозольній фракції СОШ достовірно зростання цього показника зафіксовано лише при стресовій виразці. Так, при стресі рівень ТБК-активних сполук зростає у ядерній фракції – на 75%, а у постмітохондріальній – на 41% по відношенню до контролю (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст ТБК-активних сполук у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки, нМоль х мг білка⁻¹, (M ± m, n=10)

Група тварин	контроль	стрес	етанол
Фракції			
Ядра	247,04 ± 23,05	432,59 ± 41,83*	295,36 ± 27,12
Мітохондрії	324,19 ± 26,14	612,72 ± 55,39	527,33 ± 51,19
Цитозоль	364,55 ± 33,71	513,73 ± 46,94*	425,31 ± 40,15

*- p<0,05 щодо контролю

При дослідженні кінцевих продуктів ПОЛ у субклітинних фракціях СОШ за умов дії обох ульцерогенних чинників виявлено статистично значиме накопичення шиффових основ у мітохондріальній та цитозольній фракціях СОШ. Так, при стресовій виразці вміст кінцевих продуктів ПОЛ збільшувався у мітохондріях – на

56%, цитозолі – на 42%, при етаноловій виразці їх рівень зростає у мітохондріальній фракції – на 29%, цитозольній – на 25% відносно контрольних величин (табл. 3). У ядерній фракції СОШ вміст шиффових основ збільшувався лише при дії стресового фактора, відповідно на 48% по відношенню до контролю.

Таблиця 3. Вміст шиффових основ у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки, ум. од. х мг білка⁻¹, (M ± m, n=10)

Група тварин	контроль	стрес	етанол
Фракції			
Ядра	5,49 ± 0,51	8,15 ± 0,87*	6,36 ± 0,62
Мітохондрії	6,95 ± 0,58	10,82 ± 0,93*	8,93 ± 0,78*
Цитозоль	5,18 ± 0,47	7,34 ± 0,68*	6,48 ± 0,61*

*- p<0,05 щодо контролю

Встановлене зростання кількості утворених продуктів ПОЛ у досліджуваних фракціях СОШ за умов експери-

ментальної виразки свідчить про порушення збалансованої взаємодії про- та антиоксидантних процесів у епі-

теліоцитах шлунка. В результаті дії на організм таких пошкоджуючих факторів, як стрес та етанол, відбувається надмірне утворення активних форм кисню у клітинах СОШ та ослаблення системи антиоксидантного захисту.

Виявлено, за умов дії стресового фактору епітеліоцити шлунка більш уразливі, ніж при дії етанолу, що проявляється у більш вираженій відповіді ПОЛ на стрес.

Висновки. В результаті проведених експериментальних досліджень встановлено, що за умов експериментальної виразки процеси ПОЛ найбільш активні у мітохондріальній фракції слизової оболонки шлунка щурів, що вказує на визначальне значення мітохондрій у розвитку виразкового процесу.

1. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лабораторное дело. – 1988. – № 2. – С. 60-63.

2. Колесова О.Е., Маркин А.А., Федорова Т.Н. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах // Лабораторное дело. – 1984. – № 9. – С. 540-546.
3. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во Моск. Универ., 1989. – С. 406.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Информполиграф, 2002. – 305 с.
5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
6. Kwiecien S., Pawlik M.W., Sliwowski Z. et al. Involvement of sensory afferent fibers and lipid peroxidation in the pathogenesis of stress-induced gastric mucosa damage // J. Physiol. Pharmacol. – 2007. – Vol.58, Suppl 3. – P. 149-162.
7. Olaleye S.B., Adaramoye O.A., Erigbali P.P. and Adeniyi O.S. Lead exposure increases oxidative stress in the gastric mucosa of HCl/ethanol-exposed rats // World J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13(38). – P. 5121-5126.
8. Robert A., Nezamis J.E., Lancaster C. and Hanchar 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.
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 15.10.09

УДК 615.324

О. Вороніна, канд. біол. наук, Т. Берегова, д-р біол. наук,
М. Дзержинський, д-р біол. наук

ВПЛИВ АГОНІСТА PPAR γ -РЕЦЕПТОРІВ ПІОГЛІТАЗОНУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ПІЛОРИЧНОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКА ЩУРІВ ПРИ ТРИВАЛІЙ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

Досліджували вплив агоніста PPAR γ -рецепторів піоглітазону на слизову оболонку пілоричного відділу шлунка щурів. При тривалій гіпергастринемії спостерігаються явища дисплазії в слизовій оболонці пілоричного відділу щурів. Введення агоніста PPAR γ -рецепторів піоглітазону може призупинити розвиток непластичної трансформації шляхом блокади трофічної дії гастрину

The effects of PPAR γ -receptors agonist pioglitazone on the gastric pyloric mucosa were investigated in rats. Following long-term experimental hypergastrinaemia, dysplasia of pyloric gastric mucosa was observed. The administration of pioglitazone was found to decrease the neoplastic transformation, presumably by blocking of gastrin trophic action.

Вступ. Одним з основних патогенетичних механізмів розвитку метаплазії та гіперплазії слизової оболонки шлунка при гіпоацидних станах є підвищення рівня гастрину в крові. Гіпергастринемія є реакцією G-клітин антрального відділу шлунка і переднього відділу тонкого кишечника на підвищення внутрішлункового рН (продукція гастрину регулюється по механізмі зворотного зв'язку – чим менше кислотність шлункового соку, тим більше виробляється гастрин) і являє собою фізіологічний компенсаторний механізм, направлений на підвищення секреції соляної кислоти. Однак, окрім посилення секреції HCl, підвищення рівню гастрину приводить до гіперплазії ECL- та G-клітин, що в подальшому може стати причиною розвитку метаплазії та карциноїдних пухлин.

В експериментальних умовах гіпергастринемію викликають введенням блокаторів H⁺-K⁺-АТФази апікальної мембрани парієтальних клітин (омепразол), запобігаючи при цьому виходу іонів H⁺ у порожнину шлунка.

Можна припустити, що методами профілактики розвитку гіперплазії та карциноїдів шлунку може бути розробка методів блокади проліферуючої дії гастрину. Перспективним в даному відношенні є агоніст PPAR γ рецепторів піоглітазон, який контролює клітинну диференціацію, і блокує проліферуючу дію гастрину [8-14].

Останнім часом, вивченню закономірностей пухлинного процесу присвячена більша частина робіт, проведених в патоморфології з використанням лектинів. Це зумовлено тим, що більшість асоційованих з пухлинами антигенів є вуглеводвмісними біополімерами. Синтез специфічних цукрів, що покривають поверхню клітин, в здоровому організмі знаходиться під суворим контролем. В пухлинних тканинах ця рівновага порушена. Генетичний матеріал ракової клітини спотворений, і вона у знач-

ній мірі втрачає контроль над синтезом поверхневих цукрів, виробляючи їх в значно більшій кількості, ніж треба. Через високий ступень глікозилювання, ракові клітини значно піддаються аглютинуючій дії лектинів [3, 5, 7].

Матеріали та методи. У роботі представлені результати експерименту, що проводились на трьох групах самців щурів 5-місячного віку. Контрольну групу представляють щурів, які одержували ін'єкції 0,25 мл ізотонічного розчину NaCl протягом 28 діб. В другій групі щурів була відтворена модель гіпергастринемії. Для цього піддослідним щурам вводили препарат Омез® виробництва "Д-р Редді'с Лабораториз Лтд" (Індія), діюча речовина якого – омепразол. Препарат розчиняли у 0,25 мл ізотонічного (0,9%) розчину NaCl та вводили щурам внутрішньоочеревинно в дозі 14 мг/кг. Третю групу склали щурів, яким одночасно з омепразолом вводили препарат піоглітазон – агоніст PPAR-рецепторів, в дозі 30 мг/кг тіла тварини.

Всіх тварин утримували разом в умовах віварію, на стандартному раціоні з вільним доступом до комбікорму та води, при температурі приміщення +25°C.

Після закінчення експерименту шлунок піддослідних тварин був досліджений за допомогою морфологічних методів. Для цього шлунок тварин фіксували у 10%-му нейтральному розчині формаліну протягом 2 діб, після чого їх заливали в парафін. На санному мікротомі робили зрізи товщиною 5 мкм. Оглядові препарати зафарбовували гематоксиліном-еозином (за Бюмером).

Для дослідження глікокон'югатів слизової оболонки пілоричного відділу шлунка застосовували лектиногістохімічний метод. Найважливішими ознаками епітеліальних пухлин травного каналу вважають збільшення кількості рецепторів лектина зародку пшениці (WGA, специфічний NAcDGlc) та лектину виноградного слима-

ка (HPA, специфічний до NACDGal) разом з атипізмом локалізації зв'язуючих ці лектини глікокон'югатів у складі пухлинних клітин. При цьому дифузний розподіл рецепторів лектина пшениці на поверхні плазмалемі і в цитоплазмі епітеліоцитів доброякісних пухлин вважають прогностичною ознакою їх малігнізації. Відображенням пухлинної прогресії є збільшення мозаїчності зафарбовування гістологічних препаратів при обробці лектинами [3-5]. Саме тому ми використовували 2 лектина різної вуглеводної специфічності, мічених пероксидазою хрому. Серед них були: лектин виноградного слимака HPA – специфічний до NACDGal, та лектин зародків пшениці WGA – специфічний до NACDGlc. Препарати обробляли за допомогою стандартних наборів НПК "Лектинотест" (Львів) в розведенні 1:50 [1, 5]. Візуалізацію місць зв'язування проводили в системі "діамінобензидин – перекис водню". Контроль специфічності реакції проводили виключенням зі схеми обробки діамінобензидину. Активність пероксидази і відповідно локалі-

зацію зв'язаного з глікокон'югатами лектина визначають за коричневими відкладеннями продуктів окислювальної полімеризації діамінобензидина [1, 5].

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті досліджень було виявлено, що слизова оболонка пілоричного відділу шлунка представлена одношаровим призматичним залозистим епітелієм, що вкриває шлункові ямки. Під епітелієм знаходиться власна пластинка слизової оболонки.

Шлункові ямки глибші, ніж в інших відділах шлунку; вони доходять майже до середини слизової оболонки.

Залози у власній пластинці слизової оболонки розгалужені, слизові (кінцеві відділи складаються із світлих клітин із сплюсненими ядрами в базальній частині). Серед клітин власної пластинки слизової оболонки зустрічаються ендокриноцити. Це невеликі за розміром клітини, з базофільною цитоплазмою; ядро знаходиться в апікальній частині, у базальній частині знаходяться гранули.

Мікрофотографії слизової оболонки пілоричного відділу шлунка щурів при забарвленні

А – лектинами зародку пшениці (WGA, специфічний NACDGlc) та
Б – лектинами виноградного слимака (HPA, специфічний до NACDGal)

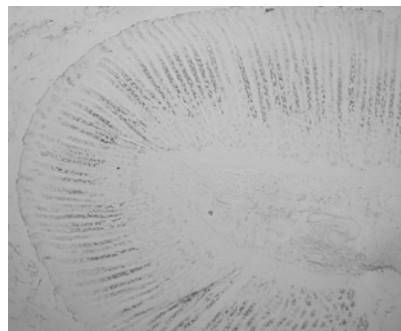


Рис. 1а. Контроль Рис. 2а

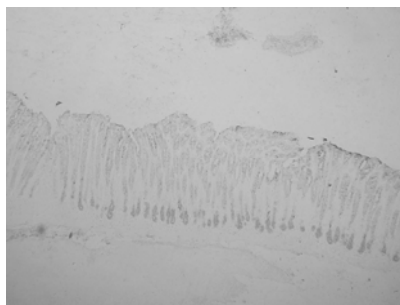


Рис.2а. 28-денне введення омепразолу Рис. 2б

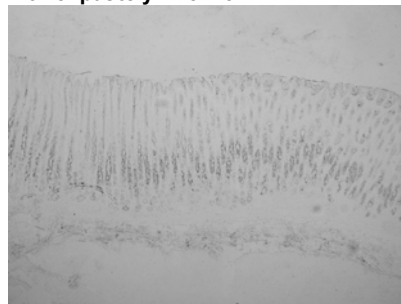
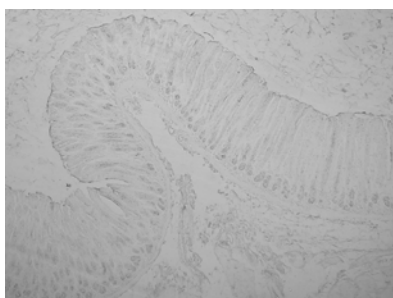


Рис.3а. 28-денне введення омепразолу та піоглітазону Рис. 3б

Серед ендокриноцитів у пілоричному відділі зустрічаються G-клітини, які продукують гастрин та енкефалін, D-клітини (продують соматостатин) і D₁-клітини (продують VIP).

М'язева оболонка містить три шари гладенької м'язової тканини, серед яких найбільш розвиненим є середній (циркулярний) шар, який при виході із шлунку

утворює пілоричний сфінктер. Внутрішньою оболонкою є серозна оболонка, що вкрита мезотелієм.

Результати лектиногістохімічних досліджень слизової оболонки шлунка показали специфічність зв'язування лектинів різної вуглеводної специфічності із структурними компонентами слизової оболонки. Так, нами з'ясована помірна експресія рецепторів NAcDGal-специфічного лектину HPA у слизовій оболонці шлунка щурів контрольної групи у складі слизово-бікарбонатного бар'єру, а також у цитоплазмі і на поверхні плазмолемі залозистих клітинах (рис.16). Однак, треба зазначити, що найбільшу спорідненість до компонентів слизово-бікарбонатного бар'єру проявляв лектин WGA, споріднений до NAcDGlc. (рис 1а).

При 28-денному введенні омепразолу спостерігаються елементи атрофії залоз. Епітелій залишається одношаровим призматичним, але клітини мають сплюснену або витягнуту форму, їхні ядра неправильної форми, гіперхромні, дуже сплюснені, з одним або декількома ядерцями; розташовуються базально в один ряд. Розмір ядер ендокринних клітин зменшується. Серед світлих ядер зустрічаються також темні гіперхромні ядра. Цитоплазма ендокриноцитів майже позбавлена гранул; незначне скупчення гранул можна побачити в перинуклеарній зоні. Це свідчить про підвищену секреторну активність цих клітин. Лімфоцити розташовані по всій товщі слизової оболонки, а також в стромі, що свідчить про гострий запальний процес. Шлункові ямки звивисті та значно розширені, переважна більшість клітин по всій довжині вакуолізована, тут часто спостерігаються фігури мітоза, що підтверджується даними літератури [2, 10, 15].

При тривалому введенні інгібітора протонної помпи у пілоричному відділі шлунка спостерігається виражений процес запалення: у власній пластинці відбувається розширення, повнокрів'я судин і вихід нейтрофілів із судин в строму. Лейкоцити помітні по всій товщі слизової. В слизовій – спостерігається нерівномірна гіперплазія епітелію за рахунок епітеліоцитів (кількість клітин зростає, а розміри зменшуються). У одного із щурів спостерігається щільна язва, тромбоз судин, наявність нейтрофілів в оточуючому середовищі. В поверхневому відділі слизової спостерігаються ознаки дисплазії – невеликі темні ядра в епітеліоцитах, руйнування міжклітинних контактів, зростає проліферація клітин; клітини швидко діляться, але не встигають дозрівати. Також запалення поширюється і на м'язову оболонку.

Знайдені нами зміни в слизовій оболонці пілоричного відділу шлунка можна характеризувати як легкий ступінь дисплазії, однак він може прогресувати у важку, з наступною неопластичною трансформацією, але може і піддаватися спонтанній регресії.

На тлі тривалої гіпергастринемії помітно перерозподіл рецепторів до лектину HPA (рис. 2б): При тривалій дії омепразолу спостерігається більш інтенсивне забарвлення апікальної частини ендокриноцитів слизової оболонки. Лектини HPA зливаються з апаратом Гольджі, що свідчить про підвищення секреторної активності ендокриноцитів. Можливо, це пов'язано з тим, що саме в пілоричному відділі знаходиться більшість G-клітин, які і синтезують гастрин під дією омепразолу. Також чітко помітне нерівномірне стоншення слизової оболонки та порушення її структури.

Більш чітко помітне порушення структури слизової оболонки при забарвленні лектином WGA (рис. 2а). Внаслідок дії омепразолу інтенсивність забарвлення апікальної частини епітеліоцитів зростає. Можна припу-

стити думку, що при процесах запалення відбувається неконтрольована продукція поверхневих вуглеводів.

Згідно результатів проведених досліджень, після 28-денного введення піоглітазону та омепразолу спостерігається тенденція до нормалізації морфологічних критеріїв.

Можна відмітити, що введення агоніста пероксисомних активуючих проліферацію рецепторів блокує дію омепразолу – піоглітазон стимулює диференціювання епітеліоцитів слизової оболонки шлунка, яке порушується при введенні в організм омепразолу [8, 10, 11]. В нижній третині слизової оболонки часто помітні фігури мітозу; а у верхніх шарах – майже не помітно недиференційованих клітин.

Однак, слід відзначити, що серед епітеліальних клітин, зокрема головних, були ознаки, характерні для дії омепразолу, а саме: наявність мікроядер, що свідчить про неповне блокування піоглітазоном атипичного розв'язку, наявність зруйнованих клітин; був помітний набряк епітеліоцитів.

Піоглітазон є агоністом пероксисомних активуючих проліферацію рецепторів (PPAR) – групі ядерних рецепторів, які індукують диференціацію клітин шляхом активації транскрипційних процесів, гальмуючи при цьому проліферацію цих клітин [8-12]. Механізм дії речовини пояснює наявність диференційованих клітин слизової оболонки шлунка, в яких залишаються ознаки клітинного атипізму.

При введенні піоглітазону на тлі гострої гіпергастринемії інтенсивність забарвлення лектинами помітно зменшується, що вказує на зворотні процеси – слизова оболонка починає повертатися до нормального стану (рис. 3а, 3б).

Отже, було показано, що введення омепразолу протягом 28 діб у щурів не є достатніми для трансформації нормального епітелію у раковий, але призводить до розвитку запалення слизової оболонки пілоричного відділу шлунка, яке може мати наслідком розвиток дисплазії високого ступеня, появу ознак малігнізації та онкотрансформацію клітин.

Як показали гістохімічні дослідження, при дії омепразолу на слизову оболонку спостерігається збільшення кількості рецепторів лектинів зародків пшениці на апікальній поверхні епітеліальних клітин та перерозподіл розташування рецепторів лектину виноградного слимака. За даними літератури [5], зростання аглютинуючої дії лектинів пов'язане зі збільшенням глікозилування, що характерно для ракових клітин.

Згідно з результатами проведеного експерименту, можна стверджувати, що введення агоніста PRARу піоглітазону на тлі початкових диспластичних змін, спричинених введенням омепразолу, може призупинити розвиток подальшої пухлинної трансформації та частково повернути досліджувані показники слизової оболонки шлунка до контрольних значень, а також дає змогу вивчити механізми онкотрансформації, спричиненої гіпергастринемією, шляхом блокади трофічної дії гастрину на слизову оболонку шлунка.

Протективна дія піоглітазону на епітеліальний шар слизової оболонки пілоричного відділу шлунка свідчить про можливість використання цього препарату як засобу профілактики його малігнізації при гіпергастринемії в клінічній практиці.

1. В.А. Антонюк, А.М. Яценко. Конъюгирование лектинов с пероксидазой хрена: усовершенствование методики. Клиническая лабораторная диагностика. С.Петербург. – 1996. – №4. – С. 102-106. 2. Гурленко Т.М., Воронина О.К., Гришук В.М., Толстонова Г.М., Дзержинський М.Е., Берегова Т.В. Зміни функціонування транспортної системи епітелію та

морфологічних показників слизової оболонки ободової кишки щурів з гіпергастринемією різної тривалості // Фізіологічний журнал. – 2007. – Т. 53, № 3. – С. 23-30. 3. Золотаревский В.Б., Уфимцева А.Г. Лектиногистохимическая характеристика эпителия при кишечной метаплазии, полипах и раке желудка. Арх Пат 1991; 53 (10); 39-44. 4. Игнатов В.В. Углеводузнающие белки – лектины // Соросовский образовательный журнал – 1997. – №2. – С.14-20. 5. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. Львов: Вища школа, 1989. – 144 с. 6. Хьюз Р. Гликопротеины. Москва, Мир, 1985; 144 с. 7. А.М. Ященко, В.В. Дудок, Л.И. Амбарова, Л.Д. Вишемирська, О.В. Наконечна, О.В. Смолькова, О.Д. Луцик. Лектиногистохимические характеристики отдельных органов в норме и при некоторых патологических процессах. Материалы III Национального конгресса анатомов, гистологов, эмбриологов та топографоанатомов. Київ, 21-23 жовтня 2002. – С. 373-374. 8. Brzozowski T., Konturek P.C., Pajdo R. et al. Agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma): a new compound with potent gastroprotective and ulcer healing properties // Inflammopharmacology. – 2005. – Vol.13, № 1-3. – P.317-330. 9. Escher P., Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions // Mutat.Res. – 2000. – Vol.448, № 2. – P.121-138.

10. Knapp P., Jarzabek K., Blachnio A., Zbrosh F., PPAR in carcinogenesis // Ginecol.Pol. – 2006 Aug., 77(8). – P643-651. 11. Kostadinova R., Wahli W., Michalik L. PPARs in diseases: control mechanisms of inflammation // Curr.Med.Chem. – 2005. – Vol.12, № 25. – P.2995-3009. 12. Michalik L., Wahli W. Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair // J.Clin.Invest. – 2006. – Vol.116, № 3. – P.598-606. 13. Polikandriotis J.A., Mazzella L.J., Rupnow H.L. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands stimulate endothelial nitric oxide production through distinct peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanisms // Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol. – 2005. – Vol. 25, № 9. – P.1810-1816. 14. Sokolowska M., Kowalski M.L., Pawliczak R. [Peroxisome proliferator-activated receptors-gamma (PPAR-gamma) and their role in immunoregulation and inflammation control] // Postepy Hig.Med.Dosw. (Online.). – 2005. – Vol.59. – P.472-484. 15. Tsyryuk O.I., Voronina O.K., Kukharsky V.M., Beregova T.V. Prophylaxis of stomach malignancy evoked by prolonged hypergastrinemia // Gut. – 2007. – Vol. 56, Suppl. III. – P. A241.

Надійшла до редколегії 02.12.09

УДК 581.133.138

О. Пацко, асп., Д. Ситніков, канд. біол. наук,
С. Коць, д-р. біол. наук, Т. Паршикова, д-р. біол. наук,
П. Славний, канд. біол. наук

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ РЕАКЦІЇ СОЇ НА ІНОКУЛЯЦІЮ АЛЬГО-РИЗОБІАЛЬНИМИ АСОЦІАЦІЯМИ

Досліджено фізіолого-біохімічні показники рослин сої за інокуляції альго-ризобіальними асоціаціями, створеними на основі Tn- 5 мутантів *Bradyrhizobium japonicum* та синьозеленої водорості *Nostoc punctiforme*. Було показано позитивний вплив бінарної інокуляції ризобій та ціанобактерій на фізіолого-біохімічні показники сої за умов ретельного підбору інокуляційних агентів та їх оптимального співвідношення. Отримані результати ефективною комплексної бактеризації на ріст, розвиток та продуктивність рослин сої свідчать про перспективність створення бактеріальних препаратів на основі ціанобактерій та ризобій, включаючи і їх генетично-модифіковані штами.

The physiological reaction of *Glycine max* (L.) Merr. to inoculation with algal-rhizobial associations was studied, based on the nodule bacteria, their Tn5 mutants and the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. It was shown that binary inoculation with rhizobia and cyanobacteria may have a positive effect if the inoculation agents and their ratio are correctly chosen. The data obtained on the effect of complex bacterization on the development and productivity of plants under legume-rhizobial symbiotic conditions indicate the prospects of bacterial preparations based on cyanobacteria and rhizobia, including their genetically modified strains.

Вступ. Синьозелені водорості є перспективним об'єктом біотехнології завдяки їхній здатності до фотосинтезу та азотфіксації, а також синтезу комплексу біологічно активних речовин, які позитивно впливають на стан ґрунтової біоти. Серед біологічно активних речовин, синтезованих ціанобактеріями, виявлені також бактеріцидні речовини й антибіотики з гербіцидною активністю. Синьозелені водорості тісно зв'язані з бактеріями, які живуть у їхньому слизі, наприклад *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, і здатні утворювати з ними стійкі асоціації.

Застосування біологічних препаратів на основі азотфіксуючих мікроорганізмів, зокрема бульбочкових бактерій, – один з основних методів підвищення продуктивності рослин, який дозволяє зберігати родючість ґрунтів і підтримувати екологічну рівновагу навколишнього середовища [9]. У деяких роботах показано, що сумісна обробка насіння люцерни азотфіксуючими бактеріями й синьозеленою водорістю *Nostoc punctiforme*, а також їх бінарними композиціями стимулює ріст і розвиток рослин. При цьому найбільш ефективна сумісна інокуляція *Nostoc punctiforme* з окремими Tn- 5 мутантами бульбочкових бактерій у порівнянні з інокуляцією їхніми монокультурами.

Створення й підбір сумісних альго-ризобіальних асоціацій, які включають аксеничні культури синьозелених водоростей й бульбочкових бактерій, а також їх Tn- 5 мутантів, може стати одним із способів біологічної стимуляції бобово-ризобіального симбіозу, що підвищує значимість взаємодії ризобій з рослинами й ефективність бактеріальних препаратів на їх основі.

У даній роботі вивчали схожість, енергію проростання насіння та ефективність симбіотичних систем рослин сої за інокуляції насіння альго- ризобіальними композиціями на основі бульбочкових бактерій і їх Tn 5-мутантів, а також синьозеленої водорості *Nostoc punctiforme*.

Об'єкт та методи досліджень. Насіння сої *Glycine max* (L.) Merr. (сорту Мар'яна) інокулювали альго- ризобіальними композиціями на основі бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* із колекції музею азотфіксуючих мікроорганізмів ІФРГ (виробничий штам 6346, Tn- 5 мутанти штаму 646 – T66, T118 і 17- 2) і синьозеленої водорості *Nostoc punctiforme*, отриманої з колекції Інституту гідробіології НАН України.

Роботи з мікроорганізмами проводилися по загальноприйнятим у мікробіології правилам. Культуру повільнорослих бульбочкових бактерій вирощували протягом 8 діб на манітно-дріжджовому агарі [7] при 28°C. Для приготування бактеріальної суспензії біомасу клітин змивали фізіологічним розчином (0.9% NaCl), після чого перемішували на магнітній мішалці протягом 20 хв. Культуру синьозеленої водорості *Nostoc punctiforme* вирощували до стаціонарної фази росту на поживному середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера й Горема. Водорості культивували в колбах Ерленмейера при температурі 22°C і освітленості 4,5-5,0 тис. люкс. Концентрацію хлорофілу в клітинах водоростей визначали методом диференціальної флюорометрії (Planctofluorometer FL300 3M, Росія) [1]. Цей показник становив $S_{\text{кл}}=1506,6\pm13,4$ мкг/л. Паралельно визначали значення ΔF по різниці інтенсивності флюоресценції до і після внесення симазину – інгібітору електронного

транспорту фотосинтезуючих клітин. Показник ΔF характеризує ступінь життєздатності водоростей по величині їх потенційної фотосинтезуючої активності [5] і у наших дослідженнях становив 0,088.

Насіння сої протягом 60 хв замочували в інокуляційних суспензіях, які складались з певних штамів бульбочкових бактерій ($1 \cdot 10^9$ клітин/мл) і синьозеленої водорості при кімнатній температурі 28°C у співвідношенні 1:1.

У лабораторному досліді з проростками сої насіння пророщували в стерильних чашках Петрі по 50 штук на фільтрувальному папері, змоченому стерильною водопровідною водою. Перед пророщуванням насіння 20 хв поверхнево стерилізували 70%-м етанолом, після чого багаторазово промивали стерильною водопровідною водою протягом 60 хв. Повторність дослідів чотирикратна. Зняття показників енергії проростання й схожості насіння проводили відповідно до ДЕРЖСТАНДАРТУ 12038-84 [4].

Дослідження також проводили в умовах модельних дослідів на вегетаційному майдані ІФРГ при вологості субстрату 60% і природному освітленні. У дослідях використовували посудини Вагнера на 15 кг піску, у яких вирощували по 6 рослин сої. Посудини попередньо стерилізували 20%-ним розчином H_2O_2 . В якості субстрату використовували промитий річковий пісок з додаванням поживної мінеральної суміші Гельрігеля, яка містила стартову кількість азоту 0.25 норми (1 норма відповідає 708 мг $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на 1 кг піску). Перед посівом насіння стерилізували 70%-ним етанолом протягом 15 хв, а потім 2 год промивали проточною водою, після чого інокулювали підготовленими суспензіями клітин і їх композицій. Рослини для аналізу відби-

рали у фазах бутонізації (39-а доба від сходів), цвітіння (53-я доба) і початку плодоутворення (57-а доба).

У нашій роботі визначення вмісту фотосинтетичних пігментів проводили за методикою Веллбурна [10]. Хлорофіл екстрагували диметилсульфоксидом (на 0,1 г рослинного матеріалу 10 мл ДМСО) з висічок листів, після чого вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі Smart Spec Plus (Biorad, США) при 665 і 649 нм у кюветі товщиною 1 мм. Для вимірювання брали проби середніх частин трійчастих листків, закінчивши ріст і без помітних ознак старіння. Листки відбирали із середніх ярусів п'яти рендомезированих рослин одного варіанту. Виміри проводили в 3-кратній біологічній повторності.

Нітрогеназну активність (азотфіксацію) визначали за рівнем ацетиленвідновлювальної активності кореневих бульбочок ацетиленовим методом [8] і виражали в мікромолях етилену, утвореного бульбочками однієї рослини за 1 год. Газову суміш аналізували на газовому хроматографі Chromatograf- 504 ("Mera Elwro", Польща). Визначення проводили в 5-кратній біологічній повторності.

Отримані результати обробляли статистично.

Результати та їх обговорення. Показано, що при обробці насіння сої монокультурою *Nostoc punctiforme* підсилюється енергія проростання насіння, їх схожість, а також збільшується довжина й маса проростків, які сформувалися (табл. 1).

Таблиця 1. Формування проростків сої при інокуляції насіння альго-ризобіальними композиціями

Варіант	Енергія проростання		Схожість		Довжина проростків		Маса проростків	
	кількість пророслих насінин, шт	%	кількість пророслих насінин, шт	%	мм	%	мг	%
Контроль (вода)	29,5 ± 1,22	59	37,5 ± 1,57	75	47,8 ± 3,8	100	95,6 ± 1,76	100
<i>Nostoc punctiforme</i>	33,0 ± 0,58	66	42,0 ± 0,82	84	57,9 ± 4,1	121	117,2 ± 2,9	123
Штам 6346	31,5 ± 0,74	63	40,0 ± 2,08	80	45,1 ± 3,7	94	106,9 ± 7,7	112
Штам 6346 + <i>N. punctiforme</i>	32,5 ± 1,65	65	41,5 ± 2,11	83	56,6 ± 3,0	118	106,8 ± 3,3	112
Tn5-мутант T66	31,5 ± 2,70	63	37,0 ± 1,35	74	46,8 ± 2,9	98	98,7 ± 3,4	99
T66 + <i>N. punctiforme</i>	33,0 ± 1,63	66	44,0 ± 1,73	88	56,8 ± 4,1	119	106,8 ± 3,3	122
Tn5-мутант T118	28,5 ± 1,70	57	33,5 ± 2,26	67	43,2 ± 3,01	90	98,7 ± 3,0	103
T118 + <i>N. punctiforme</i>	31,0 ± 1,80	62	42,0 ± 0,58	84	51,3 ± 3,7	107	115,1 ± 5,8	120

При інокуляції насіння ризобіями або їх активними Tn 5-мутантами (6346, T66 і T118) досліджувані показники істотно не відрізнялися від контрольних. Застосування альго-ризобіальних композицій *N. punctiforme* і *Bradyrhizobium japonicum* призводило до збільшення досліджуваних показників. При цьому у варіантах з обробкою насіння композиціями *N. punctiforme* +

Tn 5-мутанти показники схожості перевищували не лише контроль, але й схожість у варіантах з монокультурою *N. punctiforme*.

Інокуляція насіння монокультурами синьозеленої водорості й бульбочкових бактерій позитивно впливала також на приріст вегетативної маси рослин сої в онтогенезі (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив інокуляції штамми *Bradyrhizobium japonicum*, *Nostoc punctiforme*, а також їх сумісними композиціями на формування вегетативної маси рослин сої (г/рослину)

Варіант	Фаза розвитку рослин					
	Бутонізація		Цвітіння		Початок плодоутворення	
	Надземна маса	Маса коренів	Надземна маса	Маса коренів	Надземна маса	Маса коренів
Без інокуляції	4,88 ± 0,44	2,86 ± 0,26	11,89 ± 0,33	7,56 ± 0,40	13,50 ± 0,95	8,91 ± 0,84
<i>Nostoc punctiforme</i>	7,43 ± 0,41	4,62 ± 0,19	13,47 ± 0,53	8,77 ± 0,49	18,25 ± 1,37	10,12 ± 0,62
Штам 6346	7,56 ± 0,61	3,49 ± 0,29	14,48 ± 0,92	8,65 ± 0,63	20,12 ± 1,64	9,43 ± 0,91
Штам T66	8,47 ± 0,68	4,03 ± 0,27	15,87 ± 0,72	8,74 ± 0,60	20,84 ± 1,84	10,49 ± 0,85
Tn5-мутант 17-2	7,10 ± 0,64	3,70 ± 0,33	19,50 ± 1,34	8,56 ± 0,37	19,52 ± 1,12	10,33 ± 0,61
6346 + <i>Nostoc</i>	8,67 ± 0,49	4,09 ± 0,23	23,38 ± 1,86	9,75 ± 0,88	23,70 ± 2,15	11,34 ± 1,07
T66 + <i>Nostoc</i>	10,01 ± 0,92	5,17 ± 0,37	17,20 ± 0,71	8,97 ± 0,59	23,45 ± 1,78	11,44 ± 0,88
17-2 + <i>Nostoc</i>	8,77 ± 0,84	4,71 ± 0,29	19,75 ± 1,21	8,02 ± 0,63	20,45 ± 1,14	10,90 ± 0,62

У той же час, рослини, інокульовані бінарними композиціями цих бактерій, випереджали в рості рослини варіантів з використанням монокультур ризобій тільки у фазу бутонізації. На наступних етапах розвитку рослин показники надземної маси й маси коренів істотно не залежали від поєднання інокуляційних агентів.

Відомо, що критеріями ефективності комплементарної взаємодії макро- і мікросимбіонтів є кількість і маса кореневих бульбочок, які, в основному, корелю-

ють з інтенсивністю фіксації атмосферного азоту [2]. У ході вегетаційного експерименту визначали вірулентність ризобій і масу бульбочок, що утворилися при інокуляції насіння штамами й Тп 5-мутантами *B. japonicum*, а також композиціями на основі ризобій і *N. punctiforme* (табл. 3).

Таблиця 3. Основні фізіолого-біохімічні показники сої, інокульованої альго-ризобіальними композиціями на основі *Bradyrhizobium japonicum* та *Nostoc punctiforme*

Варіант	АФА, мкмоль C ₂ H ₄ / (рослину×год)		Кількість кореневих бульбочок, шт/рослину		Маса кореневих бульбочок, г/рослину		Урожай г/посудину	приріст урожаю в порівнянні з контролем (без інокуляції), %	хлорофіл а (мг/г сирої речовини)	хлорофіл b (мг/г сирої речовини)
	бутонізація	початок плодоутворення	бутонізація	початок плодоутворення	бутонізація	початок плодоутворення				
Контроль без інокуляції	-	-	-	-	-	-	25,21 ± 0,41	-	1,65 ± 0,02	0,72 ± 0,07
<i>Nostoc punctiforme</i>	-	-	-	-	-	-	28,21 ± 0,81	11,9	1,78 ± 0,04	0,64 ± 0,03
Штам 6346	39,00 ± 2,46	67,92 ± 7,07	74,25 ± 5,86	73,00 ± 7,82	0,34 ± 0,04	0,85 ± 0,09	33,67 ± 1,03	33,6	2,25 ± 0,01	0,86 ± 0,02
Штам Т66	35,44 ± 3,47	57,52 ± 6,00	96,75 ± 6,06	109,25 ± 10,35	0,47 ± 0,02	1,12 ± 0,06	35,60 ± 0,46	41,2	2,71 ± 0,07	1,04 ± 0,03
Тп5-мутант 17-2	22,93 ± 2,66	44,46 ± 5,82	89,25 ± 8,32	105,00 ± 5,58	0,43 ± 0,04	1,12 ± 0,10	33,55 ± 0,89	33,1	2,39 ± 0,15	0,96 ± 0,04
Штам 6346 + <i>Nostoc</i>	24,85 ± 1,34	44,48 ± 3,49	72,75 ± 4,64	79,75 ± 2,29	0,34 ± 0,01	0,82 ± 0,09	34,18 ± 0,95	35,6	2,34 ± 0,08	0,95 ± 0,05
Штам Т66 + <i>Nostoc</i>	23,23 ± 0,92	55,94 ± 3,63	69,00 ± 6,36	121,67 ± 9,60	0,26 ± 0,02	1,29 ± 0,12	33,03 ± 0,89	31,0	2,93 ± 0,08	1,18 ± 0,08
Тп5-мутант 17-2 + <i>Nostoc</i>	16,17 ± 0,84	37,71 ± 2,33	95,75 ± 5,57	91,50 ± 6,24	0,49 ± 0,04	1,04 ± 0,10	32,00 ± 0,44	26,9	2,67 ± 0,11	1,05 ± 0,06
HIP _{0,05}	2,26									

Максимальну кількість бульбочок утворював активний Тп 5-мутант Т66. Застосування бінарної інокуляції (ризобії + водорість) не призводило до істотної зміни кількості й маси бульбочок, утворених штамом 6346 і Тп 5-мутантом 17-2 у фазу бутонізації, однак пригнічувало утворення бульбочок Тп 5-мутантом Т66. У фазі цвітіння інокуляція альго-ризобіальними композиціями призводила до посилення вірулентності Тп 5-мутанта Т66 і, навпроти, до її зниження штаму 17-2. Таким чином, спільна інокуляція бульбочковими бактеріями й синьо-зеленою водорістю не впливає на утворення бульбочок виробничим штамом 6346, отриманим методом аналітичної селекції, і може зумовлювати як стимулюючий, так і інгібуючий вплив на кількість і масу бульбочок, індукованих Тп 5-мутантними штамми.

Відомо, що симбіотичні властивості бульбочкових бактерій можуть впливати на вміст пігментів у листках бобових рослин [3]. Припускають також, що вміст фотосинтетичних пігментів у листках інокульованих рослин є одним з непрямих показників ефективності симбіозу. Інокуляція насіння ризобіями і їх активними Тп 5-мутантами, а також синьо-зеленою водорістю призводила до збільшення вмісту в листках хлорофілу а і b у порівнянні з контролем без інокуляції (табл. 3). Застосування альго-ризобіальних композицій на основі цих бактерій додатково підвищувало вміст фотосинтетичних пігментів як у порівнянні з контролем без інокуляції, так і в порівнянні з варіантами інокуляції монокультурами.

На пізніх етапах становлення бобово-ризобіального симбіозу проявляються такі важливі ознаки, як азотфіксувальна активність (швидкість відновлення N₂ в NH₃) і симбіотична ефективність (здатність рослин інтенсивно розвиватись, використовуючи симбіотрофне живлення азотом). Симбіотична ефективність у

визначальній ступені визначається азотфіксувальною активністю бульбочок, особливо в умовах дефіциту зв'язаного азоту. Однак ефективність симбіозу залежить також і від ряду факторів, не зв'язаних безпосередньо з азотфіксацією. Важливу роль у визначенні продуктивності симбіозу може відігравати сумісність метаболічних систем партнерів (наприклад, шляхів транспорту азоту й вуглецю), а також відсутність активних захисних рослинних реакцій у відповідь на присутність мікроорганізмів [6].

Як бактерії, які знаходяться у бульбочках ризобій, так і інші бактерії, що живуть у ризосфері, можуть синтезувати речовини, які стимулюють (фітогормони, вітаміни) або пригнічують (ризобіотоксини, бактерицидні речовини, антибіотики з гербіцидною активністю) розвиток рослини-хазяїна. У нашому випадку включення водоростей в інокуляційну суспензію разом із бульбочковими бактеріями призводило до зниження азотфіксувальної активності бульбочок, які утворювались або ж, на більш пізніх етапах розвитку рослин, не зумовлювало істотного впливу на зміну даного показника (табл. 3). Застосування альго-ризобіальних композицій для інокуляції насіння не призводило також до істотної зміни інтегрального показника ефективності взаємодії партнерів симбіозу – зернової продуктивності рослин (див. табл. 3). У той же час, отримані дані не виключають можливості створення ефективних комплексних альго-ризобіальних композицій шляхом оптимального підбору бульбочкових бактерій і співвідношення інокуляційних агентів.

Висновки.

1. Результати лабораторного дослідження показали, що інокуляція насіння сої альго-ризобіальними композиціями (*N. punctiforme* + *B. japonicum*) сприяє підвищенню

схожості та енергії проростання насіння і позитивно впливає на формування проростків сої.

2. Спільна інокуляція бульбочковими бактеріями й синьозеленими водоростями може зумовлювати як стимулюючий, так і інгібуючий вплив на вірулентність Tn 5-мутантів ризобій і масу індукованих ними бульбочок.

3. Застосування альго-ризобіальних композицій для інокуляції насіння підвищує вміст фотосинтетичних пігментів в листках рослин сої у порівнянні з варіантами моноінокуляції культурами синьозеленої водорості й бульбочкових бактерій.

4. Інокуляція альго-ризобіальними композиціями стимулює ріст рослин сої до фази бутонізації. На наступних етапах розвитку рослин показники надземної маси й маси коренів істотно не відрізняються від варіантів інокуляції монокультурами ризобій.

5. Застосування альго-ризобіальних композицій для інокуляції насіння сої знижувало або не зумовлювало істотного впливу на азотфіксувальну активність бульбочок, які утворювались, а також зернову продуктивність рослин.

1. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Григорьев Ю.С. и др. Теоретические основы и методы изучения флуоресценции хлорофила. – Красноярск: КГУ, 1984. – 84 с.
2. Дадченко В.К., Лагуа С.К., Старченков Е.П., Антипчук А.Ф., Рангелова В.Н. Эффективность бобово-ризобияльного симбиоза различных сортов сои и штаммов *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. – 1997. – Т. 29. С. 299–303.
3. Коць С.Я., Михалків Л.М. Фізіологія симбіозу та азотне живлення люцерни. – Київ: Логос, 2005. – 300 с.
4. Лобода Н.В., Весна Б.А., Сирота М.М. и др. Справочник по семеноводству. – Киев: Урожай, 1991. – 352 с.
5. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології і біохімії та екології рослин. – К., 2001. – С.99–101.
6. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. Тихоновича И.А., Проворова. Н.А. – СПб.: Наука, 1998. – 194 с.
7. Child J.J. Nitrogen Fixation by a *Rhizobium* sp. Association with Non-Leguminous Plant Cell Cultures // Nature. – 1975. – V. 253. – P. 350–351.
8. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The Acetylene-Ethylene Assay for N₂-Fixation: Laboratory and Field Evaluation // Plant Physiol. – 1968. – V. 43. – P. 1185–1207.
9. Sytnikov D.M., Kots S. Ya., Datsenko V.K. Efficacy of Biological Preparations of Soybean Root Nodule Bacteria Modified with a Homologous Lectin // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2007. – Vol. 43, № 3. – P. 274–279.
10. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolutions // J. Plant Physiol. – 1994. – 144, N 3. – P. 307–313.

Надійшла до редколегії 30.01.09

Наукове видання



ВІСНИК
КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
БІОЛОГІЯ

Випуск 55

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, 6-р Тараса Шевченка, 14, кімн. 43. ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28



Підписано до друку 07.04.10. Формат 60x84^{1/8}. Вид. № 2. Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Наклад 500. Ум. друк. арк. 7,1. Обл.-вид. арк. 10,0. Зам. № 210-5207.

Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет"
01601, Київ, 6-р Т. Шевченка, 14, кімн. 43,
☎ (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; (38044) 239 31 58; факс (38044) 239 31 28