

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. Макарчук, 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

Войцехівський В., Войцехівська О. Динаміка накопичення фенольних та пектинових речовин у плодах яблуні залежно від погодних умов вирощування	4
Фалалєєва Т. Вплив блокади глутаматних АМПА/каїнатних рецепторів на кислу шлункову секрецію у щурів, стимульовану гістаміном та пентагастрином	6
Донских М., Федорчук М., Нестеренко О., Таначьова Н., Федорчук С. Індивідуальні особливості пам'яті старшокласників та їх взаємозв'язок із функціональною асиметрією півкуль головного мозку	8
Горелікова О., Держинський М., Пустовалов А., Тормасова А. Вплив імунізації на гіпоталамо-тироїдний комплекс птахів	10
Майданюк А. Флуориметричний аналіз концентрації АТР за допомогою 3-гідрокси-4'-диметиламінофлавоу	11
Романюк Г. Вплив трофічної стратегії на структуру нижньої щелепи у представників ряду <i>Carnivora</i>	13
Конопельнюк В., Галенова Т., Кот Л., Богданова О., Остапченко Л. Роль інсуліну у регуляції вуглеводного та ліпідного обміну за умов метаболічного синдрому	15
Яненко В., Серебряков В., Лопарев С. Сучасний стан популяції перепела (<i>Coturnix coturnix</i> L.) на території України	17
Держинський М., Пазюк Л., Бузинська Н., Олексієнко Н., Рослова Н. Адаптаційний вплив окситоцину та мелатоніну на реакцію Бурси Фабріціуса птахів на тлі холодового стресу і темряви	19
Богущька К., Мінченко П. Вплив іонів кадмію на суперпрєципітацію актоміозину серцевого та скелетних м'язів	21
Дворченко К., Савко У., Степанов Ю. Активність супероксиддисмутази та каталази у мітохондріях загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки	24
Трохимець В. Екологічно-фаунистическая характеристика литорального зоопланктона лівого берега середньої частини Александровського водохранилища	26
Онїщенко Г., Родіонова Н., Скрипник Н., Шевель І. Ультроструктурні зміни в остеобластах при знятті опорного навантаження на кінцівки	28
Філімонова Н., Макачук М., Кравець Т. Кластеризація динаміки ЕКГ людини за нейронною мережею Кохонена та вейвлет-аналізом на основі функцій Кравчука	30
Кондратюк Ю., Бабарик М., Сидорик Л., Корнелюк О. Оптимізація процесу біосинтезу каталітичного модуля тирозил-тРНК синтетази ссавців та його дослідження імунохімічними методами	34
Полякова А., Вороніна О. Меланін: новий засіб профілактики раку шлунка?	36
Семчук Л., Андрійчук О., Ромашев С. Адаптація фагів 223-17/1 та 7591 14/1 <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> при зміні хазяїна	38
Ситар О. Участь сірки в регуляції адаптивних змін ліпід-пігментного комплексу рослин сої за умов дії іонів свинцю	39
Максимович К., Кравченко В., Крижановський С., Макачук М. Мозкова нейродинаміка у жінок в різні фази менструального циклу при перегляді афективних зображень	41
Сінгаєвський Є. Попередня оцінка видового складу та біотопічної розподіл павуків (Arachnida: Aranei) заплави річки Удай у весняний період	45
Малєєва Г., Коваленко Т., Вороніна О. Морфологічні зміни мітохондрій при ішемії мозку	48
Омельченко Ю., Миленко М., Максимович Я. Вплив алкоголю на систему оксиду азоту в організмі	51
Салівоник О., Вороніна О. Морфологічні зміни в підшлунковій залозі при гіпергастринемії	53
Маркевич А., Родіонова Н., Держинський М. Трансформація остеобластів в остеоцити	55
Дворченко К., Сенін С., Савченко О., Остапченко Л. Вплив стрессового фактору на процеси перекисного окиснення ліпідів у мітохондріях печінки щурів	57
Климюк О., Бондзик О., Весельський С., Макачук М. Вплив естрогену на зовнішньосекреторну функцію печінки щурів	59
Компанець Т., Постоєнко О., Сенчугова Н. Характеристика вірусів, які уражують хризантему	61
Куценко Т. Прояв міжпівкульної асиметрії при повторному проходженні прямого і зворотного тестів Струпа	42

CONTENTS

Voytsekhivskiy V., Voytsekhivska O. Dynamics of accumulation of phenolic substances and pectin in apple fruit, depending on weather conditions to grow	4
Falaleeva T. Influence of blockade hlutamatnyh APA / kayinatnyh receptors on gastric acid secretion in rats stimulated histamine and pentahastynom	6
Donskykh M., Fedorchuk M., Nesterenko O., Tanachova N., Fedorchuk S. Specific features of memory of senior pupils and their interrelations with functional asymmetry of hemispheres of a brain	8
Gorelikova O.I., Dzerzhynsky M.E., Pustovalov A.S., Tormasova A. The influence of immunization on bird hypothalamus-thyroid axys	10
Maidanyuk A. Minimethod for fluorometric assays of ATP	11
Romaniuk H. Affect of different feeding strategy on jaw structure of specimens of the <i>Carnivora</i>	13
Konopelnuk V., Galenova T., Kot L., Bogdanova O., Ostapchenko L. A role of insulin in regulation of carbohydrate and lipid metabolism under metabolic syndrome	15
Yanenko V., Serebryakov V., Loparev S. Quailis <i>Coturnix coturnix</i> L. population status in Ukraine	17
Dzerzhinsky M., Pazyuk L., Buzinska N., Oleksiyenko N., Roslova N. Oxitocyn and melatonin adaptation influence on bursa of fabricius under cooling stress and darkness	19
Bogutska K., Minchenko P. The influence of cadmium ions on the reaction of superprecipitation of cardiac and skeletal muscles actomyosin	21
Dvorshchenko C., Savko U., Stepanov Yu. Activity of superoxide dismutase and catalase in mitochondria of rat gastric mucosa under experimental ulcer	24
Trokhymets V. Ecological and faunistic informations about litoral zooplankton from the left coast of the Oleksandrivsk reservoir's middle part	26
Onishchenko G., Rodionova N., Skrypyk N., Shevel I. Ultrastructural changes in osteoblasts at removal of basic loading on finiteness	28
Filimonova N., Makarchuk M., Kravets T. The clusterization of dynamics of EKG of the person with Kohonen neural network and wavelet analysis based on the Krawtchouk functions	30
Kondratyuk Yu., Babaruk M., Sudoruk L., Kornelyuk O. Optimization of biosynthesis process of catalytic module of mammalian tyrosyl-tRNA synthetase and its research by immunochemical methods	34
Polyakova A., Voronina O.K. Melanin: a new tool to prevent stomach cancer?	36
Semchuk L., Andriychuk E., Romashev S. Adaptation of phages 223-17/1 and 7591 14/1 P. syringae pv. tabaci of host changes	38
Sytar O. Sulfur in adaptation changes of lipid-pigment complex of Soyabeen plants upon lead ions action	39
Maksymovych K., Kravchenko V., Kryzhanovskiy S., Makarchuk M. Brain neurodynamic in women with different menstrual cycle phases during affective pictures presentation	41
Singaevsky E. A preliminary investigation of species richness and biotopical distribution of the spider species composition of the Udaj River floodplain at spring	45
Maleeva G., Kovalenko T., Voronina O. Morpho-functional changes of the mitochondria during ischemia of brain	48
Omelchenko Yu., Milenko M., Maksimovich Y. Alcohol influence on nitric oxide system in organism	51
Salivonik O., Voronina O. Morphological changes in pancreas during hypergastianemia	53
Markevich A., Rodionova N., Dzerzhinsky M. Osteocytes osteoblasts transformation	55
Dvorshchenko C., Senin S., Savchenuk O., Ostapchenko L. Action of the stressful factor on lipid peroxidation processes in liver mitochondria of rats	57
Klummyk O., Bonzuk O., Veselskiy S., Makarchuk M. Estronu zovnishnosecretornu effect on liver function of rats	59
Companecz T., Postoenko O., Senchugova N. Characteristics of virus that affects hryzantemu	61
Kutsenko T. Appearance of interhemispheric asymmetry during successive performance of Stroop and reverse Stroop test	42

ДИНАМІКА НАКОПИЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ ТА ПЕКТИНОВИХ РЕЧОВИН У ПЛОДАХ ЯБЛУНІ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОГОДНИХ УМОВ ВИРОЩУВАННЯ

Проведено біохімічний аналіз поширених та перспективних сортів плодів яблуні, вирощених за умов Північного Лісостепу України. Визначено закономірності накопичення фенольних та пектинових речовин у плодах впродовж вегетації. Методами дисперсійного та кореляційного аналізу простежено динаміку вмісту досліджуваних речовин у плодах залежно від сортових особливостей та погодних умов вирощування.

The article presents biochemical analysis of known and perspective fruits of apple varieties which grown in a forest North of Ukraine. Accumulation of pectin and phenolic substances determined in fruit during vegetation. Change the content of investigated substances in fruits depending on the sort characteristics and weather growing conditions traced by methods of dispersion and correlation analysis.

Вступ. Яблуня – найпоширеніша плодова культура України. Вона займає більше 80% площі садів. Її плоди відзначаються цінними профілактичними та лікувальними властивостями і широко використовуються у раціоні харчування людини. Біохімічний склад плодів яблуні суттєво змінюється за дії факторів довкілля, зокрема за дії метеорологічних умов, особливо на завершальних етапах онтогенезу. Для отримання детальної характеристики сорту, на кшталт визначення стабільності біохімічного складу плодів, реакції на агротехнічні і погодні умови тощо, необхідно провести 3-4 роки досліджень [3].

Фенольні речовини – антоціани, лейкоантоціани, катехіни, флавоноли, оксикоричні кислоти – це біологічно активні сполуки з Р-вітамінними властивостями. В організмі людини вони проявляють антиокиснювальну, протипухлинну і радіопротекторну дію, запобігають окисненню ліпідів мембран, підвищують міцність і проникність капілярів [1, 5]. Склад і сумарна кількість фенольних речовин істотно змінюються під час достигання плодів, залежать від сорту, зони та агротехніки вирощування. Загальний вміст фенольних речовин для плодів яблуні коливається від 1,0 до 2,5%. Зокрема, вміст катехінів та лейкоантоціанів варіює в межах від 50 до 250 мг/100г та від 60 до 300 мг/100г відповідно, при цьому більша їх кількість накопичується в плодах і ягодах раннього строку достигання. Надмірна кількість вологи в період формування і достигання плодів позитивно позначається на синтезі цих речовин, а посуха спричинює зниження їх вмісту [7, 9]. За дії теплої сонячної погоди з достатньою кількістю опадів, особливо у другій половині літа, спостерігається активація синтезу та накопичення фенольних сполук у плодах яблуні [8].

Серед полісахаридів технологічно цінними є пектинові речовини. Вміст пектину в сировині – видова та сортова особливість плодів. В середньому у плодах яблуні їх вміст складає від 0,7 до 1,33%, зокрема протопектину – від 75 до 90% від загальної кількості. Під час достигання протопектин перетворюється у розчинний пектин. Відмічено, що за умов водного дефіциту та дії високих температур вміст пектинів у плодах більшості сортів зростає [7, 10].

Однією з важливих технологічних характеристик сортів яблуні є стабільність компонентів біохімічного складу плодів, яка, наразі, є недостатньо вивченою. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив метеорологічних факторів (температури; прямої, розсіяної, фотосинтетично активної радіації (ФАР) та водного режиму) на динаміку накопичення фенольних та пектинових речовин у плодах яблуні та виявити найбільш цінні за досліджуваними показниками сорти.

Об'єкти та методи досліджень. Об'єктами досліджень були плоди поширених та перспективних сортів яблуні, вирощених за умов північного Лісостепу України. Дослідження проводили на базі Інституту садівництва УААН та Національного університету біоресурсів і природокористування України впродовж 3 років. Вміст фенольних та пектинових речовин в плодах визначали за загальноприйнятими методиками [4, 6]. Дані про активні температури та опади в роки проведення досліджень надані метеогрупою Інституту садівництва УААН, а характеристики сонячної радіації – Бориспільською метеостанцією. Статистична обробка даних виконана методами дисперсійного та кореляційного аналізу [2].

Результати та їх обговорення. В результаті проведених досліджень виявлено, що вміст фенольних сполук у плодах яблуні досліджуваних сортів у середньому становить 187 мг/100 г маси сирої речовини (табл. 1). Найбільший вміст фенольних речовин відмічено у плодах сортів Прісцилла (252,8 мг/100 г), Пламенне (222,7 мг/100 г), Рубінове Дуки (216,7 мг/100 г), Сапфір (208,62 мг/100 г), Мекінтош (210,37 мг/100 г). Відхилення вмісту фенольних речовин за сортами складає від 17,5 (Мекфірі), до 123 мг/100 г (Ліберті). Високою стабільністю серед досліджуваних сортів, за цим показником, характеризуються сорти Прісцилла, Пламенне, Мекфірі, нижчою – сорти Ліберті, Деліція, Ренет Симиренка.

Вміст фенольних сполук у плодах яблуні здебільшого є сортовою ознакою, але за роки досліджень нами відмічені коливання даного показника, залежно від змін погодних умов. Так, за 30-добовий період до збирання плодів виявлено пряму кореляцію між вмістом фенольних речовин та сумою опадів для сортів Айдаред ($\eta_{yx}=0,997\pm0,014$; $y=5,48+0,348x$) та Бойкен ($\eta_{yx}=0,92\pm0,08$; $y=146,56+0,757x$). Відмічено, що збільшення гідротермічного коефіцієнту (ГТК) за 20-добовий період до збирання плодів сорту Рубінове Дуки ($\eta_{yx}=0,999\pm0,0043$; $y=204,71+5,27x$) (рис. 1) і ФАР за 40-добовий період до збирання плодів сорту Прісцилла ($\eta_{yx}=0,987\pm0,033$; $y=142,7+0,358x$) сприяє підвищенню вмісту фенольних речовин (рис. 1). У сорту Зимове лимонне збільшення суми активних температур за 30-добовий період до збирання обумовлює зменшення кількості цих речовин ($\eta_{yx}=-0,994\pm0,023$; $y=250,04-0,26x$).

Аналіз біохімічного складу виявив, що вміст фенольних речовин у плодах істотно залежить від суми опадів впродовж вегетації, а також від інтенсивності прямої сонячної радіації за 20-добовий період та ФАР за 20-, 30-добовий період до збирання.

Таблиця 1. Вміст фенольних та пектинових речовин у плодах яблуні

Сорт	Фенольні речовини, мг/100 г			Пектинові речовини, %		
	Середнє за роки досліджень	Максимальне відхилення	Стабільність, %	Середнє за роки досліджень	Максимальне відхилення	Стабільність, %
Кальвіль сніговий	150,82	26,80	8,90	0,990	0,245	0,07
Флоріна	191,17	60,00	23,20	0,920	0,120	0,047
Прісцилла	252,80	20,30	9,50	0,700	0,321	0,14
Ренет Симиренка	199,09	92,50	33,60	1,010	0,206	0,07
Айдаред	132,93	53,30	26,60	1,030	0,168	0,08
Делічія	110,96	56,30	19,60	0,740	0,296	0,26
Пламенне	222,72	19,90	11,10	1,200	0,390	0,18
Джонатан	198,22	43,40	16,90	0,840	0,110	0,05
Рубінове Дуки	216,70	30,80	16,90	0,960	0,160	0,06
Пріам	191,72	75,00	30,80	0,870	0,139	0,05
Сапфір	208,62	38,00	17,60	0,870	0,105	0,02
Бойкен	163,51	45,00	17,60	0,930	0,370	0,04
Мекінтош	210,37	52,60	21,20	1,040	0,225	0,12
Мекфрі	194,22	17,50	9,30	1,040	0,156	0,06
Ліберті	192,93	123,00	38,40	0,964	0,110	0,11
Зимове лимонне	156,03	43,30	22,50	1,020	0,164	0,07
Середнє арифметичне	187,05	49,85	8,90	0,932	0,215	0,07
НІР ₀₅	47,80	53,10	5,28	0,300	0,220	0,14

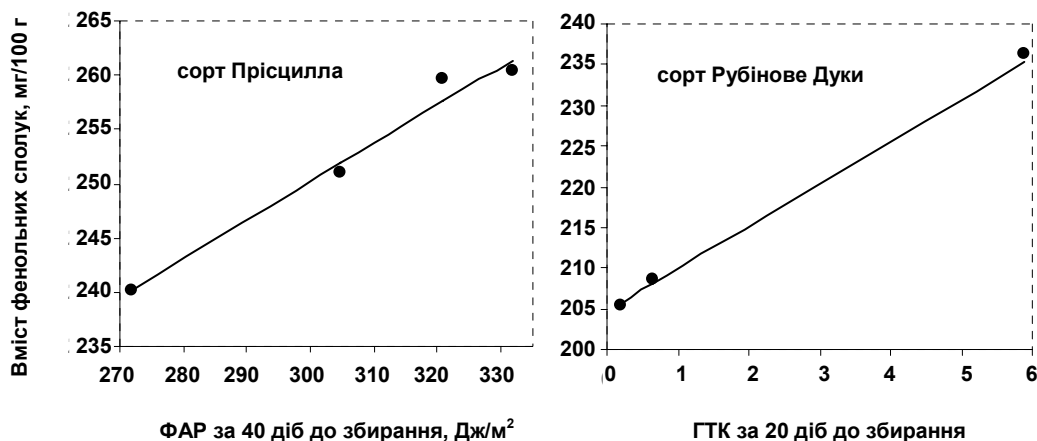


Рис. 1. Вплив погодних умов на вміст фенольних речовин в плодах яблуні

Дисперсійний аналіз впливу кліматичних умов вирощування на вміст фенольних речовин у плодах яблуні за роки досліджень показав, що їх кількість найістотніше залежить від особливостей культури.

У плодах яблуні міститься в середньому 0,932% пектинових речовин. Відмічено значне варіювання даного показника як за сортами (0,71-1,2%), так і у різні роки досліджень (0,8-1,02%) (табл. 1). Найбільший вміст пектинових речовин відмічено у плодах сортів Пламенне (1,4%), Мекфрі (1,11), Ренет Симиренка (1,09%), найнижчий – у плодах сортів Прісцилла (0,7%) та Делічія (0,74%).

Майже всі досліджувані сорти мають середню стабільність і лише у сортів Прісцилла і Бойкен цей показник найменш стабільний. Вміст пектинових речовин у плодах яблуні підвищується у посушливі роки і у роки з більш інтенсивною сонячною радіацією. За підвищеної кількості опадів ($\eta_{yx} = -0,978 \pm 0,044$; $y = 0,956 - 0,0014x$) та низької суми активних температур за 40-добовий період

до збирання ($\eta_{yx} = 0,69 \pm 0,15$; $y = -8,77 + 0,008x$) у плодах сорту Сапфір спостерігається зменшення кількості пектинових речовин. Виявлено пряму залежність між інтенсивністю сонячної радіації та накопиченням пектинових речовин у плодах сортів Пріам ($\eta_{yx} = 0,998 \pm 0,012$; $y = 0,314 + 0,0042x$) та Пламенне ($\eta_{yx} = 0,978 \pm 0,044$; $y = -0,146 + 0,0037x$) (рис. 2).

Збільшення інтенсивності ФАР протягом вегетації сприяє підвищенню вмісту протопектину у плодах сорту Мекфрі ($\eta_{yx} = 0,992 \pm 0,02$; $y = 0,252 - 0,00036x$). Загалом відмічено, що у плодах всіх досліджуваних сортів вміст пектинових речовин корелює з кількістю опадів і ГТК упродовж вегетації, а також з інтенсивністю сонячної радіації за 20-30-добовий період до збирання плодів.

Кореляційний аналіз впливу погодних умов вирощування на формування вмісту пектинових речовин у плодах яблуні показав найбільшу залежність даного показника від сортових особливостей культури.

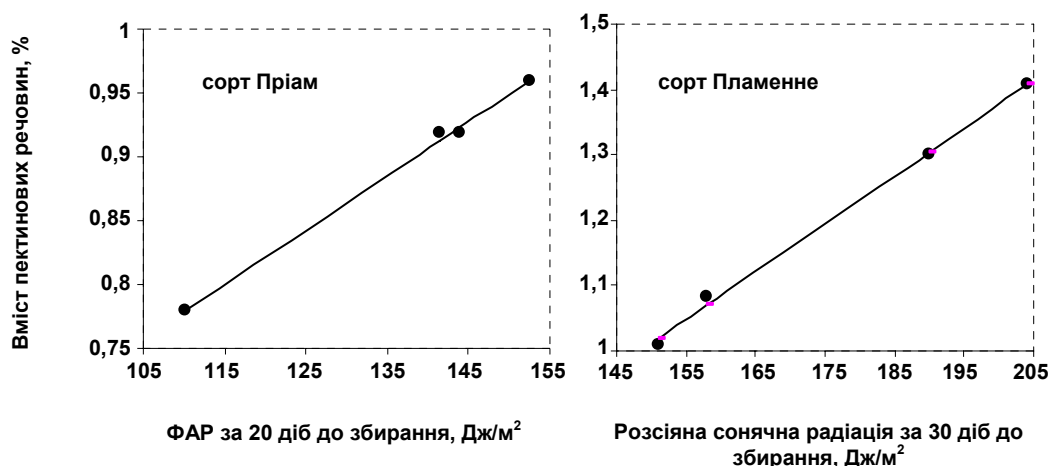


Рис. 2. Вплив погодних умов на вміст пектину у плодах яблуни

Висновки. Вперше проведено комплексний аналіз впливу основних метеорологічних факторів (суми активних температур, інтенсивності прямої, розсіяної та фотосинтетично активної радіації, водозабезпечення) на закономірності накопичення фенольних та пектинових речовин у плодах поширених та перспективних сортів яблуні. Найбільш стабільними за вмістом фенольних речовин виявилися сорти Кальвіль сніговий, Прісцилла, Мекфрі і Пламенне, а за вмістом пектинових речовин – Сапфір, Бойкен, Пріам, Джонатан, Ренет Смирненка і Кальвіль сніговий. Отримані результати доцільно використовувати при добірї сортів для закладання саду з метою виробництва біологічно цінної та конкурентоспроможної продукції.

1. Бленда В.Ф. Фенольные соединения яблони и их биологическая активность: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – К., 1972. 2. Войцехівська О.В., Ситар О.В. Методи математичної статистики у фізіології

рослин. – К.: 2008. – 48 с. 3. Дунаевский Г.А., Попик С.Я. Овощи и фрукты в питании здорового и больного человека. – К.: Здоровье, 1990. – 158 с. 4. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования. – М.: Наука, 1971. – 211 с. 5. Ефимова К.Ф. Динамика накопления химических веществ в плодах яблони в период роста и созревания // Бюлл. Всес. НИИ растениеводства. Изучение и селекция плодовых и ягодных культур в различных эколого-географических зонах СССР. – 1981. – С. 56-68. 6. Савчук Н.Т., Подпратов Г.І., Скалецка Л.Ф., та ін. Технохімічний контроль продукції рослинництва. Навч. посібник. – К.: Арістей, 2005. – 256с. 7. Сапожникова Е.В. Пектиновые вещества плодов. – М.: Наука, 1965. – 258с. 8. Седов Е.Н., Седова З.А. Селекция яблони на улучшение химического состава плодов. – Орел: Орловское отделение Приокского книжного изд-ва, 1982. – 128 с. 9. Станкевич Н.В., Щербакова И.Д., Ханин В.Ф. Содержание биологически активных веществ в плодах яблони в зависимости от метеорологических условий и вегетационного периода и сроков съема: Матер. Всесоюзного семинара по биологически активным веществам плодов и ягод, Мичуринск, 1972. 10. Шишкина Е.Е., Архипова Т.Н. Параметры стабильного содержания пектиновых веществ в яблоках на Алтае: Сб. науч. тр. "Селекция яблони на улучшение качества плодов". – Орел, 1985.

Надійшла до редколегії 05.03.09

УДК 577.112.384+612.817+612.821.8+612.323+612.811.3

Т. Фалалєєва, канд. біол. наук

ВПЛИВ БЛОКАДИ ГЛУТАМАТНИХ АМПА/КАІНАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ НА КИСЛУ ШЛУНКОВУ СЕКРЕЦІЮ У ЩУРІВ, СТИМУЛЬОВАНУ ГІСТАМІНОМ ТА ПЕНТАГАСТРИНОМ

Досліджено роль центральних та периферичних іонотропних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів у регуляції стимульованої гістаміном та пентагастрином шлункової секреції кислоти у щурів. Показано, що збудження центральних та периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів має протилежний ефект на шлункову секрецію кислоти: активація центральних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів веде до збільшення пентагастринової та гістамінової шлункової секреції кислоти, але збудження периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів ендogenous глутаматом призводить до гальмування гістамінової та пентагастринової секреції.

It was investigated the role of central and peripheral ionotropic AMPA/kainate glutamate receptors in regulation of gastric acid secretion stimulated by histamine and pentagastrin in rats. It was shown that excitement of central and peripheral AMPA/kainate glutamate receptors have opposite effect on gastric acid secretion: activation of central AMPA/kainate glutamate receptors leads to increase of histamine and pentagastrin gastric acid secretion but activation of peripheral AMPA/kainate glutamate receptors leads to decrease of histamine and pentagastrin gastric acid secretion.

Вступ. На сьогодні добре відомо, що глутамат є головним збудливим нейротрансмітером в центральній нервовій системі ссавців [3]. Але дані літератури щодо ролі глутамату в периферичній нервовій системі є дуже обмежені [3]. На нашу думку, в даній проблемі питання щодо участі різних типів глутаматних рецепторів (центральних та периферичних) у регуляції шлункової секреції кислоти має особливе значення, оскільки патогенез багатьох захворювань пов'язаний з порушенням шлункової секреції кислоти [2]. Знання механізму регуляції шлункової секреції кислоти дозволить нам розробити нові підходи до лікування кислото-залежних за-

хворювань. Адже, не дивлячись на широкий арсенал сучасних і досить ефективних фармакологічних препаратів для лікування кислото-асоційованих захворювань шлунково-кишкового тракту, значна частина людей є нечутливими до них, а у значної частини пацієнтів після лікування рецидив виникає повторно [2].

Було встановлено, що активація АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів в центральній нервовій системі призводить до посилення базальної шлункової секреції кислоти [10], а активація АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів в ентральній нервовій системі викликає гальмування базального виділення кислоти шлунком [5].

Також є дані, що L-глутамат введений в латеральний гіпоталамус та при внутрішньовенному введенні не впливав на базальне виділення кислоти в шлунку щурів [6].

Що стосується стимульованої шлункової секреції, то чітко встановлено, що збудження і центральних і периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів призводить до гальмування стимульованої холіноміметиками шлункової секреції кислоти [4].

Показано, що при введенні каїнату в аркуатні ядра мозку та глутамату у шлуночки мозку спостерігали значне пригнічення стимульованої пентагастрином шлункової секреції кислоти [7]. Хоча Шлигін та співавт. показали, що мононатрійглутамат при пероральному та внутрішньовенному введеннях викликає сильно виражений потенціюючий ефект, який проявляється в значному посиленні і пролонгуванні шлункової секреції, стимульованої пентагастрином [4]. На ізольованих препаратах шлунка щурів показано [9], що L-глутамат гальмував пентагастринову шлункову секрецію кислоти, але на цілісному організмі щура L-глутамат не впливав на пентагастринову секрецію [8].

Встановлено, що L-глутамат гальмував гістамінову шлункову секрецію кислоти в умовах експериментів *in vivo* та *in vitro* [8, 9]. Ефект L-глутамату на гістамінову шлункову секрецію кислоти блокувався антагоністом АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів – 6-ціано-7-нітроквіно-ксалін-2,3-діон (CNQX) [9].

Таким чином, наведена література свідчить про неоднозначність у даних щодо впливу глутаматних результатів на пентагастринову шлункову секрецію. Що стосується гістамінової шлункової секреції, то доступна нам література дуже обмежена і не дає висновку про роль центральних і периферичних глутаматних рецепторів у регуляції стимульованої шлункової секреції кислоти, гістаміном.

Тому в даній роботі ми вирішили дослідити та проаналізувати роль центральних та периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів у регуляції секреції кислоти, стимульованої периферичними секреторами – гістаміном та пентагастрином.

Отже, метою даної роботи було вивчити роль центральних та периферичних іонотропних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів у регуляції стимульованої гістаміном та пентагастрином шлункової секреції кислоти у щурів.

Об'єкт та методи дослідження. Дослідження проведені з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

В умовах гострого експерименту на білих нелінійних щурах самцях ($n=71$) масою 160-250 г досліджували вплив блокади АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів на шлункову секрецію кислоти методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом. Щурів наркотизували уретаном (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA) в дозі 1,1 г/кг ваги (внутрішньоочеревино (в/о)).

Дослідження проведені на двох групах щурів: I – з інтактною нервовою системою, II – щури, яким була виконана операція білатеральної стовбурової ваготомії на цервікальному рівні. Використання щурів з білатеральною ваготомією, у яких завдяки перерізці блукаючих нервів усунені впливи з центральної нервової системи на парієтальні клітини, дозволяє вивчати роль периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів у реалізації стимульованої шлункової секреції кислоти. Після завершення дослідів щурів умертвляли за допомогою летальної дози уретану (3 г/кг, в/о).

Секрецію кислоти шлунком стимулювали гістаміном дигідрохлоридом (Sigma Chemical Co, USA) в дозі 3 мг/кг, в/о, та пентагастрином (Sigma Chemical Co, USA) в дозі 26 мкг/кг, в/о. Блокаду АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів здійснювали за допомогою ІЕМ 1751 (5 мг/кг, в/о), [1] синтезованого у відділі нейрофармакології НДІЕМ РАМН, м. Санкт-Петербург. ІЕМ 1751 вводили за 20 хвилин до введення секретарогів.

В зібраних 10-хвилинних пробах електротитриметрично визначали загальну кислотність перфузату за допомогою іоніміра ЭВ-74 з використанням 0,01 N розчину гідроокису натрію (NaOH). Кількість NaOH, що йшла на титрування перфузату в 10-ти хвилинній пробі, дорівнювала дебіту соляної кислоти, що виділялася в шлунку за даний період часу. Після цього обчислювали дебіт кислоти, що виділився впродовж стимулюючої дії гістаміну та пентагастрину (120 хвилин) у мкмоль.

Одержані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Вілка. Оскільки наші дані виявилися нормально розподілені, порівняння вибірок проводилося за допомогою t-критерію Стюдента для незалежних вибірок. Розраховували середнє значення (M), стандартне відхилення (SD). Для наших даних ми приймали рівень значущості $p<0,05$.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що у щурів з інтактною нервовою системою ІЕМ 1751 не справляв статистично значущого впливу на гістамінову шлункову секрецію кислоти. Двобічна стовбурова ваготомія, яка усуває впливи АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів з центральної нервової системи, зменшувала рівень гістамінової шлункову секрецію кислоти на 23% ($p<0,05$). У ваготомованих щурів ІЕМ 1751 викликав значне підсилення стимульованої гістаміном шлункову секрецію кислоти на 81%, ($p<0,01$) (Табл. 1).

Наступним етапом наших досліджень було вивчення ролі центральних та периферичних глутаматних рецепторів у регуляції стимульованої шлункової секреції кислоти пентагастрином. ІЕМ 1751 в дозі 5 мг/кг не впливав на дебіт кислоти пентагастринової шлункової секреції ($p>0,05$). Двобічна стовбурова ваготомія, зменшувала рівень пентагастринової ШСК на 22% ($p>0,05$). У ваготомованих щурів ІЕМ 1751 в дозі 5 мг/кг викликав підсилення стимульованої пентагастрином секреції соляної кислоти на 40%, ($p<0,05$) (табл. 2).

Отже, у щурів з інтактною нервовою системою антагоніст центральних та периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів ІЕМ 1751 не викликав змін гістамінової та пентагастринової шлункової секреції кислоти. Але блокада периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів призводила до посилення шлункової секреції кислоти, стимульованої гістаміном та пентагастрином.

Таблиця 1. Вплив антагоніста АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів IEM 1751 (5 мг/кг, в/о) на гістамінову (3 мг/кг, в/о) шлункову секрецію кислоти у інтактних та ваготомованих щурів

Дослідні групи	Контроль (гістамін) M±SD (мкмоль/120 хв)	Дослід (гістамін + IEM 1751)M±SD (мкмоль/120 хв)
Інтактні щури	72,1±12,27 (n=7)	73,52±8,62 (n=10)
Ваготомовані щури	55,42±8,75 [#] (n=7)	100,5±32,68 ^{**} (n=9)

Примітка: ** – p<0,01 у порівнянні з контролем у ваготомованих щурів;
– p<0,05 у порівнянні з контролем у інтактних щурів.

Таким чином, в природних умовах при збереженні цілісності блукаючих нервів збудження центральних та периферичних іонотропних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів ендogenous глутаматом справляє різнонаправлений вплив на секрецію соляної кислоти, стимульовану гістаміном та пентагастрином: центральні збуджують, а периферичні її гальмують. В результаті спостерігається сумація протилежних ефектів і відсут-

ність впливу АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів на гістамінову та пентагастринову шлункову секрецію кислоти у щурів з інтактною нервовою системою. При відсутності впливів з центральної нервової системи (у щурів після ваготомії) спостерігаються виключно впливи периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів і їх збудження гальмує гістамінову та пентагастринову секрецію соляної кислоти в шлунку.

Таблиця 2. Вплив антагоніста АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів IEM 1751 (5 мг/кг, в/о) на пентагастринову (26 мкг/кг, в/о) шлункову секрецію кислоти у інтактних та ваготомованих щурів

Дослідні групи	Пентагастрин M±SD (мкмоль/120 хв)	Пентагастрин + IEM 1751 M±SD (мкмоль/120 хв)
Інтактні щури	64,3±9,89 (n=10)	66,5±8,91 (n=10)
Ваготомовані щури	79,54±13,0 (n=9)	111,1±35,9* (n=9)

Примітка: * – p<0,05 у порівнянні з контролем у ваготомованих щурів.

Встановлена нами властивість периферичних глутаматних рецепторів АМПА/каїнатного – типу є перспективна для створення селективних агоністів даних рецепторів, які не проходять гемато-енцефалічний бар'єр, для лікування гіперсекреторних станів шлунка.

Висновки. Одержані дані свідчать, що збудження центральних та периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів має протилежний ефект на шлункову секрецію кислоти: активація центральних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів веде до збільшення пентагастринової та гістамінової шлункової секреції кислоти, але збудження периферичних АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів ендogenous глутаматом призводить до гальмування гістамінової та пентагастринової секреції.

1. Гмиро В.Е., Сердюк С.Е. Поиск избирательных блокаторов NMDA-рецепторов и АМПА/каинатных рецепторов в ряду бис-амониевых соединений с адамантильными радикалами // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2000, Т.63. – №1. – С. 7-13. 2. Исаков В.А. Лечение язвенной болезни, ассоциированной с H.pylori: достижения и нерешенные проблемы. Клиническая фармакология и терапия. 1997,

6(1). – С.12-17. 3. Фалалеева Т.М., Берегова Т.В., Штанова Л.Я. Глутаматні рецептори та їх роль у регуляції секреції кислоти в шлунку (огляд літератури) // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2007. – Т. 2, № 37. – С. 53-59. 4. Фалалеева Т.М., Штанова Л.Я., Берегова Т.В. Вплив блокади АМПА/каїнатних глутаматних рецепторів на стимульовану карбахоліном шлункову секрецію кислоти у щурів // Вісник проблем біології медицини. – 2007. – №2. – С.22-25. 5. Falalayeva T., Shtanova L., Dryvecka T., Bereгова T. The role of ionotropic glutamate receptors ampa/kainate type in the mechanism of formation of basal gastric acid secretion in rats // Annales universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Lublin-Polonia, Sectio DDD. – 2007. – Vol. XX, N.1. – 2007. – Vol. 1, N2. – P.107-111. 6. Namiki T., Egawa M., Tominaga S. et al. Effects of GABA and L-glutamate on the gastric acid secretion and gastric defensive mechanisms in rat lateral hypothalamus // J. Auton. Nerv. Syst. – 1993. – V. 44. – P. 217-223. 7. Tebbe J.J., Dietze T., Grote C. et al. Excitatory stimulation of neurons in the arcuate nucleus inhibits gastric acid secretion via vagal pathways in anesthetized rats // Brain Res. – 2001. – V. 913, N. 1. – P. 10-17. 8. Tsai L.H., Lee Y.J., Wu J.Y. Effect of excitatory amino acid neurotransmitters on acid secretion in the rat stomach // J. Biomed. Sci. – 1999. – V. 6. – P. 36-44. 9. Tsai L.H., Tsai W., Wu J.Y. Effect of L-glutamic acid on acid secretion and immunohistochemical localization of glutamatergic neurons in the rat stomach // J. Neurosci. Res. – 1994. – V. 38. – P. 188-195. 10. Tsuchiya S., Horie S., Yano S. et al. Stimulatory effect of centrally injection kainite and N-methyl-D-aspartate on gastric acid secretion in anesthetized rats // Brain res. – 2001. – V. 914. – P. 115-122.

Надійшла до редколегії 16.06.09

УДК 612.821:612 82/83

М. Донских, студ., М. Федорчук, студ.,
О. Нестеренко, практикуючий психолог, Н. Таначьова, вчитель вищої категорії,
С. Федорчук, канд. біол. наук

ІНДИВІДУАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ПАМ'ЯТІ СТАРШОКЛАСНИКІВ ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНОЮ АСИМЕТРІЄЮ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Досліджено індивідуальні особливості пам'яті у зв'язку з функціональною асиметрією півкуль головного мозку у школярів профільних та загальноосвітніх класів. Визначено, що для правопівкульних обстежених більшою мірою були характерні зоровий і слуховий типи запам'ятовування, для лівопівкульних – зоровий і змішаний (моторно-слуховий), а для амбідекстрів – слуховий тип запам'ятовування. У право-, лівопівкульних учнів і амбідекстрів при порівнянні пам'яті на смислові одиниці та на склади ведучою виявилася пам'ять на беззмстовну інформацію. При порівнянні пам'яті на образи і числа ведучою у право- і рівнопівкульних учнів виявилася пам'ять на образи, у лівопівкульних – пам'ять на числа.

Specific features of memory are investigated in connection with functional asymmetry of hemispheres of a brain at schoolboys of profile and general educational classes. It is established, that for pupils with functionally active right hemisphere in the greater measure visual and acoustical types of storing were characteristic, for pupils with functionally active left hemisphere in the greater measure were characteristic visual and mixed (motor and acoustical) types of storing, and for pupils without functional asymmetry of hemispheres – acoustical type of storing. Senior pupils both with functional asymmetry of hemispheres and without functional asymmetry conducting had a memory on the empty (senseless) information, at pupils with functionally active right hemisphere and without functional asymmetry memory for images prevailed of memory on numbers, at pupils with functionally active left hemisphere memory on numbers prevailed.

Вступ. Виходячи з того, що функція правої півкулі стосується переважно образної пам'яті, а функція лівої півкулі, в якій розташовані мовні центри, стосується

переважно словесно-логічної пам'яті, то деякі автори пов'язують особливості діяльності півкуль головного мозку саме з якостями зорової і слухової пам'яті [1, 2].

© Донских М., Федорчук М., Нестеренко О., Таначьова Н., Федорчук С., 2010

Метою нашої роботи була спроба дослідити індивідуальні особливості пам'яті у зв'язку з функціонального асиметрією півкуль головного мозку у школярів профільних та загальноосвітніх класів.

Об'єкт та методи досліджень. В дослідженні як обстежені брали участь 47 учнів 9-х та 10-х класів віком 13-16 років, з них 12 хлопців та 35 дівчат. Залежно від профілю навчання обстежені із профільних класів були розподілені на дві групи: I група – учні природничо-математичних класів (n=16), II група – учні гуманітарних класів (n=12). Старшокласники загальноосвітніх класів склали контрольну групу (n=19).

Для дослідження індивідуальних особливостей пам'яті старшокласників були обрані такі методики: вивчення пам'яті на образи; вивчення типу пам'яті (слухове, зорове, моторно-слухове, зорово-слухово-моторне запам'ятовування); відтворення оповідання; вивчення пам'яті на числа; відтворення 10 складів [3, 4].

Дослідження індивідуальних особливостей функціональної асиметрії півкуль головного мозку старшокласників проводилось за наступними методиками: проби на визначення індивідуального профілю сенсомоторних асиметрій; тест І.П. Павлова на визначення "розумового", "художнього" і "середнього" (проміжного) типу вищої нервової діяльності [3, 5].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження аналізувалися за наступними показниками функціональної асиметрії півкуль головного мозку: загальний показник сенсомоторних асиметрій, показник асиметрії за тестом Павлова. Пам'ять оцінювалась за кожним обраним тестом окремо у балах.

За результатами проведених досліджень у більшості обстежених учнів 9-х та 10-х класів більш розвинутою виявилася зорова і слухова пам'ять, пам'ять на склади. У старшокласників природничо-математичного класу більшість обстежених мали ведучим слуховий тип пам'яті, у старшокласників гуманітарного класу – зоровий тип пам'яті, у старшокласників загальноосвітніх класів – в рівній мірі як слуховий так і зоровий типи пам'яті. Змі-

шаний тип пам'яті (моторно-слухове і зорово-слухово-моторне запам'ятовування) більш виражений був у учнів природничо-математичного класу.

Крім того, як у учнів природничо-математичного і гуманітарного класів так і у школярів загальноосвітніх класів при порівнянні пам'яті на смислові одиниці та на склади ведучою виявилася пам'ять на склади, тобто на беззмстовну інформацію. Невисокі результати у більшості обстежених учнів за методикою "Відтворення оповідання" (53 % учнів мали низький і нище середнього рівень розвитку пам'яті на смислові одиниці) свідчили про недоліки старшокласників у запам'ятовуванні змістовного матеріалу, невміння виділяти смислові одиниці та запам'ятовувати їх. Набагато кращі результати були отримані у більшості обстежених учнів при запам'ятовуванні беззмстовного матеріалу (за методикою "Відтворення 10 складів" 75 % учнів мали високий і вище середнього рівень розвитку пам'яті).

В цілому, у 40 % обстежених учнів домінувала права півкуля, а 49 % старшокласників виявилися амбідекстрами (таблиця 1), тобто рівнопівкульними людьми, що співпадає з даними літератури про те, що до однобічно представлених правопівкульних і лівопівкульних типів належить трохи менше половини людей [1]. Результати дослідження показали, що більшість обстежених старшокласників природничо-математичного класу і загальноосвітніх класів виявилися право- та рівнопівкульними, старшокласники гуманітарного класу – рівнопівкульними.

У школярів з домінуванням правої півкулі більш високими виявилися рівні зорового і слухового запам'ятовування та рівні розвитку пам'яті на склади і на образи. У амбідекстрів більш високим виявився рівень слухового запам'ятовування та рівні розвитку пам'яті на склади і на образи. Тобто для правопівкульних обстежених більшою мірою був характерний зоровий і слуховий типи запам'ятовування, а для амбідекстрів – переважно слуховий тип запам'ятовування. Ведучий тип пам'яті у лівопівкульних обстежених – зоровий і змішаний (моторно-слуховий), та пам'ять на склади і на числа (таблиця 1).

Таблиця 1. Показники пам'яті і функціональної асиметрії півкуль головного мозку у учнів профільних та загальноосвітніх класів

Групи	природничо-математичний клас (n=16)	гуманітарний клас (n=12)	загальноосвітні класи (n=19)	Разом (n=47)				
Правопівкульні учні	7 (44 %)	2 (17 %)	10 (53 %)	19 (40%)				
Лівопівкульні учні	2 (12 %)	3 (25 %)	0 (0 %)	5 (11 %)				
Рівнопівкульні учні	7 (44 %)	7 (58 %)	9 (47 %)	23 (49%)				
Групи	Пам'ять на образи (n)	Пам'ять на числа (n)	10 складів (n)	Смислові одиниці (n)	Тип пам'яті (СБ)			
					I	II	III	IV
Правопівкульні учні (n=19)	8	3	16	1	7.63	7.58	6.26	7.11
Лівопівкульні учні (n=5)	0	2	5	0	6.60	7.20	7.20	7.00
Рівнопівкульні учні (n=23)	10	3	22	0	7.26	6.61	6.39	6.48

Примітка:

I – перший тип пам'яті (слухове запам'ятовування)

II – другий тип пам'яті (зорове запам'ятовування)

III – третій тип пам'яті (моторно-слухове запам'ятовування)

IV – четвертий тип пам'яті (зорово-слухово-моторне запам'ятовування)

СБ – середній бал

Серед лівопівкульних учнів не виявлено жодного з домінуванням пам'яті на образи. Щодо визначення ведучого типу пам'яті у лівопівкульних обстежених, то кількість даних була недостатня для остаточних висновків.

Отримані результати певною мірою співпадають з літературними даними, але дещо доповнюють і конкретизують їх. Крім того, якщо співставити результати діагностики міжпівкульової асиметрії за різними методиками, то можна помітити певну невідповідність. Це може свідчити про недоліки обраних методик (адже вони не

є апаратними), а також про існування розбіжностей між моторними проявами функціональної асиметрії півкуль головного мозку та механізмами переробки інформації, що виражена поняттями і словами.

Висновки. У старшокласників профільних і загальноосвітніх класів як право- чи лівопівкульних, так і амбідекстрів при порівнянні пам'яті на смислові одиниці та на склади ведучою виявилася пам'ять на склади, тобто на беззмстовну інформацію. При порівнянні пам'яті на образи і числа ведучою у право- і рівнопівкульних учнів

виявилася пам'ять на образи, у лівопівкульних – пам'ять на числа. Крім того, за результатами дослідження були визначені зоровий і слуховий типи запам'ятовування у правопівкульних обстежених, зоровий і змішаний (моторно-слуховий) типи запам'ятовування у лівопівкульних та слуховий – у амбідекстрів.

1. Брагина Н.Н., Доброхотова Т.А. Функциональная асимметрия мозга человека. – М.: Медицина, 1988. – 240 с. 2. Волошенко О., Семиліт Л.

УДК 612.43 ; 591.147, 611.018.591.8, 612.017 1:57.052

Ліворука дитина: яка вона? Сучасні погляди на проблеми ліворукості // "Психолог" – 2003. – жовтень 39(87) – С. 25-32. 3. Вороний Л.Г., Колбановский В.Н., Маш Р.Д. Физиология высшей нервной деятельности и психология. – М.: Просвещение, 1984. – С.140-147. 4. Гильбух Ю.З. Темперамент і пізнавальні здібності школяра: психологія, діагностика, педагогіка – К.: III-т психології АПН України, 1993. – С. 48-68. 5. Сиротюк А.Л. Ще раз про нейропсихологію. Діагностика показників взаємодії півкуль головного мозку // Психолог – 2002. – Лютий № 6 (6) – С. 9-10.

Надійшла до редколегії 17.09.09

О. Горелікова, асп., М. Держинський, д-р біол. наук,
А. Пустовалов, канд. біол. наук, А.Тормасова, студ.

ВПЛИВ ІМУНІЗАЦІЇ НА ГІПОТАЛАМО-ТИРОЇДНИЙ КОМПЛЕКС ПТАХІВ

При вивченні впливу імунізації на гіпоталамо-тироїдний комплекс птахів Gallus domesticus 5-тижневого віку було встановлено, що імунізація призводить до активації як паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, так і щитовидної залози нестатевозрілих птахів; пік функціональної активності припадає на 7-му добу після імунізації.

This research is dedicated to the influence of the immunization on the hypothalamus-thyroid axis in 5-weeks old birds Gallus domesticus. We came to the conclusion that immunization led to the activation both PVN and the thyroid gland of non-pubescent birds. The peak of the functional activity took place on the 7-th day after the immunization.

Вступ. Проблема взаємовпливу та взаємоузгодження функцій ендокринної, нервової та імунної систем є одним з пріоритетних питань сучасної науки.

Відомо, що щитовидна залоза, яка є життєво важливим органом, стимулює всі види обміну речовин в організмі: білковий, вуглеводний, енергетичний, водний, мінеральний [1]. Тироксин і трийодтиронин стимулюють метаморфоз у тварин, контролюють ріст і розвиток всіх тканин і органів, підсилюють окислювальні процеси та теплопродукцію в тканинах, впливають на функціональний стан нервової системи, серця, статевих залоз та інших органів [2]. Увага багатьох дослідників прикута до проблеми регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-ендокринного комплексу тварин насамперед завдяки появі нових методів дослідження, які відкривають широкі можливості для вивчення, а надалі і впливу на механізми, що регулюють ендокринні процеси в організмі тварин і людини [3; 4; 5; 6]. Гормони щитовидної залози активують усі ланцюги імунної системи: клітинний, гуморальний імунітет, NK та К-клітини, систему моноцитів-макрофагів. Взагалі при гіпофункції щитовидної залози спостерігається зниження активності імунної системи [7].

Метою дослідження було вивчення взаємодії щитовидної залози та гіпоталамуса під час розвитку імунної реакції.

Об'єкт та методи дослідження. Дослідження стану щитовидної залози вивчалось на 48 самцях Gallus domesticus 5-тижневого віку, які характеризуються функціонально зрілим гіпоталамо-тироїдним комплексом [3].

Птахи були розділені на 2 групи по 24 тварини: 1) контроль; 2) тварини, піддані імунізації еритроцитами людини. Розвиток реакції щитовидної залози у часі розглядали, вивчаючи по 8 представників кожної групи на 1, 3, 7 та 9 добу після імунізації. Взяття органів проводили у час, який відповідав середині темної фази для тварин.

Для аналізу одержаних результатів були використані класична гістологічна методика та сучасна морфометрична і статистична обробка. У щитовидній залозі визначали висоту секреторного епітелію і внутрішній діаметр фолікулів, а в гіпоталамусі досліджували крупноклітинні нейрони паравентрикулярного ядра (ПВЯ). Фактичний матеріал оброблений статистично за критерієм Ст'юдента за допомогою програми Statistica 5.0.

Результати та їх обговорення. Морфологічний аналіз контрольної серії досліду. Морфологічний аналіз гістологічних препаратів щитовидної залози птахів Gallus domesticus 5-тижневого віку показав помірний функціональний стан щитовидної залози. В щитовидній

залозі піддослідних птахів контрольної серії відсутні явні ознаки посилення чи пригнічення секреторної активності у всіх 4 групах: на 1-шу, 3-тю, 7-му та 9-ту добу експерименту. Морфологічні та морфометричні дослідження гіпофізотропних зон гіпоталамусу показали, що більшість крупноклітинних нейронів ПВЯ перебувають у стані спокою на початку синтезу і частково у стадії високої активності у всіх 4 контрольних групах: на 1-шу, 3-тю, 7-му та 9-ту добу експерименту. Саме таке співвідношення цих типів клітин визначає активність ПВЯ як такої, що характеризується помірною секреторною активністю з ознаками деякого підвищення виведення гормону.

Результат імунізації птахів 1-ої доби. Дослідження динаміки розвитку імунної реакції показали, що застосована в експерименті імунізація птахів на 1-шу добу не викликає статистично достовірних змін у щитовидній залозі за всіма 3-ма показниками: висота секреторного епітелію, зовнішній діаметр фолікулів і діаметр ядер тироцитів. Тобто щитовидна залоза тварин на 1 добу після імунізації, знаходиться у помірно функціональному стані, наближеному до контролю. В нейронах ПВЯ гіпоталамусу виявлено достовірне збільшення діаметру ядер порівняно з даними, отриманими для контрольної групи, що свідчить про підвищення функціональної активності ПВЯ (таб.1). Результат імунізації птахів на 3 добу. У птахів цієї серії досліду висота секреторного епітелію щитовидної залози не демонструє достовірних відмін від такої у птахів контрольної групи. При цьому внутрішній діаметр фолікулів і діаметр ядер тироцитів достовірно збільшені порівняно з контролем (таб.1). Таким чином, щитовидна залоза цих піддослідних тварин характеризується дещо підвищеною функціональною активністю. Гістофізіологічний аналіз нейронів крупноклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу показав, що перикаріон цих клітин вміщує певну кількість Гормоні-позитивної субстанції, яка локалізована переважно навколо ядра. Виявлені морфологічні ознаки свідчать про посилення процесів синтезу та виведення нонапептидів. Отже, імунізація птахів на 3 добу викликає незначне посилення гормонотворення як у фолікулах щитовидної залози, так і у нейронах ПВЯ гіпоталамусу.

Результат імунізації птахів на 7 добу. Встановлено, що у щитовидній залозі птахів цієї серії досліду висота секреторного епітелію та внутрішній діаметр фолікулів достовірно збільшуються порівняно з цими показниками у контрольній групі (таб.1). Отже при імунізації птахів через 7 днів значно посилюється синтез тироїдних гормонів. Водночас має місце підвищення процесів ви-

ведення гормонів у кров, про що свідчить колоїд, який вміщує резорбційні вакуолі. Виявлені вище морфологічні зміни у структурі щитовидної залози узгоджуються з реакцією нейросекреторних клітин ПВЯ гіпоталамусу. Вірогідні зміни відмічені у структурі нейроцитів ПВЯ гіпоталамусу, а саме – статистично достовірне збільшення розміру ядер нейроцитів ПВЯ порівняно з контролем (табл.1). Це свідчить про те, що нейросекреторні

клітини ПВЯ гіпоталамусу знаходяться у стані підвищеної функціональної активності, активно синтезують і виводять нейrogормони. На підставі даних про реакцію тироцитів щитовидної залози та нейроцитів гіпоталамусу можна зробити висновок, що при імунізації птахів на 7 добу гіпоталамо-тиреоїдна система характеризується гіперфункцією. Це співпадає з даними літератури про розвиток імунної реакції [8, 9].

Таблиця 1. Зміни діаметру ядер тироцитів, висоти секреторного епітелію та внутрішнього діаметру фолікулів щитовидної залози, та діаметру нейроцитів ПВЯ гіпоталамусу у птахів 5-тижневого віку (мкм)

Вимірюваний параметр	Група/час після імунізації	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	9-та доба
Висота секреторного епітелію щитовидної залози, мкм	контроль	5,70 ± 0,15	6,01 ± 0,12	5,39 ± 0,11	5,07 ± 0,10
	контроль+імунізація	5,47 ± 0,11	5,86 ± 0,15	8,18 ± 0,19*	7,29 ± 0,17*
Внутрішній діаметр фолікулів, мкм	контроль	21,24 ± 0,94	19,69 ± 0,74	23,99 ± 0,83	23,37 ± 1,05
	контроль+імунізація	21,78 ± 0,84	26,15 ± 0,95*	27,03 ± 0,87*	25,70 ± 0,77*
Діаметр ядер тироцитів, мкм	контроль	3,85 ± 0,45	3,84 ± 0,53	4,04 ± 0,38	3,84 ± 0,37
	контроль+імунізація	4,07 ± 0,49	4,10 ± 0,45*	4,17 ± 0,45*	4,07 ± 0,42
Діаметр нейроцитів ПВЯ	контроль	4,33 ± 0,07	4,10 ± 0,09	3,90 ± 0,09	4,55 ± 0,09
	контроль+імунізація	5,06 ± 0,07*	4,27 ± 0,09	7,17 ± 0,19*	6,14 ± 0,14*

* – $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Результат імунізації птахів на 9 добу. На підставі аналізу одержаних даних встановлено, що у птахів, які піддавались імунізації, на 9 добу висота секреторного епітелію та діаметр фолікулів щитовидної залози достовірно збільшені порівняно з контролем (таб.1), але менші за аналогічні показники на 7-му добу після імунізації. Слід зазначити, що тироцити, якими вислані фолікули, мають у більшості випадків пласку форму. У колоїді мало резорбційних вакуолей. Отже, щитовидна залоза птахів цієї серії досліду характеризується поступовим зниженням функціональної активності порівняно з попередньою групою, хоча ця активність залишається більшою, ніж у контрольній групі. Вимірювання діаметру ядер нейроцитів ПВЯ гіпоталамусу показало достовірне збільшення цього показника порівняно з контролем, але зменшення порівняно з попередньою групою (групою 7-ої доби). Це свідчить про поступове пригнічення синтетичної активності в нейроцитах ПВЯ гіпоталамусу. Одержані нами дані узгоджуються з реакцією щитовидної залози, де виявлені ознаки депонування гормонів та зниження їх синтезу порівняно з групою 7-ої доби. У цілому можна заключити, що імунізація птахів через 9 днів призводить до зниження функціональної активності гіпоталамо-тиреоїдної системи. Можливо, це пояснюється виснаженням функціональних резервів гіпоталамо-тиреоїдної системи.

Висновки. 1. Імунізація призводить до активації щитовидної залози статевозрілих птахів, пік функціональної активності якої припадає на 7-му добу після імунізації. 2. На 7-му добу у імунізованих тварин спостеріга-

ється достовірне збільшення діаметру ядер тироцитів, висоти секреторного епітелію, внутрішнього діаметру фолікулів щитовидної залози та діаметру нейроцитів ПВЯ гіпоталамусу, що вказує на підвищення синтетичної та секреторної активності щитовидної залози і гіпоталамусу. 3. Встановлено синхронне підвищення активності щитовидної залози та гіпоталамусу. Максимальна активність нейроцитів ПВЯ гіпоталамусу співпадає у часі з максимальним збільшенням активності ядер тироцитів, збільшенням висоти секреторного епітелію і внутрішнього діаметру фолікулів.

1. Држевецкая И.А. Основы физиологии обмена веществ в эндокринной системе. – М., 1994. 2. Балаболкин М.И. Эндокринология. – М.: Универсум пубблишинг, 1998. – с.24-30, 57-63. 3. Воронін К.Ю. Участь моноаминів у нейроендокринній регуляції гіпоталамо-адrenalової, -тиреоїдної та гонадної систем птахів (гістофізіологічний аналіз). Автореф. дис... канд. біол. наук: 14.03.09/ Київський національний університет імені Тараса Шевченка. – К., 2001. – 19 с. 4. Дзержинський М.Е. Нейроендокринна регуляція сезонного циклу розмноження птахів. – К.: Сільгоспосвіта, 1996. – 282 с. 5. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения. – СПб.: ИКФ Фолиант, 2001. – 160 с. 6. Чипенс Г.И. Исследование афферентных механизмов взаимодействия нервной и иммунной систем // Иммунофизиология / Е.А. Корнева (ред.). – СПб.: Наука, 1993. – С. 635-656. 7. Pierpaoli W., Regelson W. Cud melatonin. – Lodz: Amber, 1996. – 199s. 8. Markowska M., Bialecka B., Ciechanowska M., Koter Z., Laskowska H., Karkucinska-Wieckowska A., Skwarlo-Sonta K. Effect of immunisation on nocturnal NAT activity in chicken pineal gland // Neuroendocrinology letters. – 2000. – V. 21. – P. 367-373. 9. Markowska M., Waloch M., Skwarlo-Sonta K. Melatonin inhibits PHA-stimulated chicken lymphocyte proliferation in vitro // J. Pineal. Res. – 2001. – V.30., №4. – P. 220-226.

Надійшла до редакції 16.09.09

УДК 577. 543. 426

А. Майданюк, канд. біол. наук

ФЛУОРИМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ КОНЦЕНТРАЦІЇ АТР ЗА ДОПОМОГОЮ 3-ГІДРОКСИ-4-ДИМЕТИЛАМІНОФЛАВОНУ

Наведено мініметод спектрофлуориметричного визначення концентрації АТР у розчині.

The minimethod for fluorimetric assays of ATP has been developed.

Вступ. Розробка нових методів дослідження часто приводить до появи нових напрямків в біохімічній практиці. Так і відбулося у випадку флуоресцентних зондів. Це в першу чергу пов'язано з можливістю проведення за допомогою набору флуорохромів комплексного та кількісного аналізу структури і різних сторін метаболізм-

му живих клітин [2]. Цілий ряд речовин, здатних до флуоресценції, як внутрішньоклітинної природи так і ті, які вводяться в клітини зовні, мають здатність відповідати змінам параметрів власної флуоресценції на зміну фізико-хімічних властивостей середовища [2]. Завдяки цьому появилася можливість слідувати за такими па-

раметрами клітини, як електричний потенціал на мембрані, концентрація протонів і кальцію, в'язкість ліпідного біслою, рухомість компонентів плазматичних мембран і її проникність, клітинна життєздатність, вміст деяких внутрішньоклітинних сполук, наприклад АТФ [3, 5]. Число синтезованих флуорохромів постійно зростає, що дає змогу вивчати нові ланки клітинного метаболізму. В останні роки все більш активно флуорохромии використовуються для дослідження клітинних суспензій і навіть клітин. Такий підхід стає успішним завдяки розвитку мініфлуориметричної техніки. Важливою перевагою мініфлуориметричного методу являється те, що для проведення досліджень необхідна мінімальна кількість біологічного матеріалу. Це особливо важливо в умовах коли, по тим чи іншим причинам, кількість його обмежена, наприклад у випадку роботи з суспензіями клітин (тимоцитів).

Метою даної роботи було розробити мініметод флуориметричного визначення концентрації АТФ у розчинах за допомогою флуоресцентного зонду-3-гідрокси-4'-диметиламінофлавоу.

Об'єкт та методи досліджень. Аденозин-5'-трифосфатної кислоти динатрієва сіль (АТФ) виробництва фірми Reanal (Угорщина), 3-гідрокси-4'-диметиламінофлавоу (Україна). Визначення концентрації АТФ у стандартних розчинах спектрофотометричним методом проводили з мінікюветою об'ємом 500 мкл на спектрофотометрі Sinco SUV-2120 (Германія), спектрофлуориметричним мініметодом із використанням мінікювети об'ємом 100 мкл на спектрофлуориметрі RF-510 фірми Shimadzu (Японія).

Результати та їх обговорення. Серед методів кількісного аналізу в біохімії домінує місце займає спектрофотометрія у видимій та ультрафіолетовій області спектра. Проте все більш суттєвого значення набувають спектрофлуориметричні методи аналізу. В той же час, використання спектрометрії для визначення малих концентрацій пов'язано з створенням спеціальної техніки, так як в спектрофотометрії безпосередньо вимірюваною величиною являється оптична густина, а її величина визначається кількістю речовини на одиницю площі. Таким чином, основний виграш в підвищенні чутливості може бути досягнутим за рахунок зменшення геометричних розмірів системи детекції, а в зниженні об'єму проб для аналізу – зменшення геометричних розмірів кювети. На рис. 1 приведено конструкцію мінікювети для мініфлуориметричного аналізу проб об'ємом 100 мкл. Якщо в макроваріанті флуориметричного методу об'єм проб, необхідний для аналізу – 2000 мкл, то для мініваріанту достатньо 200 мкл. Тобто, використання мінікювети приводить до зменшення в 10 разів необхідних для аналізу речовин.

Показано [5] здатність флуоресцентного зонду – 3-гідрокси-4'-диметиламінофлавоу утворювати комплекс з АТФ при цьому зміщується смуга поглинання (ex) з 405 – 410 нм на 470 – 480 нм, а максимум випромінювання (em) залишається сталим (540 – 555 нм), проте зростає інтенсивність флуоресценції (em) за збудження (ex) на 480 нм при збільшенні концентрації АТФ [3, 4]. Ефект зсуву смуги збудження є високоспецифічним для АТФ і не проявляється з іншими нуклеозидтрифосфатами [5].

Ми використали цю особливість флуоресцентного зонду для визначення залежності відносних параметрів флуоресценції від концентрації АТФ з метою побудови калібрувальних графіків. Відношення інтенсивностей емісії при збудженні на 480 нм та 410 нм ($I_{f,480}/I_{f,410}$) і з врахуванням флуоресценції контрольних проб (без АТФ) ($I_{f,i}/I_{f,0,480}/I_{f,i}/I_{f,0,410}$) та відношення випромінювання флуоресценції проб до контролю за збудження на 480 нм ($I_{f,i}/I_{f,0,480}$) визначали за ординату (Y), а концентрацію АТФ за ось абсцис (X).

Для одержання числових значень флуоресценції брали мінікювету об'ємом 100 мкл, а визначенні значення використовували для розрахунку коефіцієнтів рівняння лінійної регресії та коефіцієнта кореляції (r) за [1]. Математично коректними уважали значення $r > 0,8$. Одержані результати наведено в табл. 1.



Рис. 1. Мінікювета для флуориметричного аналізу

Як показали наші дослідження (Табл. 1) за мініваріанту спектрофлуориметричного методу залежність відносних параметрів флуоресценції зонду 3-гідрокси-4'-диметиламінофлавоу від концентрації АТФ (в логарифмічних координатах) є лінійною про що явно свідчать високі значення розрахованих коефіцієнтів кореляції (0,99). Похибка методу при цьому не перевищує 5–10%.

Таблиця 1. Концентрації АТФ визначені спектрофлуориметричним мініметодом (n = 7)

Задана концентрація АТФ, мкмоль/л				
10	100	250	500	750
Визначена концентрація АТФ, мкмоль/л				
СФ – методом		$y = E_{260-290}$	$X = [C] \text{ мкмоль/л}$	$r = 0,99$
9,50	100,05	250,04	499,93	749,81
Фл – мініметодом		$y = I_{f,i}/I_{f,0,480}$	$X = \lg[ATP], \text{М}$	$r = 0,99$
10,72	108,46	252,57	524,32	659,77
Фл – мініметодом		$y = I_{f,480}/I_{f,410}$	$X = \lg[ATP], \text{М}$	$r = 0,99$
10,56	107,32	250,31	485,17	709,78
Фл – мініметодом		$y = I_{f,i}/I_{f,0,480}/I_{f,i}/I_{f,0,410}$	$X = \lg[ATP], \text{М}$	$r = 0,99$
9,95	100,31	250,06	494,94	749,65

Висновки. Установлено, що при застосуванні мініваріанту спектрофлуориметричного методу залежність досліджених параметрів флуоресценції зонду

3-гідрокси-4'-диметиламінофлавоу від $\lg[ATP]$ в діапазоні концентрацій 10^{-5} – $7,5 \times 10^{-4}$ М є лінійною. Похибка мініметоду – 5–10%.

1. Войццикий В.М., Бабенюк Ю.Д., Рудич В.В., Марченков Ф.С. Общие принципы организации биохимических исследований. – К., 1989. – 40 с. 2. Владимиров Ю.Д., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. – М. Наука. 1980 – 320 с. 3. 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. 4. 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., Бюл. №4. 5. 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 08.06.09

УДК 599.742

Г. Романюк, асп.

ВПЛИВ ТРОФІЧНОЇ СТРАТЕГІЇ НА СТРУКТУРУ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ У ПРЕДСТАВНИКІВ РЯДУ CARNIVORA

Проведено морфо-функціональний аналіз щелепного апарату деяких представників ряду Carnivora у зв'язку з трофічною спеціалізацією. Наше дослідження вивчає вплив механічних навантажень і трофічної поведінки на певні параметри нижньої щелепи.

Morpho-functional analysis of jaw apparatus of certain specimens of the Carnivora in view of trophic specialization are discussed. This investigation research affect of different feeding behaviours on morpho-functional features of jaw apparatus.

Вступ. Хижі представники ряду Carnivora живляться переважно хреботною здобиччю. При цьому вони стикаються з рядом проблем, пов'язаних з захватом, вбивством та подрібненням здобичі, що спричиняють навантаження на жувальний апарат хижаків. Різні трофічні стратегії впливають на черепно-лицьовий скелет ссавців і форму окремих кісток в ньому. 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 цілої систематики. В цьому і полягає актуальність даної роботи. Метою цього дослідження є встановити як механічні навантаження та трофічна стратегія впливають на певні параметри нижньої щелепи різних представників ряду Carnivora. Для цього нижня щелепа моделювалася як консольна балка, що дозволяє аналізувати зуби чи конструкцію щелепи, використовуючи стандартні технічні принципи опору балки. Згин – головне слідство навантажень на тіло нижньої щелепи під час обробки їжі. Під впливом зовнішніх навантажень змінюється структура, форма і хімічний склад кістки. Для того, щоб протистояти навантаженням (збільшити опір при згині) кількість кісткової тканини повинна збільшуватися в площині дії навантаження [1].

Об'єкти та методи дослідження. Досліджувалися нижні щелепи 24 видів ряду Carnivora: 9 видів родини Canidae, 6 видів родини Felidae, 8 видів родини Mustelidae, 1 вид родини Hyaenidae (Crocuta crocuta).

Так як опір при згині характеризується формою поперечного перетину кістки і розподілом кісткової тканини відносно нейтральної осі, були визначені моменти опору поперечного перетину (Z) для вибраних міжзубних проміжків вздовж тіла нижньої щелепи. Z_x і Z_y – моменти опору поперечного перетину відносно медіолатеральних (x) та дорзовентральних (y) осей відповідно. Різниця в Z_x і Z_y відображають різниці в прикладених згинаючих моментах сил в сагітальних та поперечних площинах відповідно. На тілі нижньої щелепи (далі

ТНЩ) були ідентифіковані такі міжзубні проміжки: між P_3 та P_4 та між P_4 та M_1 (далі PP та PM, відповідно); у собак та у куніцевих був виміряний також проміжок між M_1 та M_2 (далі MM). В кожному міжзубному проміжку були виміряні зовнішні діаметри ТНЩ. Висота ТНЩ (D_y) була взята як максимальна сагітальна відстань між вентральною та дорзальною стороною тіла; ширина тіла (D_x) – як максимальна буколінгвальна ширина тіла. Оскільки гілка нижньої щелепи та масетерна ямка у деяких родин (котячі, гієнові) знаходяться близько до M_1 , то відповідна область не розглядалася в цих родин. Довжини робочої і балансууючої сторони плеча важеля вимірювалися у родин, які пристосовані до розгризання кісток (собаки і гієнові). Довжина робочої сторони плеча важеля (РСПВ) вимірювалася як відстань від центра обертання виросткового відростка нижньої щелепи (ВВ) до міжзубного проміжку PM (у собак) або MM (у гієнових). Довжина балансууючої сторони плеча важеля (БСПВ) вимірювалася як відстань від відповідного міжзубного проміжку (PM для собак, MM для гієнових) до міжзубного проміжку між I_3 та нижнім іклом. Були виміряні також такі показники як ширина нижньої щелепи (ШНЩ) та довжина нижньої щелепи (ДНЩ). Всі виміряні параметри нижньої щелепи розглядалися по відношенню до довжини нижньої щелепи.

Результати та їх обговорення. Середні значення відношень висоти і ширини ТНЩ до довжини нижньої щелепи у різних міжзубних проміжках наведені у таблицях 1 та 2 відповідно.

Значення висоти нижньощелепного тіла відображає відносне значення навантаження в сагітальній площині, яке може бути пов'язане з тривалими навантаженнями при вбивстві здобичі або розгризанні твердої їжі. Збільшена ширина відображає поперечні навантаження, які виникають, наприклад, при утриманні здобичі, що чинить опір.

Таблиця 1. Середні значення відношень висоти тіла нижньої щелепи (D_y) до довжини нижньої щелепи (ДНЩ) в міжзубних проміжках: між P_3 і P_4 (PP), P_4 і M_1 (PM) та M_1 і M_2 (MM) в різних родин ряди Carnivora

	$D_{yPP}/ДНЩ$	$D_{yPM}/ДНЩ$	$D_{yMM}/ДНЩ$
собаки	0,141± 0,01	0,153 ± 0,01	0,162 ± 0,02
котячі	0,193± 0,01	0,196 ± 0,01	-
куніцеві	0,170± 0,02	0,162± 0,02	0,193± 0,02
гієна	0,203	0,234	-

Сагітальна деформація при згині, яка відбувається завдяки вбиваючим укусам іклами, концентрує напруження стискання в вентральній частині тіла і напруження розтягнення в дорзальній частині. Щоб ефективно протистояти цим напругам кісткова тканина повинна розташовуватися відносно цих поверхонь. Більш потужні укуси іклами – більша схильність до цього тіла [2].

Тому сагітальна підпорка тіла (тобто великий Z_x) у котятих протистоїть великим сагітальним згинаючим навантаженням, які пов'язані з потужними вбиваючими укусами іклами. Очевидно, це стосується і куницеви. З іншого боку, поперечна підпорка тіла (тобто великий Z_y) – результат протистояння поперечному згину, джерелом якого виступає здобич, що чинить опір, яку хижак тримає в щелепах. Форма поперечного перетину ТНЩ котятих, як і куницеви, (великі Z_x і Z_y) забезпечують механізм укріплення нижньощелепної кістки навколо поперекових і сагітальних площин і збільшення опору до сили укусу іклами. З іншої сторони, більш витончена будова нижньої щелепи відносно її довжини у більшості собак відображає менші згинаючі і скручуючі сили як

слідство більш слабких жувальних сил м'язів і менш вимогливих методів вбивства [1]. Щелепи гієнових комбінують особливості вбивства і характеристики жувального апарату попередніх родин. Гієни використовують техніку вбивства собак [3] і мають подібну до них довжину нижньої щелепи, в той же час властивості поперечного перетину в міжзубному проміжку РМ в порівнянні до довжини нижньої щелепи, подібні до котятих і куницеви. Тобто, є певна схожість у навантаженнях на нижньощелепне тіло, хоча й різними способами. Насправді, котяті використовують сильний, тривалий вбиваючий укус іклами, а гієнові ламають кістки своїми міцними премольярами. Сильна медіолатеральна підпорка нижньощелепного тіла також корельована з твердою їжею. Щоб компенсувати великі напруження від потужного одностороннього укусу премольярами, гієна також має медіолатеральну підпорку нижньощелепного тіла. Тому, великі моменти опору поперечного перетину у гієни, особливо навколо поперечної осі – слідство як великої довжини нижньої щелепи, так і великих сил частини щелепи, розташованої перед хижацькими зубами.

Таблиця 2. Середні значення відношень ширини тіла нижньої щелепи (D_x) до довжини нижньої щелепи (ДНЩ) в міжзубних проміжках РР, РМ та ММ в різних родинях ряду Carnivora

	D_x РР/ДНЩ	D_x РМ/ДНЩ	D_x ММ/ДНЩ
собачі	$0,065 \pm 0,007$	$0,071 \pm 0,007$	$0,070 \pm 0,008$
котяті	$0,097 \pm 0,004$	$0,104 \pm 0,003$	-
куницеві	$0,091 \pm 0,007$	$0,094 \pm 0,01$	$0,094 \pm 0,01$
гієна	0,114	0,120	-

Для всіх досліджених родин відношення $Z_x/Z_y > 1$, тобто сагітальний опір згину більший, ніж поперечний в нижньощелепних тілах цих родин. Відношення Z_x/Z_y зростає у собак в міжзубному проміжку M_1M_2 , а у гієни – P_4M_1 , що пов'язано з розгризанням твердої їжі різними групами зубів у даних родин.

Собачі – досить неспеціалізовані до поїдання твердої їжі. Вони 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 премольярами, оскільки довжина робочої сторони важеля до молярів коротша, ніж до премольярів. Однак, каудальна позиція молярів зменшує діаметр кісток, які можуть оброблятися цими зубами. Нижні щелепи гієни, з іншого боку, демонструють значну адаптацію до поїдання твердої їжі. Кількість кутніх зубів у неї зменшена. Кістки обробляються премольярами, що дає змогу розгризати кістки великого діаметру, завдяки можливості збільшити розкриття щелеп. Дійсно, досліджуючи відношення РСПВ до ДНЩ, плече важеля від нижньощелепного суглоба до премольярів у гієни більше, ніж у собак до молярів. Збільшене розкриття щелеп повинне призводити до деякої втрати сили укусу. Але премольяри гієни розташовані ближче до щелепного суглоба відносно довжини нижньої щелепи, ніж моляри собак (відношення БСПВ до ДНЩ), тому важіль, пов'язаний з балансуною стороною сил через симфіз, у гієни коротший. Коротша балансуна сторона плеча важеля повинна відповідати більшому вкладу контралатеральних сил жувального м'яза в силу укусу під час розгризання кісток премольярами на робочій стороні. Тому гієна ефективніше використовує не тільки іпсилатеральні, а і контралатеральні сили для великих оклюзійних сил в премольярах.

Висновки. 1. Висота і ширина ТНЩ залежить від впливу навантажень на кісткову тканину в сагітальній та поперечній площинах відповідно. Ці показники збільшуються в тих міжзубних проміжках, які витримують великі навантаження під час здобування та обробки здобичі.

2. Моменти опору поперечного перетину відносно медіолатеральної (Z_x) та дорзовентральної (Z_y) осей пропорційні згинаючим моментам сил, які діють на ТНЩ під впливом сагітального (обробка твердої їжі, потужні укуси при вбивстві здобичі) і поперечного навантаження (утримання здобичі, що чинить опір) відповідно. Гієна характеризується високими значеннями цих показників, котяті і куницеви близькі до них, порівняно з собаками. Послідовно великі значення Z_x відносно Z_y ($Z_x/Z_y > 1$) вказує, що сагітальна згинаюча сила, яка діє на ТНЩ, більша, ніж поперечна.

3. Завдяки обробці кісток премольярами (що дозволяє розміщувати кістки більшого діаметру) та скорочення довжини БСПВ відносно ДНЩ (що дозволяє ефективніше використовувати контралатеральні жувальні сили) гієнові демонструють більшу пристосованість до споживання твердої їжі, ніж собаки, 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 carnivorans // J. Zool. (London). – 1992a. – Vol. 228. – P. 479-507.
2. Hylander W. L. Implications of in vivo experiments for interpreting the functional significance of "robust" australopithecine jaws. – New York: Aldine de Gruyter, 1988. – 83 p.
3. Kruuk H. The Spotted Hyena. – Chicago: Univ. Chicago Press, 1972. – 39 p.

Надійшла до редколегії 02.09.09

УДК 577.3

В. Копельнюк, асп., Т. Галенова, асп., Л. Кот, канд. біол. наук,
О. Богданова, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук

РОЛЬ ІНСУЛІНУ У РЕГУЛЯЦІЇ ВУГЛЕВОДНОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІН ЗА УМОВ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

Метаболічний синдром знаходиться в центрі уваги вчених всього світу у зв'язку з високим ризиком розвитку серцево-судинних ускладнень і передчасною смертністю цієї категорії хворих. В огляді відображені питання ролі інсуліну та принципи обміну вуглеводів та ліпідів при метаболічному синдромі.

Metabolic syndrome is at the centre of attention of the whole world in connection with a high risk of developing cardiovascular complications and premature mortality of this category of patients. The review reflects questions of insulin role and the principles of carbohydrate and lipid metabolism under metabolic syndrome.

Патогенез метаболічного синдрому сьогодні є актуальною проблемою наукових досліджень в зв'язку зі значною розповсюдженістю, високим ризиком ускладнень та передчасної смерті хворих. Метаболічний синдром (МС) – це комплексне порушення вуглеводного і ліпідного обміну, пов'язане з дисфункцією серцево-судинної системи, обумовлений зниженням чутливості тканин до інсуліну (інсулінорезистентністю) [1]. МС патогенетично тісно пов'язаний з цукровим діабетом 2 типу, оскільки в їх основі лежать два взаємозв'язані механізми: порушення чутливості периферичних тканин до інсуліну (інсулінорезистентність) і дефект біосинтезу інсуліну, що розвивається з часом. У цих хворих β -клітини підшлункової залози синтезують достатню або навіть підвищену кількість інсуліну, але тканини втрачають властивість сприймати його специфічний сигнал. Якщо захворювання поєднується з ожирінням, то головною причиною інсулінорезистентності тканин є блокування дії інсуліну метаболітами жирової тканини. За таких умов відбувається виснаження β -клітин підшлункової залози та вторинний дефіцит інсуліну. Розвиток МС може призводити до тяжких ускладнень, таких як атеросклероз, тромбози, діабет, інфаркт та інсульт, які можуть мати летальні наслідки.

Метаболічний синдром характеризується цілим рядом порушень:

- зниженням чутливості інсулінозалежних тканин до дії інсуліну інсулінорезистентність периферичних тканин, а також компенсаторна гіперінсулінемія. Розвиток інсулінорезистентності призводить до зниження утилізації глюкози, підвищення її рівня в крові, порушення функцій β -клітин острівків Лангерганса підшлункової залози та розвитку гіперінсулінемії [2]. Причинами розвитку інсулінорезистентності є рецепторні дефекти (зменшення кількості рецепторів до інсуліну на поверхні клітини, зміна структури та функцій окремих субодиниць рецептора, а саме, тирозинкінази) та пострецепторні дефекти (зміна активності білків-переносників глюкози, зміна активності внутрішньоклітинної фосфодіестерази та внутрішньоклітинного цАМФ).

- стійке підвищення рівня глюкози в крові у декілька разів – гіперглікемія, норма 3,89 – 5,83 ммоль/л. Гіперглікемія розвивається в результаті зниженого надходження глюкози до клітин, порушення використання глюкози різними тканинами, підвищення утворення глюкози в печінці. При надлишковому надходженні вуглеводів у кровообіг підшлункова залоза постійно звільняє в кров велику кількість інсуліну, що призводить до зменшення кількості інсулінових рецепторів на поверхні клітин і збільшення резистентності тканин до інсуліну [3].

- підвищення в крові концентрації тригліцеридів і ліпопротеїдів низької і дуже низької щільності та жирних кислот при зниженні вмісту ліпопротеїдів високої щільності – атерогенна дисліпідемія.

- хронічний стан, що супроводжується стійким підвищенням артеріального тиску артеріальна гіпертонія.

Концентрація інсуліну пов'язана з розвитком артеріальної гіпертонії незалежно від наявності порушення глюкозотолерантності і ожиріння [4]. Артеріальна гіпертонія зумовлюється підвищенням активності симпатичної нервової системи, проліферацією гладко-м'язових стінок судин, підвищенням реабсорбції натрію і зміною транспорту катіонів.

- гіперінсулінемія є потужним ліпотропним агентом і сприяє накопиченню жирової тканини – ожиріння – переважно в ділянці верхньої половини тулуба та черевної порожнини [5]. Абдомінальне ожиріння є одним з ключових симптомів розвитку МС.

- загальні порушення системи гомеостазу спостерігаються у пацієнтів з МС. Для відповідних хворих встановлена схильність до протромботичного стану, зумовлену активацією факторів коагуляції, пригніченням фібринолітичної системи, зменшенням антипротромботичного потенціалу судинної стінки та посиленням коагулюючої активності згортаючої системи крові. Серед біохімічних змін каскаду коагуляції відмічають збільшення вмісту фібриногену; підвищення активності інгібітора активатора тканинного плазміногену; порушення синтезу тканинного активатора плазміногену; зниження фібринолітичної активності плазми крові; підвищення адгезивної та агрегаційної здатності тромбоцитів. Ще одним важливим клінічним аспектом є розвиток мікро- та макроангіопатій.

Дві (за окремими номенклатурами три) з вищевказаних ознак є достатніми для підтвердження діагнозу "метаболічний синдром".

Таким чином, однією з ключових ланок патогенезу метаболічного синдрому є порушення у системі обміну інсуліну. Інсулін – пептидний гормон, що синтезується β -клітинами панкреатичних острівців Лангерганса підшлункової залози та підтримує нормальний рівень глюкози в крові, регулює вуглеводний, ліпідний та білковий метаболізм.

Основний вплив інсуліну пов'язаний з посиленням транспорту глюкози через клітинні мембрани. Дія інсуліну розпочинається з його зв'язування зі специфічним глікопротеїновим рецептором на поверхні клітини-мішені. За відсутності інсуліну мембрана м'язових і жирових клітин практично непроникна для глюкози. Під дією інсуліну відбувається полегшений транспорт глюкози через мембрану цих клітин за допомогою спеціальних білків-переносників. Описано 5 типів переносників глюкози, однак слід звернути увагу на ГЛЮТ 4, який відповідає за інсулін-стимульоване поглинання глюкози в скелетних м'язах, м'язах серця і жировій тканині. Взаємодія інсуліну з рецептором приводить до активації фосфатидилінозитол-3-кінази та фосфорилування субстрату інсулінового рецептору 1, що уможливорює транслокацію ГЛЮТ 4 [6]. Стан інсулінорезистентності супроводжується зниженням транслокації ГЛЮТ 4.

Інсулін-залежна регуляція вуглеводного та ліпідного обміну опосередковується також іншими механізмами. Інсулін сприяє дефосфорилуванню глікогенсинтази та

збільшенню синтезу глікогену печінкою, м'язами і жировою тканиною. За рахунок дефосфорилування кінази фосфорилази інсулін пригнічує розпад глікогену в печінці, м'язах і жировій тканині. Активація рецепторів інсуліну спричиняє посилення гліколізу та зменшення глюконеогенезу у печінці, опосередковане піруваткіназою і фруктозо-2,6-біфосфаткіназою. Дія інсуліну проявляється також у збільшенні конверсії пірувату в ацетил-КоА (у жировій тканині і, можливо, в печінці), опосередковане дефосфорилуванням піруватдегідрогенази. Інсулін активує глікогенсинтазу і фосфофруктокіназу в жировій тканині і м'язах. При цьому у м'язах утворюється глікоген, а в жировій тканині – α -гліцерофосфатні жирні кислоти, необхідні для синтезу тригліцеридів. Інсулін стимулює синтез жирних кислот, що пов'язано з активацією аце-

тил-КоА-карбоксилази, підсилює генерацію НАДФН + H^+ в ГМП. Інсулін також стимулює синтез ліпідів, пригнічуючи їх утилізацію в жировій тканині. Таким чином, інсулін має анаболічну (синтез жирних кислот, утворення тригліцеридів) і антиліполітичну дію (пригнічення розпаду тригліцеридів, окислення жирних кислот).

За патогенезу МС зменшується кількість інсулінових рецепторів на поверхні клітини периферичних тканин. Компенсаторно клітини підшлункової залози починають синтезувати збільшені кількості інсуліну, який накопичується в крові. Надмірна кількість інсуліну призводить до стимуляції симпатичної ланки центральної нервової системи, та появи артеріальної гіпертонії. Відбувається синтез гормонів катехоламінів, які в надлишковій кількості викликають виснаження серцевого м'язу.

ВПЛИВ ІНСУЛІНУ



Рис.1. Вплив інсуліну на органи і тканини (пояснення в тексті)

Порушення дії інсуліну в тканинах-мішенях, зокрема в печінці, скелетних м'язах і жировій тканині, приводить до патологічних змін, які залежать від природи впливу інсуліну на конкретну тканину [7] (рис.1). В печінці інсулін стимулює утворення глікогену і одночасно гальмує синтез глюкози і глікогеноліз. За патологічних умов МС посилюється синтез глюкози в печінці, запускається глікогеноліз, а її утворення і депонування гальмуються. В скелетних м'язах інсулін опосередковує утилізацію глюкози [7], гальмує розщеплення жирів та деградацію білків у м'язах. В жировій тканині дія інсуліну, крім стимуляції утилізації глюкози, проявляється інгібуванням ліполізу в адипоцитах, тому інсулінорезистентність жирової тканини характеризується надмірним ліполізом, що приводить до значного викиду вільних жирних кислот у кровообіг. За подібних умов спростерігається збільшення об'єму та кількості жирових клітин, що супроводжується зменшенням на їх поверхні щільності інсулінових рецепторів та посиленням інсулінорезистентності.

За умов МС порушення вуглеводного, жирового та білкового обміну призводить до зниження здатності організму протистояти багатьом, у тому числі й інфекційним захворюванням, що призводить до їх хронізації та розвитку ускладнень. Тяжкі форми метаболічного синдрому пов'язані з ранньою інвалідизацією та летальністю, зумовленими наявністю серцево-судинних захворювань та інших ускладнень: мікроангіопатій (діабетична ретинопатія, нефропатія), макроангіопатій (інфаркт міокарда, інсульт, гангрена нижніх кінцівок), нефропатій [8].

У медичній практиці лікування метаболічного синдрому передусім спрямоване на зниження маси тіла, яке досягається не медикаментозними методами: дотриманням низькокалорійної дієти та підвищенням фізичної активності, при необхідності застосуванням спеціальних лікувальних препаратів, і в крайніх випадках – з допомогою хірургічного втручання [9]. В терапії метаболічного синдрому застосовують пероральні цукрозни-

жуючі препарати, наприклад, препарати сульфанілмочевини, похідні тiazolidиндіона і бігуаніди, найбільш поширеним серед яких є метформін та ряд інших; гіполіпідемічні препарати – статини [10].

З огляду на вищенаведене, інсулінорезистентність та спричинені нею зміни вуглеводного та ліпідного обмінів є основною причиною розвитку МС та його ускладнень. Дослідження порушень обміну ліпідів та вуглеводів у різних тканинах за умов розвитку інсулінорезистентності відкриває широкі можливості для їх ранньої діагностики і корегування та є пріоритетним завданням сучасних наукових досліджень.

1. Resnick H.E., Jones K., Ruotolo G., Jain A.K., Henderson J., Lu W., Howard B.V. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular disease in nondiabetic American Indians: the Strong Heart Study // *Diabetes Care*. – 2003. – Vol. – 26. – P.861–867.
2. Hanley A.J., Karter A.J., Festa A., D'Agostino Jr.R., Wagenknecht L.E., Savage P., Tracy R.P., Saad M.F., Haffner S. Factor analysis of metabolic syndrome using directly measured insulin sensitivity: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51. – P.2642–2647.
3. Hed R. Clinical studies in chronic alcoholism. II. Carbohydrate metabolism in chronic alcoholism with particular reference to glucose and insulin tolerances // *Acta Med Scand*. – 1958. – Vol. – 162. – P.195–202.
4. Mulè G., Nardi E., Cottone S., Cusimano P., Incalcaterra F., Palermo A., Giandalia M.E., Mezzatesta G., Andronico G., Cerasola G. Relationship of metabolic syndrome with pulse pressure in patients with essential hypertension // *Am J Hypertens*. – 2007. – Vol. 20. – P.197–203.
5. Larsson B., Svardsudd K., Welin L., Wilhelmsen L., Bjorntorp P., Tibblin G. Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913 // *Br Med J*. – 1984. – Vol. – 288. – P.1401–1404.
6. Clark A., Jones L.C., Koning E. et al. Decreased Insulin Secretion in Type 2 Diabetes: A Problem of Cellular Mass or Function? // *Diabetes*. – 2000. – Vol. – 50. – №1. – P.169–171.
7. Clauser E., Leconte I., Auzan C. Molecular Basis of Insulin Resistance // *Hormone Res*. – 1992. – Vol. 38. – P.5–12.
8. Pavelić J., Matijević T., Knezević J. Biological & physiological aspects of action of insulin-like growth factor peptide family // *J. Med. Res*. – 2007. – Vol. 125. – №4. – P.511–522.
9. Vitale C., Marazzi G., Volterrani M. et al. Metabolic syndrome // *Minerva Med*. – 2006. – Vol. 97. – №3. – P.219–229.
10. Foster G.D., Wyatt H.R., Hill J.O., McGuckin B.G., Brill C., Mohammed B.S., Szapary P.O., Rader D.J., Edman J.S., et al. A randomized trial of a low-carbohydrate diet for obesity // *N Engl J Med*. – 2003. – Vol. 348. – P.2082–2090.

Надійшла до редколегії 02.06.09

УДК 598.261.7.591.574.2

В. Яненко, асп., В. Серебряков, д-р біол. наук,
С. Лопарев, канд. біол. наук

СУЧАСНИЙ СТАН ПОПУЛЯЦІЇ ПЕРЕПЕЛА (*COTURNIX COTURNIX L.*) НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

За останні 50 років гніздова біологія перепела в Україні майже не досліджувалася, про що свідчать деякі загальні згадки в літературі. Нами були проведені дослідження по всій території України в 2007-2008 роках. Як бачимо, сучасний стан популяції різко скорочується і про міри безпеки потрібно говорити вже тепер.

Over last 50 years quail's nest biology haven't been discovered, we can see it from some rare allusions in literature. We have made research in 2007-2008 that included the whole territory on Ukraine. As we can see, quail's population is shortening and we should pay attention to their saving now.

Вступ. Перепел *Coturnix coturnix L.* – птах родини Фазанові, ряду Куроподібні. Є широко розповсюдженим і найменшим представником ряду Куроподібні в Україні.

Гніздиться він всюди, окрім гірських районів Карпат і лісових масивів Полісся [3]. На заході України виявлений на гніздуванні у всіх обстежених рівнинних районах. У гори проникає річковими долинами до 700-800 м над рівнем моря [4]. Останніми роками почути голос перепела в деяких областях стало рідкістю. На чисельність, очевидно, основний вплив робить не сама втрата гніздового біотопу, а непомірне полювання, на місцях прольоту і зимівлі, головним чином за межами України [3]. Про скорочення чисельності свідчать і спостереження мисливців. Якщо в 1876 р. три мисливці за день здобували до 720 перепелів [1], на сьогодні ці цифри здаються фантастичними, проте в деяких областях мисливці ще можуть за день добути 20-30 перепелів.

За останні 50 років гніздова біологія перепела в Україні майже не досліджувалася, про що свідчать деякі загальні згадки в літературі. Це стосується відомостей про їх чисельність і щільність в окремих областях [2], при цьому цілісної картини по всій Україні на даний момент немає.

Об'єкт та методи досліджень. Для виявлення чисельності та щільності перепела на певних територіях в певний час проводять обліки. Найбільш ефективним методом обліків є облік з лягавими собаками і спанієлями [5]. Він дає в межах смуги пошуку собаки практично стовідсоткове виявлення всіх наявних птахів. Виникає складність юридичного характеру (знаходження з мисливським собакою в мисливських угіддях) при застосуванні цього методу навесні, коли можна підрахувати дорослих птахів гніздової популяції. Якщо застосовувати цей метод наприкінці квітня, є можливість помили обліку за рахунок мігрантів північних популяцій, що зупиняються на даній території і гніздуються не будуть. З середини травня є велика небезпека злякування самок, що вже загніздилися. Тому метод для вивчення щільності і розподілу на угіддях може застосовуватись дуже обмежено, хоча він дає найточніші цифри. При застосуванні лягавих ширина смуги від 60 до 120 м залежно від широти пошуку собаки. Також для таких обліків можна застосовувати інших собак окрім лягавих, наприклад спанієлів. Напевне облік з собакою є найбільш ефективним і вдалим для виявлення чисельності та щільності. Спроби деяких вчених використовувати замість відповідних собак добровільних помічників або собак невідповідних порід, чи собак, що не мають правильного пошуку дають негативні результати. Імітацію таких обліків є відносно простий метод злякування перепела натягнутою між обліковцями мотузкою завдовжки 20-30 м, що тягнуть по траві. Це дає непогані результати, але не завжди його можна використати через рельєф і предмети, котрі зустрічаються на маршруті. Майже всі вади обліку з лягавими (недо- і переоблік, злякування з гнізд тощо) поширюються і на цей спосіб обліку.

Найпоширенішим і зручним на цей час залишається облік за голосами токуючих самців. Метод звичайно не позбавлений недоліків, проте можливий до застосування майже у всіх типах угідь, але результативність залежить від термінів і вибору погодних умов. Облік має проводитись в ясну погоду без дощу і надто сильного вітру в період від початку травня до останньої декади червня. В цей період будуть враховуватись лише птахи, осілі на даній території і ті, що розмножуються. Оскільки до середини травня головний вал прольоту перепела проходить через всю Україну, то пролітні птахи враховуватись не будуть, а оскільки частка негніздуючих дорослих птахів у перепела вкрай невелика (не більше декількох відсотків), нею можна знехтувати. У розпал токування (травень – початок червня) облік можна проводити практично цілодобово, хоча найкраще з 3 до 10 ранку і з 20 вечора до півночі. В інші години доби токують не всі, або далеко не всі самці, також знижує активність токування погіршення погодних умов, хоча невеликий теплий дощик токову активність може й не знижувати і навіть навпаки, підвищувати її в середині дня. На жаль, коефіцієнтів, які б враховували вплив всіх цих факторів на активність досі не розраховано. Вважають, що при маршрутному обліку (і на трансекті) швидкість руху обліковця може бути 2 – 3 км/год. При цій швидкості птахи в зоні чутності співу встигають подати голос, доки обліковець проходить повз них. При таких обліках бажано відмічати інші голосові реакції перепела, які чути на значно меншій віддалі, ніж пісня. Це контактні сигнали "кьюррр... або ке(р)к...", сигнал самця на самку "ва-ва", а також сигнали самок. Слід лише пам'ятати, що співвідношення статей такі обліки за голосом не дають.

Модифікацією маршрутного обліку можна вважати точковий метод, запропонований Жежеріним [6], коли підрахунки птахів проводяться тільки на точках, між якими спостерігач переміщується без обліку. Час знаходження на точці при обліку лісових горобиних вважається оптимальним 20 хвилин. При обліку одного виду – перепела – можливе деяке скорочення цього часу, але не менше 15 хв. Площа обліку в такому разі підраховується як коло з радіусом чутності токового співу самця. Відстань між точками обліку повинна бути не менш ніж відстань чутності пісні, а краще – подвійною, що унеможливіє підрахунок двічі одних і тих же токуючих самців.

Метод підрахунку з використанням карти або плану угідь є методом точкового нанесення всіх виявлених птахів на цій території під час проходження цієї території або виявлення активних самців з точок на межах територій.

Результати та їх обговорення. Протягом 2007-2009 року нами проводилися дослідження чисельності та щільності перепела на території України. З усієї території України було обрано 43 райони із 20 областей з біотопами що максимально підходять для гніздування даного виду. Дослідження проводилися класичними методами: точковим та маршрутним за голосами току-

ючи самців. Для зручності оцінки всю територію наших досліджень ми розглядали по 5 зонах: зона лісів, лісостепова зона, Українські Карпати, степова зона та Кримські гори (див. рис.1). Із даних п'яти зон найопти-

мальнішими для перепела виявилися лише три: зона лісів або Полісся, зона лісостепу та зона степу. В цих трьох зонах і проводилися основні дослідження.



Рис.1. Зональний розподіл території України

Матеріалом для даної роботи слугували власні спостереження котрі збиралися в період розпалу токування, травень – червень. В цей період облік проводився майже цілодобово, проте були вибрані найоптимальніші відрізки часу, коли самці найкраще токували, на ці періоди припадали ранішні години (з 6:00 до 9:00) вечірні та нічні (з 20:00 до 1:00). Після статистичної обробки масиву даних нами були визначені щільності перепела

для кожної з географічних зон України і для різних біотопів. Серед біотопів бралися до уваги сільськогосподарські угіддя з різними посівами культурних рослин (в основному злакові), поля котрі рік і більше не оброблялися. Іншим типом біотопу ми обрали луки, заплави, пасовища та лісові галявини з невисокою рослинністю де вплив людини є мінімальним. Отримані нами дані були проаналізовані та занесені до таблиці (див. табл. 1).

Таблиця 1. Щільність перепела в різних зонах України (ос/га)

Біотоп \ Зона	Зона лісів (Полісся)	Лісостепова зона	Степова зона
С/г угіддя; орні землі; пар; перелоги	0,6	0,8	0,7
Луки; заплавні луки; пасовища	0,2	0,5	0,4

Висновки. Як бачимо з таблиці 1 найнижча щільність перепела з усіх біотопів де проводилися дослідження спостерігається на Поліссі. Причиною цьому може бути велика площа затоплюваних луків, площа яких кожного року змінюється в залежності від кількості опадів, це характерно для заходу Полісся. В центральній частині цієї зони великий відсоток полів котрі багато років не засівалися сільськогосподарськими культурами. Як результат вся ця територія набула несприятливих біотопічних умов за рахунок високої та густої рослинності котра не придатна як біотоп для перепела. Дещо більша щільність спостерігається в степовій зоні. Це пояснюється великою площею луків та пасовищ з невисокою, та дещо розрідженою рослинністю котра є оптимальною для даного виду. Проте в цій зоні перепел теж досить істотно прив'язаний до погодних умов. При малій кількості опадів він змушений мігрувати на північ в лісостепову та лісову зони, тому що рослинність починає вигорати і в результаті кормова база різко скорочується, а місця водопою зникають. Крім того на півдні

у перепела більше природних ворогів і полювання на нього в даній зоні більш "популярне" ніж наприклад в лісостеповій і особливо в лісовій зоні. Найбільша щільність перепела спостерігається в лісостеповій зоні. Це пояснюється найбільш "приспособленими" біотопами для даного виду. На протязі всього гніздового періоду перепел має стабільну кормову базу і не так помітно прив'язаний до погодних умов як в степовій зоні або на Поліссі.

1. Бакановский Ф. Перелет дичи в Крыму // Природа и охота. – 1890. – № 10. – С.121-122. 2. Горбань І., Бокотей А., Пограничний В., Башта Т., Когут І., Соколов Р., Бучко В., Дзюбенко Р., Шидловський І., Лисачук Т., Козловський Р. Гніздова орнітофауна Верхньодністровської низовини та її зміни в другій половині XX століття // Наукові записки державного природознавчого музею. – Львів, 1998. – Т. 14. – С.83-89. 3. Кістяківський О.Б. Фауна України. Птахи. – К.: Вид-во АН УРСР. 1957. – Т.4. – 432 с. 4. Страутман Ф.І. Птицы западных областей УССР. [Т. 2]. – Львов: Изд-во Львов. ун-та, 1963. – 182 с. 5. Друдзинський В. К. Пернатая дичь – М.: Лесная дичь, 1979. – 326 с. 6. Жежерин В.П. Орнітофауна Украинского Полесья и её зависимость от ландшафтных условий и антропогенных факторов. Автореф. дис. канд. биол. наук. – Киев, 1969. – 578 с.

УДК 616-097-0.85

М. Держинський, д-р біол. наук, Л. Пазюк, канд. біол. наук,
Н. Бузинська, канд. біол. наук, Н. Олексієнко, канд. біол. наук,
Н. Рослова, інж.

АДАПТАЦІЙНИЙ ВПЛИВ ОКСИТОЦИНУ ТА МЕЛАТОНІНУ НА РЕАКЦІЮ БУРСИ ФАБРИЦІУСА ПТАХІВ НА ТЛІ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ І ТЕМРЯВИ

Вивчено вплив гормонів окситоцину та мелатоніну на розвиток адаптаційної реакції бурси Фабріціуса птахів під час охолодження та при утриманні тварин у темряві. За умов дії гострого охолодження до -18°C та дії темряви у бурсі Фабріціуса птахів розвиваються морфологічні ознаки інволюції, що проявляються у зменшенні площі перерізу кіркової та мозкової речовини фолікулів. При охолодженні тварин протягом 3-х днів реакція бурси Фабріціуса не змінюється порівняно з 1-м днем охолодження, тоді як на 7-й день відбувається відновлення структури фолікулів бурси. Це можна пояснити посиленням процесів проліферації В-лімфоцитів у більш віддалені терміни охолодження, що є результатом активації компенсаторно-приспосувальних можливостей організму. При вивченні процесів реадaptaції птахів після дії темряви до нормального світлового режиму (14 год світло і 10 год темрява) встановлено, що на 3-й день реадaptaції поглиблюються ознаки інволюції бурси. Далі на 7-й день реадaptaції відбувається відновлення процесів розмноження та диференціації бурсозалежних лімфоцитів. Гормони окситоцин і мелатонін на тлі стресу (охолодження або темрява) пригнічують прояви інволюції бурси Фабріціуса у птахів, тобто мають виражений адаптаційний вплив на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції на стрес.

It was researched influence of melatonin and oxitocine under development of bursa Fabricii adaptation reaction during cool stress and darkness condition. During acute cooling (-18°C) and darkness condition morphological features of bursa Fabricii involution are observed. Morphological changes in bursa of Fabricius were similar both under 3-day cooling and darkness and 1-day cooling. On the contrary after 7-day cooling we observed restoration of bursa folliculi. It was shown that bursa of Fabricius involution features increased after 3-day readaptation period, On the contrary after 7-day readaptation it was observed restoration of B-cell reproduction and differentiation. Oxitocyn and melatonin during stress (cooling or darkness) decreased bursa Fabricii involution features.

Вступ. При дії на організм надзвичайних подразників відбувається формування аферентних сигналів, що активують гіпоталамо-гіпофізарно-нейросекреторну систему і відповідні ендокринні залози, але при цьому стрес має виражений пошкоджуючий вплив на лімфопоетичні органи (тимус, бурса Фабріціуса, селезінка, лімфатичні вузли) та процеси імуногенезу [1-4]. За даними літератури у сумці Фабріціуса птахів на тлі стресу спостерігають втрату як незрілих, так і зрілих В-лімфоцитів, а також збільшення кількості макрофагів, надходження CD4^{+} і CD8^{+} Т-лімфоцитів до бурси, що вказує на їх посередництво у гуморальному імунитеті. Як наслідок різко знижується процес імуногенезу та відповідь організму на різні стресогенні фактори [5].

На сьогодні актуальним є пошук різних біологічно активних речовин, що можуть мати імуностимулюючу або імунопротекторну дію під час дії стресу. Одним з претендентів на цю роль є гормон епіфізу мелатонін, що має онко-, геропротекторний та імуностимулюючий вплив, а також – гіпоталамічний гормон окситоцин, який володіє широким спектром дії на різні органи-мішені [6-8].

Серед різних видів стресу, на нашу думку, найбільш цікавою для вивчення на птахів є модель холодового стресу та темряви, тому що це відображає пристосування і виживаність організмів в процесі еволюції.

Ось тому метою даної роботи є вивчення впливу окситоцину та мелатоніну на реакцію бурси Фабріціуса птахів під час холодового стресу та на тлі утримання тварин у темряві.

Об'єкт та методи досліджень. Досліди проводили на самцях курей (*Gallus domesticus*) кросу HyLine (Голландія) одномісячного віку. В якості стресора використовували охолодження і темряву.

Для моделювання холодового стресу тварин щодово – на 2 год. розміщували в індивідуальних контейнерах у морозильній шафі при температурі -18°C протягом 1, 3, 7 днів, а для впливу темряви тварин утримували у темній кімнаті 1 добу, де вікна були закриті чорними шторами.

Піддослідні птахи на тлі охолодження або темряви (1 доба) отримували препарати окситоцину та мелатоніну.

Окситоцин – це нонапептидний гормон гіпоталамуса, який синтезується у крупноклітинних ядрах СОЯ та ПВЯ. Окрім добре відомого впливу окситоцину на непо-

смуговану мускулатуру та водно-сольовий обмін, існують дані про його дію на імунну систему [6]. Окситоцин вводили внутрішньом'язово в дозі 0,05 МО (міжнародних одиниць) на 100 г маси тіла піддослідної тварини.

Мелатонін – гормон, що продукується пінеалоцитами епіфіза. Він є похідним амінокислоти триптофану. Синтез мелатоніну відбувається вночі, тоді як серотоніну вдень. Мелатонін має стимулюючий вплив на функцію імунної системи через свої рецептори на імунокомпетентних клітинах тимуса і селезінки та периферичних імунокомпетентних клітинах (лімфоцити, нейтрофіли). Впливаючи одночасно на нейроендокринну та імунну системи мелатонін здійснює захист від стресу [7, 8]. Мелатонін вводили перорально в дозі 50 мкг на 100 г маси тіла піддослідної тварини. Оскільки досліджувані гормони вводили піддослідним птахам у вигляді ін'єкцій та перорально, що є додатковим стресорним фактором, то контролем слугували птахи, які отримували ін'єкції фізіологічного розчину без/з охолодженням або темряви для коректного порівняння результатів дослідів.

Під час проведення експерименту всіх птахів утримували в умовах одного віварію на стандартному харчовому раціоні. Птахів кожної серії досліді утримували в окремій клітці. Піддослідних птахів (за винятком серій з темрявою) утримували при єдиному світловому режимі, який складався з 14 год світлового періоду і 10 год – темного. Температура у віварії становила $22 - 24^{\circ}\text{C}$.

Наприкінці дослідів птахів усіх груп декапітували. Для морфологічних досліджень бурсу Фабріціуса фіксували у 10 % розчині формаліну. Далі обробляли традиційними гістологічними методиками і виготовляли гістологічні препарати. Зрізи бурси Фабріціуса завтовшки 5-6 мкм забарвлювали гематоксиліном Бюмера та еозином.

Про структурно-функціональні зміни у бурсі Фабріціуса свідчили вимірювання площі перерізу кіркової та мозкової речовини фолікулів у мкм^2 .

Одержані гістологічні препарати всіх серій досліді аналізували на світловому мікроскопі. Мікрофотографії робили за допомогою установки System Microscope з відеокамерою Olympus BX 41 hystem, обладнаного цифровою фотокамерою Camedia C-5050 zoom і програмним забезпеченням Olympus DP 80 FT 3.2 на базі комп'ютера Pentium 4 з операційною системою Windows XP. Обробку мікрофотографій гістологічних препаратів

отриманих на цифровому аналізаторі проводили за допомогою програми Medical Image Analyser (Version 1.0 (c) 2000 Powered by Ander).

Вірогідність різниці між морфометричними показниками контрольних та піддослідних груп птахів оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента. Статистичну обробку здійснювали за допомогою програмного забезпечення STATISTICA for Windows 5.0.

Результати та їх обговорення. Відомо, що бурса Фабріціуса (фабріцієва сумка, Bursa of Fabricius) і тимус – це лімфоепітеліальні органи птахів. Фабріцієва сумка є у всіх представників класу птахів. Вона розташована біля клоаки. Паренхіма бурси містить фолікули, що нагадують будову часточок тимуса. У складі фолікулів розрізняють кору і мозкову речовину. Кора часточки бурси Фабріціуса представлена в основному щільним скупченням малих лімфоцитів. Ця часточка кори більш темна. Вона утворена В-лімфоцитами. Світліша за забарвленням мозкова речовина включає великі лімфоцити, плазматичні клітини, макрофаги, гранулоцити, ретикулярні клітини, дендритні клітини. Як і тимус бурса Фабріціуса піддається віковій інволюції [9, 10].

Аналіз гістологічних препаратів бурси Фабріціуса одномісячних курей виявив, що за даними морфометричних досліджень площі перерізу кіркової речовини фолікулів, але не мозкової речовини, на 1-й та 3-й дні охолодження вірогідно зменшуються порівняно з інтактним контролем (табл.). Одержані дані можуть свідчать про спустошення кори, що пояснюється виселенням В-клітин до мозкового шару і відповідно зменшення її розмірів. Оскільки площі перерізу мозкової речовини фолікулів бурси не змінювались, можна вважати це продовженням міграції В-лімфоцитів із бурси.

Отже, можна зробити висновок про пошкоджуючий вплив охолодження на гістоструктуру бурси і розвиток морфологічних ознак її інволюції.

Загалом виявлені нами зміни у бурсі при дії низьких температур співпадають з опублікованими даними інших авторів, де відмічали виселення В-клітин з бурси, зменшення її ваги та зниження загального імунітету [5].

Напроти, на 7-й день охолодження тварин вірогідно зростали площі перерізу кіркової зони фолікулів бурси Фабріціуса до $52,71 \pm 0,99$ мкм² порівняно з інтактним контролем $43,15 \pm 0,77$ мкм². При цьому площі перерізу мозкового шару фолікулів не змінюється, а отже свідчить про міграцію із бурси.

Таким чином, нами зроблено висновок про посилення процесів проліферації В-лімфоцитів у більш віддалені терміни охолодження. Одержані результати можна пояснити адаптацією птахів до охолодження на 7-й

день досліду, що є результатом активації компенсаторно-приспосувальних можливостей організму.

Якщо в якості стресора використовували утримання тварин 1 добу у темряві, характер реакції бурси Фабріціуса птахів не змінювався порівняно з охолодженням, що узгоджується з положенням про стрес як неспецифічної реакції організму на дію надзвичайно сильних подразників. При цьому нами встановлено виражене зменшення площі перерізу кіркової зони фолікулів і подальше виселення В-лімфоцитів з бурси, оскільки у мозковій речовині фолікулів не відбувається їхнього депонування (табл.).

При вивченні процесів реадaptaції птахів до нормального світлового режиму, який складався з 14 год світлового періоду і 10 год – темного нами одержано дані, згідно яких на 3-й день реадaptaції відбувається поглиблення морфологічних змін інволюції у бурсі. Площа перерізу кіркової зони фолікулів достовірно зменшувалась до $26,02 \pm 0,85$ мкм² порівняно з контрольними показниками $43,15 \pm 0,77$ мкм², але площа перерізу мозкової зони фолікулів навпаки зростала $189,74 \pm 9,54$ мкм² проти $150,52 \pm 3,45$ мкм² у контролі. Отримані дані можуть вказувати на гальмування розмноження В-лімфоцитів у корі фолікулів та їхню міграцію і депонування у мозковому шарі.

У подальшому на 7-й день реадaptaції птахів до нормального освітлення можна констатувати повну компенсацію морфології фолікулів бурси Фабріціуса птахів. Всі досліджувані показники фолікулів досягають значень контрольної серії досліду (табл.), а значить можна значити відновлення процесів розмноження та диференціації бурсозалежних лімфоцитів та загалом імунітету.

У наступних серіях досліду згідно мети даної роботи вивчали вплив гормонів на характер реакції бурси Фабріціуса птахів під час охолодження та впливу темряви.

Зокрема встановлено, що при одноразовому введенні одномісячним півням окситоцину або в іншій серії – мелатоніну на тлі охолодження вірогідно збільшуються площі перерізу кіркової речовини фолікулів бурси Фабріціуса (табл.). Якщо при охолодження ці показники дорівнюють вимірам: $39,13 \pm 0,62$ мкм², тоді при введенні як окситоцину, так і мелатоніну ми констатуємо посилення процесів проліферації В-лімфоцитів і як результат збільшення площі перерізу кіркової речовини фолікулів відповідно до $49,89 \pm 0,77$ мкм² і $46,44 \pm 0,94$ мкм². Разом з тим площа мозкової речовини фолікулів бурси при введенні окситоцину не змінюється, що можна пояснити лише міграцією В-лімфоцитів із бурси. Але при введенні мелатоніну площа перерізу мозкової зони фолікулів також вірогідно зростає, що вказує на депонування лімфоцитів у бурсі.

Таблиця 1. Морфологічні показники бурси Фабріціуса птахів у різних серіях досліду при стресі

Серії досліду	Площа перерізу фолікулів бурси (мкм ²)	
	Кіркова речовина	Мозкова речовина
Інтактний контроль + фізрозчин	$43,15 \pm 0,77$	$150,52 \pm 3,45$
Охолодження 1 день + фізрозчин	$39,13 \pm 0,62^*$	$159,54 \pm 3,83$
Охолодження 1 день + окситоцин	$49,89 \pm 0,77^*$	$147,78 \pm 3,21$
Охолодження 1 день + мелатонін	$46,44 \pm 0,94^*$	$161,33 \pm 3,28^*$
Охолодження 3 дні + фізрозчин	$38,79 \pm 0,78$	$158,66 \pm 4,04$
Охолодження 7 днів + фізрозчин	$52,71 \pm 0,99$	$157,64 \pm 3,48$
Темрява 1 день + фізрозчин	$36,49 \pm 0,62$	$142,44 \pm 3,55$
Темрява 1 день + мелатонін	$47,89 \pm 0,69^{**}$	$146,93 \pm 2,97$
Темрява 1 день + окситоцин	$47,62 \pm 0,65^{**}$	$160,47 \pm 3,96$
3 дні реадaptaції після темряви	$26,02 \pm 0,85$	$189,74 \pm 9,54$
7 днів реадaptaції після темряви	$41,22 \pm 0,99$	$144,66 \pm 4,56$

Примітка: * – різниця між інтактним контролем і серіями досліду вірогідна при $p \leq 0,05$;

* – різниця між охолодження 1 день + фізрозчин і серіями досліду вірогідна при $p \leq 0,05$;

** – різниця між темрява 1 день + фізрозчин і серіями досліду вірогідна при $p \leq 0,05$

Аналіз отриманих даних дозволяє констатувати, що на тлі охолодження одноразове введення окситоцину і мелатоніну сприяє пригніченню проявів інволюції бурси Фабріціуса у птахів порівняно з птахами, що піддавались охолодженню. Це проявляється розмноженням бурсозалежних лімфоцитів і збільшенням площі фолікулів бурси, тоді як холодний стрес викликає спустошення паренхіми фолікулів бурси і відповідно зменшення їхніх розмірів.

Коли птахам на тлі утримання у повній темряві вводили окситоцин або мелатонін, спостерігали аналогічний ефект як у попередніх серіях досліду на тлі охолодження, тобто нами також зроблено висновки про пригнічення морфологічних ознак інволюції у бурсі Фабріціуса під впливом окситоцину та мелатоніну за умов дії темряви.

Наведені вище дані узгоджуються з даними інших авторів про стимулюючий вплив мелатоніну на лімфоїдні органи [7, 8] та регулюючий вплив нонапептидів гіпоталамуса на функції імунної системи [6].

Таким чином, у підсумку можна зазначити, що окситоцин і мелатонін здійснювали адаптаційний ефект на прояви інволюції бурси Фабріціуса птахів при охолодженні та темряві.

Висновки. Досліджені види стресу (охолодження та темряви) мають пошкоджуючий вплив на бурсу Фабріціуса у птахів. Про це свідчить розвиток морфологічних ознак інволюції (зменшення площі перерізу кіркової та мозкової речовини фолікулів бурси). При охолодженні тварин протягом 3-х днів морфологічні показники інволюції бурси Фабріціуса не змінюються порівняно з 1-м днем охолодження, тоді як на 7-й день відбувається відновлення структури фолікулів бурси. Це можна пояснити посиленням процесів проліферації В-лімфоцитів у більш віддалені терміни охолодження, що є результатом активації компенсаторно-приспосувальних можливостей організму. При вивченні процесів реадaptaції

птахів після дії темряви до нормального світлового режиму (14 год світло і 10 год темряви) встановлено, що на 3-й день реадaptaції відбувається поглиблення інволюції у бурсі. Далі на 7-й день реадaptaції відбувається відновлення процесів розмноження та диференціації бурсозалежних лімфоцитів. Гормони окситоцин і мелатонін на тлі стресу (охолодження або темряви) пригнічують прояви інволюції бурси Фабріціуса, тобто мають виражений адаптаційний вплив на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції птахів на стрес.

1. Акмаев И.Г., Гриневич В.В. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии // Бюллетень экспериментальной биологии. – 2001. – Т. 131. – № 1. – С. 22 – 31.
2. Футорный С.М., Позур В.К. Состояние иммунной системы под влиянием стресса // Иммунология та алергология. – 2005. – № 1. – С. 48 – 52.
3. Elizabeth A. Koutsos, Kirk C. Klasing Factors modulating the avian immune system // Avian Immunology, Edited by: Fred Davison, Bernd Kaspers and Karel A. Schat. – Elsevier Ltd., 2008. – P. 323-338.
4. Sushil K. Mahata, Monisha De, Dhananjay Pal Asok Ghosh Effect of stress on the catecholamine content of the adrenal gland of intact and bursectomized chicks // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. – 2007. – Vol. 17, N 11. – P. 805 – 808.
5. Williams A.E., Davison T.F. Enhanced immunopathology induced by very virulent infectious bursal disease virus // Avian Pathol. – 2005. – Vol. 34, N 1. P. 4 – 14.
6. Кузник Б.И., Патеюк А.В., Джулай М.А., Данилишин Б.Ю., Чипизубова Н.С. Влияние цитомединов из передней и задней долей гипофиза на иммунитет и гемостаз у гипопизэктомизированных цыплят // Иммунология. – 2005. – Т. 26. – С. 287 – 292.
7. Moore C. B., Siopes T. D., Steele C. T., Underwood H. Pineal melatonin secretion, but not ocular melatonin secretion, is sufficient to maintain normal immune responses in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) // General and Comparative Endocrinology. – 2002. – Vol. 126, N 3. – P. 352 – 358.
8. Siopes T.D., Underwood H.A. Diurnal variation in the cellular and humoral immune responses of Japanese quail: Role of melatonin // General and Comparative Endocrinology. – 2008. – Vol. 158, N 15. – P. 245 – 249.
9. Nurmaya Gülmez, Sahin Aslan. Histological and histometrical investigations on bursa of Fabricius and thymus of native geese // Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. – 1999. – Vol. 23. – P. 163 – 171.
10. Nagy N., Magyar A., Toth M., Olah I. Quail as the chimeric counterpart of the chicken: morphology and ontogeny of the bursa of Fabricius // J Morphol. – 2004. – Vol. 259, N 3. – P. 328 – 339.

Надійшла до редколегії 15.10.09

УДК 577.32(34)

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

ВПЛИВ ІОНІВ КАДМІЮ НА СУПЕРПРЕЦИПІТАЦІЮ АКТОМІОЗИНУ СЕРЦЕВОГО ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ

У представленій роботі досліджено вплив іонів кадмію на реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого м'яза бика та скелетних м'язів кроля. Результати проведених досліджень свідчать, що іони кадмію за своєю дією виявляють інгібуючий вплив на реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого та скелетних м'язів.

In the represented work the influence of cadmium ions on the reaction of superprecipitation of the both bull cardiac and rabbit skeletal muscles actomyosin has been investigated. The results of the conducted investigations testify that cadmium ions on their action on the cardiac and skeletal muscles actomyosin are inhibiting of the reaction of superprecipitation.

Вступ. В останні десятиліття спостерігається зростання техногенного навантаження на довкілля, у результаті якого в ньому збільшується кількість різних токсичних речовин, їхніх метаболітів, у тому числі і важких металів. Призводячи до різних патологій, ці фактори значною мірою впливають на життєдіяльність людини. Особлива роль належить важким металам, зокрема і іонам кадмію [1, 6, 9]. Кадмій є одним з продуктів радіоактивного розпаду, що накопичується в організмі людини та тварин, це токсичний елемент та антиметаболіт деяких есенціальних елементів. Основні шляхи надходження кадмію в організм – це шлунково-кишковий тракт та органи дихання. Обмін кадмію характеризується такими основними особливостями: 1) відсутністю ефективного механізму гомеостатичного контролю; 2) тривалим утриманням зі значним періодом напіввиведення, що становить для людини в середньому до 25 років; 3) інтенсивною взаємодією з іншими двовалентними металами як у процесі всмоктування, так і на тканинному рівні, тобто кадмій спричиняє виражену дію на обмін в

організмі деяких мікроелементів (цинк, кальцій, мідь, залізо, селен) та ін. [1]. Хронічна кадмієва інтоксикація, відома під назвою "ітай-ітай", вперше була виявлена в Японії. На сьогодні відомі та описані кадміози у людини (гостре і хронічне отруєння цим мікроелементом): 1) кадмієвий риніт; 2) кадмієва нефропатія з типовою протеїнурією; 3) кадмієва остеомаляція; 4) нейротоксичний синдром [1, 6]. Кадмієва кардіоміопатія, гіпертонія, емфізема легенів та ураження печінки ще потребують додаткових експериментальних досліджень.

За останні роки вивчався вплив кадмію на організм у широкому аспекті: від його розподілу в тканинах до впливу на окремі структури (мембрани, білки, мітохондрії). Встановлено, що кадмій здатний до значного рівня кумуляції в організмі, є дослідження щодо впливу кадмію на різні процеси: він ініціює вільнорадикальне окислення ліпідів, є причиною пошкодження мембранних ліпопротеїнів, інактивації ферментів, пригнічення поділу клітин та ін. [5-8, 10]. Деякі сполуки кадмію відносять до шкідливих хімічних речовин, що мають прямий

© Богуцька К., Мінченко П., 2010

органо-тканинний тропізм до серцево-судинної системи. На жаль, взаємодія цих катіонів із скоротливими білками різних м'язів вивчена недостатньо і потребує подальших досліджень.

Об'єкт і матеріали досліджень. Актomioзин серцевого м'яза бика та скелетних м'язів кроля виділяли за загальноприйнятими методиками. Кінетику суперпреципітації (СПП) актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини актоміозину на спектрофотометрі СФ-26, використовуючи електронний потенціометр КСП-4, та на спектрофотометрі "Spekord M-40". Реакційна суміш для реакції СПП актоміозину містила 20 мМ трис-НСІ (рН 7.5) та відповідні концентрації катіонів, наведені нижче. СПП ініціювали додаванням до середовища АТФ. Про перебіг реакції суперпреципітації судили за величиною часу $t_{1/2}$, упродовж якого оптична густина актоміозину зростала до величини $D/2$, де D – оптична густина актоміозину після завершення реакції СПП. Ступінь СПП визначали за величиною $D-D_0$, де D_0 – оптична густина актоміозину до початку реакції СПП, або за величиною максимального зростання оптичної густини актоміозину. Також проводили розрахунок початкової швидкості (v_0) перебігу реакції суперпреципітації актоміозину.

Результати та їх обговорення. При дослідженні впливу іонів Cd^{2+} на суперпреципітацію актоміозину серцевого м'яза було показано, що вже в невеликих концентраціях цей катіон проявляв інгібуючу дію. При додаванні до реакційної суміші 0,01 мМ Cd^{2+} спостерігалось незначне зниження ступеня СПП по відношенню до контролю (крива 2). При більш високих концентраціях іонів кадмію (від 0,05 до 0,5 мМ) його вплив на реакцію СПП актоміозину значно зростав. Так, збільшення концентрації цього катіона від 0,05 до 0,5 мМ супроводжувалось сповільненням перебігу реакції СПП (початкова швидкість реакції СПП зменшувалась з 82 до 56 %, відповідно, порівняно з контролем) та значним зменшенням (від 0,7 до 0,45) ступеня СПП (криві 3-5). Наступне збільшення концентрації іонів кадмію до 1 мМ (крива 6) призводило до майже повного інгібуювання реакції СПП.

Суперпреципітацію актоміозину скелетних м'язів кроля вивчали в присутності деяких двовалентних катіонів, що давало змогу оцінити вплив іонів кадмію на реакцію СПП в порівняльному аспекті. Як видно із рис. 2, додавання до розчину актоміозину АТФ і іонів кальцію (крива 1), або іонів стронцію (крива 2) викликало реакцію СПП актоміозину, яка характеризувалась високою швидкістю з $t_{1/2} \approx 1$ хв., а преципітат, який при цьому утворювався, характеризувався значними за розмірами преципітуючими структурами ("грубий преципітат"). На відміну від іонів кальцію і стронцію, іони магнію (крива 3) значно сповільнювали реакцію СПП актоміозину ($t_{1/2} = 12$ хв.). Степінь реакції СПП у цьому випадку був у 2 рази вищим, ніж це реєструвалось на кривих 1 і 2 для іонів кальцію і стронцію, а сама реакція СПП завершувалась утворенням "тонкого преципітату", що складався з дуже дрібних преципітуючих структур. Іони марганцю (крива 4) за характером свого впливу на реакцію СПП актоміозину значною мірою були подібні до іонів магнію. Реакція СПП в цьому випадку мала такий же степінь СПП і завершувалась утворенням "тонкого преципітату", але, на відміну від іонів магнію, ці катіони значно прискорювали реакцію СПП. Що стосується іонів кадмію (крива 5), то їх додавання до реакційної суміші призводило до повного блокування проходження реакції СПП.

Здатність іонів кадмію до пригнічення спостерігалась і при дослідженні АТФазної активності актоміозинового комплексу міокарда [3], що за характером впливу іонів кадмію узгоджується з отриманими результатами по перебігу реакції суперпреципітації актоміозину серцевого

та скелетних м'язів. Ймовірно, іони важких металів здатні заміщувати фізіологічно важливі іони магнію і кальцію на ділянках, що є суттєвими для реалізації реакції суперпреципітації актоміозину, тобто здатні впливати на функціональні характеристики скоротливих білків м'язів.

Раніше вважали, що механізм дії іонів кадмію на скоротливу активність м'язів реалізується через ефективне блокування Ca^{2+} -каналів. Однак з часом було показано, що вплив Cd^{2+} на м'язи не обмежується тільки блокуванням Ca^{2+} -каналів, а ще також можливий його опосередкований вплив на процес фосфорилування легких ланцюгів міозину, що каталізується кальмодулін-залежною кіназою легких ланцюгів. Cd^{2+} здатний адсорбуватись на Ca^{2+} -зв'язуючих ділянках кальмодуліна та завдяки цьому впливати на активність ферменту. Очевидно, що вплив іонів кадмію може проявлятися ще і на рівні функціонування АТФазної системи актоміозину.

Патологія серцево-судинної системи на сьогодні є важливою проблемою в медичній науці та практиці охорони здоров'я. Це пов'язано з високою захворюваністю серця і судин, смертністю та ін. Враховуючи те, що кадмій – токсичний метал, небезпідставно розглядати його роль в патологічних станах організму [2, 10]. Проводилось вивчення вмісту кадмію та свинцю в крові хворих на кардіоміопатію та з'ясування їх впливу на перебіг захворювання при підвищеному надходженні металів з середовища. При вивченні всмоктування хлориду кадмію з шлунково-кишкового тракту і його розподілу в органах та тканинах людини та тварин було виявлено, що раціон збалансований за цинком самий сприятливий для зменшення всмоктування радіоактивного ізотопу кадмію. Цинк при надходженні до організму разом з кадмієм виявляв по відношенню до нього антагоністичний ефект. Також корекція кадмієвої інтоксикації можлива і при надходженні до організму селену.

Було виявлено [4], що змодельована патологія (тривала дія на організм хлориду кадмію) призводить до різномітних структурно-функціональних змін м'язових клітин різних відділів міокарду, що суттєво змінює структурно-функціональну гетерогенність клітин та міру гетероморфності тканин, від якої залежать компенсаторні можливості міокарду при токсичному ураженні. При дії на організм хлориду кадмію спостерігались неоднакові пошкодження кардіоміоцитів. В одних серцевих м'язових клітинах домінувало переважно пошкодження міофібрил, що виражалось їхнім лізисом та контрактурами, в інших досліджуваних клітинах переважав набряк мітохондрій з деструкцією крист, а також виявлялось домінування розширення каналців саркоплазматичної сітки. Відмічалися і клітини з вираженим набряком та просторовою дезінтеграцією ультраструктур. Ці кардіоміоцити характеризувались тотальним розрідженням цитоплазми, роз'єднанням органелів та суттєвим зменшенням кількості глікогену. У даних кардіоміоцитах мали місце синтетичні процеси, що призводили до гіпертрофії та гіперплазії ультраструктур (мітохондрій та міофібрил). Кардіоміоцити неоднаково реагували на екзогенний хімічний фактор. Отримані та проаналізовані результати свідчать, що під впливом хлориду кадмію структурно-функціональні зміни були більш вираженими в шлуночках серця порівняно з передсерддями. Отже, дія на організм хлориду кадмію призводила до мозаїчних структурних змін кардіоміоцитів, що змінює ступінь гетероморфності, яка істотно впливає на компенсаторні можливості частин ураженого серцевого м'яза. Таким чином, детальне і різнобічне вивчення впливу іонів металів представляє перспективну проблему, яку необхідно враховувати при діагностиці та профілактиці уражень м'язів.

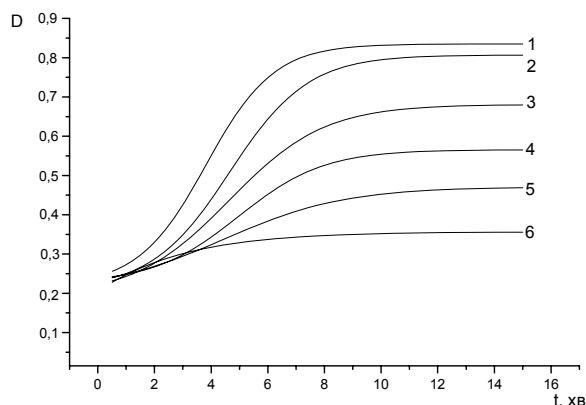


Рис. 1. Кінетичні криві реакції суперпреципітації актоміозину серцевого м'язу при додаванні різних концентрацій CdCl_2 (мМ): 1 – без Cd^{2+} (контроль); 2 – 0,01; 3 – 0,05; 4 – 0,1; 5 – 0,5; 6 – 1.

Реакційна суміш для СПП містила 20 мМ трис- HCl , pH 7.5, 0,15 М KCl , 1 мМ MgCl_2 , 0,1 мМ CaCl_2 (контроль) або 0,01-1 мМ хлориду кадмію. Концентрація актоміозину в сумарному об'ємі проби 2 мл становила 0,1 мг/мл. Кінетику СПП актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини при довжині хвилі 450 нм, температура 25 °C

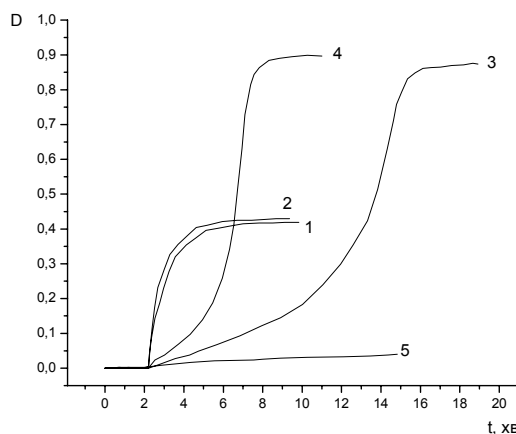


Рис. 2. Кінетичні криві реакції суперпреципітації актоміозину скелетних м'язів при додаванні АТФ і іонів кальцію (1), стронцію (2), магнію (3), марганцю (4), кадмію (5). Концентрація актоміозину – 0,2 мг/мл, АТФ – 0,1 мМ, іонів магнію – 0,3 мМ, кальцію, стронцію, марганцю і кадмію – 1 мМ.

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

Висновок. Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про те, що іони кадмію пригнічують реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого та скелетних м'язів.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження мають значення для поглиблення уявлень про функціонування скоротливих білків м'язів за умов впливу на них іонів важких металів з метою обґрунтованої корекції при патологічних станах організму.

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. – М.: Медицина, 1991. – 496 с. 2. Богомазов М.Я., Гарибян Г.М. Влияние содержания цинка в рационе экспериментальных животных на всасывание, распределение и накопление хлорида кадмия в организме при различных путях его введения // Вопросы питания. – 1992. – № 4. – С. 51-53. 3. Богуцька К.І., Данилова В.М., Мірошніченко М.С. Вплив факторів зовнішнього середовища (іонів металів) на функціональні характеристики актоміозину міокарда // Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення: Матеріали міжнар. конф. студентів і молодих вчених. – Львів: Сполом, 2003. – С. 75-78. 4. Гнатюк М.С.,

Пришляк А.М. Особливості структурно-функціональної гетерогенності кардіоміоцитів при токсичному ураженні міокарда // Укр. морфолог. альманах. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 37-40. 5. Гонський Я.І., Ястремська С.О., Бойчук Б.Р. Вікові особливості порушення перекисного окислення ліпідів і активності енергозабезпечувальних ферментів при кадмієвій інтоксикації // Мед. хімія. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 16-19. 6. Нейко Є.М., Губський Ю.І., Ерстенюк Г.М. Інтоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів (огляд літератури і власних досліджень) // Журн. АМН України. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 250-261. 7. Островская С.С., Гарец В.И., Талько В.В. Морфология артерий сердца и аорты у крыс после комбинированного воздействия облучения, солей кадмия и свинца // Морфология. – 2007. – Т. 1, № 1. – С. 100-105. 8. Слюзова О.В. Экотоксикологическое влияние кадмия на антиоксидантные процессы млекопитающих в модельной системе белых крыс и их потомства: Дис...канд. биол. наук. – Саратов, 2008. – 153 с. 9. A special issue on metal toxicity // Archives of Toxicology (Springer Berlin / Heidelberg). – 2008. – Vol. 82, № 8. 10. Heni J., Messaoudi I., Hamouda F., Kerkeni A. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: Histology and Cd accumulation // Food and Chemical Toxicology. – 2008. – Vol. 46, № 11. – P. 3522-3527. 11. Koyu A., Gokcimen A., Ozguner F., Bayram D.S., Kocak A. Evaluation of the effects of cadmium on rat liver // Mol. Cell Biochem. – 2006. – Vol. 284, № 1-2. – P. 81-85.

Надійшла до редколегії 07.10.09

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ТА КАТАЛАЗИ У МІТОХОНДРІЯХ ЗАГАЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ

Встановлено зниження активності супероксиддисмутази у мітохондріях епітеліоцитів шлунка за умов стресової та етанолової виразки. Показано зменшення каталазної активності у мітохондріальній фракції клітин слизової оболонки шлунка при впливі стресу та зростання її активності за умов дії етанолу.

It fixed that at stress and ethanol ulcer superoxide dismutase activity in mitochondria of epithelial cells of a stomach was decreased. It is shown, that at influence of a stress in mitochondria fraction of stomach mucosa cells catalase activity was reduced and at action of ethanol its activity was increased.

Вступ. Відомо, що при дії на організм надзвичайних впливів (стресові ситуації, фізичне перенавантаження, алкоголь тощо) можуть розвиватись виразкові ураження шлунка [5, 6].

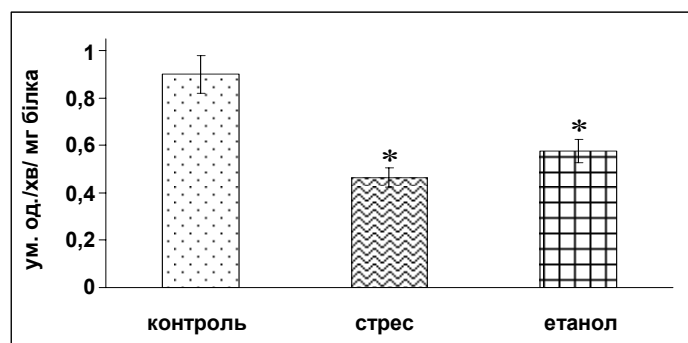
Важливого значення в патогенезі виразкової хвороби надають розвитку окисного стресу в клітинах слизової оболонки шлунка. Зміни співвідношення прооксидантних та антиоксидантних процесів у епітеліоцитах шлунка можуть виникати в результаті порушення роботи дихального ланцюга мітохондрій, в якому відбувається основний синтез вільних радикалів. Їх нейтралізація напряму залежить від стану антиоксидантної системи самих мітохондрій. Тому при вивченні процесів ульцерогенезу необхідною ланкою є дослідження окисно-антиоксидантної рівноваги у епітеліоцитах шлунка на субклітинному рівні, а особливо на мітохондріальному.

В зв'язку з цим, метою нашої роботи було визначити активність супероксиддисмутази та каталази у мітохондріальній фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідах використовували щурів лінії Вістар обох статей вагою 180 – 230 г., яких утримували на стандартному раціоні виварію. Для створення стресової виразки шлунка у тварин використовували модель іммобілізаційного водоімерсіонного холодового стресу [9]. Після іммобілізації щурів у спеціальних патронах, тварин розміщували в резервуа-

рах з водою, температура якої складала 23°C. Через 3 години щурів виймали з патронів та декапітували. Етанолову модель виразки шлунка створювали за методом [7]. 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 мітохондріальну фракцію загальноприйнятим методом [2]. Активність супероксиддисмутази у мітохондріях визначали з використанням нітросинього тетразолію [4]. Оцінку каталазної активності у мітохондріальній фракції проводили за Корольюк [1]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [3]. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

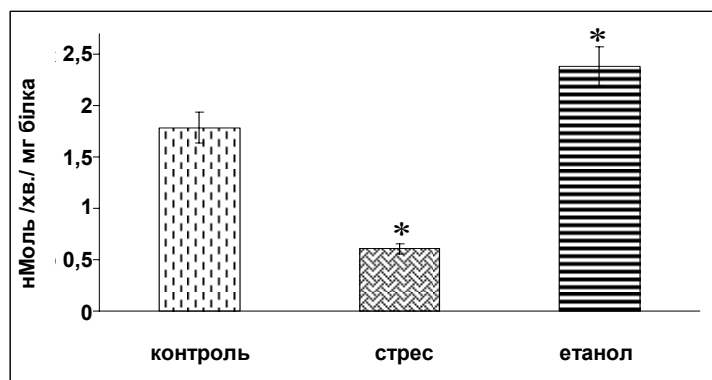
Результати та їх обговорення. Ферментами першої лінії захисту клітин від вільних радикалів є супероксиддисмутаза та каталаза, сумісна дія яких призводить до нейтралізації супероксидного радикалу до молекули води. Нами встановлено, що за умов стресової виразки у мітохондріальній фракції клітин слизової оболонки шлунка активність супероксиддисмутази знижувалась на 48% відносно контрольних органел (рис. 1). За умов етанолової виразки також спостерігалось зменшення рівня досліджуваного ферменту у мітохондріях епітеліоцитів шлунка щурів – на 36% у порівнянні з контролем (рис. 1).



*- p<0,05 щодо контролю

Рис. 1. Активність супероксиддисмутази у мітохондріях загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки

Показано, що при стресовій виразці у мітохондріальній фракції клітин слизової оболонки шлунка активність каталази знижувалась на 66% відносно контрольних мітохондрій (рис. 2).



*- $p \leq 0,05$ щодо контролю

Рис. 2. Активність каталази у мітохондріях загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки

За умов дії етанолу на щурів встановлено зростання каталазної активності у мітохондріях клітин слизової оболонки шлунка на 34% у порівнянні з контролем (рис. 2).

Виявлені зміни активності супероксиддисмутази та каталази у мітохондріальній фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки свідчать про надмірне утворення в цих органах активних форм кисню. Зменшення активності досліджуваних ферментів антиоксидантної системи відображає більш суттєве пошкодження мітохондрій епітеліоцитів шлунка при впливі стресового фактору, ніж при дії етанолу. Ослаблення системи антиоксидантного захисту цих органел може призвести до необоротних пошкоджень молекул ліпідів, білків та ДНК мітохондрій [8].

Висновки. В результаті проведених експериментальних досліджень встановлено, що за умов стресової та етанолової виразки порушується окисно-антиоксидантна рівновага у мітохондріальній фракції

епітеліоцитів шлунка, що може призвести до розвитку у клітинах окисного стресу.

1. Метод определения активности каталазы / М.А. Корольюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – Вып. 1. – С. 16-18.
2. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во Моск. Универ., 1989. – С. 406.
3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Информполиграф, 2002. – 305 с.
4. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лабораторное дело. – 1985. – Вып. 11. – С. 678-681.
5. Baron J.H., Mt. Sinai J. Peptic ulcer // Med. j. – 2000. – Vol. 67. – P. 58-62.
6. Choong R.S., Talley N.J. Epidemiology and clinical presentation of stress-related peptic damage and chronic peptic ulcer // Curr. Mol. Med. – 2008. – Vol. 8. – P. 253-257.
7. 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.
8. Shokolenko I., Venediktova N., Bochkareva A., Wilson G.L. and Alexeyev M.F. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA // Nucleic Acids Research. – 2009. – Vol. 37, №8. – P. 2539-2548.
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 10.10.09

УДК [591.524.12:574.5]

В. Трохимець, канд. біол. наук

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

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

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

Вступ. Як у світі в цілому, так і в Україні в останні десятиріччя особливу увагу приділяють побудові екологічних підходів і концепцій щодо вирішення питань розвитку новітніх технологій і власне техносфери. Будь-які дії антропогенного походження оцінюють із точки зору охорони природи та безпеки для людини. Екологічна безпека та прогнозування є необхідними складовими сучасного будівництва та виробництва. Усі процеси та зміни потребують ретельного екологічного аналізу. Так, протягом останніх років перед природоохоронними організаціями постає необхідність аналізу наслідків підняття рівня води в Олександрівському водосховищі, що на Південному Бузі поблизу Ташлицької ГАЕС. Нами було продовжено дослідження угруповань зоопланктону після останнього підняття рівня води до відмітки 14,7 метрів над рівнем моря у 2006 році. Спостережен-

ня за цією індикаторною групою гідробіонтів дають можливість провести еколого-фауністичний аналіз і дати оцінку сучасному стану цієї водойми. Важливим є те, що за змінами комплексів зоопланктону можна з'ясувати на яких стадіях сукцесійного розвитку знаходиться водосховище та в якому напрямку будуть спрямовуватись подібні зміни. Дослідження за 2006 і 2008 роки є складовою частиною багаторічного наукового проекту вивчення еколого-фауністичних змін гідробіонтів водойм Південного Бугу (Олександрівське та Бахчалінське водосховища) внаслідок підняття рівня води, що необхідно для покращення роботи Ташлицької ГАЕС. У статті наведені результати перших років досліджень у межах однієї з базових станцій, розміщених на Олександрівському водосховищі, що є першим кроком у розумінні реальної ситуації щодо наслідків зміни в ньому

рівня води. Особливо актуальні ці дослідження тому, що вже в 2010 році рівень води планується підняти ще до відмітки 16 метрів над рівнем моря.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктом досліджень були представники трьох груп зоопланкtonу: коловертки (клас Rotatoria), гіллястовусі ракоподібні (ряд Cladocera) та веслоногі ракоподібні (клас Copepoda). Крім того реєстрували й інші групи гідробіонтів, які потрапляли до знарядь відбору проб. Але в останньому випадку визначення проводили не до виду, а до вищих таксономічних категорій. Для відбору проб літорального зоопланкtonу була використана конічна планктонна сітка [1-2]. Під час камеральної обробки [1-6] використовували метод Гензена [1-2] та методи статистичного аналізу [7]. Мета досліджень – визначити видовий склад, щільність та особливості просторового розподілу зоопланкtonу в межах станції лівого берега середньої частини Олександрійського водосховища, а також зміни, що спостерігаються внаслідок антропогенного впливу на ці гідроценози. У межах дослідної станції лівого берега (N 47°44.110' E 31°11.681') у 2006 році дослідження провели вдень 29 липня – 1 проба конічною сіткою; 29-31 липня 2008 року конічною сіткою відібрали 3 проби денні та 4 добові (удень, у вечірні години, уночі та зранку). В останньому випадку для розрахунку загального показника щільності зоопланкtonу за декількома контрольними пробами брали для кожного виду середнє значення. Додатково провели геоботанічну характеристику дослідних станцій, виміряли швидкість течії, температуру води та її кислотність.

У 2006 році в літоральній зоні видовий склад зоопланкtonу був представлений 27 видами (нижче також наведені дані по личинковим стадіям веслоногих ракоподібних і представниках інших груп гідробіонтів): коловерток було 8 видів – *Asplanchna priodonta* Gosse, 1850

(800 екз./м³), *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766 (3400 екз./м³), *B. quadridentatus* Hermann, 1783 (8200 екз./м³), *Euchlanis dilatata* Ehrenberg, 1832 (1000 екз./м³), *Platylabus quadricornis* Ehrenberg, 1832 (400 екз./м³), *Polyarthra dolychoptera* Idelson, 1925 (200 екз./м³), *Cephalodella* sp. Bory de St. Vincent, 1826 (200 екз./м³), *Lecane* sp. Nitzsch, 1827 (200 екз./м³); 14 видів гіллястовусих ракоподібних – *Alona quadrangularis* O.F. Muller, 1776 (400 екз./м³), *A. rectangula* Sars, 1862 (800 екз./м³), *Bosmina longirostris* O.F. Muller, 1785 (13600 екз./м³), *Camptocercus rectirostris* Schoedler, 1862 (2200 екз./м³), *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, 1900 (200 екз./м³), *C. quadrangularis* O.F. Müller, 1785 (600 екз./м³), *Chydorus sphaericus* O.F. Muller, 1785 (200 екз./м³), *Diaphanosoma brachyurum* Lievin, 1848 (200 екз./м³), *Ilyocriptus sordidus* Liévin, 1848 (200 екз./м³), *Moina rectirostris* Leydig, 1860 (200 екз./м³), *Pleoroxus aduncus* Jurine, 1820 (4200 екз./м³), *P. trigonellus* O.F. Muller, 1785 (1000 екз./м³), *Rhynchotalona rostrata* Koch, 1841 (200 екз./м³), *Simocephalus vetulus* Muller, 1776 (800 екз./м³); 5 видів веслоногих ракоподібних (представники рядів Cyclopoida і Calanoida) – *Acanthocyclops americanus* Marsh, 1892 (200 екз./м³), *Eucyclops serrulatus* Fischer, 1851 (400 екз./м³), *Mesocyclops leuckartii* Claus, 1857 (600 екз./м³), *Thermocyclops crassus* Fischer, 1853 (400 екз./м³), *Eurytemora velox* Lilljeborg, 1853 (1000 екз./м³); наупліальні стадії розвитку веслоногих ракоподібних (1400 екз./м³); копеподитні личинкові стадії розвитку веслоногих ракоподібних (2000 екз./м³); представники веслоногих ракоподібних ряду Harpacticoida (200 екз./м³); клас Ostracoda (1200 екз./м³); 1 вид мізидних ракоподібних – *Limnomysis benedeni* Czerniavsky, 1882 (200 екз./м³); Diptera larva (200 екз./м³); Chironomidae (400 екз./м³).

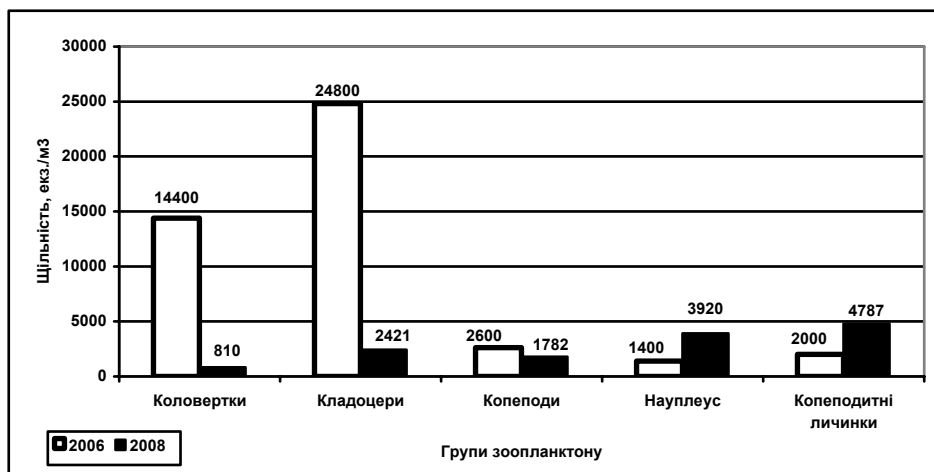


Рис. 1. Зміни щільності різних груп зоопланкtonу в межах станції лівого берега Олександрійського водосховища за 2006 і 2008 років

У 2008 році в літоральній зоні цієї ділянки Олександрійського водосховища зареєстровані представники 20 видів зоопланкtonу (нижче також наведені дані по личинковим стадіям веслоногих ракоподібних і представників інших груп гідробіонтів): 6 видів коловерток – *B. calyciflorus* (середнє значення щільності у пробах відібраних протягом добових досліджень різних днів: 587 екз./м³), *Euchlanis deflexa* Gosse, 1851 (3 екз./м³), *E. dilatata* (17 екз./м³), *Lecane luna* Müller, 1776 (167 екз./м³), *P. dolychoptera* (23 екз./м³), *Cephalodella* sp. (13 екз./м³); 8 видів гіллястовусих ракоподібних – *A. quadrangularis* (97 екз./м³), *A. rectangula* (137 екз./м³), *B. longirostris* (147 екз./м³), *Daphnia cucullata* Sars, 1862

(47 екз./м³), *D. brachyurum* (290 екз./м³), *Macrothrix hirsuticornis* Norman et Brady, 1867 (50 екз./м³), *P. aduncus* (13 екз./м³), *P. trigonellus* (1640 екз./м³); 6 видів веслоногих ракоподібних (представники рядів Cyclopoida і Calanoida) – *A. americanus* (233 екз./м³), *E. serrulatus* (13 екз./м³), *Microcyclops bicolor* Sars G.O., 1863 (103 екз./м³), *Thermocyclops crassus* Fischer, 1853 (650 екз./м³), *Th. oithonoides* Keifer, 1978 (723 екз./м³), *E. velox* (60 екз./м³); наупліальні стадії розвитку веслоногих ракоподібних (3920 екз./м³); копеподитні личинкові стадії розвитку веслоногих ракоподібних (4787 екз./м³); ряд Harpacticoida (77 екз./м³); клас Ostracoda (67 екз./м³); Chironomidae (40 екз./м³); Diptera

larva (13 екз./м³); Nematoda (43 екз./м³). Показники щільності представників різних видів зоопланктону варіювали як протягом доби, так і в одну частину доби

різних днів, подібно до таких зі станції правого берега цієї ділянки водосховища.

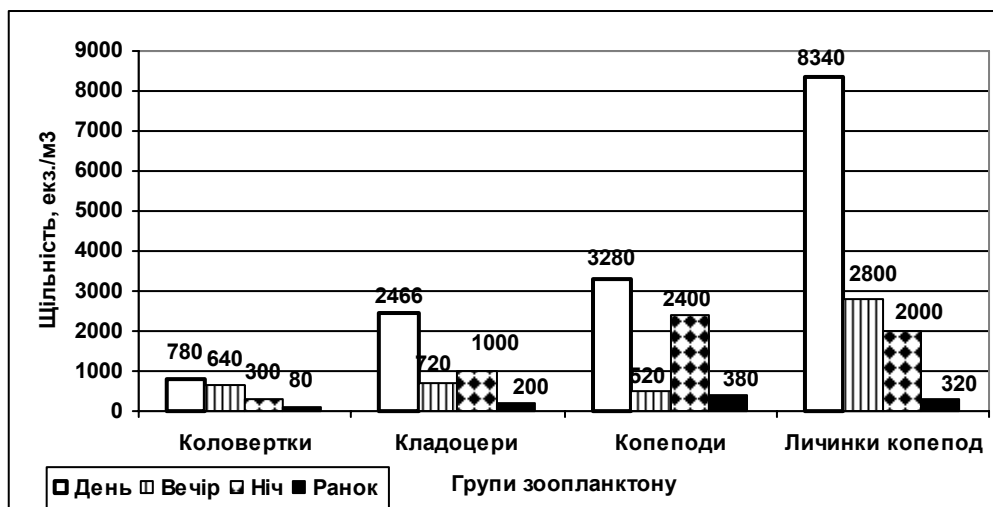


Рис. 2. Добова динаміка щільності різних груп зоопланктону в межах станції досліджень лівого берега Олександрівського водосховища в 2008 році

Помітні зміни відбулись як із видовим складом, так і з щільністю зоопланктону цієї станції. Так, якщо в 2006 році в межах цієї станції було зареєстровано 8 види коловерток, то в 2008 році – 6. При цьому видовий склад значно змінився: J (Індекс Жакара)=55,5; Jдом. (Індекс Жакара домінантний) = 0. Значно знизилась і щільність коловерток: у 2006 році найвищу представленість мали особини *B. quadridentatus* – 8200 екз./м³, у 2008 році представники цього виду взагалі не зустрічались у пробах, а домінували *Brachionus calyciflorus* – 587 екз./м³. Подібні тенденції були характерні і для гіллястовусих ракоподібних у межах цієї станції, оскільки в 2008 році було зареєстровано 8 видів, у той час як у 2006 році – 14 видів. Так, у 2008 році було відмічено представників *D. cucullata* і *M. hirsuticornis*, яких у 2006 році в межах цієї станції не відмічали. З іншого боку, у 2008 році не відмічали *C. rectirostris*, *C. affinis*, *C. quadrangularis*, *Ch. sphaericus*, *I. sordidus*, *M. rectirostris*, *Rh. rostrata* і *S. vetulus*. Домінант також змінився: у 2006 році – *B. longirostris* (13600 екз./м³), у 2008 році – *P. trigonellus* (1640 екз./м³). Загалом щільність гіллястовусих ракоподібних значна впала. Провівши статистичний аналіз отримали, що видовий склад гіллястовусих значно змінився (має низький ступінь подібності): J=37,5; Jдом=0. Відбулись значні зміни і серед веслоногих ракоподібних, оскільки видове різноманіття збільшилось із 5 видів до 6 із повною зміною домінантів: J=37,5; Jдом=0. Так, представники *E. velox* (1000 екз./м³) домінували серед веслоногих ракоподібних у 2006 році, а вже 2008 році були сателітами. Домінували в 2008 році відразу два представники – *Th. crassus* (650 екз./м³) і *Th. oithonoides* (723 екз./м³).

Вибухового зростання чисельності копепод у 2008 році, на відміну від станції правого берега цієї частини водосховища, не спостерігали. Навпаки, щільність представників цієї групи ракоподібних, хоч і незначно, але знизилась: для цієї станції було характерним зниження щільності представників усіх основних груп зоопланктону. Виключення становили представники різних личинкових стадій розвитку веслоногих ракоподібних, для яких було характерним зростання більше, ніж у 2 рази: наупліусів – з 1400 до 3920 екз./м³; копеподитних

стадій розвитку – з 2000 до 4787 екз./м³. Загальна зміна щільності сумарно для цих груп (три основні групи та личинки веслоногих ракоподібних) за дослідні роки складала: 2006 рік – 45200 екз./м³, 2008 рік – 13720 екз./м³. Аналіз зміни щільності гідробіонтів за ці роки було проведено за середніми показниками щільності різних груп зоопланктону та личинок веслоногих ракоподібних (рис. 1).

Добові зміни просторової структури зоопланктону проаналізовані на основі добової зміни щільності представників різних груп зоопланктону (коловертки, гіллястовусі, ракоподібні, веслоногі ракоподібні, та їх личинкові стадії) протягом доби в 2008 році продемонстровані на рис. 2. Представники різних груп зоопланктону концентрувались біля берега у вечірні (коловертки та личинки копепод) і нічні години (гіллястовусі та веслоногі ракоподібні), сягаючи мінімальних кількостей зранку. Але, у той же час, усі групи зоопланктону домінували вдень. Це можна пояснити тим, що саме вдень була сильна течія (0,6 м/с), яка, разом із поривчастим вітром, прибивала до берега водні маси разом із зоопланктоном. Крім того, результати інших контролів варіювали, наприклад: 31.07.2008 щільність зоопланктону вдень значно поступалась такій уночі. За щільністю в межах цієї станції домінували личинки веслоногих ракоподібних. Субдомінантами були власне їх дорослі особини, яким незначно поступались гіллястовусі ракоподібні. Коловертки були вираженими сателітами.

Висновки. 1. Видовий склад літорального зоопланктону в межах станції лівого берега середньої частини Олександрівського водосховища був представлений у 2006 році 27 видами, а в 2008 – 20. 2. Список видів коловерток за 2006 рік характеризувався середнім ступенем подібності в порівнянні з таким за 2008 рік, а списки видів гіллястовусих і веслоногих ракоподібних характеризувались низьким ступенем подібності: коловертки – J (Індекс Жакара)=55,5; гіллястовусі – J=37,5; веслоногі – J=37,5. 3. Повністю змінилися домінанти у всіх груп зоопланктону – Jдом. (Індекс Жакара домінантний) = 0. 4. У 2006 році був виражений загальний домінант серед усіх груп статевозрілих особин зоопланктону – *Bosmina longirostris* (13600 екз./м³), у 2008 році – *Pleoroxus trigonellus* (1640 екз./м³). 5. Помітно змінилась загальна

щільність усіх груп зоопланктону (три основні групи та личинки веслоногих ракоподібних) за дослідні роки: 2006 рік – 45200 екз./м³, 2008 рік – 13720 екз./м³. 6. Відмічено тенденцію, коли представники різних груп зоопланктону концентрувались біля берега у вечірні (коловертки та личинки копепода) і нічні години (гіллястовуси та веслоногі ракоподібні), сягаючи мінімальних кількостей зранку, що пов'язано з процесами горизонтальних і вертикальних добових міграцій. 7. Найвищу щільність представники усіх груп зоопланктону мали вдень, що пов'язано з сильною течією до берега під час відбору проб.

УДК 612.6; 591

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

Надійшла до редколегії 12.10.09

Г. Оніщенко, студ., Н. Родіонова, д-р біол. наук,
Н. Скрипник, канд. біол. наук, І. Шевель, інж.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В ОСТЕОБЛАСТАХ ПРИ ЗНЯТТІ ОПОРНОГО НАВАНТАЖЕННЯ НА КІНЦІВКИ

Досліджено вплив зняття опорного навантаження на особливості ультраструктури остеобластів. Виявлено, що популяція остеобластів стає більш однорідною, в ній переважають функціонально неактивні форми. В ядрах клітин посилюється гетерохроматизація, в цитоплазмі змінюється типова архітектура органел, питомий об'єм гранулярної ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі зменшується, збільшується питомий об'єм лізосомоподібних тілець, що вказує на зниження в клітинах біосинтетичних процесів і посилення внутрішньоклітинного аутолізу.

The ultrastructure of osteoblasts in the femoral bone metaphysis in rats was studied. It was established, that population of osteoblasts is more homogeneous, the number of functionally active osteoblast is decreased. The nuclei of these cells show enhanced heterochromatization. The disturbance of typical organelle architectonics take place in cytoplasm. Specific volume of granular endoplasmic reticulum and Golgi complex is decreased, but specific volume of lysosome-like bodies is increased. So, we can say that intensity of synthetic processes are decreased and intracellular autolysis are increased.

Вступ. Численними дослідженнями показано, що недостатнє функціональне навантаження ініціює процес редуکتивної адаптації кісток, а першим проявом такої адаптації є зменшення кількості структуроутворюючих одиниць кісткової тканини та розвиток стану остеопенії і іноді остеопорозу, що призводить до формування в кістках критичних зон з високою ймовірністю переломів [4, 5]. Відомо, що остеопороз – одне з основних захворювань, спричинених малорухомим способом життя. ВООЗ ставить проблему остеопорозу на четверте місце після серцево-судинних, онкологічних захворювань та діабету [7]. Структурні та морфологічні зміни в клітинах кісткової тканини при знятті опорного навантаження в кістковий скелет багато в чому залишаються невивченими. Сповільнення остеогенезу пов'язується із зменшенням кількості остеобластів [3, 12]. Однак, морфофункціональні особливості остеобластів, а саме їх ультраструктура, недостатньо досліджені.

Задача даної роботи – вивчити ультраструктурний стан остеобластів щурів при експериментальному знятті опорного навантаження на задні кінцівки щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 6 білих щурах лінії Вістар (самці, маса 200-250 г), яких утримували у виварі відділу цитології та гістогенезу Інституту зоології НАН України. Зняття опорного навантаження моделювали за методом Morey-Holton [9] шляхом підвішування тварин за хвіст (під кутом 35°). Тварину вивішують таким чином, щоб повністю зняти вагове навантаження на задні кінцівки частковим підйомом всієї тварини в нахиленому положенні з опущеною головою. При такому способі вивішування частково знімається вагове навантаження на передні кінцівки і, крім того, створюються умови для збільшення кровонаповнення головного кінця тулуба. За допомогою передніх кінцівок тварина вільно рухається по решітчастій підлозі стенда у будь-якому напрямі, самостійно підходить до годівнички і поїлки і користується ними. Збереження рухливості добре відбивається на стані тварини, а також знижується неспокій і агресивність, характерні для перших діб експериментів з гіпокінезією. Тривалість

експерименту – 28 діб. На тварин перед відбором біо-зразків (стегнової кістки) діяли ефірним наркозом.

Для електронної мікроскопії шматочки кісткової тканини (≈1 мм³) із зон метафізів фіксували у 2,5% розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері (pH 7,2-7,4), дофіксували у 1% осмієвій кислоті на фосфатному буфері, зневоднювали у спиртах та заклали в алардит ("Sigma", Німеччина). Ультратонкі зрізи виготовляли скляними ножами на ультрамикротомі "УМТП-5". Контрастування ультратонких зрізів проводилося цитратом свинцю. Зрізи вивчали та фотографували в електронному мікроскопі "Тесла ВС-500". Морфометричну обробку електронних фотографій проводили методом точкового підрахунку [1]. Статистичну обробку проводили в програмі Excel.

Результати та їх обговорення. Порівнювали ультраструктуру остеобластів губчастої кістки метафізів стегнової кістки щурів при модельованій гіпокінезії і в контролі. В експерименті, в порівнянні з контролем, популяція остеобластів виявляється одноріднішою за складом, в ній зменшується кількість функціонально активних остеобластів і збільшується кількість неактивних клітин, які вистилають кісткову поверхню; не виявлено зон, в яких присутні остеобласти різних функціональних станів.

В порівнянні з контролем в експерименті посилюється гетерохроматизація ядер. Зміни структури ядра (розміщення та контраст глибок хроматину) виявлені після 24 годин дії мікрогравітації. Припускають, що це пов'язано зі скороченням експресії аутокринних генів та генів клітинного циклу [8].

Канали гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) вкорочуються і звужуються по всій цитоплазмі. Частина мембран ГЕС втрачає полісоми. Такі зміни свідчать про зниження їх біосинтетичної функції. В комплексі Гольджі переважають невеликі вакуолі і везикули. В цитоплазмі реєструються аутофаголізосоми. Питомий об'єм ГЕС і комплексу Гольджі в клітинах зменшується (табл.1), у той же час питомий об'єм лізосомоподібних телець збільшується. Останнє свідчить про посилення в клітині аутолітичних процесів.

Таблиця 1. Зміни питомого об'єму органел в остеобластах метафізів стегнової кістки щурів в умовах зняття опорного навантаження

Органели	Контроль	Експеримент
Гранулярна ендоплазматична сітка	0,333±0,017	0,312±0,016*
Комплекс Гольджі	0,230±0,014	0,180±0,009*
Лізосомоподібні тілця	0,015±0,001	0,025±0,002*
Інші структури	0,412±0,021	0,483±0,024*

*-відмінності достовірні у порівнянні з контролем, $p \leq 0,05$

Мітохондрії мають більшу, ніж в остеобластах контрольної групи, електронну щільність матриксу. Як одна з можливих причин такого стану мітохондрій в посмугованих м'язових волокнах, розглядається акумуляція високоенергетичного фосфату при гравітаційному розвантаженні [6]. В інших експериментах відмічено також зниження потенціалу мітохондріальних мембран, зниження рівня анти-апоптозного протеїну bcl-2, а також акт-протеїну. Ці зміни свідчать, що мікрогравітація порушує функції мітохондрій, тим самим індукуючи апоптоз остеобластів.

Зони мінералізації поблизу остеобластів у щурів експериментальної групи менш виражені, ніж у контролі. На кісткових поверхнях частіше зустрічаються апоптозні остеобласти.

У порівнянні з контролем помітно, що в клітинах відбувається просторова дезорганізація органел, перш за все каналів ГЕС. Вочевидь, це пов'язано з деструкцією частини цитоскелету (мікротрубочок та мікрофіламентів). Деструкція цитоскелету in vitro в умовах моделюваної мікрогравітації відмічена також, в досліджах Mevers [11]. Було показано, що в умовах невагомості збирання елементів цитоскелету змінюється, а утворення мікротрубочок in vitro визначається напрямленістю вектора гравітації [8,10].

Ультраструктурний стан остеобластів в губчастій кістці метафізів стегнової кістки щурів свідчить про зниження інтенсивності біосинтезу і секреції компонентів органічного матриксу. Судячи з відсутності остеобластів різних функціональних станів, немає й асинхронності протікання процесів специфічних біосинтез, а саме розходження в клітинах біосинтезу колагенових білків і глікозаміногліканів, що характерно для зон активного остеогенезу в контролі. Аналогічні результати були отримані при вивченні впливу мікрогравітації на остеогенез в метафізах щурів, які знаходились на борту біосупутника "Біон-9" і "Біон-11" [2].

Висновки: електронно-мікроскопічні дослідження остеобластів в метафізах стегнової кістки щурів показали, що в умовах зняття опорного навантаження з задніх кінцівок популяція остеобластів стає більш од-

норідною, в ній переважають функціонально неактивні форми. В ядрах клітин посилюється гетерохроматизація, в цитоплазмі змінюється типова архітектура органел, питомий об'єм гранулярної ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі зменшується, збільшується питомий об'єм лізосомоподібних тілець, що вказує на зниження в клітинах біосинтетичних процесів і посилення внутрішньоклітинного аутолізу при зниженні функціонального навантаження.

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.
2. Дурнова Г.Н., Капланский А.С., Морей-Холтон Э.Р., Воробьева К.И. Исследования большеберцовых костей крыс, экспонированных на "Спейслэб-2": гистоморфометрический анализ // Авиакосм. и экол. мед. — 1996. — Т.30, №1. — С.21-26.
3. Дурнова Г.Н., Корольков В.И., Кротов В.П. Гистоморфометрия подвздошных костей обезьян после антиортостатической гипокинезии и "сухой" иммерсии // Авиакосм. и экол. мед. — 2004. — Т.38, №5. — С. 33-37.
4. Оганов В.С., Бакулин А.В., Новиков В.Е., Мурашко Л.М., Кабицкая О.Е., Моргун В.В., Воронин Л.И., Шнайдер В., Шейкшфорд Л., ЛеБланк А. Реакции костной системы человека в космическом полете. Феноменология // Авиакосмическая и экологическая медицина. — 2005. — Т.39, № 6. — С.3-9.
5. Родионова Н.В., Оганов В.С. Клеточные механизмы моделирования костной ткани при гипокинезии и микрогравитации // Материалы XIII конференция по космической биологии и космической медицине, Ленинград, 12-15 авг. 1991 г. — М.: ИМБП МЗ СССР, 1991. — С. 105-106.
6. Родионова Н.В. Цитологичні механізми перебудов у кістках при гіпокінезі та мікрогравітації. — К.: Державне науково-виробниче підприємство "Видавництво "Наукова думка" НАН України", 2006. — 238 с.
7. Хвостова С.А., Свешников К.А. Взаимосвязь между механизмом адаптивных и минеральной плотностью костей скелета у больных остеопорозом и с переломами // Современные проблемы науки и образования. — 2008. — №3. — С. 34-38.
8. Hughes-Fulford M., Rodenacker K., Jüttling U. Reduction of anabolic signals and alteration of osteoblast nuclear morphology in microgravity // Journal of cellular biochemistry. — 2006. — Vol. 99, №2. — P. 435-449.
9. Morey-Holton E.R., Wronsky T.J. Animal model for simulating weightlessness // The Physiologist. — 1981. — V.24, №6. — P. 45-48.
10. Mosley R. Osteoporosis and bone functional adaptation: Mechanobiological regulation of bone architecture in growing and adult bone, a review // J. of Rehabil. Res. and Develop. — 2000. — V.37, №2. — P. 1858-1866.
11. Mevers V.E., Zavzafoon M.D., Ouglas J.T., McDonald J.M. Rho A and Cytoskeletal Disruption Mediate Reduced Osteoblastogenesis and Enhanced Adipogenesis of Human Mesenchymal Stem Cells in Modeled Microgravity // J. Bone and Miner. Res. — 2005. — Vol. 20, №10. — P. 1858-1866.
12. Zerath E., Holy X. Effects of BMP-2 on osteoblastic cell and on skeletal growth and bone formation in unloaded rats // Growth Hormone and IGF Res. — 1998. — №8. — P. 141-149.

Надійшла до редколегії 13.10.09

УДК 612.82/83; 612.821

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

КЛАСТЕРІЗАЦІЯ ДИНАМІКИ ЕКГ ЛЮДИНИ ЗА НЕЙРОННОЮ МЕРЕЖЕЮ КОХОНЕНА ТА ВЕЙВЛЕТ-АНАЛІЗОМ НА ОСНОВІ ФУНКЦІЙ КРАВЧУКА

Розроблено метод вейвлет-аналізу на основі функцій Кравчука, який дозволяє дослідити тонкі структури ЕКГ та з високою точністю представити локальні особливості сигналів у часі. Використання функцій Кравчука та методу гіперкомплексних систем забезпечує інваріантність виділення інформативних ознак сигналу. Кластеризація динаміки ЧСС людини за нейронною мережею Кохонена та вейвлет-аналізом на основі функцій Кравчука виявила зміну стану обстежуваного при зміні типу та складності когнітивного навантаження впродовж обстеження.

The method of wavelet analysis based on Krawtchouk functions is developed. This method allows to investigate thin structures of EKG and to present the local features in time with high accuracy. Employment of Krawtchouk functions and a method of hypercomplex systems ensure invariance of extraction of informative features of a signal. The clusterization of dynamics of cardiac rhythm of the person with Kohonen neural network and wavelet analysis based on Krawtchouk functions have revealed change of a state of investigated at change of type and complexity of cognitive loads at inspection.

Вступ. Дослідження тонкої структури електрофізіологічних сигналів дозволяє більш глибоко зрозуміти

причинні механізми, які викликають певні процеси. Особливо слід виділити задачі аналізу ЕКГ. Метод ста-

ндартної ЕКГ та проведення проб з навантаженням досягли на даний момент певної границі своїх діагностичних можливостей. В зв'язку з цим великий інтерес викликають нові методи реєстрації ЕКГ високої роздільності та обробки ЕКГ, які дозволяють виділити та проаналізувати високочастотні низькоамплітудні компоненти ЕКГ-сигналу, які несуть додаткову інформацію про розповсюдження збудження по волокнах міокарда.

Існують декілька підходів до аналізу тонкої структури ЕКГ. Одним з найбільш розповсюджених є спектральний аналіз ЕКГ, яке реалізується перетворенням Фур'є сигналу. Основним недоліком перетворення Фур'є є те, що частотні компоненти не можуть бути локалізовані у часі, що не дозволяє досліджувати динаміку змін частотних параметрів сигналу. При збільшенні вікна обробки сигналу покращується роздільність за частотою, але погіршується за часом, і навпаки. Це пов'язано з тим, що віконна функція фіксована впродовж всього перетворення. Проблема роздільності пов'язана з принципом Гейзенберга, який вказує, що неможливо визначити для певного моменту часу які спектральні компоненти присутні в сигналі.

Для вирішення всіх цих проблем було розроблено метод вейвлет – перетворення нестационарних сигналів. Поняття вейвлет (wavelet – коротка, або маленька хвиля) було введено в 1984 р. А. Гроссманом (A. Grossman) та Дж. Морлетом (J. Morlet) в зв'язку з необхідністю аналізу сейсмічних та акустичних сигналів, які є нестационарними за своєю природою [1]. Основна область застосування вейвлет – перетворення – аналіз та обробка сигналів, які нестационарні за часом на неоднорідні у просторі, коли результати аналізу повинні містити не тільки загальну частотну характеристику, але і інформацію по певні локальні координати, на яких проявляють себе ті або інші групи частотних складових. В цьому випадку нестационарний сигнал аналізується шляхом розкладу за певними базисними функціями (відмінними від гармонічних), які отримані з деякого прототипу шляхом стиснення та зсуву. Функція прототипу називається материнським вейвлетом. Перевагою вейвлет – перетворення є математична коректність процедури. Вейвлетом є будь-яка функція, яка задовольняє двом умовам: 1. Середнє значення (інтеграл по всій прямій) дорівнює нулю. 2. Функція швидко спадає при $t \rightarrow \infty$. На даний час вейвлет-аналіз широко використовується при аналізі таких нестационарних сигналів, як ЕКГ [2]. Найчастіше при цьому використовують вейвлети Морлета, Добеши, Хаара, "мексиканська шляпа" та похідні гауссіана (функції Ерміта).

Об'єкт та методи досліджень. Метою роботи було продемонструвати можливості вейвлет-аналізу на основі функцій Кравчука дослідження динамічних змін електрокардіограми (ЕКГ) обстежуваного впродовж виконання ним тестового завдання та класифікації стану людини у динаміці на основі визначених узагальнених спектральних коефіцієнтів та методу кластеризації за нейронною мережею Кохонена.

Тестування асоціативної пам'яті проводилось за наступною схемою: на екрані монітора обстежуваному пред'являлись 15 пар слів, які він повинен був запам'ятати за 40 с. Через 1 хв. після того, як слова згаснуть, у верхньому прямокутнику послідовно з'являлись перші слова пар. Завдання обстежуваного – не більше, ніж за 60с знайти номер слова, що відповідає парі, набрати цей номер на клавіатурі і натиснути клавішу "ENTER". Тест асоціативної пам'яті складався з наступних субтестів: асоціації за схожістю; асоціації за кон-

трастом; асоціації за суміжністю за часом; асоціації за суміжністю за простором та створення асоціативних пар (нелогічні асоціації) [3].

Крім того, у обстежуваного реєстрували ЕКГ до початку обстеження та під час проведення тестування. Для реєстрації та налізу ЕКГ використовували 12-канальний електрокардіограф "Полі-Спектр-12" (ООО "Нейрософт", Росія, ЕС-сертифікат № RQ060612-V від 02.03.2006 р.).

Для вейвлет-аналізу ЕКГ ми використовували в якості материнського вейвлету функції Кравчука. Вейвлети на основі похідних гауссіана фактично використовують функції Ерміта. Однак, обчислення коефіцієнтів розкладу сигналу за цими функціями потребує виконання великої кількості трудомістких операцій чисельного інтегрування. Крім того, при комп'ютерній реалізації відповідних алгоритмів дискретизація базисних функцій призводить до порушення їх ортогональності, що в свою чергу, призводить до істотних помилок при аналізі сигналу та його відновленні за узагальненим спектром. Тому в алгоритмі виділення інформативних ознак дискретного сигналу було запропоновано використовувати функції Кравчука, оскільки їх використання в комп'ютерному спектральному аналізі сигналів є вільним від недоліків функцій неперервного аргументу, бо вони з самого початку будуються на скінченній кількості точок як повна ортонормована система функцій дискретного аргументу. На відміну від інших вейвлетів запропонований метод дозволяє вирішити проблему фіксування початкової точки аналізу, оскільки є інваріантним відносно зсуву. Інваріантність досягається завдяки використанню в алгоритмі виділення істотних ознак сигналу методу гіперкомплексних систем (операторів узагальненого зсуву) [4-7].

За результатами вейвлет-аналізу дослідники намагаються розробити певну класифікацію станів людини. Перший етап будь-якої класифікації – це кластеризація результатів. В [2] для оцінки схожості між точками результатів вейвлет-аналізу на основі материнського вейвлету Морлета QRS – комплексу одного обстежуваного в різні проміжки часу було застосовано процедуру кластеризації за методом побудови ієрархічного дерева класифікації в пакеті прикладних програм STATISTICA. Однак, цей метод має серйозні недоліки. По-перше, не завжди можна побудувати розділюючі поверхні, а по-друге, для цього методу не існує чітких критеріїв якості моделі. Тому, останнім часом все частіше кластеризацію здійснюють на нейронних мережах [8].

Для кластеризації результатів вейвлет – аналізу на основі функцій Кравчука було використано мережу Кохонена [9-10]. Нейрона мережа з навчанням без керування є мережею Кохонена або самостворювальною картою ознак. Зазначимо, що при керованому навчанні з вхідними даними містять також і вихідні значення, і мережа повинна відновити відображення, яке переводить перші у другі. У випадку некерованого навчання навчальні дані містять лише значення вхідних змінних і мережа Кохонена вчиться розуміти саму структуру даних. Результати вейвлет-аналізу визначають певний стан серцево-судинної системи в динаміці. Таким чином, мережа Кохонена виконує розвідувальний аналіз даних, а саме – розпізнає кластери у станах і встановлює близькість відповідних станів. Якщо в станах розпізнано класи, то їх можна позначити, після чого в подальшому мережа зможе розв'язувати і задачі класифікації. Мережа Кохонена може виявляти нові стани. Якщо мережа зустрічається зі спостереженням, несхожим на жо-

ден із відомих зразків, то вона не може класифікувати такий набір і тим самим встановить його новизну. Мережа Кохонена має всього два шари: вхідний та вихідний, що складається з радіальних елементів (вихідний шар називається шаром топологічної карти). Елементи топологічної карти розташовуються в деякому просторі, як правило, двовимірному. Навчається мережа методом послідовних наближень. Починаючи з випадковим чином вибраного початкового розташування центрів, алгоритм поступово поліпшує його так, щоб відповлювати кластеризацію навчальних даних. В результаті мережа організується таким чином, що елементи, які відповідають центрам, розташованим близько один від одного в просторі входів, будуть розташовані близько один від одного і на топологічній карті.

Основний алгоритм навчання мережі складається з декількох послідовних епох, на кожній з яких слід опрацювати кожен із навчальних прикладів та виконати визначений набір операцій:

1) вибрати вигравший нейрон (тобто той, який розташований ближче всього до вхідного прикладу);

2) скоректувати вигравший нейрон так, щоб він став більш схожим на цей вхідний приклад (взявши зважену суму попереднього центру нейрона та навчального прикладу).

При обчисленні зваженої суми використовується поступово спадний коефіцієнт швидкості (норми) навчання, для того щоб на кожній новій епісі корекція ставала все більш тонкою. Мірою близькості між кластерним елементом і вхідним прикладом є квадрат евклідової відстані між ними (d^2), що обчислюється за формулою

$$d_j^2 = \sum_{i=1}^n (w_{ij} - x_i)^2, \text{ де } (w_{ij}) - \text{координати } j\text{-го елемента,}$$

(x_i) – координати вхідного прикладу, n – значення розмірності. Координати кластерного елемента оновлюються за формулою: $w_{ij}(m+1) = w_{ij}(m) + \eta(m)(x_i - w_{ij}(m))$, де m – номер епохи, η – норма навчання.

Властивість топологічного впорядкування досягається в алгоритмі за допомогою використання поняття околу, тобто декілька нейронів, які оточують вигравший нейрон. Подібно до швидкості навчання, розмір околу зменшується з часом, так що на останніх етапах окоп стає нульовим (містить лише сам вигравший нейрон). При цьому в алгоритмі Кохонена коректування застосовується не тільки до вигравшого нейрона, але й до всіх нейронів із його поточного околу.

Після того, як мережа навчена розпізнавати структуру даних, її можна використовувати як засіб візуалізації при аналізі даних. Для кожного нейрона можна підрахувати, скільки раз він вигравав при опрацюванні навчальних прикладів, чи поділяється карта на окремі кластери. Якщо опрацювати окремі спостереження, то по зміні топологічної карти можна спробувати з'ясувати чи мають зміст введені кластери. Після того, як кластери виявлено, нейрони карти помічаються змістовними мітками. Коли топологічна карта побудована, на вхід мережі можна подавати нові спостереження. Якщо вигравший при цьому нейрон був раніше помічений ім'ям класу, то мережа виконує класифікацію. У протилежному випадку вважається, що мережа не прийняла ніякого рішення.

Результати та їх обговорення. Для демонстрації методу було обрано окрему гілку вейвлет-аналізу, а саме – послідовний аналіз ЧСС вікном у 8 точок, оскільки

найбільшу проблему при спектральному аналізі викликають саме вузькі високочастотні компоненти, які зазвичай вважають артефактами, але які можуть мати діагностичну цінність при дослідженні потенціалів повільної активації в міокарді. А саме, до послідовності ЧСС, яку отримано під час тестування асоціативної пам'яті обстежуваного (19 років, жіночої статі) довжиною в 1424 точки була застосована покрокова процедура вейвлет – аналізу вікном у 8 точок на основі функцій Кравчука, причому в кожному вікні виділялися інваріантні інформативні ознаки сигналу. Таким чином, було отримано множину з 1246 інформативних ознак послідовності R-R – інтервалів, яка характеризувала стан серцево-судинної системи обстежуваного в динаміці, а саме: по 7 узагальнених спектральних коефіцієнта в 178 вікнах (рис.1.а).

З метою оцінки повторювальності стану обстежуваного до повного набору інформаційних компонент вейвлет – аналізу було застосовано кластерний аналіз за мережею Кохонена (STATISTICA 8.0 (StatSoft, USA, 1984-2007)). Кожен стан визначався 7 інваріантними інформативними ознаками. В моделі для початкового аналізу було обрано наступне співвідношення: 20% випадково отриманих з наданих даних складали навчальну (тестову) множину, а 80% – тренувальну. Якість моделі визначається кількістю пропонувананих елементів, які мають найменші активації, тобто найбільш близькі до відповідних центрів класів. При кластеризації результатів вейвлет – аналізу ЧСС за мережею Кохонена було встановлено, що саме для 8 кластерів активність нейронів є найменшою (153 елементи мали активність 0,1; 15 – 0,2; 5 – 0,3; 1 – 0,4; 4 – 0,5). Найбільш рідкими (особливими) були стани 6 кластеру (1 елемент), 7 кластеру (2 елементи) та 8 кластеру (2 елементи). Таким чином, практично всі стани розбилися на 5 кластерів. Розподіл результатів вейвлет – аналізу по кластерам для 5 субтестів асоціативної пам'яті виявив специфічність станів для кожного з субтестів. Так, для 1 субтесту до 1 кластеру належать 47,73% інваріантних інформативних ознак ЧСС, до 2 – 20,45%, до 3 – 18,18%, до 4 – 9,09%, до 5 – 4,55%, до 6-8 – 0,00%. Для 2 субтесту до 1 кластеру належать 34,29% інваріантних інформативних ознак ЧСС, до 2 – 17,14%, до 3 – 22,86%, до 4 – 14,29%, до 5 – 8,57%, до 6 – 2,86%, до 7-8 – 0,00%. Для 3 субтесту до 1 кластеру належать 37,04% інваріантних інформативних ознак ЧСС, до 2 – 25,93%, до 3 – 14,81%, до 4 – 11,11%, до 5 – 7,41%, до 6-7 – 0,00%, до 8 – 3,70%. Для 4 субтесту до 1 кластеру належать 40,00% інваріантних інформативних ознак ЧСС, до 2 – 30,00%, до 3 – 5,00%, до 4 – 15,00%, до 5 – 5,00%, до 6 – 0,00%, до 7 – 5,00%, до 8 – 0,00%. Для 5 субтесту до 1 кластеру належать 25,00% інваріантних інформативних ознак ЧСС, до 2 – 13,46%, до 3 – 30,77%, до 4 – 13,46%, до 5 – 13,46%, до 6 – 0,00%, до 7 – 1,92%, до 8 – 1,92%. Для першого субтесту значуще більший відсоток інваріантних інформативних ознак ЧСС належить до 1 кластеру, в той час, як для 3 та 4 субтестів характерним є схожий розподіл інваріантних інформативних ознак ЧСС практично по всім кластерам. Другий субтест займає проміжне місце між 1 та 3-4 субтестами за відсотковим розподілом результатів між кластерами. П'ятий субтест відрізняється значуще меншим відсотком приналежності результатів 1 кластеру, та більшим – 3 кластеру.

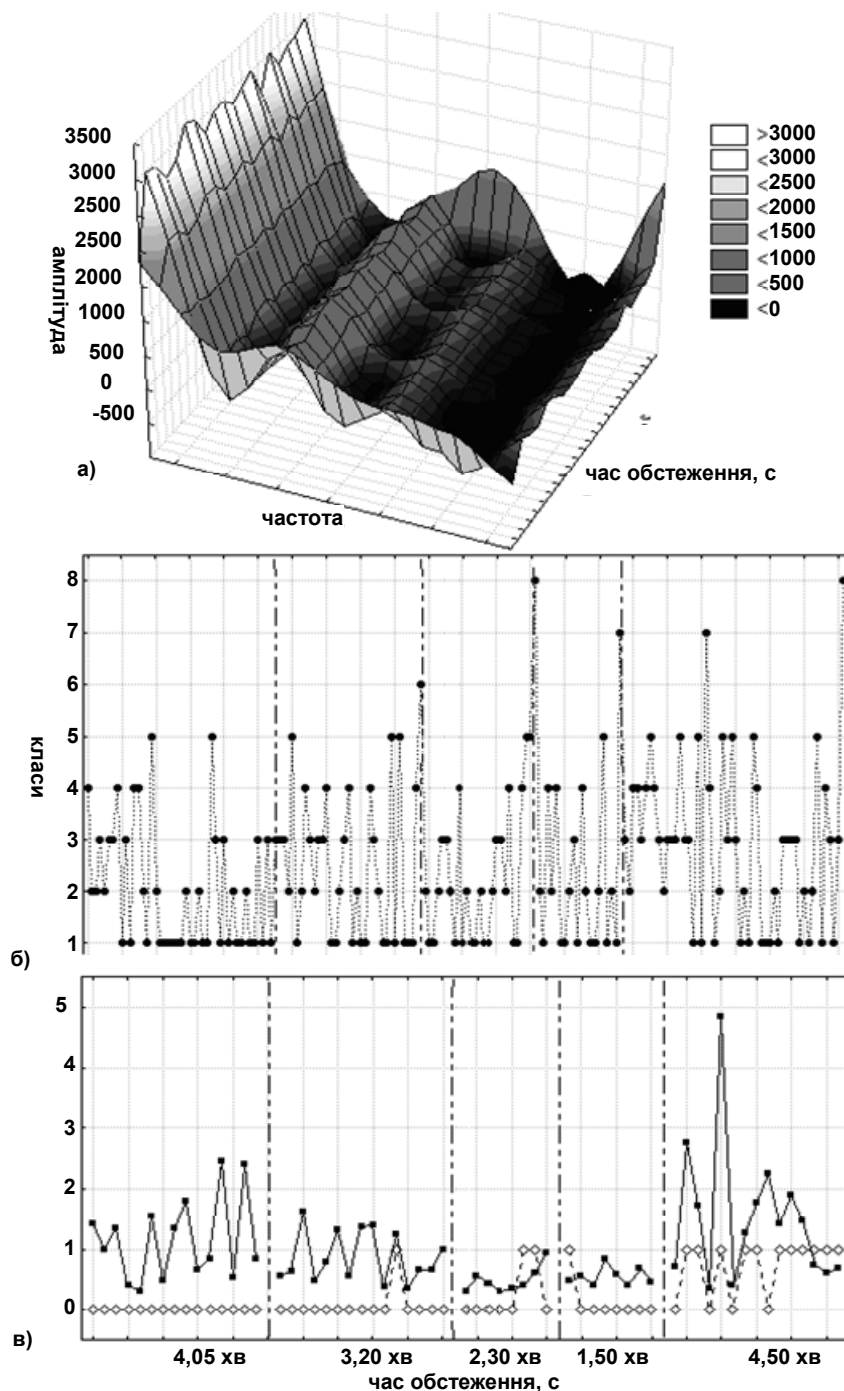


Рис.1. Динаміка стану обстежуваного: а) – за результатами вейвлет-аналізу R-R інтервалів, б) – за нейронною мережею Кохонена, в) – за часом реакції та функцією помилок при виконанні тестових завдань

Таким чином, вейвлет-аналіз виявив схожість в реакціях серцево-судинної системи при тестуванні асоціативної пам'яті за суміжністю за часом та за суміжністю за простором. Найбільш стабільним був стан при тестуванні асоціативної пам'яті за схожістю, що свідчить про можливо найменшу складність завдання. Найбільш складним виявився 5 субтест, який полягав в створенні асоціативних пар. При цьому ЧСС мала найбільший розмах по кластерам (станам). Зазначимо також, що спостерігаємо частоти належності інформативних ознак саме 1-му кластеру були значущо меншими, ніж очікувані, а в 1 субтесті ці частоти були значущо більшими. Тобто, можна припустити, що до 1 кластеру належать інформаційні ознаки, які є характерними для стабільної

(безпомилкової) роботи при не дуже складному когнітивному навантаженні.

Перші припущення, які ми робили при виборі кількості кластерів в моделі полягали в тому, що кожен з субтестів можливо характеризується якимось своїм особливим станом, який проявиться в приналежності інформаційних ознак певному кластеру. Однак, результати кластеризації виявили автокореляційні процеси в стані серцево-судинної системи. Для більшої наочності ми представили результати кластеризації у вигляді графіку, де по осі y відкладені номери кластерів (які, взагалі кажучи, є умовними), а по осі x – час обстеження, тобто динаміку стану по кластерам (Рис.1.б). На Рис.1 представлено сумісні графіки результатів вейвлет-аналізу ЧСС, розподілу цих

результатів по кластерам, часу відповіді в тестових завданнях та наявності/відсутності помилки при відповіді. Можна зробити припущення, що складність когнітивного навантаження проявляється в розкиді автоколивальних процесів, які представлені в динаміці ЧСС по певним фіксованим станам, які можуть не проявлятися при не дуже складних тестових завданнях.

Висновки. Вейвлет на основі функцій Кравчука є дискретним ортогональним вейвлетом, який дозволяє дослідити тонкі структури ЕКГ та з високою точністю представити локальні особливості сигналів у часі. Використання функцій Кравчука та методу гіперкомплексних систем при вейвлет – аналізі забезпечує інваріантність виділення інформативних ознак сигналу. Кластеризація динаміки ЧСС людини за нейронною мережею Кохонена та вейвлет-аналізом на основі функцій Кравчука виявила зміну стану обстежуваного при зміні типу та складності когнітивного навантаження впродовж обстеження.

1. Блаттер К. Вейвлет-анализ. Основы теории. Серия: "Мир математики". – М: Изд-во ТЕХНОСФЕРА РИЦ, 2004 г. – 280 с. 2. Бойцов С.А. Анализ сигнал-усредненной ЭКГ (по данным вейвлет-преобразования) у здоровых и больных ИБС / С.А. Бойцов и др. // Вестник аритмологии. № 23. 2001. – с. 32 – 36. 3. Філімонова Н., Макачук М., Мірошник Т.,

Качуріна К. Взаємозв'язки між показниками асоціативної і оперативної пам'яті у жінок та чоловіків // Вісник Київського університету. Серія Біологія. – 2008. – Вип.54. – С. (у друці). 4. Krawtchouk M. Sur une generalisation des polynomes d'Hermite // C.R. Acad. Sci., Paris. – 1929, v. 189. – P.620 – 622. 5. Vainerman L.I. and Filimonova N.B. Signal processing and polynomials of discrete argument // Systems and Networks: Mathematical Theory and Applications. – Berlin: Akademie Verlag, 1994, Vol.II. – P. 889-890. 6. Vainerman L. and Filimonova N. Hyperspectral imagery with the application of Krawtchouk polynomials // Algorithms for Multispectral and Hyperspectral Imagery. A.Evan Iverson, Editor, Proc. SPIE. – 1994, V.2231 – P.148-155. 7. Забара С.С., Філімонова Н.Б., Зеленський К.Х. Метод виділення інваріантних ознак сигналів // Доповіді Національної академії наук України. – 2009. – №3. – С. 55-59. 8. Ubeyli E.D. Wavelet/mixture of experts network structure for EEG signals classification // Systems with Applications: An International Journal. – V. 34, Issue 3 (April 2008). – P. 1954-1962. 9. Каллан Р. Основные концепции нейронных сетей. – М.: Издательский дом "Вильямс", 2001. – 287 с. 10. Нейронные сети. STATISTICA Neural Networks. – М.: Горячая линия. – Телеком, 2000. – 182 с.

Надійшла до редколегії 28.10.09

УДК 579.222:577.217.32

Ю. Кондратюк, асп., М. Бабарик, студ.,
Л. Сидорик, канд. біол. наук, О. Корнелюк, д-р біол. наук

ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОЦЕСУ БІОСИНТЕЗУ КАТАЛІТИЧНОГО МОДУЛЯ ТИРОЗИЛ-ТРНК СИНТЕТАЗИ ССАВЦІВ ТА ЙОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУНОХІМІЧНИМИ МЕТОДАМИ

Проведено оптимізацію умов бактеріальної експресії N-кінцевого каталітичного модуля тирозил-тРНК синтетази. Досліджено вплив концентрації індуктора синтезу цільового білка на його кінцевий вихід, а також встановлено оптимальний час культивування бактеріальної культури до та після додавання індуктора. Запропоновано оптимальну схему культивування культури E. coli BL21(DE3)pLysE для досягнення високого рівня виходу рекомбінантного білка. Методом імуноблотингу виявлено імунологічний перехрест між двома формами тирозил-тРНК синтетази – повнорозмірною та її каталітичним модулем.

The optimization of the conditions of bacterial expression of N-terminal catalytic module of tyrosyl-tRNA synthetase was conducted. The influence of the concentration of inducer synthesis of target protein at its final output and the best time of cultivation bacterial culture before and after adding inducer was investigated. The optimal conditions for cultivation culture E. coli BL21 (DE3) pLysE to achieve a high level expression of recombinant protein was proposed. As it has been shown by immunoblotting the polyclonal antibodies against tyrosyl-tRNA synthetase reacted both with the native enzyme and with its catalytic form.

Вступ. Аміноацил-тРНК синтетази (АРСази) є ключовими ферментами дорибосомного етапу біосинтезу білків, які каталізують реакцію приєднання певної амінокислоти до відповідної тРНК. Крім своєї основної функції, АРСази можуть виконувати неканонічні функції, які безпосередньо не пов'язані з біосинтезом білка [2].

Тирозил-тРНК синтетаза (TyrRS, КФ 6.1.1.1) ссавців є найбільш вивченою АРСазою ссавців, і складається з каталітичного та некаталітичного доменів, яким властиві деякі неканонічні функції. Так ізольований N-кінцевий каталітичний модуль (39K TyrRS), що відповідає вкороченій формі ферменту ("мінімальна" TyrRS), має повну ферментативну активність в експериментах *in vitro* і в той же час може функціонувати як цитокін (подібний до інтерлейкіну-8) та стимулювати ангиогенез. COOH-кінцевий модуль TyrRS теж має подвійну функцію: бере участь у взаємодії з тРНК як фактор, що підсилює специфічність зв'язування тРНК з синтетазою, та після протеолітичного розщеплення функціонує як цитокін (подібний до цитокіну EMAP II), що стимулює хемотаксичну активність моноцитів, підсилює прокоагуляційну активність ендотеліальних клітин [1, 3, 8, 9].

Вивчення процесу біосинтезу еукаріотичних білків в прокаріотичних клітинах приваблювало значну увагу дослідників [4]. Значною мірою це зумовлено потребою оптимізації процесів біотехнологічного виробництва, розробкою та створенням медичних препаратів нового

покоління на основі цих білків [11, 13], яким може являтися і досліджуваний нами, а з огляду на те, що окремі модулі та мутантні форми тирозил-тРНК синтетази мають унікальні властивості, тому оптимальні умови експресії необхідно підбирати індивідуально для кожного модифікованого білка.

Імунохімічні методи дослідження значно розширюють можливості вивчення як традиційних, так і неканонічних функцій клітинних компонентів. Вони дають можливість вивчати структуру та функції білків на молекулярному та клітинному рівнях, тому зараз при вивченні структурно-функціональної організації ферментів, у тому числі і АРСаз, широкого застосування набули імунохімічні методи з використанням як полі-, так і моноклональних антитіл [6, 7].

В даній роботі нами проведено дослідження впливу умов культивування на вихід каталітичного модуля повнорозмірної TyrRS, з метою отримання даного білка у великих кількостях, здійснено його афінну очистку та проведено імунохімічне дослідження за допомогою поліклональних антитіл до повнорозмірної тирозил-тРНК синтетази для виявлення імунологічного перехресту між двома формами тирозил-тРНК синтетази – повнорозмірною та її каталітичним модулем.

Об'єкт та методи досліджень. В роботі використаний штам-продуцент рекомбінантного білка, одержаний на основі реципієнта *Escherichia coli* BL21(DE3)pLysE.

Штам трансформований за загальноприйнятою методикою [5] відповідним сконструйованим плазмідним вектором pET30a-39K TyrRS, у якого під контролем промотора фага T7 містяться гени, що кодують синтез відповідного білка: N-кінцевий каталітичний модуль тирозил-тРНК синтетази (39K TyrRS). Генетичним маркером плазміді pET30a є ген *kan*, що забезпечує стійкість трансформованих клітин до канаміцину. Штам-продуцент вирощували на середовищі Luria-Bertani з додаванням антибіотика канаміцину до кінцевої його концентрації в розчині 30мкг/мл. Культуру інкубували при температурі 37 °C та інтенсивній аерації (130 об/хв) до досягнення нею оптичної густини 0,3-1,3 (залежно від часу культивування культур). Оптичну густину (OD_{600}) визначали спектрофотометрично (спектрофотометр BioMate-5, Велика Британія) при довжині хвилі 600 нм.

Для індукції синтезу рекомбінантного білка в культуральне середовище додавали ізопропіл- β -тіогалактопіранозид, ІПТГ, до кінцевої концентрації: 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5 мМ. Підбирали час культивування культури до (1, 2, 3 год) та після (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 год) індукції. Рекомбінантний білок отримували із супернатанту лізованих клітин методом металхелатуючої хроматографії на Ni-NTA-агарозній колонці. Клітини руйнували ультразвуком. Освітлювали лізат центрифугуванням. Супернатант наносили на колонку з Ni-NTA-агарозою (Qiagen, США). Цільовий білок елюювали буфером для елюції (50 мМ натрій-фосфатного буферу, 150 мМ NaCl, 200 мМ імідазолу, 5 мМ β -меркаптоетанолу). Фракції, що містили цільовий білок діалізували. Аналіз бактеріальних білків проводили з допомогою SDS-гель-електрофорезу по Леммлі в денатуруючих умовах (12%-ий розділяючий гель) [10], використовуючи суміш маркерних білків фірми Fermentas (Литва). Гелі фарбували Coomassie blue R-250. Вміст білків визначали денситометрично (денситометр LKB UltroScan XL, Швеція). При статистичній обробці результатів дослідження використовували пакет статистичних програм STATISTICA 7.0.

Поліклональні антитіла до повнорозмірної тирозил-тРНК синтетази (отримана нами за схемою, аналогічною розробленій для експресії каталітичного модуля повнорозмірної TyrRS) одержували згідно методики, розробленій раніше [12], використовуючи кроликів-самців масою тіла 2-3 кг. Імунізацію проводили препаратом тирозил-тРНК синтетази в повному ад'юванті Фрейда з розрахунку 50 мкг ферменту на одного кролика. Через 8-10 тижнів проводили повторну імунізацію такою ж кількістю антигена, а через 4 тижні кроликів імунізували втретє дозою 100 мкг фермента в неповному ад'юванті Фрейда. На 8 день після третьої імунізації визначали вміст специфічних антитіл в сироватці крові кроликів. Титр антитіл визначали імуноферментним методом (ELISA). Фракцію імуноглобулінів отримували трикратним висолюванням антисироватки насиченим розчином сульфату амонію до кінцевої концентрації 50%. Очищення поліклональних антитіл проводили на DEAE-целюлозі. Пікові фракції об'єднували і чистили методом афінної хроматографії на протеїн-G сефарозі. Ефективність очищення антитіл контролювали за допомогою електрофорезу.

Специфічність отриманих антитіл до тирозил-тРНК синтетази визначали методом імуноблотингу (Western-blot) для повнорозмірної синтетази та для N-кінцевого каталітичного модуля. Білкові препарати розділяли електрофорезом в ПААГ в денатуруючих умовах по методу Леммлі [10] і переносили на нітроцелюлозні фільтри ("Amersham", Велика Британія) пасивною дифузією. Фільтри відмивали в буфері PBST і блокували вільні

сайти адсорбції. Фільтри інкубували з антитілами (50 мкг/мл) протягом 1,5 год, відмивали буфером PBST, обробляли протягом 1 год антитілами проти цілої молекули IgG кроля, кон'югованої з пероксидазою хрому. Блот фарбували розчином кумарової кислоти і люмінолу в 100 мМ трис-HCl з 0,05 % H_2O_2 .

Результати та обговорення. Показано, що кінцевий вихід цільового білка в значній мірі залежить від таких умов культивування, як кількість індуктора синтезу білка, що вноситься в культуральне середовище, час культивування культури до та після додавання індуктора. Нами було досліджено вплив даних факторів на синтез N-кінцевого каталітичного модуля тирозил-тРНК синтетази. При підвищенні концентрації індуктора до 1 мМ спостерігалось чітке зростання рівня експресії білка. При подальшому збільшенні кількості ІПТГ така тенденція втрачалась і навпаки відмічався спад рівня експресії. Максимальна кількість білка спостерігалась за умови додавання в середовище культивування індуктора на другу годину росту культури ($OD_{600}=0,7-0,9$), що пояснюється імовірним досягненням культурою найбільш сприятливої фази росту. При дослідженні рівня експресії білка залежно від часу культивування культури після індукції показана максимальна його кількість в культуральному середовищі на четверту годину росту. За наступного культивування культури також спостерігали деякий приріст кількості цільового білка, але він був незначним в порівнянні зі стрімким збільшенням кількості білка при вирощуванні бактеріальної культури протягом перших чотирьох годин. Згідно до підібраних умов культивування проведено бактеріальну експресію та афінну очистку білка 39K TyrRS, отримано необхідну для подальших досліджень кількість даного білка високого ступеня чистоти (більше 95%).

Проведено бактеріальну експресію повнорозмірної рекомбінантної тирозил-тРНК синтетази, отримано поліклональні антитіла до цього білка та проведено їх афінну очистку. Методом імуноблотингу показано імунологічний перехрест між двома формами тирозил-тРНК синтетази – повнорозмірною та "мінімальною" TyrRS (рис. 1). Аналогічні результати були отримані для природної тирозил-тРНК синтетази та її вкороченої форми [7], що підтвердило спільне походження обох форм ферменту.

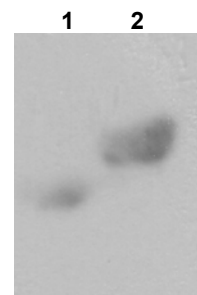


Рис. 1. Дані по імунохімічному перехресту між двома формами рекомбінантної тирозил-тРНК синтетази

1 – N-кінцевий каталітичний модуль тирозил-тРНК синтетази
2 – повнорозмірна тирозил-тРНК синтетаза

З даних літератури відомо, що триптофаніл-тРНК синтетази еукаріот, еубактерій та архебактерій мають подібну антигенну детермінанту, не суттєву для каталітичної активності цих ферментів. Еволюційна консервативність цього елемента дозволяє припустити можливість інших функцій у триптофаніл-тРНК синтаз, крім утворення триптофаніл-тРНК [7]. З іншого боку, для серил-тРНК синтетази з печінки бика за допомогою поліклональних афінно очищених антитіл було показано

міжвидовий перехрест між серил-тРНК синтетазою різних представників класу еукаріот, що не відмічалось у випадку з прокариотичними ферментами. Це свідчить про відсутність гомології в антигенних детермінантах серил-тРНК синтетаз еукаріот та прокариот [12].

Висновки. Таким чином, встановлено, що оптимальна кількість ІПТГ для експресії N-кінцевого каталітичного модуля тирозил-тРНК синтетази становить 1 мМ, а час культивування бактеріальної культури до та після індукції синтезу цільового білка – дві та чотири години відповідно.

В результаті проведеного імунохімічного дослідження за допомогою афінно очищених поліклональних антитіл показано, що рекомбінантна тирозил-тРНК синтетаза та її вкорочена форма, N-кінцевий каталітичний модуль, мають спільні структурні детермінанти, очевидно, пов'язані з ідентичними структурними послідовностями.

1. Гнатенко Д.В., Корнелюк А.И., Курочкин И.В. и др. Выделение и характеристика функционально активной протеолитически модифицированной формы тирозил-тРНК синтетазы из печени быка // Украинский биохимический журнал. – 1991. – 63, № 4. – С. 61-67. 2. Корнелюк А.И. Структурно-функциональное исследование тирозил-тРНК синтетазы млекопитающих // Биополимеры и клетка. – 1998. – т. 14, № 4. – С. 349-359. 3. Леванец О.В., Найденов В.Г., Одынец К.А. и др. Гомология C-концевого некаталитического домена тирозил-тРНК синтетазы млекопитающих с цитоксином ЕМАРІІ и некаталитическими доменами мети-

онил- и фенилаланил-тРНК синтетаз // Биополимеры и клетка. – 1997. – Т.13. – № 16. – С. 474-478. 4. Малишко С.В., Скороходова А.Ю., Зименов Д.В. и др. Использование метаболической регуляции для оптимизации экспрессии генов в бактериальных клетках – новое направление XXI века // Биотехнология. – 2002. – № 4. – С. 3-14. 5. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 479с. 6. Рибкинская Т.А., Корнелюк А.И., Берестень С.Ф. и др. Иммунохимический подход к изучению структуры тирозил-тРНК синтетазы из печени быка // Биополимеры и клетка. – 1991. – т. 7, № 5. – С. 33-36. 7. Рожко О.Т., Корнелюк А.И., Рибкинская Т.А. и др. Получение поликлональных антител к тирозил-тРНК синтетазе из печени быка и характеристика двух форм фермента // Укр. биохим. журн. – 1997 – т. 69, №3. – С. 9-16. 8. Ivanov K.A., Moor N.A., Lavrik O.I. Non-canonical functions of aminoacyl-tRNA synthetases // Biochemistry (Moscov). – 65 (2000). – P. 888-897. 9. Jia, Li, Y. Jin, T.P. Wang. Expression, purification, and characterization of human tyrosyl-tRNA synthetase // Protein Expr. and Purif. – 27 (2003). – P. 104-108. 10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – V. 227, № 259. – P. 680-685. 11. Salde V.S., Khattar S.K., Singh Srin K. Production of active eukaryotic proteins through bacterial expression systems: review of the existing biotechnology strategies // Mol. Cell Biochem. – 307 (2008). – P. 249-264. 12. Sidorik L.L., Gudžera O.I., Dragovoz V.A. et al. Immuno-chemical non-cross-reactivity between eukaryotic and prokaryotic seryl-tRNA synthetases // FEBS Letters – V. 292, № 1, 2. – P. 76-78. 13. Terpe K. Overview of bacterial expression systems for heterologous protein production: from molecular and biochemical fundamentals to commercial systems. Applied Microbiology and Biotechnology. – 72 (2008). – P. 211-222.

Надійшла до редколегії 23.11.09

УДК 615.038

А. Полякова, студ., О. Вороніна, канд. біол. наук

МЕЛАНІН: НОВИЙ ЗАСІБ ПРОФІЛАКТИКИ РАКУ ШЛУНКА

На сьогодні рак є другою провідною причиною смертності людей після хвороб серця. Тому профілактика передракових захворювань є актуальною проблемою, далекою від вирішення. Останнім часом отримані дані про фармако-терапевтичні ефекти меланіну при патологіях різного генезу, однак роль меланіну в профілактиці передракових станів шлунка залишається нез'ясованою.

Cancer is estimated as a second major cause of human death worldwide, and the problem of its effective prevention is not resolved yet. Melanin was recently found to have a wide range of pharmacotherapeutic preventive actions in various pathologies. Despite this, its role in gastro-protection and stomach cancer is still not known.

Вступ. Рак шлунка складає значну проблему для сучасної онкології. В структурі онкозахворюваності рак цієї локалізації в Україні займає четверте місце і складає біля 30%.

Важливими факторами, що призводять до розвитку передракових хвороб, є інфекція *Helicobacter pilory* (Нр), нерегулярне харчування, вживання грубої їжі, знаходження сучасного суспільства у постійно спресованому стані, зловживання алкоголем, а також важливу роль відіграє генетична схильність до самої хвороби. Люди з генетичною схильністю знаходяться у групі ризику і потребують частого обстеження та відмови від шкідливих факторів [1].

В основі процесів розвитку гастроантропогенезу лежить порушення процесів регенерації, що в подальшому призводить до розвитку дисплазії. Під дисплазією розуміють стійкі морфофункціональні зміни оболонки, що заключаються в порушенні диференціювання та дозрівання клітин епітелію з появою нетипічних форм разом зі зміною структури епітеліальної поверхні [3].

Передракові захворювання шлунка. На сьогодні існує цілий спектр передракових захворювань шлунка та причин подальшого утворення раку шлунка:

– поліпи слизової оболонки шлунка: в цю групу включають аденоматозні поліпи, поліпи фундальних залоз та фіброїдні утворення. Гіперпластичні поліпи складають 25-40% всіх поліпів шлунка, але вони рідко здатні до ракової трансформації, тоді як аденоми, які рідше зустрічаються, значно частіше малигізуються. Так звані поліпозні синдроми (Пейтца-Джигерса, Гард-

нера, Кронкайта-Канада) також можуть послужити базою для раку шлунка, особливо синдром Гарднера [8].

– особливе місце в гастроантропогенезі займає проблема генетичної схильності до раку шлунка. Недавнє повне вивчення геному хворих на рак шлунка показало, що хромосома 2q33-q33 являється локусом для проксимального раку. Разом з тим склалося уявлення про 2 типи гастроантропогенезу – інтестинальний та дифузний. Перший розвивається за схемою: гастроіританти> хронічне запалення> атрофія> інтестинальна метаплазія> рак, другий за схемою: генетична схильність> мутації> дисплазії> аденоми> рак. Початковим етапом альтерації являються процеси де- та гіперметилування ДНК за рахунок зміни активності ДНК-метилтрансферази. При цьому виділяють 2 типи метилування генів – тип А (пов'язаний з віковими змінами) та тип С (тумор-специфічний). Зрозуміло, що процес гастроантропогенезу характеризується багатоступінчатістю і різним проявленням різних генів на різних етапах [8].

Також до факторів, що мають спадкову природу можна віднести: вміст пепсиногену 2 в сировотці крові; порушення в процесах секреції НСІ; вроджений дефіцит альфа-1-антитрипсину та альфа-2-макроглобуліну, що являються інгібіторами протеолітичних ферментів шлункового та панкреатичного соків, що захищають слизову оболонку від самоперетравлювання і беруть участь в фізіологічних процесах регенерації; відсутність 3-ї фракції холінестерази; відсутність в плазмі крові кишечно-го компоненту і зниження індексу В лужної фосфатази; змінена властивість відчувати смак фенілтіокарбаміду [9]; 1 група крові та позитивний резус-фактор. Роль

Helicobacter pilori у розвитку раку шлунка не підтверджена, але НР впливає на розвиток виразки шлунка та хронічного запалення. Геном НР складається з 1650000 пар нуклеотидів [10], експресуючи різні гени патогенності – *Cag A*, *Vac A*, *Ice A*, *Sub A*, *Oip A* та інші [6, 7]. *Bab B* забезпечує адгезію мікроба на поверхні клітини, *Vac A* секретує екзотоксин, що порушує клітинну мембрану, *Cag A* транслокується в інтрацелюлярний простір епітеліальних клітин шлунка, де через механізм активації клітинної фосфатази SHP-2 починається продукція цитокінів [6]. Персистенція НР формує локальну клітинно-гуморальну відповідь, який і веде до хронічного запалення з подальшою атрофією [7, 10].

Кишечна метаплазія зустрічається достатньо часто, особливо при хронічному гастриті. При гістологічному дослідженні у ділянці метаплазії спостерігаються всі клітинні елементи, характерні для кишечного епітелію: бокаловидні ентероцити, клітини з апікальною зернистістю (клітини Пенета) та інші [4]. Загалом виділяють 2 типи метаплазії – повна (нагадує тонку кишку) та неповна (товсту кишку). Для повної метаплазії характерна наявність всіх клітин, що зустрічаються у тонкій кишці. Келихоподібні клітини, як правило, лежать суцільним шаром. Наявність клітин Пенета – найбільш важлива ознака повної кишечної метаплазії [8, 9].

При неповній метаплазії бокалоподібні клітини розміщені серед високих призматичних клітин. Клітини Пенета не виділяються. В епітелії виявлено поліморфізм ядер, значно збільшені ядерно-цитоплазматичні відношення [4].

Дисплазію також розглядають як передракові зміни шлунка. Під дисплазією розуміють стійкі морфофункціональні зміни оболонки, що полягають в порушенні диференціювання та дозрівання клітин епітелію з появою атипичних форм разом зі зміною структури епітеліальної поверхні. Дисплазія поверхнево-ямкового епітелію характеризується збільшенням розмірів клітин, ядер, наявність ядерець; при дисплазії метаплазованого епітелію основна ознака – гіперхромія ядер, не різко виражений поліморфізм, велика секреторна активність. Відмінності цитологічних характеристик дисплазій стосуються клітинного складу метаплазованого епітелію – повним та неповним набором ентероцитів [3, 4, 6]. Дисплазії в слизових оболонках можуть виникати як в шлунковому епітелії, так і в епітелії вогнищ кишкової метаплазії. Морфологічним відображенням і наслідком цього є інші ознаки дисплазії: клітинна атипія, порушення диференціювання клітин, дезорганізація структури слизової оболонки. Тому, чим далі, все більше постає питання про пошуку нових речовин, що мали б змогу захищати слизову оболонку шлунка від уражень.

Пошук профілактичних засобів передракових змін. Останнім часом найбільш пріоритетним напрямком по вирішенню питань теоретичної медицини, є пошук природних ефекторів для лікування захворювань різного ґенезу. Це викликано тим, що, перш за все, природні метаболіти (або їх аналоги), не тільки мають високу специфічність до окремих систем клітинного обміну, але здатні легко адаптуватися до систем транспорту через клітинну мембрану. Крім того, при використанні натуральних компонентів не порушується регуляція клітинного метаболізму: їхній вплив не викликає зсуву у функціонуванні інших процесів обміну [2, 13, 16]. Тому, увага спеціалістів сьогодні обернена до меланінів – природних клітинних пігментів, що відносяться до групи низькомолекулярних фенольних сполук.

Фармакологічні властивості меланіну. Більшість природних меланінів існує в нерозчинній формі, що є однією з головних причин обмеженої інформації про їх

властивості. Створення синтетичних розчинних меланінів та дослідження їх фізіологічних та хімічних властивостей засвідчило їх ефективний вплив на ключові процеси клітинного метаболізму, широту спектра біологічної активності, що роблять ці речовини привабливими для використання як діючі субстанції фармацевтичних препаратів [2, 8, 15]. Окрім цього, меланінам відводиться роль універсальних протекторів при дії на клітину фізико-хімічних факторів мутагенної та канцерогенної природи.

Разом з цим, навіть небагаточисельні дослідження показали, що фармакологічний ефект меланінів має свої особливості. Так, Рубан Е.Л. [6], було встановлено, що препарати меланінів у вигляді водних суспензій, що були введені підшкірно або внутрішньом'язево, мають виключно локальну дію. Більш ефективними виявляються водні або фізіологічні розчини меланінів, введені перорально або внутрішньовенно.

В процесі травлення меланін частково всмоктується за участю мікрофлори кишечника, частково виконує роль ентеросорбенту, регулятора перистальтики, нормалізує склад кишкової флори, запобігає виразкоутворенню, знижує кількість крововиливів в слизову оболонку шлунка та перешкоджає зниженню маси тіла тварин в умовах стресу [1, 2, 14].

Меланін має такі властивості: стимулюючий вплив на моторику шлунка і кишки, має холінергічну природу і його дія блокується м-холіноблокаторами; виявляє виражену цитопротективну дію на слизову оболонку шлунка щурів, що супроводжується зменшенням її ураженості і ступеня структурно-геморагічних пошкоджень, викликаних методами іммобілізаційного стресу, введенням серотоніну та етанолу; зменшує інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів та збільшує активність ферментів антиоксидантної системи, що й обумовлює його цитопротективний вплив; пригнічує стимульовану гістаміном шлункову секрецію у собак та стимульовану гістаміном і пентагастріном секрецію у щурів [11, 17]. Меланін зменшує виділення в кров гормону стресу кортизолу під час дії на організм різних стресових ознак; найбільш важливою дією є антипухлинний вплив.

Механізм протекторної дії меланіну. Специфічна структура молекули меланінів, яка забезпечує поліфункціональність властивостей пігментів, забезпечує надійний захист клітинних систем від екзогенних факторів канцерогенної природи.

Одним з проявів протекторних функцій меланіну є його фотозахисна дія. Припускають, що при дії УФ-опромінювання, енергія, що поглинається меланінами, може розсіюватися у вигляді тепла або частково використовуватися в обернених реакціях хінон-гідрокінонових структур [18]. При цьому, відмічається, що поруч з оберненими змінами може мати місце і деградація молекул меланіну, при чому продукти фотоліза мають токсичні властивості [19].

При дослідженні процесу перекисного окислення в системі крові при малих дозах радіації, було показано, що при дії меланіну гриба *Cladosporium cladosporioides* збільшується інтенсивність вільнорадикальних процесів в системі крові [5, 6].

Вивчення протекторної особливості меланінвмісних бактерій виявило наявність в них майже всіх основних механізмів репаративного відновлення ДНК. Доведено, що під дією УФ-опромінення, збільшується ДНК-полімеразна та ДНК-лігазна активність меланінвмісних грибів [12].

Показано, що меланін бере участь в репарації ДНК, процесах функціонування дихального ланцюга як акцептор електронів, являється модулятором таких важливих систем клітинного метаболізму як фото- та радіо-

протекція, нейтралізує продукти перекисного окислення ліпідів та бере участь у нейромедіаторних процесах при багаточисельних патологічних порушеннях функціонування структур нейронів. Також, меланіни являються універсальними протекторами при дії на клітину фізико-хімічних факторів мутагенної та канцерогенної природи [2].

Таким чином, вивчення біохімічних, молекулярних впливів одного з природних клітинних пігментів – меланінів показує можливість використання його фармако-терапевтичного ефекту при лікуванні захворювань різного ґенезу.

Але, на даний час не вивчено молекулярних механізмів цитопротекторної дії меланінів на епітеліальні клітини кишково-шлункового тракту. Перед використанням меланіну передусь проведення багатьох експериментів по визначенню дії на тваринний організм.

1. Барановський А.Ю. Неблагоприятные варианты течения язвенной болезни. // Диалект, 2006. – 140 с. 2. Борщевская М. И., Васильева С.М. Развитие представлений о биохимии и фармакологии меланиновых пигментов // Вопр. мед. химии. – 1999. – Т. 45, № 1. – С. 13-24. 3. Васильев К.В. Влияние меланина на экспериментальное выражение ушуров // Вісник проблем біології і медицини. – 2000. – Випуск 4. – С. 33 – 36. 4. Ефетов В.М. Рак желудка // Лікування та діагностика. – 2003. – №4. – С.30. 5. Затула Д.Г., Слабоспицька А.Т., Свищук А.А., Жданова Н.М. (1976) Мікробіологічний журнал. 38, №1. 29-32. 6. Жданова Н.Н., Походенко В.Д., Гаврюшина А.И., Гольнская И.С.

- (1973) Изв. АН СССР. Сер. Биол. № 3, 324-333. 7. Ивашкин В. Т., Шептулин А.А. Болезни пищевода и желудка. – М.: Медпрессинформ. – 2002. – 143 с. 8. Н.К. Малиновская, Ф.И. Кормаров, С.И. Рапопорт Мелатонин в лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Клиническая медицина. – 2006. – №1. – с. 5 – 11. 9. Пасечников В.Д., Чуков С.З. Доказательства *Helicobacter pylori* – ассоциированного желудочного канцерогенеза и разработка стратегий профилактики рака желудка // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии желудка. – 2006. – №5. – с. 82 – 90. 10. Периферичні механізми регуляції процесів цитопротекції. – Львів.: ВМС. – 2007. – С. 159 – 170. 11. Савицький Я.М. Влияние меланина на секреторную функцию желудка, процессы цитопротекции та моторику проксимального відділу травної системи // Автореф. дис. канд. біол. наук. – Львів., 2002. – 17 с. 12. Сидорик Е.П., Дружина М.О., Бурлака А.П., Данко М.И., Пухова Г.Г., Жданова Н.М., Школьный О.Т. (1994) Докл. АН Украины. № 9, 174-178. 13. Харченко Н.В., Чернышов В.В. Инфекция *Helicobacter pylori* как фактор риска возникновения рака желудка // Сучасна гастроентерологія. – 2002. – №4. – с. 60 – 62. 14. Ю.Л. Шальков, Л.М. Герасимов, Л.А. Михайличенко. Рак желудка: оценка факторов возникновения в свете личной профилактики // Харьковская хирургическая школа. – 2005. – №2(16). – С. 26–29. 15. Шапошников А.В. Предраковые заболевания желудка // Клиническая медицина. – 2007. – Т. 85, № 2. – С.4-9. 16. Шпарик Я. В., Шиян Р.Д., Кочмар Т. Б. Пухлины травной системы // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии желудка. – 2006. – Т.16, № 5. – с.82 – 90. 17. Kawasaki, M, Hizawa, K, Aoyagi, K, et al. Menetrier's disease associated with *Helicobacter pylori* infection: Resolution of enlarged gastric folds and hypoproteinemia after antibacterial treatment // Am J Gastroenterology. – 1997. – P.92-190. 18. Stepień K. (1988) Acta Polon. Pharmac. 45, N 5, 435-440. 19. Sealy R.C., Felix C.C., Hyde J.S., Swartz H.M. (1980) Free Radical in Biology. 4. – P.209-252.

Надійшла до редколегії 01.12.09

УДК 578.81

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

АДАПТАЦІЯ ФАГІВ 223-17/1 ТА 7591 14/1 *P. SYRINGAE PV. TABACI* ПРИ ЗМІНІ ХАЗЯЇНА

Проаналізовано здатність фагів фітопатогенних бактерій, виділених із природи адаптуватися до іншого хазяїна. Встановлено, що у разі зміни хазяїна досліджуваних фагів змінюється ефективність репродукції. Про це свідчили титри фагів, що були визначені для кожного пасажу.

The ability of phytopathogenic bacteria phages isolated from nature to adapt to another host was analyzed. The changes of reproduction effectiveness in case of host changes were established. It was confirmed by titers of phages determined after each passage.

Вступ. Важливим питанням екології бактеріофагів є вивчення та аналіз еволюційного пристосування фітопатогенних бактерій та їх фагів до умов співіснування в агроценозах. Бактеріальні віруси залежать від бактерії-хазяїна та пов'язані з нею спільною історією коєволюції [4] та зумовлюють регулюючий вплив на чисельність мікрофлори. У зв'язку із чим, актуальним завданням у області дослідження польових фагів є вивчення адаптації їх популяцій до нового хазяїна [3]. Така необхідність виникає у фагів, у момент вичерпання ресурсу існуючих хазяїв. При цьому, новий хазяїн може бути представлений іншим таксономічним видом. Дана зміна потребує адаптації фагів особливостей метаболізму нової бактеріальної клітини, що супроводжує такий перехід. Метою наших досліджень був аналіз здатності фагів фітопатогенних бактерій, виділених із природи адаптуватися до іншого хазяїна.

Об'єкт та методи досліджень. В роботі використовували готові, комерційні агаризовані поживні середовища, на основі рибного гідролізату. Штами фітопатогенних бактерій *P. syringae pv. tabaci* IMV 223 та *P. savastanoi pv. phaseolicola* IMV 4013 були отримані із колекції музею Інституту мікробіології та вірусології імені академіка Д.К.Заболотного НАН України, відділу фітопатогенних бактерій. Фаги виділені безпосередньо із природних осередків від рослин цукрового буряку та культивувались в лабораторії на штамі *P. syringae pv. tabaci* IMV 223. Титр фагів визначали в бляшкоутворю-

юючих одиницях на мл (БУО/мл) по Грація [2]. Пасажі проводили шляхом виколлювання окремої негативної колонії та визначення титру. В процесі аналізу здатності фагів 223 17/1 та 7591 14/1 до адаптації, штамі *P. syringae pv. tabaci* IMV 223 приймали за вихідну культуру, а *P. savastanoi pv. phaseolicola* 4013 розглядали, як наступного хазяїна. За один цикл адаптації приймали шість пасажів фагів на одному із вказаних штамів.

Результати та їх обговорення. Було встановлено, що у разі зміни хазяїна досліджуваних фагів змінюється ефективність репродукції. Про це свідчили титри, що були визначені для кожного пасажу (Табл.1). Перехресна зміна хазяїна із поверненням до вихідного штаму дозволяло судити щодо властивості фагів зберігати здатність ефективно розмножуватись на певному штамі. Як видно з таблиці, обидва використані фаги мали однакові "стартові умови". Вони після першого циклу пасажів характеризувались однаковою активністю до свого традиційного хазяїна, штамі *P. syringae pv. tabaci* 223. При визначенні спектру літичної активності цих фагів було встановлено, що другий, із використаних штамів *P. savastanoi pv. phaseolicola* 4013 також був чутливим до ураження фагів. Це свідчило про наявність відповідних фагових рецепторів

Враховуючи, що штами відносились до різних видів, по відношенню до фагів їх здатність підтримувати розмноження останніх мало певні особливості.

Таблиця 1. Титри фагів при інфікуванні чутливого хазяїна в поживному бульйоні, в ряді пасажів та при зміні хазяїна

Варіант	Назва вірусу	I пасаж	II пасаж	III пасаж	IV пасаж	V пасаж	VI пасаж	Титри в бульйоні
1	1 цикл пасажів фага 223-17/1 на <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> 223	4x10 ⁶	3x10 ⁶	5x10 ⁶	4x10 ⁶	6x10 ⁶	4x10 ⁶	10 ¹⁰
2	2 цикл пасажів фага 223-17/1 на <i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> 4013	6x10 ³	3x10 ⁴	7x10 ⁵	4x10 ⁴	10 ⁴	2x10 ⁵	10 ⁸
3	3 цикл пасажів фага 223-17/1 на <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> 223	6x10 ⁵	6x10 ⁶	7x10 ⁶	3x10 ⁶	6x10 ⁶	4x10 ⁶	10 ¹⁰
4	1 цикл пасажів фага 7591-14/1 на <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> 223	6x10 ⁵	5x10 ⁵	7x10 ⁵	5x10 ⁵	2x10 ⁶	4x10 ⁶	10 ⁷
5	2 цикл пасажів фага 7591-14/1 на <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> 223	4x10 ³	3x10 ⁴	2x10 ⁴	2x10 ⁵	3x10 ⁵	2x10 ⁵	10 ⁵
6	3 цикл пасажів фага 7591-14/1 на <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i> 223	9x10 ⁵	4x10 ⁵	2x10 ⁵	3x10 ⁵	8x10 ⁵	6x10 ⁵	10 ⁶

Як видно із представлених даних, ефективність репродукції фагів, при зміні хазяїна змінюється впродовж пасажів за який проходить їх адаптація.

Для обох фагів було характерно різке падіння титрів в першому пасажі після зміни хазяїна з *P. syringae* pv. *tabaci* IMV 223 на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013. Як відомо, такий вплив може бути зумовлений наявністю в бактеріальній клітині систем рестрикції-модифікації [1, 5, 6]. Наступна динаміка зміни титрів у фагів показує, що в обох випадках відбувається їх адаптація до нового бактеріального штаму.

Після пасажів фаги виявляли стабільну літичну активність. У кінці циклу із шести пасажів, вони мали високі титри, що були визначені, як указувалось вище, для потомства однієї негативної колонії (табл.1). Однак, при реверсному переході до вихідного хазяїна інфекційна активність фагів на декілька порядків падала.

Як відомо, вважається, що зазвичай зміни хазяїв не зумовлюють генетичних змін у фагів [4]. Однак, титр фагу 7591-14/1 в третьому циклі пасажів повністю не відновився і був нижчим. Це дозволяє припустити, що в даному випадку може мати місце вплив ферментних систем хазяїна на ДНК фагу, які викликали необоротні зміни.

Висновки. Виявлене падіння титрів фагів 223 17/1 та 7591 14/1 при перших етапах їх клонування на штамі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 дозволяє говорити про наявність у складі клітин цього штаму систем рестрикції-модифікації. Порівняння фагів 223 17/1 та 7591 14/1 дозволили виявити різницю у їх чутливості до

впливу ферментних систем хазяїв. Зокрема повторні тривалі пасажі фагу 7591 14/1 на штамі *P. syringae* pv. *tabaci* IMV 223 не дозволяють повністю нівелювати вплив попереднього хазяїна *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013. За таких же умов фаг 223 17/1 мав титр аналогічний стартовому.

Здатність до ефективної репродукції, при зміні хазяїна у фагів виділених із природи, показана за умови їх тривалого клонування на певному штамі. Враховуючи, що в екосистемі може бути присутній пул різних фагів до потенціального хазяїна, його ресурс може бути суттєво *P. syringae* pv. *tabaci* IMV 223 на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 обмеженим. У зв'язку із чим питання про існування у відкритих екосистемах умов, для тривалих клонувань популяцій фагів, що забезпечують оптимальні умови для адаптації до нового хазяїна залишається відкритим.

1. Лурия С., Дарнелл Дж., Балтимор Д., Кемпбелл Е. Общая вирусология. – М.: Мир, 1981. – 680 с. 2. Adams M. Bacteriophages. – INC. New York, 1959. – 527 с. 3. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, March 2001, Vol. 45, No. 3. – P. 649-659. 4. Weitz J.S., Hartman H. and Levin S.A.. Coevolutionary arms races between bacteria and bacteriophage, Department of Ecology and Evolutionary Biology, Princeton, NJ 08544; and Center for Biomedical Engineering, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, May 18 – 2005. – P.1-5. 5. Wilson G. Organization of Restriction-Modification Systems // Nucleic Acids Research. – 1991. – Vol. 19. – p. 2539-2566. 6. Wilson G. Restriction and Modification Systems Annual Review of Genetics. – 1991. – Vol. 25. – p. 585-627.

Надійшла до редколегії 05.11.09

УДК:581.1:633/35:577.125:504.73

О. Ситар, канд. біол. наук

УЧАСТЬ СІРКИ В РЕГУЛЯЦІЇ АДАПТИВНИХ ЗМІН ЛІПІД-ПІГМЕНТНОГО КОМПЛЕКСУ РОСЛИН СОЇ ЗА УМОВ ДІЇ ІОНІВ СВИНЦЮ

Показано можливість регуляції сіркою активності захисних систем за умов дії іонів свинцю на прикладі змін у ліпід-пігментному комплексі рослин сої. У рослин, що вирощувались без додавання сірки в поживне середовище за умов дії іонів свинцю на 48 годину експозиції спостерігали зменшення вмісту суми хлорофілів, каротиноїдів та гліколіпідів МГДГ. У рослин сої, що були вирощені на живильному середовищі з додаванням сірки зміна складу гліколіпідних компонентів на дію іонів свинцю протягом періоду експозиції характеризувалась спрямованим захистом фотосинтетичних пігментів від пошкодження активних форм кисню, про що на 48-му годину експозиції свідчить вміст суми хлорофілів на рівні контролю.

The possibility of regulation by sulfur activity of protective systems of soybean plants upon lead ions action on change of lipid-pigment complex was studied. The plants grown without addition of sulfur in nutrient solution on 48 hour of exposure had decrease of total chlorophyll content, carotenoids and MGDG. In variant with sulfur in nutrient medium was observed modified glycolipids contents upon lead ions action. These changes could characterize protection of photosynthetic pigments from damage ROS. At 48-th hour of exposure in this variant the total chlorophyll content was on control level.

Вступ. Серед важких металів (ВМ) свинець є одним із головних природних токсикантів, з якими рослинний організм все частіше зустрічається у зв'язку з наростаючим антропогенним впливом на оточуюче середовище. Адаптація і стійкість рослин значною мірою залежать від функціонування їх фотосинтетичного апарату

[2]. Основну роль у підтриманні фотосинтетичних мембран відіграють ліпіди та пігменти. Саме ці структурно-функціональні компоненти мембран виступають важливою ланкою у формуванні адаптивних реакцій [14], в результаті яких підвищується стійкість живої системи до зовнішніх впливів.

Детоксикація важких металів в значній мірі визначається здатністю клітин продукувати тіолові сполуки [12]. Цілий ряд ендogenous сірковмісних сполук (білки, сульфоліпіди, тіолові сполуки) задіяні у функціонуванні ферментативних та неферментативних систем захисту клітини від дії іонів важких металів [8, 15]. Таким чином, регуляторні властивості сірки в адаптивних процесах рослин можуть бути важливим елементом сучасних технологій вирощування сільськогосподарських культур. Тому видається актуальним дослідження можливості регулювання активності захисних систем екзогенною сіркою для послаблення або уникнення негативного впливу важких металів на фотосинтетичні мембрани рослин сої.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведено на рослинах сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Устя. В модельних експериментах рослини сої вирощували на різних живильних середовищах – з сіркою та без сірки методом водної культури: освітленість – 5000 лк, температура – 20-25°C і тривалість світлового періоду – 16 годин. Після досягнення проростками 14-добового віку рослини обробляли 0,5 мМ розчином нітрату свинцю шляхом позакореневого обробки і проводили визначення основних фізіолого-біохімічних параметрів стресового стану рослин на 6-у, 24-у, 48-у годину після обробки. Контроль – обприскування дистильованою водою.

Специфічні зміни складу компонентів ліпід-пігментного комплексу досліджували у фотосинтетичних тканинах сої [3].

Екстракцію, розділення і кількісне визначення ліпідів проводили за методом Зіл्ला та Хармона [17] в модифікації Яковенко та Міхно [7]. Розділення ліпідів на фракції здійснювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на силікагелі. Кількісно галактоліпіди визначали шляхом денситометрії на сканувальному денситометрі фірми "Shimadzu" порівняно зі стандартами відповідних речовин [16].

Результати та їх обговорення. Типовим показником стану фотосинтетичного апарату рослин є вміст фотосинтетично активних пігментів, які визначають метаболічні процеси організму і є чутливими індикаторами стану рослин. З інформації, наявної в літературі, відомо, що надходження підвищених концентрацій іонів свинцю в корені та подальше пересування їх в надземні фотосинтезуючі органи призводить до негативного впливу на різні метаболічні процеси [4]. Зокрема, під впливом ВМ порушується ультраструктура хлоропластів, знижується вміст хлорофілів і каротиноїдів. При

цьому хлорофіл *b* є більш чутливим до дії свинцю, що може бути результатом як інгібування процесів біосинтезу його ферментів, так і їх руйнування [1].

В наших дослідженнях, за умов моделювання впливу іонів свинцю на рослини сої та з'ясування ролі сірки в процесах адаптації фотосинтетичного апарату до цього несприятливого чинника, були встановлені до певної міри схожі, але все ж таки специфічні особливості у зміні вмісту пігментів. Перш за все слід відмітити, що у варіантах з сірчаним підживленням (дослід + S, +Pb) на 48-у годину експозиції вміст пігментів був на рівні значень контрольного варіанту (контроль +S). А в рослин, що вирощувались без сірчаного підживлення (дослід – S, +Pb) на 48-у годину експозиції вміст пігментів після перенесеного свинцевого стресу знижувався більш суттєво та набував значень значно нижчих контролю (контроль – S) (рис. 1 А).

Вміст каротиноїдів під впливом свинцевого стресора (рис. 1 Б) найбільш суттєво зменшувався на 48-му годину експозиції в листках рослин сої, які вирощувались без внесення сірки в живильне середовище та зазнали впливу іонів свинцю.

Зовсім інші зміни вмісту каротиноїдів виявлені у рослин вирощених на живильному середовищі з внесенням сірки. На 6-у годину експозиції спостерігалась тенденція до зменшення вмісту каротиноїдів, а на 24-у годину експозиції їх вміст зростав на 19%. А вже на 48-му годину експозиції їх вміст був на рівні контролю, що може свідчити про стабілізацію вмісту пігментів, а відповідно, і їх біосинтезі. Зміни логічно пов'язуються зі змінами хлорофілів у даних варіантах.

Відомі різні механізми захисту фотосинтетичного апарату від фотоокиснювального стресу за участю каротиноїдів. Каротиноїди активно знешкоджують надлишок АФК, які утворюються внаслідок дії ВМ, захищаючи пігменти і ненасичені жирні кислоти ліпідів від окиснювального пошкодження [6].

Паралельно зі зміною вмісту фотосинтетичних пігментів було відмічено зміни у вмісті гліколіпідів: моногалактозилдіацилгліцеролу (МГДГ) дигалактозилдіацилгліцеролу (ДГДГ) що є основними гліколіпідами мембрани тилакоїдів хлоропластів вищих рослин. На МГДГ в мембрані тилакоїдів припадає 50%, а на ДГДГ – 30% [11]. Зокрема, внаслідок активації іонами свинцю процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) на 6-ту годину експозиції вміст МГДГ знижувався у варіанті без внесення сірки в поживне середовище на 31% (рис. 1 А).

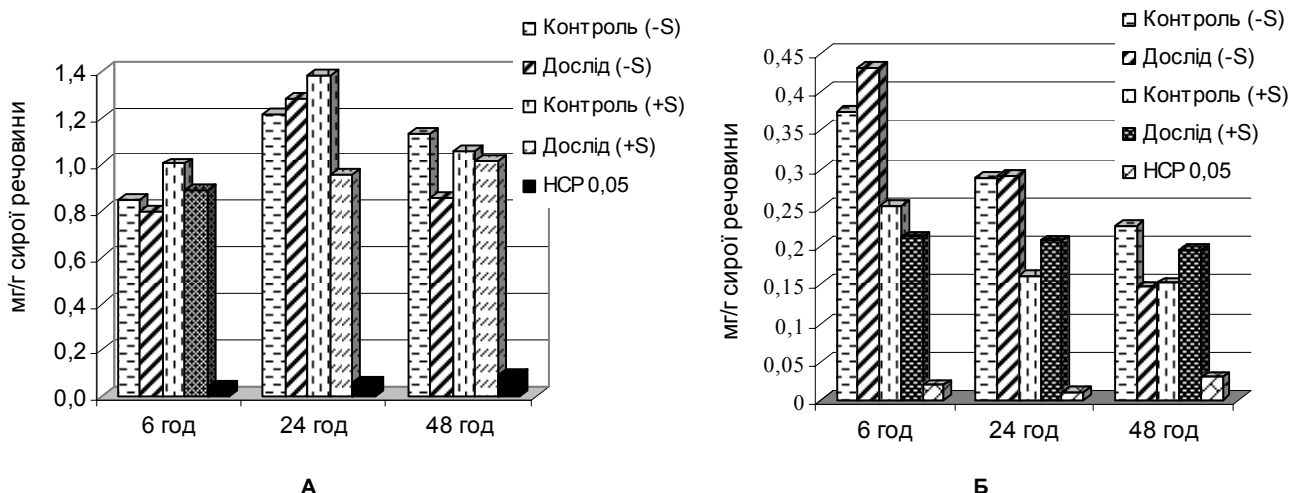


Рис. 1. Вміст суми хлорофілів (А) та каротиноїдів (Б) в рослинах сої, вирощених без додавання та з додаванням сірки в живильне середовище за умов дії іонів свинцю

Так як однією з головних функцій ліпідів у мембрані є підтримання певної конформації ферментних білків а, відповідно, і їх активності [9], то можна припустити, що на 6-ту годину активуються механізми детоксикації іонів свинцю. Останні пов'язані з трансформаціями гліколіпідних компонентів мембран і, зокрема, гліколіпідів мем-

бран тилакоїдів, тому вже на 24-у годину експозиції в даному варіанті було відзначено зростання вмісту МГДГ. Та вже на 48-у годину експозиції кількість МГДГ зменшилась на 25% у рослин, вирощених на поживному середовищі з додаванням сірки (+S +Pb) (рис. 2А).

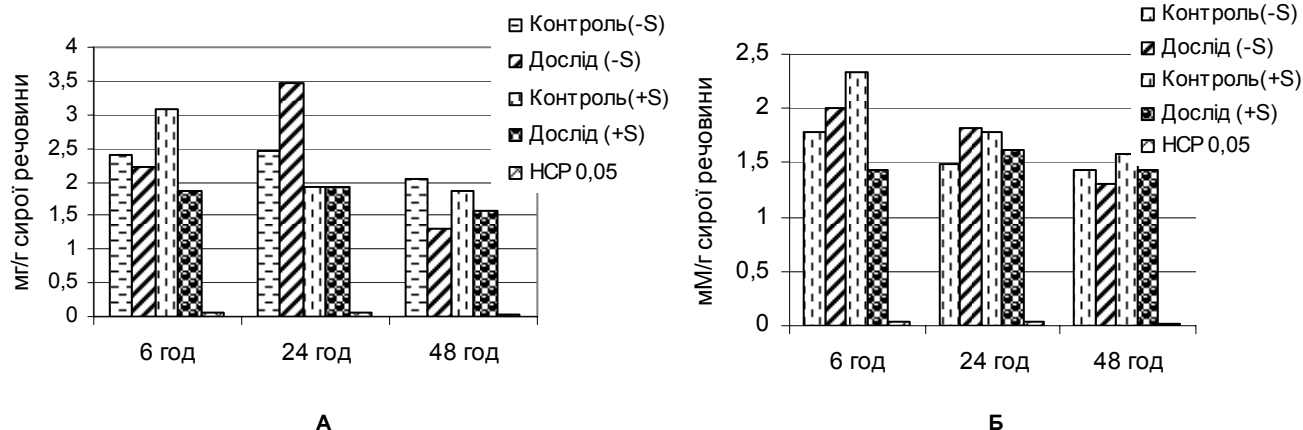


Рис.2. Зміна співвідношення вмісту МГДГ(А) та ДГДГ(Б) у рослин сої, вирощених без додавання та з додаванням сірки в живильне середовище за умов дії іонів свинцю

У варіанті без внесення сірки в живильне середовище зниження вмісту МГДГ було значно більшим порівняно з рослинами сої, вирощеними на живильному середовищі з додаванням сірки. При цьому вміст ТБК-активних продуктів на 24-ту та 48-ту години експозиції був нижчий контролю, що може свідчити про деструктивні процеси в мембрані, які сумісно з іншими факторами можуть призвести до інгібування процесів фотосинтезу [10]. Останнє, зокрема в нашому досліді, проявляється у зменшенні вмісту суми хлорофілів на 48-му годину експозиції (див. рис. 1).

Гліколіпід ДГДГ асоційований виключно з фотосинтетичними мембранами й таким чином відіграє суттєву роль у структурі та функції фотосинтетичного апарату. Однією із важливих функцій ДГДГ є участь у процесах окисації води ФСII, тому зміни вмісту ДГДГ мають модифікуючий вплив на останній [13].

За результатами наших досліджень вміст ДГДГ на 6-ту годину експозиції зростав у рослин сої, вирощеної без додавання сірки (-S+Pb). Дана тенденція до зростання збереглась і на 24-ту годину експозиції. На 48-му годину вміст ДГДГ зменшувався 9% (рис. 2Б).

Зовсім інша картина спостерігається у рослин сої, вирощених на живильному середовищі з додаванням сірки. На 6-ту годину експозиції відмічено зниження вмісту ДГДГ на 38%. Тенденція до зменшення вмісту ДГДГ зберігалась і на 24-ту годину експозиції. Але вже на 48-му годину вміст ДГДГ наближались до контрольних значень (див. рис. 2Б).

На нашу думку, за дії іонів свинцю для забезпечення нормального функціонування фотосинтетичного апарату при наявності в клітині АФК може зменшуватись активність окислюючого воду комплексу, яка може бути пов'язана зі зменшенням вмісту ДГДГ. Оскільки ДГДГ пов'язаний зі структурами окислюючого воду комплексу, а зміни його вмісту мають модифікуючий вплив на останній [13], то, можливо, клітина може реагувати на стрес сповільненим синтезом кисню. Зокрема зменшення вмісту ДГДГ на 38% відмічено на 6-ту годину експозиції у рослин сої, вирощених на живильному середовищі з сіркою.

Тенденція до зростання ДГДГ у рослин, вирощених на живильному середовищі без внесення сірки може

бути пов'язана із модифікуючою зміною окислюючого воду комплексу в напрямку його активації, і при цьому подальше зростання процесів гідролізу води може негативно впливати на функціонування фотосинтетичного апарату, що і продемонстровано у вигляді зменшення вмісту хлорофілів.

Аналогічне зростання вмісту ДГДГ за дії різних концентрацій свинцю спостерігалось і в роботах інших дослідників [5].

Висновки. Таким чином у рослин, що були вирощені на живильному середовищі з додаванням сірки зміна складу гліколіпідних компонентів на дію іонів свинцю протягом періоду експозиції характеризувалась спрямованим захистом фотосинтетичних пігментів від пошкодження АФК. Можливо дана адаптивна реакція на дію іонів свинцю розвивалась таким чином за рахунок більш активного функціонування ферментативної та неферментативної систем захисту.

1. Алексеева-Попова Н.В. Токсическое действие свинца на высшие растения. Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов / Под ред. Алексеевой-Поповой Н.В. – Л.: Ленинград, 1991. – С.92-100.
2. Берри Дж.А., Даунтон У.Дж.С. Зависимость фотосинтеза от факторов окружающей среды. Фотосинтез/Под ред.Говинджи. – М.: Мир, 1987. – Т. 2. – С.273-364.
3. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1975. – 392 с.
4. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Том.26, №2. – С.107-117.
5. Косик О.І. Трансформація ліпід-пігментних компонентів фотосинтетичних тканин *Triticum aestivum* L. за умов свинцевого навантаження: Автореф. дис. канд. біол. наук. – К., 2003.
6. Таран Н.Ю. Каротиноїди фотосинтетичних тканин за умов посухи // Физиология и биохимия культ. растений. – 1999. – Том 31, №6. – С.414-422.
7. Яковенко Г.М., Михно А.И. Методы выделения и разделения по классам липидов хлоропластов растений // Физиология и биохимия культ. растений. – 1971. – Том 3, №6. – С.651-656.
8. Harwood J.L., Okanenko A.A. Sulphoquinovosyl diacylglycerol (SQDG) – the sulpholipid of higher plants. *Sulphur in Plants*. – Kluwer Academic Publishers, 2003. – P.189-221.
9. Kruijff B. de, Pilon R., Hof R., Demel R. Lipid-protein interactions in chloroplast protein import. In: *Lipids in photosynthesis: structure, function and genetics* // Advances in photosynthesis 6. – The Netherlands: Kluwer Acad. Publ, 1998. – P. 191-208.
10. Krupa Z., Baszynski T. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reaction // *Acta Physiol. Plant.* – 1995. – Vol.17. – P.177-190.
11. Murata N., Siegenthaler P.A. 1998. Lipids in Photosynthesis: an overview. In: Siegenthaler P.A., Murata N. (Eds.), *Lipids in photosynthesis: structure, function and genetics. Advances in photosynthesis 6*, pp. 1-20. – The Netherlands, Kluwer Academic Publishers.
12. Pawlic-Skowronska B. Relationships between acid-soluble thiol peptides and accumulated Pb in the green alga *Stichococcus bacil-*

laris // Aquat.Toxicol. – 2000. – Vol.50, №3. – P.211-230. 13. Reifarth F., Christen G., Seeliger A.G., Dormann P., Benning C., Renger G. Modification of the water oxidizing complex in leaves of the *gdc1* mutant of *Arabidopsis thaliana* deficient in the galactolipid digalactosyl diacylglycerol I // Biochemistry. – 1997. – Vol.36. – P.11769–11776. 14. Svetlova N., Sytar O., Taran N. Carotenoid and glycolipid transformation of wheat caused by oxidative stress action // 16th International Plant Lipid Symposium (4 June 2004 y.), Budapest, Hungary, 2004. – P.113. 15. Tausz M., Gullner G,

Komives T. and Grill D. The role of thiols in plant adaptation to environmental stress. Sulfur in Plants, Kluwer Academic Publishers. – 2003. – P.221-244. 16. Yamamoto H. High speed quantitative assay on TLC/HPTLC plates. Instrumental HPTLC. Ed. W. Berth & R. Raser. – 1980. – P. 367-384. 17. Zill L. Harmon E. Lipids of photosynthetic tissue. I. Salicylic acid chromatography of the lipids from whole leaves and chloroplasts // Biochem.Biophys.Acta. – 1962. – Vol.57, №3. – P.573-575.

Надійшла до редколегії 02.12.09

УДК 612.82/83; 612.821

К. Максимова, асп., В. Кравченко, канд. біол. наук,
С. Крижановський, канд. біол. наук, М. Макачук, д-р біол. наук

МОЗКОВА НЕЙРОДИНАМІКА У ЖІНОК В РІЗНІ ФАЗИ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛУ ПРИ ПЕРЕГЛЯДІ АФЕКТИВНИХ ЗОБРАЖЕНЬ

Досліджено електричну активність головного мозку при пред'явленні зорових стимулів Міжнародної системи афективних зображень (IAPS) з різним емоційним забарвленням у жінок в різні фази менструального циклу. Показано, що сприйняття обстежуваними жінками афективних зображень порівняно з нейтральними супроводжується характерною перебудовою мозкової електричної активності, яка виявляє певну залежність від фаз менструального циклу. Перегляд афективних зображень, які здатні викликати як позитивні, так і негативні емоції, найбільше активував головний мозок жінок у фолікулярну фазу менструального циклу, тоді як найнижчий рівень індукованої такими зображеннями активації відмічається у фазу овуляції за максимальної концентрації естрогену в організмі жінок. Найвищий рівень мозкової активації при перегляді зображень із нейтральним змістом порівняно з іншими фазами спостерігався в лютеїнову фазу при переважанні цих процесів у правій півкулі.

The current research was focused on brain electrical activity analysis during presentation of visual stimuli of the International Affective Picture System images (IAPS) in the different emotional valence in women with different of menstrual cycle phases. It was revealed that affect images perception in comparison with neutral ones is accompanied by characteristic alteration of cerebral electric activity that finds out certain dependence on the phases of menstrual cycle. Screening of affect images able to cause both positive and negative emotions, mostly activated the women's brain in the follicle menstrual cycle phase, while the lowest level of the induced activating by those images, marked in the phase of ovulation during the maximal concentration of estrogen in the women's organism. The greatest level of brain activation when neutral images were presented was observed in a lutein phase comparing to other phases at predominance of these processes in a right hemisphere.

Вступ. Останні дослідження показують, що мозок є більш чутливим до статевих гормонів, ніж вважалося раніше, не тільки на ранніх етапах розвитку, але й у зрілому стані. Виявлено, що естрогени впливають на різні ділянки нервової системи, що пов'язані з вищими когнітивними функціями, на больову чутливість, контроль рухів, настроїв [1]. Коливання рівня статевих гормонів впродовж менструального циклу впливає на вербальні і моторні здібності [2], проте їх ефекти на сприйняття емоційно значущої інформації майже не досліджені. Однією з стратегій дослідження того, чи пов'язані зміни у функціонуванні мозку з коливаннями рівня циркулюючих статевих гормонів у жінок, є вивчення змін біоелектричної активності головного мозку у різні фази менструального циклу. Вважається, що зміни рівня статевих гормонів впродовж менструального циклу впливають на ЕЕГ, особливо на альфа-ритм. Зокрема, показано, що під час пременструальної фази (23-28 дні циклу) підвищується частота і знижується потужність альфа-ритму, підвищується бета- і знижується тета-активність порівняно з постовуляторною чи лютеїновою фазою (15-23 дні) та менструацією (1-5 дні) [3]. Враховуючи вплив естрогенів на різні структури лімбічної системи, що пов'язані з емоційними процесами, кору великих півкуль [2], а також на основні нейротрансмітерні системи мозку [4], можна зробити припущення про можливі відмінності у сприйнятті емоційно забарвленої інформації у жінок під час різних фаз менструального циклу, які характеризуються різним рівнем статевих гормонів.

Метою даного дослідження було оцінити особливості змін активності головного мозку при сприйнятті емоційно забарвленої інформації у різні фази менструального циклу у молодих жінок.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідженні як обстежувані взяли участь 18 студенток університету, віком 18-21 рік, з регулярним впродовж року менструальним циклом тривалістю 27-35 днів, які не вживали

гормональні протизаплідні препарати. Всі обстежувані були здорові, тобто на момент дослідження не вживали ліків, не хворіли на неврологічні чи психічні захворювання. Кожна студентка брала участь в дослідженні тричі в різні фази менструального циклу: у фолікулярну фазу (2-4 день циклу); овуляції (12-16 день циклу); у лютеїнову фазу (21-25 день циклу). Наявність і час овуляції перевірялись за характером кристалізації слини за допомогою тест-мікроскопа "Арбор" (реєстраційне свідоцтво МЗ України № 817/2002). Метод заснований на тому, що під час овуляції, коли концентрація естрогенів у крові жінки стає максимальною, в слині зростає концентрація солей, що виявляється в максимальній кристалізації слини – феномен "листіків папороті".

У всіх обстежених жінок впродовж кожного обстеження ЕЕГ реєстрували: в стані спокою (закриті очі) – 3 хв; при пред'явленні зображень, що здатні викликати позитивні емоції – 1,5 хв; при пред'явленні нейтральних стимулів – 1,5 хв; при пред'явленні зображень еротичного характеру – 1,5 хв; при пред'явленні зображень, що здатні викликати негативні емоції – 1,5 хв; стані спокою (закриті очі) – 3 хв. Між кожним із цих етапів також реєструвалася ЕЕГ (1,5 хв) при пред'явленні беззмістовних зображень сірого кольору двох типів, які по чергову змінювали одна одну. У якості зорових стимулів на екрані монітора комп'ютера демонстрували фотографії Міжнародної системи афективних зображень (IAPS) [5], відібрані за нормативними значеннями гедонічної оцінки емоцій. Час пред'явлення одного стимулу становив 6 с.

ЕЕГ реєстрували монополярно за допомогою діагностичного комплексу "Нейрон-Спектр" (ООО "Нейрософт", Росія), як референтний використовувався імпілатеральний вушний електрод. Електроди розміщувалися за міжнародною системою 10/20% у 14 симетричних точках лівої і правої півкуль головного мозку: середньофронтальних (F3/F4), латеральнофронтальних (F7/F8), центральних (C3/C4), центропарієтальних (C5/C6), парієтальних (P3/P4), темпально-парієтальних (T3/T4), темпально-висхідних (T5/T6), висхідних (Fz, Cz, Pz), висхідних (F7, F8, T3, T4, T5, T6, Fz, Cz, Pz).

льних (C3/C4), передніх (T3/T4) та задніх скроневих (T5/T6), тім'яних (P3/P4) і потиличних (O1/O2).

Для аналізу ЕЕГ-показників використовувались тільки безартефактні фрагменти. За допомогою швидкого перетворення Фур'є визначалась спектральна потужність (мкВ^2) для ряду частотних діапазонів: тета (4,0-7,9 Гц), альфа (8,0-12,9 Гц), бета низькочастотний (13,0-19,9 Гц) та бета високочастотний (20,0-35,0 Гц). Епоха аналізу становила 2,56 с, перекриття – 1,28 с. Смуга пропускання – 1-35 Гц. Крім того, розраховувався коефіцієнт активації (КА) як відношення потужності сумарного бета-діапазону до потужності альфа-діапазону.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 7.0 (Statsoft, USA, 2004). Оскільки розподіл майже всіх показників був відмінним від нормального (за критерієм Лілієфора), то для порівняння залежних вибірок застосовували критерій знакових рангів Вілкоксона. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним $p=0,05$.

Результати та їх обговорення. Як видно з результатів дослідження, представлених в рис.1, перегляд емоційно-забарвлених зображень різного змісту супроводжується характерною перебудовою мозкової електричної активності, яка, окрім того, має свої особливості залежно від фаз менструального циклу жінок. Сприйняття емоційних стимулів в цілому характеризується трьома компонентами, які забезпечуються різними мозковими структурами. По-перше, оцінка знаку емоційного стимулу (приємний-неприємний), в якій провідну роль згідно нейрологічної моделі, описаної в [6] відіграють лобні частки, причому ліва переважає при обробці позитивних стимулів, а права – негативних. По-друге, активаційне забезпечення сприйняття емоційного сигналу (arousal), що опосередковане участю тім'яних часток у регуляції активуючих систем мозку, і, по-третє, моторний компонент емоційного переживання, що може проявлятися у відставленні чи наближенні певного стимулу, останній регулюється переважно через впливи орбітофронтальної кори та правої тім'яної частки на лімбічні структури та базальні ганглії. В нашій роботі завданням обстежуваних було пасивно переглядати ряд зображень, відповідно ми припускаємо, що за таких умов відбуватимуться зміни у ділянках неокортексу, пов'язаних з оцінкою стимулів та активаційним компонентом.

Як видно з рис.1, **при перегляді нейтральних зображень** в усі фази відбувалось зниження потужності альфа-діапазону у лівій потилично-скроневій зоні (O1, T5), що є закономірним, оскільки відомий зв'язок між депресією альфа-ритму та розвитком активаційних процесів у кортикальних зонах, пов'язаних з аналізом зорових стимулів [3]. У фолікулярну фазу додатково спостерігалась активація правої тім'яно-потилочно-скроневої ділянки, таким чином відбувалось залучення в аналіз зображень симетричних задньопотилічних ділянок неокортексу на фоні зниження КА в лобних ділянках (F3 та F8). Оскільки зображення не мали емоційного навантаження, можна припустити, що в аналізі таких зображень найменше залучені лобні частки, необхідні для оцінки значущості стимулів. У фазу овуляції спостерігалась переважно лівопівкульна активація, що зосереджувалась в скронево-центральному зонах. Найбільш топографічно поширена депресія альфа-ритму та зростання КА при спогляданні ряду нейтральних зображень спостерігались у лютеїнову фазу (права лобна, центральна, тім'яна і потилична).

При перегляді **позитивних зображень** спостерігалась характерні тільки для цього виду зображень зрос-

тання потужності високочастотного бета-діапазону, що відображує когнітивний компонент сприйняття. Динаміка змін потужності різних ЕЕГ діапазонів при перегляді цього типу стимулів найбільш суттєво відрізнялася в різні фази менструального циклу. Найбільш масштабні (за кількістю залучених ділянок мозку) зміни відбувались у фолікулярну фазу – зростання потужності високочастотного бета-діапазону у всіх ділянках, низькочастотного бета-діапазону в лобних, лівій скроневій та правій центральній зоні. Крім того, в фолікулярну фазу реєстрували зростання потужності тета-діапазону в лівій потиличній та симетричних задніх лобних ділянках (F7, F8), що, очевидно, відображує емоційну складову сприйняття цих зображень.

Під час овуляції перегляд емоційно-позитивних зображень супроводжувався збільшенням високочастотних компонентів бета-діапазону в лівій лобно-скроневій зоні кори, тоді як у потиличних зонах відбувалось зниження низькочастотної складової бета-діапазону (різноманітні зміни). В цілому перебудова ритміки відбувалась в лівій півкулі, що узгоджується з уявленнями про її домінуючу роль в обробці приємних стимулів. Характерно, що під час овуляції перегляд позитивних картинок супроводжувався найменшими змінами КА порівняно з іншими фазами (зростав тільки у лівому скроневому відведенні).

У лютеїнову фазу фокус активації був локалізований в правих лобно-центрально-ділянках (зростання високочастотних спектральних компонентів ЕЕГ) та зниження альфа-ритму в лівій скронево-потилічній зоні. Такі зміни, за результатами дослідження ЕЕГ-корелятив ФМРТ-сигналів [7], відображують включення процесів уваги. Зважаючи, що загалом посилення бета-активності відбиває когнітивний компонент сприйняття зорових зображень, можна зробити висновок, що найбільш напруження та зосередження при перегляді активних зображень із позитивним змістом були характерні для фолікулярної фази. А от сприйняття приємних стимулів в інші фази супроводжується латералізацією активаційного забезпечення сенсорних та аналітичних процесів у лівій (овуляція) та правій (лютеїнова фаза) півкулях відповідно.

Перегляд негативних зображень в цілому супроводжувався падінням потужності альфа- та низькочастотного бета-діапазонів у симетричних потилично-скроневих ділянках неокортексу, що відображує активацію зорових асоціативних ділянок. Якщо порівнювати динаміку ЕЕГ-змін при перегляді нейтральних і неприємних зображень, то сприйняття останніх додатково супроводжувалося зниженням потужності в низькочастотному бета-діапазоні в усіх фазах менструального циклу. Оскільки альфа- та бета-діапазони традиційно розглядають як протилежні за функціональним значенням [3], не виключено, що в даному випадку відбувались зміни активності тонічних контролюючих систем неокортексу, внаслідок чого могла змінюватись потужність широких частотних смуг ЕЕГ-спектру. Звертає увагу збільшення КА в тім'яних ділянках в усі фази менструального циклу, що на нашу думку може відображувати включення активуючих мозкових систем [6], яке є цілком закономірним для негативних стимулів.

У кожній фазі менструального циклу також відмічались певні особливості перебудов ЕЕГ-активності. Так, під час фолікулярної фази спостерігалось зростання тета-активності у лівій лобній (F7) та депресія альфа-діапазону в центральні-скроневих ділянках лівої півкулі. КА зростав у всіх тім'яно-потилочно-скроневих ділян-

ках. У фазу овуляції зміни в альфа та низькочастотному бета-діапазонах були симетричними, з незначним переважанням у лівій півкулі. Як і при перегляді приємних картинок, у цю фазу відмічалась найменша активація неокортексу, про що свідчить зростання КА тільки лівому тім'яному відведенні (P3). А от у лютеїнову фазу зональний розподіл змін відрізнявся від інших фаз – споглядання неприємних зображень супроводжувалось зниженням низькочастотної бета-активності в правих тім'яно-потиличних зонах на фоні зниження потужностей в альфа і тета-діапазонах у задньоскроневій ділянці (T6). Перегляд неприємних зображень в цю фазу викликав зростання КА лише в правих скронево-тім'яних ділянках.

Перегляд зображень еротичного змісту супроводжувався депресією потужності альфа- та низькочастотного бета-діапазонів у тім'яно-потиличних та правій скроневій зонах. Нагадаємо, що аналогічне зниження було зареєстроване нами при демонстрації негативних зображень. Іншими словами, при застосуванні двох різних (за інформаційною складовою) типів емоційної стимуляції було отримано подібні ЕЕГ-реакції. Тому, на нашу думку, такі синхронні зміни двох функціонально незв'язаних діапазонів можуть відбивати "енергетичне" забезпечення специфічних мозкових реакцій на емоційно забарвлену інформацію. Слід також зазначити, що під час овуляції додатково спостерігали зниження потужності низькочастотного бета-піддіапазону в потиличних ділянках, а також падіння потужності тета-діапазону в T4. В лютеїнову фазу також характерним було зниження тета-активності в правій скроневій області (T4, T6).

Як вже зазначалось, загалом динаміка змін потужностей діапазонів ЕЕГ при перегляді зображень еротичного змісту була подібною до перегляду неприємних зображень, що, правда, у еротичних візуальних стимулах більше змін відбувалось в правій скроневій ділянці, у негативних – в лівій. Цікаво, що наші дані в цілому збігаються з даними МРТ дослідження [12], де перегляд еротичних зображень у чоловіків характеризується наступним патерном активації: білатеральна активація задньоскроневої кори, де знаходиться зорова асоціативна кора, паралімпічні ділянки (правий острівцевий та задня лобна ділянка), що пов'язані з обробкою інформації з високим рівнем мотивації та активацією лівої передньої поясної звивини.

Як видно з рис. 1, на відміну від інших типів стимулів, подразники еротичного характеру викликають генералізовані реакції в усіх фазах, причому до них фактично не залучаються фронтальні зони кори. Можна зробити висновок, що в даному випадку провідним є активаційний компонент сприйняття, який запускав включення емоційних мозкових структур.

Ми припускали, що найбільші відміни, пов'язані із фазами менструального циклу, будуть спостерігатися при сприйнятті зображень еротичного характеру, оскільки відомо, що коливання похідних тестостерону впродовж циклу впливають на сприйняття сексуальних стимулів у жінок [13]. Проте мозкова нейродинаміка при перегляді саме цього виду зображень була найбільш подібною у різні фази менструального циклу. Фазові відмінності мозкової активності виявилися у післястимульний період. Найбільш істотними були зміни в фазу овуляції – після

перегляду еротичних картин тут спостерігалось зростання потужності альфа та бета1-ритмів задніх ділянках кори і, нехарактерне для жодних інших післястимульних періодів зростання тета-активності в правих центральній і скроневій ділянках (C4, T4), яке може відображувати більш тривалий і стійкий емоційний вплив таких стимулів саме у фазу овуляції. У лютеїнову фазу після перегляду еротичних зображень (під час пред'явлення беззмістовних картинок) відмічали зростання високочастотних компонентів (обох бета-піддіапазонів) у потиличних зонах, більш виражені справа. Є дані [9], що посилення бета-активності в цих зонах кори корелює із пригадування певних неприємних емоційно забарвлених подій, у жінок посилення бета-активності в таких умовах особливо виражено в зоні T6.

Отже, ми відзначили, що перегляд емоційно-забарвлених зображень різного змісту супроводжується характерною перебудовою мозкової електричної активності, яка, окрім того, має свої особливості залежно від фаз менструального циклу жінок. Найменша активація головного мозку (судячи із змін КА) при перегляді як приємних, так і неприємних картинок відмічалась в фазу овуляції, коли спостерігається максимальна концентрація естрогену. Перегляд неприємних і еротичних зображень IAPS, які характеризуються найвищим рівнем збудження (arousal), викликав найбільші активаційні процеси за кількістю залучених зон у фолікулярну фазу з низьким рівнем як естрогену, так і прогестерону. Як показано в томографічному дослідженні [8], афективна реакція на перегляд неприємних зображень ослаблена у жінок в період овуляції порівняно з ранньою фолікулярною фазою, що виявляється в меншій активації кіркових та підкіркових структур головного мозку, залучених в регуляцію рівня arousal, нейроендокринні та афективні реакції – центральної мигдалини, біляшлуночкових та вентромедіальних ядер гіпоталамуса, гіпокампала, орбітофронтальної кори та передньої поясної звивини. Щоправда в цій роботі не досліджували реакцію на афективні зображення у лютеїнову фазу. За даними інших робіт [10], саме в лютеїнову фазу спостерігається найбільша стрес-індукована активність гіпоталамо-гіпофізарної осі. Насьогодні накопичено чимало експериментальних підтверджень тому, що циркулюючі естрогени здійснюють регуляторний вплив на виділення гормонів гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі через естрогенові бета-рецептори, які експресуються в гіпоталамічних гормон-продукуючих нейронах [11] та на вивільнення норадреналіну в лобній корі. Вважається, що в такий спосіб здійснюється анксиолітичний вплив естрогенів, що полягає в зменшенні виділення НА і поведінкових реакцій, характерних для стрес-відповіді. Цим можна пояснити те, що саме під час фази овуляції, коли рівень естрогенів в крові є найбільшим, перегляд емоційно-збуджуючих картинок супроводжувався найменшою активацією (змінами КА). На нашу думку така знижена стрес-активація на емоційні стимули в період овуляції є доцільною з точки зору реалізації більш рішучих і ефективних поведінкових стратегій в цей найбільш сприятливий для запліднення період.

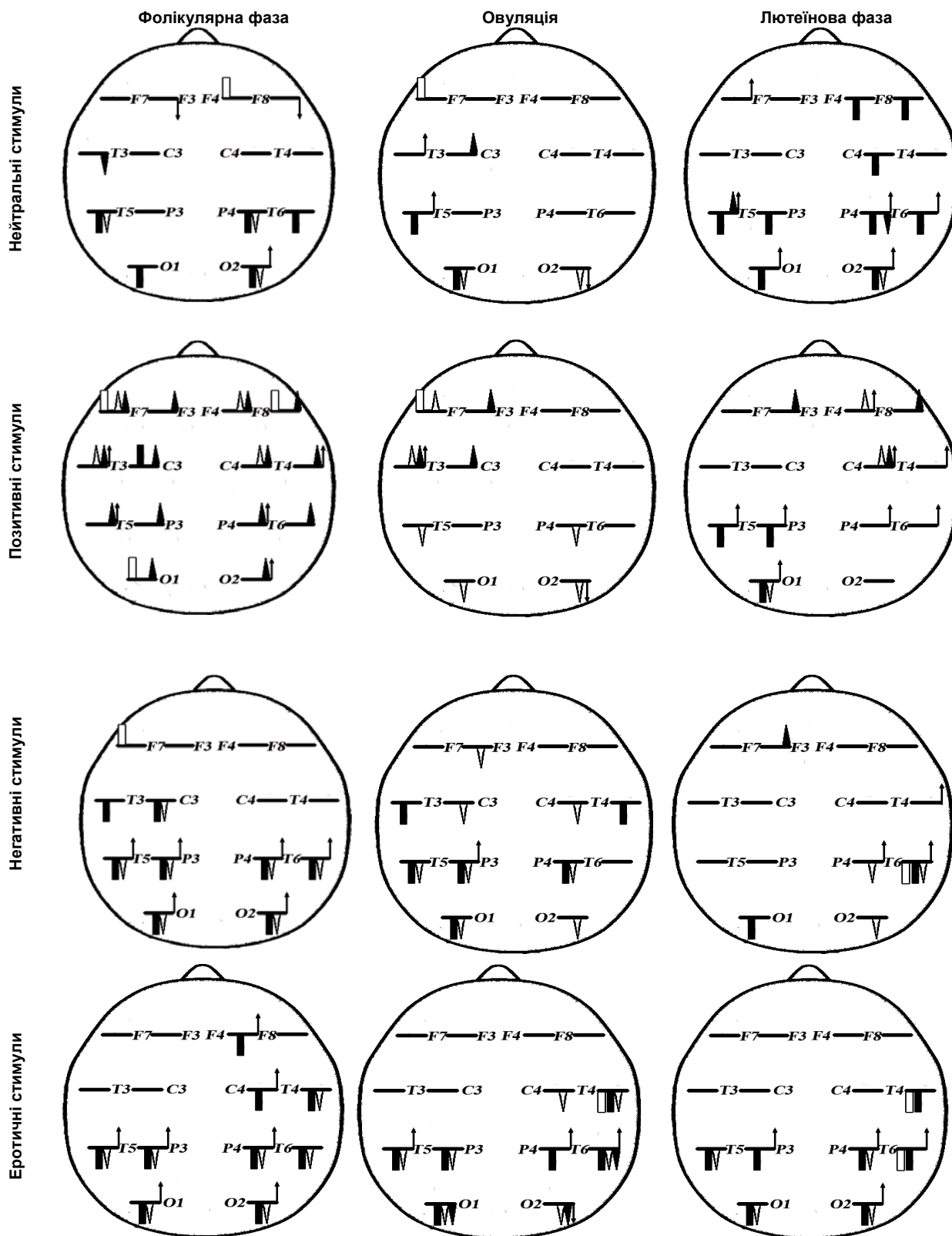


Рис.1. Достовірні зміни повної потужності спектру та коефіцієнту активації мозку жінок в різні фази менструального циклу під час пред'явлення зображень IAPS по відношенню до пред'явлення беззмістовних зображень ($p < 0,05$)

Примітки: □ – потужність тета, ▢ – потужність альфа, Δ – потужність бета низькочастотного, ▲ – потужність бета високочастотного діапазонів, ↑ – коефіцієнт активації. Знак над рисочкою відображає значуще збільшення, знак під рисочкою – зниження показника

Висновки. Перегляд афективних зображень різного типу викликав найбільшу активацію головного мозку під час фолікулярної фази менструального циклу. Най-

менша активація головного мозку при перегляді як приємних, так і неприємних зображень відмічалася в фазу овуляції, коли спостерігається максимальна концентра-

ція естрогену. В лютеїнову фазу відмічали найбільшу порівняно з іншими фазами активацію головного мозку при перегляді нейтральних зображень. Загалом для цієї фази характерна латералізація активаційного забезпечення сенсорних процесів у правій півкулі. Когнітивний та емоційний компонент сприйняття афективних зображень був найбільше виражений при перегляді позитивних стимулів, що відображувалося в зростанні потужності високочастотних компонентів ЕЕГ та збільшенні темпа ритму, що відзначалося у фолікулярну фазу. Сприйняття приємних стимулів в інші фази супроводжується латералізацією активаційного забезпечення сенсорних та аналітичних процесів у лівій (овуляція) та правій (лютеїнова фаза) півкулях відповідно.

1. Lee S.J., McEwen B.S. Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogens and their therapeutic implications // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – V.41. – 2001. – P.569-591. 2. Sherwin B.B. Estrogen and Cognitive Functioning in Women // *Endocrine Reviews* – 2003. – V.24 (2). – P.133-151. 3. Niedermeyer E., da Silva F.L. *Electroencephalography*, 5th Edition. – Lippincott Williams & Wilkins, 2005. 1277 p. 4. Chadwick D.J., Goode J.A. *Neuronal and cognitive effects of oestrogens* // *Novartis Foundation Symposium*. London: Wiley, 2000. – V.230. 5. Lang P.J., Bradley M.M.,

Cuthbert B.N. *International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual.* – NIMH Center for the Study of Emotion & Attention. University of Florida, 2005. 6. Heilman K.M. The neurobiology of emotional experience // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1997; V.9, №3. – P.439-48. 7. Laufs H., Holt J.L., Elfont R., Krams M., Paul J.S., Krakow K., Kleinschmidt A. Where the BOLD signal goes when alpha EEG leaves // *Neuroimage.* 2006. – V. 31, №4. – P.1408-1418. 8. Goldstein J.M., Jerram M., Poldrack R., Ahern T., Kennedy D.N., Seidman L.J., Makris N. Hormonal cycle modulates arousal circuitry in women using functional magnetic resonance imaging // *J. Neurosci.* 2005 V.25(40): P.9309-16. 9. Foster P.S., Harrison D.W. The relationship between magnitude of cerebral activation and intensity of emotional arousal // *Int. J. Neurosci.* – 2002. – Vol. 112, N 12. – P. 1463-1477. 10. Clemens Kirschbaum, Brigitte M. Kudielka, Jens Gaab, Nicole C. Schommer, and Dirk H. Hellhammer. Impact of Gender, Menstrual Cycle Phase, and Oral Contraceptives on the Activity of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis // *Psychosomatic Medicine* 1999. – V.61: P.154-162. 11. Weiser M.J., Foradori C.D., Handa R.J. Estrogen receptor beta in the brain: from form to function // *Brain Res Rev.* 2008 V.2:P.309-20. 12. Stoléru S., Grégoire M.C., Gérard D., Decety J., Lafarge E., Cinotti L., Lavenne F., Le Bars D., Vernet-Maury E., Rada H., Collet C., Mazoyer B., Forest M.G., Magnin F., Spira A., Comar D. Neuroanatomical correlates of visually evoked sexual arousal in human males // *Arch. Sex. Behav.* 1999. – V.1. P.1-21. 13. Tarín J.J., Gómez-Piquer V. Do women have a hidden heat period? // *Hum Reprod.* 2002. – V.9 – P.2243-2248.

Надійшла до редколегії 28.10.09

595.44(477)

С. Сінгаєвський, асп.

ПОПЕРЕДНЯ ОЦІНКА ВИДОВОГО СКЛАДУ ТА БІОТОПІЧНИЙ РОЗПОДІЛ ПАВУКІВ (ARACHNIDA: ARANEI) ЗАПЛАВИ РІЧКИ УДАЙ У ВЕСНЯНИЙ ПЕРІОД

Досліджено видовий склад та біотопічний розподіл павуків заплави річки Удай. Виявлено 63 види з 43 родів та 13 родин. Фауністична схожість видових комплексів павуків у досліджених біотопах визначена за коефіцієнтом Чекановського-Серенсена. Для кожного біотопу наведено перелік домінуючих видів павуків. Проведено зоогеографічний аналіз видових комплексів павуків обстежених територій.

The species composition of spiders in flood plain of the Udaj river is found to include 63 spider species, which represents 43 genera of 13 families. Spring complexes of spider species with their biotopical association is represented. Faunistical similarity of the examined biotopes is estimated by means of the Czekanowsky-Sørensen index (Ics). Dominant species are determined for each investigated biotope. Zoogeographical characteristics are given for all recorded species.

Вступ. Видовий склад та екологічні особливості павуків України на разі залишаються вивченими вкрай недостатньо. Порівняно добре досліджено аранеофауну Українського Полісся, Південно-Східної степової частини країни, Українських Карпат та Кримського півострову. Відомості про павуків Лісостепової зони України в цілому у сучасній літературі фрагментарні. Це стосується як вивчення видового складу, так і екологічних особливостей цієї безсумнівно важливої групи тварин – регуляторів чисельності комах, у тому числі і шкідливих. Представлена робота є однією з перших спроб оцінити видовий склад павуків заплави річки Удай на Полтавщині, та дослідити біотопічний розподіл видів. Окрім того, ранньовесняний період у вивченні фауни безхребетних тварин часто залишається поза увагою дослідників. Саме тому, метою наших досліджень стало вивчення видового складу павуків у цей період. Дослідження проводили у заказниках Пирятинського району, а також на територіях, які вважаються перспективними для їх створення.

Об'єкт та методи досліджень. Матеріал збирали під час експедиційних виїздів з 31.04. по 03.05.2009 р. Застосовані стандартні методики збору: косіння за допомогою ентомологічного сачка (усього 64 проби по 50 помехів у кожній) та ручний збір екстаурстером. Обстежені наступні біотопи: I – субори на свіжих ґрунтах (мішаний сосново-дрібнолистяний ліс, лівий берег ріки Удай, 1 км на захід від села Усівка); II – засолені луки на солонцях (околиці села Леляки); III – трав'янисті заплавні луки (лівий берег ріки Удай, 1 км на захід від села Усівка; правий берег ріки Удай, 1 км на південь від села Гурбинці). Усі обстежені біотопи характеризуються

яскраво вираженою інтразональністю. Матеріал зафіксовано та оброблено за загальноприйнятими методами, усього зібрано 727 екземплярів павуків, які зберігаються в колекції автора. Розрахунки індексів домінування подано за формулою Бергера-Паркера, індекси фауністичної схожості розраховано за методом Чекановського-Серенсена [2]. У роботі наведена система павуків за Н. Платником [3].

За фізико-географічним районуванням Пирятинський район розташований на корінному схилі в долині річки Дніпро. Поверхня має незначний ухил в південно-східному напрямку. Рельєф мало розчленований тимчасовими водоймами на лівому березі і майже не розчленований на правому. Середня висота 120–130 м над рівнем моря. Область належить до Лівобережно-Дніпровського лісостепового краю, сучасна рослинність представлена широколистяно-сосновими та сосновими лісами. В долинах річок знаходяться заплавні діброви. Клімат має яскраво виражену сезонність. Зима помірно холодна, м'яка, середня температура від – 4 °C до – 6,6 °C, домінують морози, які чергуються з відлигами. Середньодобова температура навесні від 0 °C до + 15 °C. Тривалість літнього сезону 3 – 3,5 місяці, середня температура повітря влітку становить + 20 °C [1].

Результати та їх обговорення. У обстежених біотопах виявлено 63 види з 43 родів і 13 родин (Таблиця 1). Числові значення в таблиці відповідають відносному багатству виду у біотопі (відношення кількості особин виду до загальної кількості екземплярів павуків виявлених у біотопі).

Заплавні луки характеризуються найбільшою кількістю видів павуків (44 види). У біотопі присутня значна

кількість видів гігрофілів (*Araeoncus humilis*, *Erigone atra*, *Heliophanus auratus*, *Kaestneria pullata*, *Lophomma punctatum*, *Marpissa radiata*, *Pardosa palustris*, *Porrhomma pigmaeum*, *Robertus arundineti*, *Sitticus caricis* та *Sitticus floricola*), знайдених лише тут. Відмічено також види, притаманні відкритим ділянкам – узліссям та галявинам: *Agalenatea redii*, *Agelena labyrinthica*, *Heliophanus auratus*, *Larinioides cornutus*, *Meioneta rurestris*, *Ozyptila trux*. Домінують гігрофіли *Xysticus ulmi* – 8,8% від загальної кількості екземплярів павуків, *Dictyna arundinacea*, *Tetragnatha montana* по 7,05%, *Hypsosinga heri* – 5,6% та *S. floricola* – 5,3%.

Другим біотопом за числом виявлених видів павуків є субори на свіжих ґрунтах – 27 видів. Тут зареєстровано види-евритопи: *Evarcha falcata*, *Micaria formicaria*, *Oedothorax retusus*, *Porrhomma microphthalmum*; гігрофіли: *Cercidia prominens*, *Nigma flavescens*; мезофіли: *Ballus chilibei*, *Ozyptila claveata*, *Trematocephalus cristatus*, *Walckenaeria nudipalpis*; мешканці узлісь: *Heliophanus cupreus*, *Metellina menzei*, *Misumena vatia* та ксерофіл *Asianellus festivus* виявлені лише в цьому біотопі. Яскраво вираженим домінантом виступає *T. montana* – 31,3% (для порівняння, у біотопі заплавлених лук частка цього виду склала лише 7,05%). До субдомінантів належать *Araniella cucurbitina*, *D. arundinacea* та *X. ulmi* – по 6,7%.

Таблиця 1. Видове різноманіття павуків у обстежених біотопах долини ріки Удай

Вид	Біотоп		
	I	II	III
THERIDIIDAE Sundevall, 1833			
<i>Robertus arundineti</i> (O.P.-Cambridge, 1871)			0,002
LINYPHIIDAE Blackwall, 1859			
<i>Araeoncus humilis</i> (Blackwall, 1841)			0,002
<i>Erigone atra</i> Blackwall, 1833			0,005
<i>Erigone dentipalpis</i> (Wider, 1834)		0,016	
<i>Kaestneria pullata</i> (O.P.-Cambridge, 1863)			0,002
<i>Lophomma punctatum</i> (Blackwall, 1841)			0,002
<i>Maso sundevalli</i> (Westring, 1851)		0,008	
<i>Meioneta rurestris</i> (C.L. Koch, 1836)	0,014	0,008	0,011
<i>Microlinyphia pusilla</i> (Sundevall, 1830)	0,003	0,006	0,002
<i>Oedothorax retusus</i> (Westring, 1851)	0,003		
<i>Porrhomma microphthalmum</i> (O.P.-Cambridge, 1871)	0,007		
<i>Porrhomma pigmaeum</i> (Blackwall, 1834)			0,002
<i>Trematocephalus cristatus</i> (Wider, 1834)	0,007		
<i>Walckenaeria nudipalpis</i> (Westring, 1851)	0,003		
TETRAGNATHIDAE Menge, 1866			
<i>Metellina menzei</i> (Blackwall, 1869)	0,007		
<i>Tetragnatha montana</i> Simon, 1874	0,313		0,07
ARANEIDAE Simon, 1895			
<i>Agalenatea redii</i> (Scopoli, 1763)			0,002
<i>Araniella cucurbitina</i> (Clerck, 1757)	0,067	0,006	0,008
<i>Cercidia prominens</i> (Westring, 1851)	0,003		
<i>Cyclosa oculata</i> (Walckenaer, 1802)			0,002
<i>Hypsosinga heri</i> (Hahn, 1831)		0,235	0,55
<i>Larinioides cornutus</i> (Clerck, 1757)			0,02
<i>Mangora acalypha</i> (Walckenaer, 1802)	0,033	0,033	0,008
<i>Singa hamata</i> (Clerck, 1757)	0,014	0,033	0,032
<i>Singa nitidula</i> C.L. Koch, 1844		0,008	0,038
LYCOSIDAE Sundevall, 1833			
<i>Pardosa lugubris</i> (Walckenaer, 1802)			0,002
<i>Pardosa palustris</i> (Linnaeus, 1758)			0,002
<i>Pardosa pratigava</i> (L. Koch, 1870)		0,008	0,005
PISAURIDAE Simon, 1890			
<i>Dolomedes fimbriatus</i> (Clerck, 1757)			0,002
<i>Pisaura mirabilis</i> (Clerck, 1757)		0,016	0,14
AGELENIDAE C. L. Koch, 1837			
<i>Agelena labyrinthica</i> (Clerck, 1757)			0,008
DICTYNIDAE O. P.-Cambridge, 1871			
<i>Dictyna arundinacea</i> (Linnaeus, 1758)	0,067	0,042	0,07
<i>Dictyna civica</i> (Lucas, 1850)			0,002
<i>Dictyna latens</i> (Fabricius, 1775)			0,008
<i>Dictyna major</i> Menge, 1869		0,008	
<i>Dictyna pusilla</i> Thorell, 1856			0,017
<i>Dictyna uncinata</i> Thorell, 1856			0,008
<i>Nigma flavescens</i> (Walckenaer, 1830)	0,033		
CLUBIONIDAE Wagner, 1887			
<i>Clubiona pallidula</i> (Clerck, 1757)		0,008	
GNAPHOSIDAE Pocock, 1898			
<i>Drassylus pusillus</i> (C.L. Koch, 1833)			0,002
<i>Micaria formicaria</i> (Sundevall, 1831)	0,003		
PHILODROMIDAE Thorell, 1870			
<i>Tibellus maritimus</i> (Menge, 1875)		0,008	0,002
<i>Tibellus oblongus</i> (Walckenaer, 1802)	0,003	0,008	0,023

Закінчення табл. 1

Вид	Біотоп		
	I	II	III
THOMISIDAE Sundevall, 1833			
<i>Diaea dorsata</i> (Fabricius, 1777)			
<i>Ebrechtella tricuspidata</i> (Fabricius, 1775)	0,018		0,002
<i>Misumena vatia</i> (Clerck, 1757)	0,003		
<i>Ozyptila brevipes</i> (Hahn, 1826)	0,003		0,002
<i>Ozyptila claveata</i> (Walckenaer, 1837)	0,003		
<i>Ozyptila praticola</i> (C.L. Koch, 1837)			0,005
<i>Ozyptila trux</i> (Blackwall, 1846)			0,002
<i>Xysticus cristatus</i> (Clerck, 1757)	0,003	0,008	0,002
<i>Xysticus kochi</i> Thorell, 1872	0,003	0,008	0,005
<i>Xysticus ulmi</i> (Hahn, 1832)		0,126	0,088
SALTICIDAE Blackwall, 1841			
<i>Asianellus festivus</i> (C.L. Koch, 1834)	0,003		
<i>Ballus chalibeus</i> (Walckenaer, 1802)	0,007		
<i>Evarcha arcuata</i> (Clerck, 1757)		0,008	0,011
<i>Evarcha falcata</i> (Clerck, 1757)	0,003		
<i>Heliophanus auratus</i> C.L. Koch, 1835			0,002
<i>Heliophanus cupreus</i> (Walckenaer, 1802)	0,003		
<i>Heliophanus flavipes</i> (Hahn, 1832)		0,008	0,002
<i>Marpissa radiata</i> (Grube, 1859)			0,008
<i>Sitticus caricis</i> (Westring, 1861)			0,002
<i>Sitticus floricola</i> (C.L. Koch, 1837)			0,053

На засолених луках відмічено лише 21 вид. Серед знайдених лише у цьому біотопі видів гігрофілами є *Clubiona pallidula* та *Maso sundevalli*. Відмічений тут вид *Erigone dentipalpis* належить до видів з високою екологічною пластичністю, що дозволяє йому успішно адаптуватися до різноманітних факторів середовища того чи іншого біотопу. На низькій траві здатний оселятися *Dictyna major*. Таке відносно невисоке видове різноманіття павуків можна пояснити регулярним викошуванням трави та випасанням худоби, що проводяться на цих луках. Домінуючим видом є *H. heri*, частка якого серед загальної кількості особин складає 23,5% (на заплавах луках частка цього виду не перевищувала 5,6%), субдомінантом виступає *X. ulmi* – 12,6%, частка *D. arundinacea* складає 4,2%.

При порівнянні значень коефіцієнту фауністичної схожості видових комплексів павуків у досліджених біотопах заплави ріки Удай ми отримали наступні результати. Найбільший ступінь фауністичної схожості притаманний видовим комплексам павуків засолених лук на солонцях та трав'янистих заплавах луків (значення коефіцієнту фауністичної схожості складає 0,52). Для видових комплексів павуків суборів на свіжих ґрунтах та засолених луків на солонцях значення коефіцієнту складає 0,37. Найнижче значення коефіцієнту фауністичної схожості (0,34) характерне для видових комплексів павуків трав'янистих заплавах лук та суборів на свіжих ґрунтах.

Середня кількість особин павуків на 50 помахів сачком найвищого значення сягала для трав'яного ярусу суборів на свіжих ґрунтах – 18. Для трав'янистих заплавах лук відмічено в середньому 14 особин на 50 помахів. Найнижча кількість, лише 5 особин, зареєстрована для солонців.

Серед виявлених 63 видів павуків значну частину (40 видів, 75,8%) становлять Палеарктичні елементи. Видів з Голарктичним ареалом нараховується 17. Вид *X. kochi* належить до групи з Європейсько-Середземноморським і Центральноазійським ареалом. Європейсько-Центральноазійських 2 види (*D. latens* та *Drassylus pusillus*). *M. mengei* характерний для Євро-

пейсько-Кавказького ареалу. Один вид – *A. humilis*, поширений у Палеарктично-Новозеландській зоогеографічній області.

Порівняно невисоке видове різноманіття павуків, зареєстроване на досліджених територіях, на наш погляд, пояснюється сезонними особливостями збору матеріалу. Сума ефективних температур ще не зовсім достатня для вильоту основних груп комах, що слугують здобиччю павуків. Значна кількість павуків у цей час перебуває на передімагінальній стадії розвитку, що унеможливує остаточне встановлення видової приналежності. Тому для більш повної оцінки видового складу потрібні систематичні дослідження територій упродовж різних сезонів.

Висновки. У весняний період було досліджено видовий склад і біотопічний розподіл павуків у трьох біотопах в заплаві річки Удай (Пирятинського району Полтавської області). Всього зареєстровано 63 види з 43 родів та 13 родин. Отримані дані свідчать про своєрідний видовий склад павуків у кожному з досліджених біотопів, як унікальних і перспективних для вивчення фауни та екологічних особливостей павуків. Серед домінантів у всіх трьох біотопах зустрічаються виключно вологолюбні види: *Hypsosinga heri*, *Tetragnatha montana* та *Xysticus ulmi*. Більшість видів (75,8%) характеризується палеарктичним поширенням.

1. Маринич О.М., Шищенко П.Г. Фізична географія України: Підручник – 3-тє вид., стер. – К: Т-во "Знання", КОО, 2006. – 511 с. 2. Шибанін В.С., Мельник С.І., Крамаренко С.С., Ганганов В.М. Аналіз структури популяції: Навч. посібник. – Миколаїв: МДАУ, 2008. – 240 с. 3. 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 12.11.09

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ МІТОХОНДРІЙ ПРИ ІШЕМІЇ МОЗКУ

Нашим завданням було висвітлення сучасного стану речей в питанні структурних та функціональних змін мітохондрій, спричинених ішемією мозку. А також аналіз літератури, присвяченої вивченню функціонування та структури мітохондрій в нормі та при патології, дослідженню процесів, які спостерігаються на мікрорівні при ішемічній хворобі, з'ясуванню механізмів, які спричиняють клітинну смерть та призводять до незворотних порушень функціонування мозку.

Our task was illumination a modern condition of a question structural and functional mitochondrial changes, caused by an ischemia of a brain. And also the analysis of the literature devoted to studying mitochondria functioning and structure in norm and at a pathology, to research processes which are observed at a microlevel at ischemic illness, finding-out mechanisms which cause cellular death result in irreversible infringements functioning of a brain.

Вступ. Мітохондрії відіграють одну з основних ролей у функціонуванні еукаріотичної клітини. Мітохондрії є головним джерелом енергії, важливою ланкою біосинтетичних процесів та метаболізму амінокислот, вони беруть участь у регуляції рівня кальцію і внутрішньоклітинного рН. Окрім цього, мітохондрії беруть участь в процесі апоптозу, виділяючи фактори апоптозу з внутрішньомембранного простору. Мітохондріальні пошкодження, що порушують синтез АТФ та кальцієвий гомеостаз, є ключовим компонентом нейрональної смерті. Мітохондрії є визначальним фактором у розвитку таких захворювань як хвороба Паркінсона, Хантінгтона, Альцгеймера, діабет, сепсис, аміотрофічний склероз, ретінопатії та ішемічне ураження. Порушення серцево-судинної системи займають одне з перших місць у світі за кількістю хворих. Тому одним із першочергових завдань є дослідження структурного та функціонального стану мітохондрій при ішемічному ураженні.

Перш за все, розглянемо основні типи інсультів та з'ясуємо, що спричинює надзвичайно гостру реакцію мозку на дефіцит кисню. За характером патологічного процесу розрізняють два види інсульту: ішемічний, зумовлений зниженням кровотоку в певній ділянці головного мозку, що призводить до гіпоксії-ішемії з формуванням зони некрозу – інфаркту (розм'якшення мозку), та геморагічний – крововилив у речовину головного мозку (паренхіматозний) або крововилив у підпаутинний простір (субарахноїдальний), який здебільшого виникає через розрив артеріальних або артеріовенозних аневризм [1]. Серед соматичних органів головний мозок є особливо високочутливим до гіпоксії, він є найбільш уразливим при ішемії з декількох причин: по-перше у зв'язку з високими енергетичними потребами тканин мозку; по-друге, через відсутність тканинного депо кисню; по-третє, у зв'язку з відсутністю резервних капілярів [2]. Якщо величина мозкового кровотоку зменшується до 35-40 мл на 100 г речовини мозку за хвилину, то через дефіцит кисню, що настає, порушується розщеплення глюкози, а це призводить до накопичення молочної кислоти, розвитку ацидозу, до геморологічних і мікроциркуляторних розладів, виникнення неврологічного дефіциту [3].

Використання найновіших методичних підходів дозволило вивчити вогнищеву ішемію та її подальшу еволюцію на молекулярному рівні, сприяло накопиченню принципово нових фактів, розробці сучасних концепцій патогенезу ішемії мозку. Однією з них є концепція "порогового ішемічного кровотоку". Поріг визначається критично низьким рівнем мозкового кровотоку і недостатнім надходженням кисню. Виділяють верхній ішемічний поріг (електричного ураження) з кровотоком 20-18 мл/100г/-1 хв-1, нижче якого зникають соматосенсорні викликані потенціали та ЕЕГ-активність, порушується синаптична передача, але енергетичний потенціал, функція іонних насосів зберігається; та нижній ішеміч-

ний поріг (енергетичного ураження) з кровотоком 12-10 мл/100г/-1 хв-1, нижче якого не синтезується АТФ, порушується функція клітинних мембран, нейрони втрачають калій, набирають кальцій, натрій і осмотичним шляхом воду. Підвищення концентрації кальцію у нейронах активізує мембранні фосфоліпази, сприяє звільненню токсичних жирних кислот, а, відтак, запускає складний ланцюг, результатом якого є загибель клітин мозку [4]. З концепцією "порогового ішемічного кровотоку" тісно пов'язана концепція так званої ішемічної "напівтіні" (ischemic penumbra). Ішемічна "напівтінь", або погранична зона, – це область, яка формується навколо ішемічного центру або інфарктного ядра. Цю частину ішемізованого мозку називають "ішемічна напівтінь", подібно до картини, яка спостерігається при повному сонячному затемненні, під час якого навкруги цілком абсолютно темного центру є зони напівтіні. З клінічної точки зору, значення цієї зони полягає в тому, що порушення функції нейронів у ній мають оборотний характер протягом обмеженого часу, сягаючи інколи декількох годин. Тривалість цієї толерантності пов'язана зі ступенем зниження кровотоку. Збільшення його в зоні ішемічної "напівтіні" дозволяє відновити нормальне функціонування нейронів цієї ділянки, а зниження призводить до загибелі клітин усіх типів, включаючи не тільки нейрони, але й клітини нейроглії, які виконують опорну та інші допоміжні функції [5, 6].

Ішемія мозку призводить до ряду метаболічних порушень в клітині. Зокрема, однією з головних причин загибелі нейронів у зоні ішемічної "напівтіні" може бути глутаматний каскад. Глутамат є збуджувачем медіатором і міститься в багатьох нейронах мозку. В звичайних умовах клітини виділяють глутамат внаслідок деполяризації зовнішніх мембран. У здоровій тканині мозку нейрони та клітини нейроглії поглинають надлишковий глутамат із міжклітинного простору, але клітини ішемічної "напівтіні", які оточують вогнище, не мають для цього достатньо енергії [7]. Надмірне накопичення глутамату і споріднених з ним сполук може призвести до загибелі нейронів мозку внаслідок каскаду патобіохімічних змін, які формують три етапи пошкодження тканини мозку. На першому етапі, внаслідок дефіциту кисню та поживних речовин при закупорюванні судини, нейрони надмірно виділяють глутамат, який активізує різноманітні рецептори глутамату на інших нейронах, що викликає негативні внутрішньоклітинні ефекти. А саме, внаслідок зв'язування глутамату з рецепторами N-метил-D-аспартата відкриваються кальцієві канали, через які всередину клітин проходить значна кількість іонів кальцію, натрію, а, як наслідок, води, що призводить до набряку клітин. На цьому етапі порушуються механізми синаптичної передачі, які носять зворотний характер. На наступному, другому етапі, зосередження іонів каль-

цію в клітинах збільшується частково тому, що внутрішньоклітинні посередники викликають вивільнення кальцію з тканинних депо. Збільшується активність ферментів, які підвищують чутливість до глутамату та інших збуджувачих стимулів. Токсичне збудження розповсюджується на інші клітини. В підсумку другого етапу створюються умови для третього етапу пошкодження тканини мозку, протягом якого відбуваються необоротні зміни в клітинах. Підвищення концентрації кальцію в клітині збільшує активність ферментів, які розщеплюють ДНК, білки та фосфоліпіди. Одним з продуктів деградації фосфоліпідів є арахідонова кислота, метаболізм якої стимулює утворення ейкозаноїдів, які разом з фактором активації тромбоцитів призводять до поглиблення порушень мікроциркуляції, утворення тромбів та розповсюдження ішемії. Цей каскад патобіохімічних порушень призводить до загибелі нейронів [8].

Отже, у короткий проміжок часу з моменту виникнення церебральної ішемії до формування необоротного ураження мозку відбуваються складні патобіохімічні процеси.

На клітинному рівні ішемія характеризується продукцією вільних радикалів, вивільненням глутамату, збільшенням в пошкоджених нейронах концентрації іонів Ca^{2+} , активацією синтезу оксиду нітрогена (NO). Ішемія і подальше відновлення кровотоку (реперфузія) призводять до генерації активних форм кисню, які є одним з основних факторів пошкодження мітохондрій [9]. Загалом, вільний радикал – це молекула або її частина, що має неспарений електрон на молекулярній або зовнішній атомній орбіталі. Наявність такого електрону наділяє систему високою реакційною здатністю в хімічних перетвореннях і, в зв'язку з цим, можливістю ушкодження біологічно важливих молекул. Вільнорадикальне окиснення (ВРО) існує в клітинному метаболізмі як у нормі, так і при патології. ВРО є невід'ємною ланкою таких важливих біологічних процесів, як транспорт електронів у дихальному ланцюзі, синтез простагландинів і лейкотриєнів, проліферація і диференціація клітин, метаболізм і синтез катехоламінів, фагоцитоз, метаболізм деяких ксенобіотиків. Ішемічні зміни в органах і тканинах супроводжуються гіперактивацією вільнорадикальних процесів і порушенням функціонально-структурної цілісності.

Серед вільнорадикальних форм кисню виділяють такі форми:

- синглетна ($\text{O}^{\bullet}$);
- супероксидна ($\text{O}_2^{\bullet-}$);
- гідроксильний радикал ($\text{OH}^{\bullet}$);
- пероксиданіону (O_2^{2-});
- гіпогалогеніди ($\text{OCl}^{\bullet}$, $\text{OBr}^{\bullet}$, $\text{OI}^{\bullet}$);
- нітрилрадикал (NO);
- пероксинітрилрадикал ($\text{ONOO}^{\bullet}$) [10].

Проте, мітохондрії також генерують активні форми кисню в процесі нормального аеробного дихання. Екзогенними джерелами активного кисню є ультрафіолетова радіація, інфекційні агенти (віруси, бактерії), прозапальні цитокіни, окислювальний стрес. В нормі вільні радикали беруть участь у виконанні важливих фізіологічних процесів в організмі: підтриманні судинного тону, в механізмах пам'яті, запальних реакціях, регуляції клітинного росту. Контроль продукції активного кисню здійснює антиоксидантна система, що регулює баланс утворення і усунення вільних радикалів. До складу цієї системи входять ферменти (супероксиддисмутаза, каталаза та ін.), білки (феритин, трансферин, альбумін та ін.) і численні низькомолекулярні антиоксиданти (вітамін Е, убіхінол, каратиноїди, вітамін С та ін.) [11].

Як уже зазначалося вище, для мозку є характерним низький антиоксидантний захист. Саме дефіцит антиок-

сидантної системи в мозковій тканині пояснює її особливу чутливість до продукування вільних радикалів. Складаючи лише 2% від загальної маси тіла, мозок використовує 20-25% кисню, який отримує організм, тому перехід у вільнорадикальну форму навіть 0,1% кисню, що метаболізується нейронами, виявиться токсичним для мозкової тканини.

В умовах патології, коли антиоксидантні системи не можуть нормалізувати клітинний рівень активного кисню, в тканинах накопичуються продукти взаємодії вільних радикалів з компонентами клітини, що запускає в дію систему клітинної репарації. В результаті цього в клітинах і тканинах організму накопичується велика кількість метаболітів ліпідів (гідроперокси жирних кислот, малонового альдегід), білків (SH-вмісні, карбонілвмісні) і нуклеотидів [12]. Механізм пероксидного окиснення ліпідів в клітинах центральної нервової системи є таким самим як і в решті тканин, однак інтенсивність процесу в мозку значно більша. Основною причиною цього є високий вміст у мозку поліненасичених жирних кислот – субстратів пероксидного окиснення. Так, вміст фосфоліпідів у мозку в 1,5 разів більший, ніж в печінці, і в 3-4 рази більший, ніж у серці. Крім того, ішемія органів призводить до істотного зниження активності антиоксидантних ферментів, причому насамперед падає активність супероксиддисмутази (СОД) і каталази, глутатіонредуктази і глутатіонтрансферази. Ці спостереження дозволяють припустити, що зниження активності цих ферментів, а особливо СОД, є основною причиною ініціювання процесів ВРО в умовах ішемії. Однак, не можна виключити, що ця послідовність при ішемії може мати і зворотний зв'язок: посилена індукція активних форм кисню може призвести до пригнічення активності антиоксидантних ферментів, що, у свою чергу, посилює ініціювання активних форм кисню і процесів ВРО. Ушкодженню антиоксидантних ферментів, особливо СОД, при ішемії сприяють такі фактори:

- зниження рівня макроергічних фосфатів;
- різке підвищення концентрації реакційноздатних форм кисню, особливо $\text{OH}^{\bullet}$;
- метаболічний ацидоз, що розвивається в ішемізованих тканинах.

Зниження концентрації кисню в тканинах організму (гіпоксія) супроводжується накопиченням великої кількості відновлених форм різних сполук, у тому числі коферментів – НАД $\cdot$ H $_2$, НАДФ $\cdot$ H $_2$, ФАД $\cdot$ H, убіхінонів. В умовах дефіциту кисню це призводить до одноелектронного відновлення кисню. В умовах ішемії органів і тканин спостерігається збільшення цитозольної фракції Fe^{2+} вже через 60 хв, причому в ранній строк ішемії підвищення рівня заліза відбувається за рахунок його декомпаратменталізації, а в більш пізні строки – внаслідок виходу його з феритину, що може зумовлювати в пізні строки ішемії повторний "сплеск" реакцій ВРО [13].

Активними формами заліза є ферил- (FeO_2^+ , FeOH_3^+) і перферилрадикали ($\text{Fe}_3^+\cdot\text{O}^{\bullet}$), які утворюються в реакціях Фентона, а також комплекси заліза (II) з аденіновими нуклеотидами (АМФ і АДФ), концентрація яких збільшується у тканинах при ішемії. Крім того, при ішемії різко підвищується вміст відновлених форм піридиннуклеотидів, які забезпечують перехід Fe^{3+} у більш прооксидантну форму Fe^{2+} . При ішемії в тканинах змінюється вміст аскорбінової кислоти, одного з головних відновників заліза (II). Зниження рівня аскорбінової кислоти в ішемізованих тканинах сприяє втраті його антиоксидантних властивостей і придбання прооксидантних [14].

Мітохондріальна продукція вільних радикалів кисню відіграє значну роль в нейрональній загибелі, викликаній ішемією. До факторів, що можуть викликати таку відповідь, належать накопичення мітохондріями Ca^{2+} та експресія білків, які спричиняють апоптоз, таких як Вах. Те, яким чином Ca^{2+} та білки апоптозу стимулюють мітохондріальну продукцію вільних радикалів, залишається нез'ясованим. Проведені дослідження демонструють, що накопичення Ca^{2+} блокує електронтранспортний ланцюг, а це спричинює зменшення кількості електронів, які є необхідними для відновлення кисню [15]. Окрім цього, накопичення кальцію призводить до відновлення мембранного потенціалу мітохондрій, який є термодинамічно підпорядкованим окисно-відновному потенціалу компонентів електронтранспортного ланцюга, відповідальних за продукцію вільних радикалів. До стимуляції вільнорадикальних процесів також є причетним розщеплення цитохрому с. Під час гострої фази нейронального ушкодження може відбуватися порушення функцій мітохондрій, що спричинено перерозподілом білків (вони переходять з цитозолу в мітохондріальну мембрану), які сприяють апоптозу –Вах та Bid, але лише за умови присутності ВНЗ білку клітинної смерті [16].

Одним з ефектів є інгібування мітохондріального окисного фосфорилування, що спричинює зниження рівня АТФ, підвищує вільнорадикальну продукцію, та зміщує кальцієву буферну здатність органели. В сумі все це здатне спричинювати значні структурні ушкодження. Окрім того, часткове руйнування мітохондріальної мембрани може призвести до розщеплення інтрамембранних молекул та іонів, та прогресуючого руйнування мітохондрій. Останнім етапом є розщеплення цитохрому с або якогось іншого білка з внутрішньомембранного простору, ця подія є поворотною на шляху до апоптозу в усіх системах, в яких він вивчався. Як уже зазначалося вище, ключовими в апоптозі є білки родини Вах [17].

Після ішемії відзначається значне пригнічення діяльності мітохондрій, рівень АТФ знижується до 20-30% [18]. Результати досліджень в цьому напрямку є суперечливими, але всі вони свідчать про функціональне пригнічення мітохондрій протягом певного періоду після ішемії. Окрім цього ушкодження можуть зазнавати окремі білки мембрани, наприклад, цитохром с_{aa3} переходить в гіпероксигенований стан, що може бути пов'язано з припиненням нормального постачання субстратом дихального ланцюга. Проте, не всі дослідники відносять це до мітохондріальних пошкоджень, відносячи скоріше до порушень метаболізму глюкози [19].

Пошкодження мітохондрій, зокрема цитохрому с, є однією з основних причин нейрональної загибелі, викликаній ішемією.

Висновки. В нашій роботі було проаналізовано основні механізми апоптозу, головні структурні та функціональні порушення мітохондрій, спричинені ішемічною хворобою. Головну роль в мітохондріальній дисфункції відіграє генерація вільних радикалів. Ці сполуки, в надлишковій кількості, є надзвичайно токсичними і небезпечними для клітини, оскільки можуть активувати деструктивні процеси. Ішемічна продукція вільних радикалів найчастіше спричинена руйнуванням компонентів дихального ланцюга під впливом гіпоксії. Внаслідок цього, кисень не може відновитися до безпечного стану –до води і переходить у форму активного радикалу, який і викликає пошкодження органел.

В нормі в клітині також спостерігається певна концентрація активного кисню, але вона підтримується на фізіологічному рівні за рахунок антиоксидантних систем. Ці комплекси забезпечують утилізацію надлишків вільних радикалів, захищаючи, таким чином, компоненти клітини від окиснення. У випадку дії на антиоксидантні системи стресорних чинників, а також за умов надмірної продукції вільних радикалів, вони можуть не впоратися зі своєю функцією, а це, в свою чергу, викликає незворотні зміни в клітині.

Варто зазначити, що дослідження, спрямовані на з'ясування механізмів функціонування мітохондрій в нормі та при патології, є важливим напрямком наукового пошуку, оскільки вони становлять не лише теоретичну, але й практичну цінність.

1. Ісмарілов М. Ф. Ішемічний мозковий інсульт: термінологія, епідеміологія, принципи діагностики, патогенетичні підтипи, терапія гострого періоду захворювання // Неврологічний вісник. – 2005. – Т. 37, вип. 1-2. – С. 67-76.
2. Tuor U. I., Del Bigio M. R., Chumas P. D. Brain damage due to cerebral hypoxia/ischemia in the neonate: pathology and pharmacology // Cerebrovasc Brain Metab Rev. – 1996. – № 8. – P.159-93.
3. Fiskum G., Rosenthal R. E., Vereczki V., Martin E., Hoffman G. E., Chinopoulos C., Kowaltowski A. Protection against ischemic brain injury by inhibition of mitochondrial oxidative stress // J Bioenerg Biomembr. – 2004. – № 36. – P.347-352.
4. Dietrich W. D., Busto R., Alonso O., Globus M. Y., Ginsberg M.D. Intracerebral but not postischemic brain hypothermia protects chronically following global forebrain ischemia in rats // J Cereb Blood Flow Metab. – 1993. – № 13. – P.541-549.
5. Busto R., Dietrich G., Globus F., Ginsberg H. Postischemic moderate hypothermia inhibits CA1 hippocampal ischemic neuronal injury // Neurosci Lett. – 1989. – № 101. – P.299-304.
6. Bowen K. K., Naylor M., Vemuganti R. Prevention of inflammation is a mechanism of preconditioning-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia // Neurochem Int. – 2006. – № 49. – P.127-135.
7. Aronowski J., Strong R., Grotta J. C. Reperfusion injury: demonstration of brain damage produced by reperfusion after transient focal ischemia in rats // J Cereb Blood Flow Metab. – 1997. – № 17. – P.1048-1056.
8. Wite B. C., Sullivan J. M., DeGarcia D. G., O'Neil B. J., Neumar R. W., Grossman L. I., Rafols J. A., Krause G.S. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury // Neuro Sci. – 2000. – № 179. – P.1-33.
9. Keller J. N., Kindy M.S., Holtsberg F. W., St. Clair D. K., Yen H., Germeyer A., Steiner S. M., Bruce-Keller A. J., Hutchins J. B., Mattson M. P. Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase Prevents Neural Apoptosis and Reduces Ischemic Brain Injury: Suppression of Peroxynitrite Production, Lipid Peroxidation, and Mitochondrial Dysfunction // The Journal of Neuroscience. – 1998. – № 18. – P. 687- 697.
10. Беленічев І. Ф., Левицький Є. Л., Губський Ю. І., Коваленко С. І., Марченко О. М. Антиоксидантна система захисту організму // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 3. – С.23-31.
11. Губський Ю.І., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І., Левицький Є.Л., Марченко О.М. Основні шляхи утворення активних форм кисню в нормі та при ішемічних патологіях // Основні проблеми токсикології. – 2004. – № 2. – С.36-45.
12. Lipton P. Ischemic Cell Death in Brain Neurons // Physiol. Rev. – 1999. – № 79. – P.1431-1568.
13. Gunter T., Yule D., Gunter K., Eliseev R., Salter J. Calcium and mitochondria // FEBS Letters. – 2004. – Vol. 567. – № 1. – P.96-102.
14. Piantadosi C., Jing Z. Mitochondrial Generation of Reactive Oxygen Species After Brain Ischemia in the Rat // Stroke. – 1996. – № 27. – P.327-332.
15. Love S. Oxidative stress in brain ischemia // Brain Pathol. – 1999. – № 9. – P. 119-31.
16. Vaya J. Novel designed probes for the characterization of oxidative stress in biological fluids, cells, and tissues // Methods Mol Biol. – 2008. – № 477. – P.3-13.
17. Perez-Pinzon M. A., Dave K. R., Raval A. P. Role of reactive oxygen species and protein kinase C in ischemic tolerance in the brain // Antioxid Redox Signal. – 2005. – № 7. – P.1150-7.
18. Mattson M. P., Liu D. Mitochondrial potassium channels and uncoupling proteins in synaptic plasticity and neuronal cell death // Biochem Biophys Res Commun. – 2003. – № 304. – P.539-49.
19. Chan P. H. Role of oxidants in ischemic brain damage // Stroke. – 1996. – № 27. – P.1124-1129.

Надійшла до редколегії 02.12.09

УДК 577.152.151:612.369.22

Ю. Омельченко, асп., М. Миленко, студ.,
Я. Максимович, канд. біол. наук**ВПЛИВ АЛКОГОЛЮ НА СИСТЕМУ ОКСИДУ АЗОТУ В ОРГАНІЗМІ**

На основі опрацьованої літератури показано різні підходи до проблеми впливу етилового спирту на пул оксиду азоту в організмі. Також висвітлено можливу поведінку молекули NO при екзогенному надходженні в організм алкоголю.

On the basis of the literature data we tried to show different views on the interaction of ethanol and NO. Future action of NO molecule after exogenous alcohol adding is presented.

Система оксиду азоту (NO) у людини має широкий спектр біорегуляторної дії [1, 2]. Він є унікальним медіатором міжклітинної взаємодії [3], бере участь у підтриманні гомеостатичних параметрів організму, у формуванні базального тону судин, покращенні реологічних властивостей крові шляхом регуляції процесів агрегації її формених елементів, стабілізації проникності судинної стінки [1, 2]. За хімічною природою монооксид азоту (NO) відноситься до двовалентних нейтральних молекул, що має 11 зовнішніх електронів. Наявність неспареного електрона обумовлює високу реакційну здатність і парамагнітні властивості молекули NO, а її малі розміри визначають високу проникність крізь мембрану клітин і субклітинних структур [1].

Оксид азоту формується переважно ендогенно. Період напівжиття NO в живих організмах складає 2 – 50 с через швидке окиснення до двоокису азоту (NO₂), який в водних розчинах швидко перетворюється в нітрит- чи нітрат-іони [4, 6]. У свою чергу, нітрати можуть генерувати NO у кислому середовищі, що проходить зокрема і в порожнині шлунка [9]. Оксид азоту може вступати в реакції з молекулярним киснем, іонами перехідних металів, вільними радикалами, гемовим чи негемовим залізом металопротейнів, тільними групами різноманітних білків. Оксид азоту швидко окислює сульфгідрильні групи та тіоестери в пептидах, білках та ліпідах [12, 13]. Варто зазначити, що висока швидкість реакції NO з вільними радикалами дозволяє розглядати його в якості пастки радикалів *in vivo* [4]. У присутності O₂ оксид азоту взаємодіє з супероксидним аніоном (O₂⁻), внаслідок чого утворюються пероксинітрил (ONOO⁻) – високоактивний сильний окисник, та інші радикали NO, що можуть проявляти значну цитотоксичну дію [5, 6, 10, 11]. Так нітрати та гідрохілатні сполуки ароматичного ряду, в тому числі гуанозин можуть викликати пошкодження ДНК [8], а нітрозозаміни є потенційними канцерогенами. Утворення таких високотоксичних похідних NO може призводити до порушення передачі сигналу в клітині, і як наслідок – до розвитку патології [8, 14].

Алкогольні напої вживаються в більшості суспільств світу. Хоча низький рівень прийому алкоголю зменшує ризик виникнення серцево-судинних захворювань, великі його дози при хронічному вживанні спричиняють розвиток виразки шлунка, гіпертонії, зниження імунітету, розлади нервової системи, порушення репродуктивної функції, цироз печінки та ін. [8]. Алкогольна інтоксикація впливає не лише на рівень окисно-відновних процесів у клітині, але й на їх регулювання, до якого залучені шляхи утворення й утилізації NO, що підтверджено дослідженнями активності NOS [7].

Етанол метаболізується головним чином в печінці багатьма ізоферментами алкоголь-дегідрогенази, мікросомальною етанол-окисною системою та іншими етанол-метаболізуючими ферментами, зокрема каталазою. Приблизно 90-95% етанолу елімінується шляхом окиснення, а його залишок екскретується нирками, легенями та шкірою [8]. NO здатен інгібувати ферменти, що беруть участь у метаболізмі етанолу. Після реакції

оксиду азоту із етиловим спиртом утворюються лужні нітри, які дуже зручно використовувати для визначення алкоголю у водних розчинах та біологічних зразках. Цікаво, що коли етанол вводили до шлунково-кишкового тракту щурів, рівень нітриту і нітрату в слизовій оболонці стрімко знижувався. Виснаження пулу NO можна пояснити формуванням етилнітрилу із оксиду азоту та етанолу. Також було зафіксовано утворення етилнітрилу при взаємодії етанолу з пероксинітрилом *in vitro*. Отже, етилнітрил – це один із продуктів метаболізму етанолу [14]. Крім того вищеописаний продукт є донором NO і має довший напівперіод життя ніж власне оксид азоту і, можливо, слугує транспортною формою молекули, продовжуючи час його життя. Таким чином взаємодія між етиловим спиртом і NO – зворотна і робить етилнітрил не лише донором NO, а й посередником етилового спирту *in vivo* [8].

Встановлено, що гостре або хронічне споживання етанолу збільшує рівень NO в крові як тварин, так і людини. Наприклад, споживання людиною етанолу (80 мл 40% розчину) після нічного голодування призводило до подвоєння концентрації NO₃⁻ NO₂(NO_x) через 12 годин. Схожі підвищення рівня (NO_x) спостерігались у пацієнтів з хронічним гепатитом. Однак у пацієнтів із цирозом, як вірусним так і алкогольним, суттєвого підвищення концентрації (NO_x) після споживання етанолу не відбувалося. Таким чином, збільшення продукування NO може захищати печінку від шкідливого ефекту етанолу [8].

Авторами D.H. Yates, S.A. Kharitonov et al. було встановлено, що хронічне введення алкоголю підвищує експресію eNOS в легенях, активність NOS, а також білкові окиснення та нітрування через механізми, які інгібуються обробкою інгібітором ангіотензинконвертуючого ферменту (ACE) [15].

Однак, внутрішньовенне введення етанолу у дозі 3-30 мМ/кг знижувало рівень NO в повітрі, яке видихали кролі. Подібний ефект спостерігався і в людей [16]. Споживання етанолу пригнічувало продукування NO у повітрі, що видихалося, імовірно, за рахунок інгібування продукування оксиду азоту дихальними шляхами [14, 16]. Також є відомості, що значне зниження NO-синтазної активності за алкогольної інтоксикації може свідчити про порушення регуляторних процесів, пов'язаних з cGMP-залежними протеїніназами в легенях [21, 15].

Окремі дослідження показали ефект етанолу на активність NOS в мозку. Так, було встановлено, що алкоголь пригнічує продукцію NO iNOS у різних типах клітин чи тканин. З іншого боку очевидно, що гостре введення невеликих доз спиртного збільшує утворення NO і рівень експресії eNOS в ендотеліальних клітинах, а також ендотелій-опосередковану вазодилатацію [8]. Підвищення активності eNOS та експресія mPHE спостерігалася в ендотеліальних клітинах аорти бика за умов алкогольної інтоксикації, а також у людини, при введенні етанолу у пупкову вену [17]. Більші ж дози етанолу пошкоджують функцію ендотелію, а також значно зменшують синтез оксиду азоту [8].

У кардіоміоцитах мишей етанол викликав зниження клітинного захисту опосередкованого iNOS. Етанол змінював як ендотелій-залежну, так і незалежну судинну скоротливу відповідь в аорті щурів. Дослідження гострого впливу етанолу на моделі прискорено старіючих мишей, нокаутних за геном iNOS, показало, що серцева функція старіючих iNOS^{-/-} мишей була майже однаковою з молодими мишами дикого типу. Введення етилового спирту збільшувало серцеву скоротливість у старіючих мишей шляхом інгібування активності iNOS, що може свідчити про можливу благотворну дію споживання помірних доз етанолу на серцеву функцію, особливо у старших індивідів. Таким чином, етанол дійсно має цілий ряд прямих ефектів на судини, які включають базальну вазоконстрикцію так само як потенціювання ендотелій-залежної (пов'язаної з NO) та незалежної вазодилатації [8].

Було показано, що алкоголь-індукована гіпертонія у щурів супроводжується зниженням рівня NO в тканинах і зростанням окисного пошкодження у динаміці. А саме, під час введення щурам перорально етанолу з розрахунку 4г на 1кг протягом 12 тижнів було відмічено зростання у динаміці кров'яного тиску [17] і розвиток гіпертонії, зниження рівня NO у плазмі крові, а також активності СОД, каталази та глутатіон-пероксидази; зростання рівня малонового діальдегіду у плазмі крові. Зменшення рівня NO може бути пов'язаним із його реакцією з супероксиданіоном і утворенням пероксинітриду, а також окисною інактивацією eNOS етанол-індукованими вільними радикалами. Алкоголь-індукований окисний стрес супроводжується переокисним окисненням мембранних ліпідів і окисненням ферментативних білків (зростання вмісту вільних білків у плазмі), що, імовірно, є однією із причин інактивації eNOS і зниження рівня NO у тканинах [19]. Етанол, будучи ліпофільною речовиною, може інтенсифікувати пероксидацію мембранних ліпідів, спричинюючи інактивацію мембранозв'язаної ізоформи ферменту eNOS та гуанілатциклази, результатом чого є вазоконстрикція та гіпертонія [16].

Інші дослідження показали, що при хронічному вживанні алкоголю у щурів зростає рівень NO у печінці, а також активність iNOS. Wang et al. показав, що рівень NO підвищується у сироватці крові щурів із розвитком цирозу печінки. Також у деяких дослідженнях було продемонстровано збільшення утворення оксиду азоту у пацієнтів із хронічними хворобами печінки, а також у щурів, яким постійно вводили алкоголь. В той же час Sergeant et al показав, що гіперпродукція NO у гепатоцитах захищає їх від етанол-індукованого оксидативного стресу. Joshi et al. припускає, що за низьких концентрацій оксид азоту є антиоксидантом, однак у надмірній кількості діє як окисник. Автори вважають, що механізм захисної дії низьких концентрацій оксиду азоту базується на зменшенні переокисного окиснення ліпідів, а великі дози під час оксидативного стресу спричиняють дисфункцію мітохондрій [3]. Схожа дані були отримані на моделі гострого алкогольного панкреатиту у щурів, де NO також проявляв антиоксидантні та окисні властивості [20].

У літературі є відомості про гастропротекторну дію NO при застосуванні інгібіторів фосфодіестерази під час вживання алкоголю. Етанол індукує пошкодження слизової оболонки шлунка шляхом вивільнення прозапальних медіаторів, що спричиняють вазоконстрикцію/ішемію та загибель клітин. Інгібітори фосфодіестерази попереджують розпад цГМФ до ГМФ. Відповідним чином збільшують продукцію NO та, як наслідок, сприяють полегшеному току крові та пригнічують адгезію лейкоцитів [17, 18].

УДК 612.34

Етанол вибірково впливає на активність nNOS у різних клітинах мозку, що може бути пов'язаним із неадекватною поведінкою у стані сп'яніння. Так, додавання 25-200 мМ етанолу призводить до інгібування активності nNOS в культурі кортикальних нейронів щурів за рахунок пригнічення синтезу NO, стимульованого NMDA або цитокінами. Подібне інгібування NMDA-залежної NOS активності спостерігалось у зрізах гіпокампу шляхом BH₄-залежного механізму. В інших дослідженнях було встановлено, що інгібування nNOS при застосуванні етанолу корелювало зі зменшенням кількості мускаринових ацетилхолінових рецепторів в клітинах нейробластоми SH-SY5Y. Як гостре, так і хронічне споживання алкоголю пригнічувало індукцію NO, разом з форболовим похідним і ліпополісахаридами у гліальних клітинах мозку. При цьому, гостре вживання невеликих доз алкоголю збільшувало активність цитозольної форми iNOS у людських астроцитах, а більші дози, навпаки – зменшували [8].

Гостре споживання етанолу збільшує продукцію NO нейтрофілами завдяки активації iNOS, що призводить до їх апоптозу. Показано, що інгібітор NOS пригнічує, в той час як донор NOS стимулює апоптоз, що може відбуватися завдяки продукуванню NO [8].

Наведені вище дані свідчать про значну роль оксиду азоту в розвитку пошкоджень різних органів за умов як гострої, так і хронічної алкогольної інтоксикації. У цілому ця область дослідження є цікавою та перспективною і здатна забезпечити найближчому майбутньому прогрес в практичній медицині.

1. Звягина Т.В., Белик И.Е., Аникиева Т.В., Якубенко Е.Д. Методы изучения метаболизма оксида азота // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2001. – Т. 5, №2. – С. 253-257. 2. Ванан А.Ф. Оксид азота в биологии: история, состояние и перспективы исследований // Биохимия. – 1998. – Т. 63, №7. – С. 867-869. 3. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 27-34. 4. Реутов В.П. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота / Реутов В.П., Сорокина Е.Г. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 1029-1040. 5. Недоспасов А.А. Биогенные оксиды азота / Недоспасов А.А., Беда Н.В. // Природа. – 2005. – № 7. – С. 35-42. 6. Маеда Х. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке / Маеда Х., Акаике Т. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С.1007-1019. 7. Божко Г. Х., Волошин П. В. Действие этанола на белки тканей и сыворотки крови человека и животных // Успехи соврем. биол. – 1989. – Т. 108. Вып.1 (4). С. 52-65.8. Xin-Sheng Deng and Richard A. Deitrich. Ethanol Metabolism and Effects: Nitric Oxide and its Interaction // Current Clinical Pharmacology. – 2007. – V. 2. – P. 145-153. 9. Trujillo M. Peroxynitrite detoxification and its biologic implications / Trujillo M., Ferrer-Sueta G., Radi R. // Antioxid. Redox. Signal. – 2008. – Vol. 10, № 9. – P. 1607-1620. 10. Hughes M.N. Chemistry of nitric oxide and related species / Hughes M.N. // Methods Enzymol. – 2008. – Vol. 436. – P. 3-19. 11. Pachter P. Role of the peroxynitrite-poly (ADP-ribose) polymerase pathway in human disease / Pachter P., Szabo C // Am. J. Pathol. – 2008. – Vol. 173, № 1. – P. 2-13. 12. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells// FASEB. – 1992. – Vol. 6. – P. 3051-3064. 13. Feldman PL, Griffith OW, Hong H, Stuehr DJ. Irreversible inactivation of macrophage and brain nitric oxide synthase by L-NGmethylarginine requires NADPH-dependent hydroxylation // J Med Chem. – 1993. – Vol. 36, P. 491-496. 14. Kharitonov S., Alving K., Barnes P.J. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations // Eur Respir J. – 1997. – Vol.10, P.1683-1693. 15. John A. Polikandriotis, Heidi L. Rupnow, Lou Ann Brown, and C. Michael. Chronic Ethanol Ingestion Increases Nitric Oxide Production in the Lung// Alcohol. – 2007. – Vol. 41 №5. P.309-316. 16. Kazim Husain, Jose Mejia, Jainarine Lalla and Sheeba Kazim. Dose response of alcohol-induced changes in BP, nitric oxide and antioxidants in rat plasma // Pharmacological Research. – 2005. – purchase Vol. 51, № 4, P. 337-343. 17. Fermio S., Lizarte, Mario A. Claudino, Carlos R. Chronic Ethanol Consumption Induces Cavernosal Smooth Muscle Dysfunction in Rats. // Urology. – 2009. – Vol. 5. P.356-367. 8. Duffin R., Shaw C.A. and Rossi A.G. Sildenafil reduces alcohol-induced gastric damage: just say 'NO' // British Journal of Pharmacology. – 2008. – Vol.153, P.623-624. 19. Husain K., Mejia J., Lalla J., Kazim S. Time response of alcoholinduced alterations in blood pressure, nitric oxide and oxidant toantioxidant balance in the plasma of rats // Exp Clin Cardiol. – 2004. – Vol.9, №4. P.229-234. 20. Gylmur Andican, Remisa Gelisgen, Ethem Unal, Osman Baran Tortum. Oxidative stress and nitric oxide in rats with alcohol-induced acute pancreatitis // World J Gastroenterol. – 2005. – Vol.11, №15. – P.2340-2345.

Надійшла до редколегії 25.11.09

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ПРИ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

У статті представлені дані огляду літератури стосовно структури підшлункової залози в нормі та її змін при гіпергастринемії. Пріоритетна особлива увага морфологічним змінам в панкреатоцитах.

Recent data on structural changes of pancreas gland in normal and hypergastrinic conditions are reviewed, with the focus on the cytology of pancreocytes.

Вступ. Підшлункова залоза (ПЗ) – майже єдиний орган, який завдяки поєднанню зовнішньої секреторної та ендокринної функцій бере участь практично в усіх фізіологічних процесах. Через анатомічні особливості та складність регуляції функцій діагностика різноманітних патологічних станів ПЗ надзвичайно складна [5, 9, 13].

Останнім часом в літературі з'явилося поняття – "кислотозалежні захворювання", і ахлоргідрія віднесена до цього списку [14, 15]. Огляд літератури свідчить про те, що ахлоргідрія є важливою ланкою патогенезу карциноїдів шлунково-кишкового тракту. При зниженні секреції соляної кислоти, за механізмом зворотнього негативного зв'язку, підвищується секреція гастрину G-клітинами антрального відділу шлунка. Гастрин відомий своєю трофічною дією на клітини слизової оболонки шлунка та товстого кишечника, але дослідження змін в підшлунковій залозі при гіпергастринемії майже не проводились [1, 4, 10, 17].

Тому метою нашої роботи було проаналізувати літературні джерела, та дослідити морфофункціональні особливості екзокринної та ендокринної частин підшлункової залози в нормі та при гіпергастринемії.

Морфологічна характеристика клітин підшлункової залози в нормі. Підшлункова залоза є важливим органом, який забезпечує адекватний перебіг травлення, залозою зовнішньої і внутрішньої секреції. Підшлункова залоза виробляє підшлунковий сік, який по протоці надходить у дванадцятипалу кишку (ферменти для перетравлення білків) і гормони (інсулін, глюкагон) в кров, що регулюють обмін вуглеводів. Це є друга за величиною залоза травної системи зі складною трубчасто-альвеолярною будовою [3, 9, 12, 14].

За гістологічною будовою підшлункова залоза відноситься до ряду альвеолярних. Її дольки розділені між собою пухкою сполучною тканиною, по якій проходять кровоносні і лімфатичні судини, нервові волокна і вивідні протоки. Також тут можна побачити у великій кількості жирові клітини.

Головна протока підшлункової залози вистелена високим одношаровим, а іноді двохшаровим циліндричним епітелієм, в якому розсіяні слизові залози. Зовні головна вивідна протока оточена шаром щільної сполучної тканини, яка збагачена колагеновими і еластичними волокнами, які надають протоці міцності. Стінки вивідних проток позбавлені власних м'язових оболонок. Відгалуження головної протоки першого та другого порядків також вистелені циліндричним епітелієм, а більш менші внутрішньодолькові протоки – кубічним епітелієм. Короткі внутрішньодолькові протоки переходять у вставні відділи ацинусів, які мають плоский епітелій [2, 15, 17].

Епітеліальні клітини, які вистеляють різні відділи вивідних протоків, ідентичні між собою за будовою і відрізняються один від одного лише висотою. Ці клітини малоструктурні і містять вузьку кайму світло забарвленої цитоплазми, невелику кількість рибосом, невеликі за розміром вакуолі ендоплазматичного ретикулюма, а також незначну кількість дрібних мітохондрій і погано сформований комплекс Гольджі. В апікальній частині клітин спостерігається відносно більш вакуолі, особливо у клітинах великих протоків. Це розглядається як

доказ їх секреторної діяльності. Гістологічно залоза складається з окремих часточок, до складу яких входять екзокринні та ендокринні частини. Між часточками органу знаходиться міжчасточкова сполучна тканина. В останній містяться вивідні протоки, кровоносні, лімфатичні судини та нервові закінчення.

Екзокринна частина формує панкреатичні ацинуси, які займають основну частину паренхіми підшлункової залози. Ацинуси мають витягнуту та округлу форми. Вони відокремлюються один від одного тонким прошарком ретикулярної тканини, в якій знаходяться капіляри, що оточують густою сіткою ацинуси. Екзокринна частина в своєму складі має внутрішньочасточкові, міжчасточкові та загальну панкреатичну протоки. Ендокринна частина представлена дрібними клітинами, скупчення яких називають "острівці Лангерганса". Вони розташовані всередині часточок, мають різну величину та найчастіше округлу форму. Такі острівці оточені тонким прошарком сполучної тканини. Острівці складаються із ендокринних клітин – інсуліноцитів, між якими знаходяться кровоносні капіляри. Саме сюди в першу чергу потрапляють інсулярні гормони.

Інсуліноцити на відміну від ацинозних клітин мають менші розміри. В їх цитоплазмі в міру розвинута гранулярна ендоплазматична сітка, але добре комплекс Гольджі, мітохондрії і секреторні гранули. Ці гранули за своїми фізико-хімічними та морфологічними властивостями неоднакові в різних клітинах острівців. На цій основі серед інсулярних клітин розрізняють 5 основних видів: (В)-клітини (базофільні), альфа (А)-клітини (ацидофільні), дельта (D)-клітини (дендритні), D₁-клітини (аргірофільні), і PP-клітини [5, 13].

Крім екзокринних (ацинозних) та ендокринних (інсулярних) клітин, в дольках підшлункової залози описаний ще один тип секреторних клітин – проміжні, або ациноостровкові, клітини. Про їх походження ведуться дискусії. Найвірогідніше це самостійний тип клітин. Вони розташовуються групами навколо острівців серед екзокринної паренхіми. Характерною особливістю проміжних клітин є наявність в них гранул двох типів – великих зимогенних, притаманним ацинозним клітинам, і дрібних, характерним для інсулярних клітин (А, В, D, PP).

Згідно одному із припущень, ациноострівні клітини виділяють у кров трипсиноподібні ферменти, які звільняють із проінсуліна активний інсулін [3].

Підшлункова залоза не має власної артеріальної системи. Її кровопостачання здійснюється за рахунок артеріальних гілок, що відходять від загальної печінкової, селезінкової та верхньої брижової артерій. Їх гілки анастомозують між собою, утворюючи потужну позаорганну та внутрішньоорганну артеріальну сітку. Венозна система підшлункової залози за своїм об'ємом значно переважає над артеріальною, що забезпечує швидке відведення крові від органа в різних напрямках. Уся венозна кров, яка відтікає від підшлункової залози, надходить у ворітну вену. Лімфатична система підшлункової залози складається з внутрішньо- та екстраорганної сіток, через які лімфа надходить у лімфатичні вузли першого порядку (передні й задні підшлунково-дванадцятипалі), а далі – в лімфатичні вузли другого

порядку (перед-аортальні, міжаортальні, ретрокавальні, латерокавальні та біля воріт обох нирок), які дають початок правій і лівій грудній протоці. Іннервація підшлункової залози здійснюється за рахунок симпатичної (великих і малих черевних нервів) та парасимпатичної (блукуючих нервів) нервової системи [3, 5, 9].

Понижена кислотність в шлунку, та, як наслідок, гіпергастринемія. Гіпергастринемія – це підвищена секреція гастрину G-клітинами астрального відділу шлунка. Причини гіпергастринемії можуть бути різні: гастриннома, гіпохлоргідрія і ахлоргідрія із хворобою Аддісона-Бірмера або без неї, неповне видалення антрального відділу при резекції шлунка, гіперплазія чи гіпертрофія G-клітин антрального відділу шлунка, печінкова недостатність, резекція тонкої кишки, стеноз пілоричного відділу, феохромоцитома тощо [1, 2, 6, 10].

У хворих із синдромом Золлінгера-Еллісона джерелом гіпергастринемії є гіперплазовані A-клітини островків підшлункової залози, які секретують гастрин [12, 13].

В нормі регуляція секреції гастрину здійснюється за рахунок механізму від'ємного зворотнього зв'язку: виділення соляної кислоти інгібує роботу G-клітин антрального відділу шлунка, які секретують гастрин. Ахлоргідрія визначає безперервну стимуляцію G-клітин та їх гіперплазію [2, 4, 6, 10]. Підвищений рівень гастрину має трофічну дію на слизову оболонку шлунка, і приводить до розвитку карциноідів, а перш за все, до гіперплазії ECL-клітин.

Зміни в клітинах підшлункової залози, викликані гіпергастринемією. Зміни функціонального стану ПЗ спостерігаються при гастродуоденальній патології і знаходяться в прямій залежності від морфофункціональних уражень шлунка та дванадцятипалої кишки.

Гастрин має трофічну дію на клітини шлунково-кишкового тракту. Він збільшує секрецію секретину, холецистокініну, соматостатину та ряду інших гормонально активних шлункових та панкреатичних пептидів, а також секрецію ферментів [5].

Рецептори до гастрину наявні і в підшлунковій залозі. Підвищений рівень гастрину в крові стимулює проліферативні процеси в панкреатитах.

Патоморфологічний процес в тканинах ПЗ проходить 3 стадії: інтерстиційний набряк, некроз (жировий або геморагічний) і секвестрація (процес відторгнення некротичної ділянки від оточуючих живих тканин) [9].

Морфологічні зміни в підшлунковій залозі при гіпергастринемії полягають у: появі інтерстиційного набряку (в основі якого лежить порушення відтоку лімфи і підвищення тиску в системі лімфатичних судин ПЗ в поєднанні з порушеннями екскреторної (частіше всього) та інкреторної (рідше) діяльності); в інтра- й перипанкреатичній проліферації жирової тканини, у ліпоматозі ПЗ; судинному склерозі; перидуктальному й перилобулярному фіброзі з облітерацією та блокадою лімфатичних капілярів, що в кінцевому результаті призводить до стау панкреатичного секрету.

Спостерігається гіперплазія *острівних клітин* підшлункової залози, нагромадження вакуолеподібних структур у цитоплазмі панкреатоцитів, розширення міжацинарного простору [12, 15, 17].

Серед *ацинусів* можуть з'являтися групи клітин з деструктивними змінами різного типу. Клітини втрачають еозинофільність, порушується полярність екзокриноцитів, ядро зміщується до центру клітини. В клітинах порушується ядерно-цитоплазматичне співвідношення, відбувається ущільнення ядра, розширення перинуклеарного простору. Межі екзокринних клітин можуть ставати нечіткими. Кількість гранул у панкреатоцитах різко зменшується, що говорить про "екзокринну недостатність під-

шлункової залози" [7, 11, 16]. При тривалому патологічному процесі можуть з'являтися некротичні ознаки, включаючи деструкцію ядерної та плазматичної мембран. Виявляються ознаки розпаду ядра на фрагменти.

У зонах деструкції ацинусів ПЗ, незалежно від ступеня тяжкості ушкодження, спостерігається запальна інфільтрація макрофагами, нейтрофільними гранулоцитами та лімфоцитами, великою кількістю фібробластів, ущільнення міжклітинного матриксу з появою в ньому фібрил колагену I і II типу [5, 8, 11].

У складі артеріолярної і капілярної ланок мікроциркуляторного русла може відзначатися пошкодження судинної стінки і периваскулярний набряк.

Особливу увагу привертає високий рівень порушень зовнішньої секреторної функції підшлункової залози. При ахлоргідрії порушується екзокринна функція підшлункової залози, що приводить до розвитку стеатореї – порушення травлення жирів. Це може бути наслідком недостатнього синтезу та секреції ліпази екзокриноцитами ПЗ [14, 16].

Додатковим патогенетичним фактором може бути синдром надлишкового росту бактерій, що розвивається в результаті зниження секреції соляної кислоти [9].

Можливі методи профілактики змін в панкреатитах при гіпергастринемії.

Можна припустити, що одним з методів профілактики розвитку патологічних процесів в підшлунковій залозі 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 [18-22].

1. Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П. Хронический гастрит. – Амстердам, 1993. – 362 с. 2. Л.И. Аруин, Л.Л. Кауплер, В.А. Исаков. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Трида-Х, 1998. – 484 с. 3. Бабак О.Я., Губергриц Н.Б., Звягинцева Т.Д. Заболевания поджелудочной железы: современный взгляд на проблему // Здоров'я України. – 2006. № 5. – С. 24–25.
4. Берегова Т.В., Цирюк О.І., Вороніна О.К., Кухарський В.М., Овчарик Т.В. Структурно-функціональні зміни в шлунку, викликані тривалою гіпергастринемією, та пошук методів їх профілактики // Тези доповідей IV Міжнародної конференції "Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології", присвяченої 90-річчю від дня народження П.Г. Богача. – 2008. – С. 43–44.
5. Борисенко М.І. Стан підшлункової залози при хронічних захворюваннях шлунка та дванадцятипалої кишки у дітей // Нова медицина. – 2003. – № 2. – С. 52–54.
6. Василенко В. Х., Сальман М. М., Рапопорт С. И. и др. Рак желудка и его ранняя диагностика. – М.: Медицина, 1977. – 312 с.
7. Гдаль В.А. Замісна терапія у разі зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – № 1 (11). – С. 36–41.
8. Губергриц Н.Б., Лукашевич Г.М., Загоренко Ю.А. Внешнесекреторная недостаточность поджелудочной железы при нарушениях желчеобразования и желчеотделения: патогенез и лечение // Укр. мед. вісник. – 2007. – № 7–8. – С. 66–72.
9. Губергриц Н.Б., Христич Т.Н. Клиническая панкреатология. – Донецк: ООО "Лебедь", 2000. – 416 с.
10. Клименков А. А., Патютко Ю. И., Губит Г. И. Опухоли желудка. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
11. Коровина Н.А., Златкина И.Н., Малова Н.Е. Экзокринная недостаточность поджелудочной железы: проблемы и решения: Руководство для врачей. – М., 2004. – 80 с.
12. Нечитайло М.Е., Кожара С.П., Хариановская Е.П. Взаимоотношения секреции и моторики в гепатопанкреатодуоденальной зоне в норме и при нарушении функции поджелудочной железы и желчевыводящих путей // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 3. – С. 8–11.
13. Охлобыстин А.В. Заболевания поджелудочной железы // Consilium medicum – 2002. – Т. 4, № 9. – С. 19.
14. Пелешук А.П., Передерий В.Г., Свинцький А.С. Гастроентерологія. – К.: Здоров'я, 1995. – 304 с.
15. Передерий В.Г., Ткач С.М., Марусанчик Б.Н. От Маастрихта 1'1996 до Маастрихта 3'2005: десятилетний путь революционных преобразований в лечении желудочно-кишечных заболеваний // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 6. – С. 4–8.
16. Токаренко А.И. Экзокринная функция поджелудочной железы, периодичность сдвигов pH в двенадцатиперстной кишке и фазная дуоденальная моторика // 36. наук. праць Запорізького держ. ін-ту удосконалення лікарів за матеріалами 60-ї підсумкової наук.-практ. конф. – Запоріжжя, 1999. – С. 84.
17. Успенский В.М. Предъявленное состояние. – Л., 1982.
18. 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.
19. Escher P., Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions // Mutat.Res. – 2000. – Vol.448, № 2. – P.121–138.
20. Inoue H.

[Endogenous ligands for PPARs] // Nippon Rinsho. – 2005. – Vol.63, № 4. – P.578-583. 21. Kostadinova R., Wahli W., Michalik L. PPARs in diseases: control mechanisms of inflammation // Curr.Med.Chem. – 2005. – Vol.12, № 25. – P. 2995-3009. 22. 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.

Надійшла до редколегії 03.12.09

УДК 576.3:611.71/72

А. Маркевич, студ., Н. Родіонова, д-р біол. наук,
М. Держинський, д-р біол. наук

ТРАНСФОРМАЦІЯ ОСТЕОБЛАСТІВ В ОСТЕОЦИТИ

В статті проаналізовані сучасні уявлення про механізми трансформації остеобластів в остеоцити (морфофункціональні та молекулярні аспекти). Приділено увагу задачам, які є актуальними для подальшого дослідження.

In article analyzed contemporary information about osteoblasts to osteocytes transformation (morphofunctional and molecular aspects) and payed public attention to actual tasks for future exploration.

У процесі апоозиційного росту кістки кожний десятий остеобласт після завершення формування кісткової речовини опиняється замуrowаним у мінералізований матрикс і перетворюється після цього в остеоцит. Інші остеобласти залишаються на поверхні кістки і переходять у неактивний стан, утворюючи плоскі клітини, які вкривають 70-80% кісткової поверхні у скелеті дорослої людини [1]. Хоча цей процес – давно відоме явище, морфофункціональні зміни, що відбуваються в остеобластах, а також особливості розвитку і специфічного функціонування зрілих остеобластів вивчені недостатньо.

Дослідження, проведені із застосуванням електронної мікроскопії, цитохімії та радіографії, показали, що в зрілій кістці, яка росте, популяція остеобластів неоднорідна [3]. Залежно від інтенсивності остеопластичного процесу на тій чи іншій ділянці кістки, остеобласти різняться за морфологією, інтенсивністю процесів специфічного біосинтезу, топографічними взаємовідносинами із зоною мінералізації. У популяції остеобластів виділено чотири морфофункціональних стани (або типи). У зонах інтенсивного остеогенезу реєструються: молоді остеобласти (I тип); зрілі функціонально активні остеобласти (II тип); остеобласти з гіпертрофованою ГЕС (клітини – депо секрету, III тип). У зонах згасання остеопластичного процесу остеобласти переходять у малоактивний, відносно процесів специфічного біосинтезу, стан (IV тип) і формують клітини (поверхневі остеоцити), що вистилають кісткові поверхні.

Остеоцити – найчисленніша клітинна популяція кісткової тканини у ссавців. Вони складають до 95% від усіх кісткових клітин. Ці клітини містяться в остеоцитарних лакунах. Їх довгі відростки занурюються у кісткові канали і формують лакунарно-каналцеву систему кістки. Періостеоцитарний простір і широко розгалужена анастомозуюча система кісткових каналців заповнена інтерстиціальною рідиною, що забезпечує живлення остеобластів оскільки містить в собі поживні речовини та кисень. У остеобластів порівняно з остеобластами значно більше ядерно-цитоплазматичне співвідношення, слабо базofilна цитоплазма [2]. Популяція остеобластів також неоднорідна. В поверхневих зонах кістки реєструються новоутворені (молоді остеоцити або преостеоцити), в більш глибоких шарах кортикальної кістки розташовані зрілі остеоцити

Трансформація остеобластів в остеоцити здійснюється у вигляді ланцюга морфологічних змін, таких як зменшення розміру клітин, кількості органел і збільшення клітинних відростків. Об'єм клітин зменшується на 70% на стадії переходу остеобластів в остеоцити [6].

Молоді остеоцити – це клітини, які знаходяться на ранній стадії трансформації остеобластів в остеоцити. Такі остеоцити мають округлу або овальну форму. У деяких клітин є невеличкі відростки, які заглиблюються

у мінералізований матрикс. В остеоцитах збільшується ядерно-цитоплазматичне співвідношення, порівняно з остеобластами. Ядра остеобластів округлі, гетерохроматин локалізується вздовж внутрішньої ядерної мембрани, а також у вигляді брилок по всьому ядру. У молодих остеоцитах ще залишається добре розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, яка взагалі характерна для активно функціонуючих остеобластів. Комплекс Гольджі в молодих остеоцитах локалізований переважно поблизу ядра. У цитоплазмі з'являється багато лізосоноподібних структур, серед яких є справжні аутофаголізосоми. Далі остеоцити набувають видовженої форми, орієнтуючись паралельно лінії мінералізації. Гранулярна ендоплазматична сітка цих клітин представлена відносно вузькими каналами, їх кількість порівняно з остеобластами даної зони зменшується, але комплекс Гольджі добре розвинений [8]. Отже, остеоцити поверхневих зон кістки, що знаходяться на початкових етапах формування, зберігають багато рис ультраструктурної організації остеобластів.

Зрілі остеоцити містяться у більш глибоких зонах трабекулярної й кортикальної кістки. Трансформація поверхневих остеобластів у більш зрілі форми в глибоких зонах кістки супроводжується структурними перебудовами, викликаними функціональною адаптацією їх до нових умов метаболізму. Клітини мають мікрофіламенти різної довжини, що заходять у відростки остеобластів, які занурюються у мінералізований матрикс. Мікрофіламентам надається важлива роль в амебоїдному пересуванні остеобластів всередині кісткової лакуни. Відростки остеобластів контактують між собою. Методом скануючої електронної мікроскопії встановлено, що між відростками сусідніх остеобластів є міжклітинні контакти у вигляді напівдесмосом або щільних контакти. Дозрівання остеобластів супроводжується помітним збільшенням кількості елементів комплексу Гольджі та везикулярних структур. Це пов'язано з рядом обставин: по-перше, з посиленням у клітинах інтенсивності аутолітичних процесів; по-друге, з участю клітин у біосинтезі глікозаміногліканів, які потім секретуються у простір остеоцитарної лакуни. Цей висновок зроблений за даними радіоавтографії. По-третє, з послідовним початком у деяких остеобластах процесів, які зумовлюють резорбцію (руйнування) мінералізованого матриксу, що називається остеолізом [2]. Така функція остеобластів припускалась і раніше.

У популяції зрілих остеобластів в залежності від ступеня розвитку органел (гранулярної ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі) виявлені остеоцити, які виконують функцію остеолізу, і остеоцити, що продукують колаген. Наявність остеобластів різних функціональних станів пов'язано з їхньою участю у процесах ремоделювання кісткової тканини. Морфофункціональна неоднорідність остеобластів зумовлена походженням остео-

цитів із остеобластів різних функціональних станів, неоднаковим ступенем зрілості клітин, характером і рівнем специфічної метаболічної активності, а саме: можливістю зворотного переходу клітин від остеолітичної активності до процесів обмеженого синтезу колагенових білків і протеогліканів, накопичення та секреції кальцію для забезпечення мінерального гомеостазу (остеоцитарне ремоделювання) [2, 3].

Деякі дослідники розрізняють три типи клітин від остеобластів до зрілих остеоцитів: преостеоцити 1 типу (остеобластичні остеоцити); преостеоцити 2 типу (остеоїд-остеоцити); преостеоцити 3 типу (частково оточені мінералізованим матриксом) [10]. Автор цього дослідження вважає, що не можна розглядати будь-яку кісткову клітину, оточену остеоїдом або матриксом, як остеоцит, тому що занурення остеобласта в остеоїд не є кінцем процесу трансформації остеобластів в остеоцити [10].

Вважається загальноприйнятим, що остеоцити забезпечують цілісність кісткової структури, беруть участь у процесах регуляції мінерального гомеостазу, обговорюється участь остеоцитів у процесах механотрансдукції. Однак механізми цих процесів здебільшого залишаються незрозумілими і є предметом досліджень.

Нині значна роль в процесах специфічного метаболізму остеоцитів надається їх відросткам і системі лакунарно-каналікулярної сітки. Механічна дія на кістку локально деформує тканину і спричинює зміни течії неклітинної рідини в періостеоцитарних лакунах і кісткових каналах. Це призводить до зрізуючого тиску на поверхні остеоцитів і тим самим регулює метаболізм клітин кісткової тканини.

Дослідження [5] дають змогу вважати, що остеоцити здатні сприймати механічні деформації, тобто вони слугують сенсорами механічних сигналів і за допомогою лакунарно-каналікулярної сітки забезпечують передачу керівних сигналів між клітинами кісткової тканини в процесі її функціональної адаптації до механічних навантажень, що змінюються.

Згідно уявлень [9], механізм, за яким остеобласти можуть включатися всередину кісткового матриксу, полягає у наступному: 1. Неполяризовані остеобласти відкладають кісткову речовину навколо себе, і таким чином ізолюють себе речовиною, яку виробляють. 2. Поляризовані остеобласти відкладають речовину кістки в одному напрямку, вони поляризовані в одному шарі по відношенню до сусідніх шарів. Це означає, що кісткова речовина відкладається у всіх напрямках і що остеобласти з усіх боків будуть занурені у кістковий матрикс. 3. Остеобласти у кожному шарі поляризовані в одному напрямку: одна генерація замурує попередню у кістковому матриксі. 4. Всередині однієї популяції деякі остеобласти або уповільнюють швидкість відкладання кісткової речовини, або навіть припиняють. Навколо цих клітин кістковий матрикс відкладають сусідні активні клітини [9].

Має місце точка зору, про те що відмінність в онтогенетичному віці остеобластів може пояснити існування гетерогенності в процесах експресії між остеобластами, тобто остеобласти на різних стадіях трансформації експресують різні речовини і виконують різні функції [4].

Висунуто також припущення, що одні остеобласти можуть модулювати функцію інших остеобластів за допомогою сигналів, якщо взяти до уваги факт про взаємне спілкування між цими клітинами. Аналізуючи процес трансформації в цілому слід враховувати, що остеобласти та остеоцити є диференційованими клітинами, які залишаються у контакті між собою навіть коли їх морфологічні і функціональні характеристики змінюються [4].

Під час формування кістки відростки на поверхні остеоцитів продовжують рости, що дозволяє остеоцитам залишатися у контакті з шаром активних остеобластів і модулювати їх активність. Коли відростки з боку судин припиняють ріст, вони продукують сигнал, який стимулює активність остеобластів, з якими було втрачено контакт. Продетерміновані остеобласти після того трансформуються в молоді остеоцити. Сигнал для припинення росту відростків може йти від остеобластів, які знаходяться в контакті з остеоцитами. До того ж припинення росту може бути обумовлено ще поступовим зменшенням судинного живлення остеоцитів. Показано, що термін життя активних остеобластів до їх замурування не залежить від кількості кісткового матриксу, який продукують остеобласти [10].

Припускається, що новоутворені остеоцити через відростки посилюють інгібуючі сигнали розташованим поряд з ними остеобластам, які знижують біосинтетичну активність, і сусідні остеобласти замурують їх.

Механізми трансформації остеобластів в остеоцити досліджується і на молекулярному рівні. Знайдено цілий ряд транскрипційних факторів, таких як Runx2 та Osterix, що є критичними для диференціювання остеобластів під час внутрішньомембранної та ендохондральної оссифікації. Runx2/Cbfa1 безпосередньо активує ряд маркерів, що необхідні для перетворення остеобластів в остеоцити, а також пов'язані з колагеном 1 типу, остеопонтином, кістковим сіалопротейном, остеокальцином. Встановлено, що E11 – єдиний маркер, який експресується під час переходу від остеобластів в остеоцити. E11 необхідний для формування повністю мінералізованих пухирців на клітинних відростках остеоцитів у складі остеоїду, що розвивається.

До молекулярних маркерів ранніх стадій диференціації остеобластів в остеоцити належать такі, як остео-нектин, остеопонтин та лужна фосфатаза, але вони також експресуються і під час пізніх стадій. Отже лужна фосфатаза залишається самим раннім маркером для остеогенних популяцій клітин. За визначенням лужної фосфатази структурні та ультраструктурні дослідження можуть відповісти на питання, чи є попередники остеоцитів та молоді остеоцити поляризованими і в якому напрямку вони секретують матрикс [7].

Таким чином, аналіз літератури показує, що до цього часу особливості та механізми трансформації остеобластів в остеоцити ще мало вивчені. Так залишається незрозумілим: чи є трансформація остеобластів в остеоцити пасивним процесом або в ньому беруть участь остеобласти? Які механізми цієї участі? До того ж відомо, що остеобласти перебувають у різних морфофункціональних станах, особливо у зонах активного остеопоезу, але залишається не дослідженим – яким чином функціональний стан остеобластів пов'язаний з перетворенням їх в остеоцити? Не вивчена також динаміка трансформації остеобластів в остеоцити в залежності від інтенсивності остеопластичних процесів.

Дослідження трансформації остеобластів у остеоцити є надзвичайно актуальними, так як нові данні дозволяють глибше зрозуміти механізми розвитку та функціонування кісткової тканини за умов норми та патології.

1. Бакулин А.В., Оганов В.С., Фельдеш И. Исследование функциональной адаптации кости при отсутствии механической нагрузки // Материалы Междунар. симп. "Биоспутники "Космос". Ленинград, 12-15 авг. 1991 г. – М., 1991. – С. 14-15. 2. Родионова Н.В. Функциональная морфология клеток в остеогенезе. – К: Наук. Думка, 1989. – 186 с. 3. Родионова Н.В. Цитологические механизмы перестройки костных при гипоксезе и микрогравитации. – К: Научная думка, 2006. – 239 с. 4. Aubin J.E. Bone stem cells. // J Cell Biochem. – 2007. N 30/31. – P. 73-82. 5. Hakeda Y., Arakawa T., Ogasawara A., Kumegawa M. Recent progress in studies on

osteocytes – osteocytes and mechanical stress // Kaibogaku Zasshi. – 2001. – 75, N 5. – P. 451-456. 6. Hall B.K., Witten P.E. The origin and plasticity of skeletal tissues in vertebrate evolution and development // Anderson J.S., Sues H.D., editors. Major transitions in vertebrate evolution. Festschrift for Dr. Robert L. Carroll. Bloomington, IN: Indiana University Press (in press). – 2005. – P. 194 – 234. 7. Inohaya K., Kudo A. Temporal and spatial expression of cbfa1 expression during embryonic development in the teleost, *Oryzias latipes*. // Dev Genes Evol. – 2007. N 210. – P. 570-574. 8. Li M., Amizuka N., Oda K., Tokunaga K., Ito T., Takeuchi K., Takagi R., Maeda T. Histochemical evidence of the initial

chondrogenesis and osteogenesis in the periosteum of a rib fractured model: implications of osteocyte involvement in periosteal chondrogenesis. // Microsc Res Tech. – 2004. – N 64. – P. 330-342. 9. Palumbo C., Palazzini S., Zappe D., Marotti G. Osteocyte differentiation in the tibia of newborn rabbits: an ultrastructural study of the formation of cytoplasmic processes // Acta Anat. – 1990. N 137. – P. 350-358. 10. Scott-Savage P., Hall B.K. Differentiative ability of the tibial periosteum from the embryonic chick // Acta Anat. – 1980. – N 106. – P. 129-140.

Надійшла до редколегії 02.12.09

УДК 616.33:577.125.33

К. Дворщенко, канд. біол. наук., С. Сенін, асп.,
О. Савченко, інж. II кат.,
Л. Остапченко, д-р біол. наук

ВПЛИВ СТРЕСОВОГО ФАКТОРУ НА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У МІТОХОНДРІЯХ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Встановлено, що при дії на щурів іммобілізаційного водоімерсійного холодового стресу у мітохондріях печінки активуються вільнорадикальні процеси: знижується вміст арахідонової кислоти та зростає кількість продуктів перекисного окиснення ліпідів.

It is established, that at action on rats of water-immersion restrain stress in liver mitochondria free-radical processes are activated: the contents of arachidonic acids is reduced and the quantity of lipid peroxidation products increases.

Вступ. Вплив пошкоджуючих факторів на організм призводить до погіршення стану здоров'я людини та розвитку різноманітних захворювань. Факторами ризику проявлення та загострення багатьох хвороб є стреси, які постійно супроводжують життя людини. При дії на організм негативних чинників значного навантаження зазнає печінка, яка відіграє ключову роль у метаболізмі [1].

Важливою ланкою при виникненні та розвитку будь-якого патологічного процесу є зміна структури та функцій мембран клітини. Незалежно від природи стимулу мембрани клітин гостро реагують на їх вплив зміною структурних компонентів та властивостей. Значну роль у життєдіяльності організму відіграють процеси перекисного окиснення мембранних фосfolіпідів. З одного боку, вони приймають участь у підтримці нормальної фізіологічної активності клітин (синтез простагландинів та лейкотрієнів, оновлення мембран тощо), а з іншого при дії несприятливих чинників в клітинах може порушуватись окисно-антиоксидантна рівновага, що призводить до зростання кількості активних форм кисню. Це в свою чергу спричинює інтенсифікацію процесів перекисного окиснення ліпідів, наслідком чого стає пошкодження мембран [9, 11].

В зв'язку з цим метою нашої роботи було визначити основні показники вільнорадикального окиснення ліпідів у мітохондріях печінки щурів за умов дії стресового фактору.

Об'єкт та методи досліджень. У досліді використовували щурів лінії Вістар обох статей вагою 180 – 230 г., яких утримували на стандартному раціоні виварію. В експериментах створювали модель іммобілізаційного водоімерсійного холодового стресу [12]. Після декапітації тварин, з гомогенату печінки щурів виділяли мітохондрії згідно методу [6] при температурі таючого льоду.

Ліпіди екстрагували за методом Фолча хлороформ-метанольною сумішшю (2:1, за об'ємом) [10]. Отриманий препарат сумарних ліпідів використовували для приготування метилових ефірів жирних кислот (ЖК). Після метилювання жирних кислот проводили їх розділення на газовому хроматографі "Thermo Electron

Corporation Finnigan TraceGC ultra" (США). Для визначення кількісного складу жирних кислот використовували метод внутрішньої нормалізації [5].

Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептанізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом [3], шиффових основ – флюориметричним методом [4]. Вміст ТБК-активних сполук визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [8].

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [7]. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю між порівнювальними показниками при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. При дослідженні спектру жирних кислот ліпідів мітохондрій печінки контрольних щурів було встановлено, що вони складаються з кислот з числом вуглецевих атомів від 14 до 22, насичених та ненасичених (рис. 1).

Показано, що за умов дії стресу збільшувався вміст міристинової жирної кислоти ($C_{14:0}$) ліпідів мітохондрій печінки – на 86% порівняно з контрольними тваринами (рис. 2). Одночасно з цим зменшувалась кількість наступних насичених жирних кислот: маргаринової ($C_{17:0}$) – на 26% та стеаринової ($C_{18:0}$) – на 11% порівняно з контролем.

При вивченні спектру ненасичених жирних кислот ліпідів мітохондріальної фракції печінки стресованих щурів було показано зростання рівня пальмітолеїнової ЖК ($C_{16:1}$) – на 125%, гептадецеинової ЖК ($C_{17:1}$) – на 57%, олеїнової ЖК ($C_{18:1}$) – на 57%, лінолевої ЖК ($C_{18:2}$) – на 35%, ліноленової ЖК ($C_{18:3}$) – на 33% та ейкозадієнової кислоти ($C_{20:2}$) – на 15% відносно контролю.

При стресі було виявлено зниження кількості таких поліненасичених жирних кислот ліпідів мітохондрій печінки: ейкозатрієнової ($C_{20:3}$) – на 57%, арахідонової ($C_{20:4}$) – на 21%, докозатетраєнової ($C_{22:4}$) – на 28%, докозапентаєнової ($C_{22:5}$) – на 35% та докозагексаєнової кислоти ($C_{22:6}$) – на 32% по відношенню до мітохондрій печінки контрольних тварин (рис. 2).

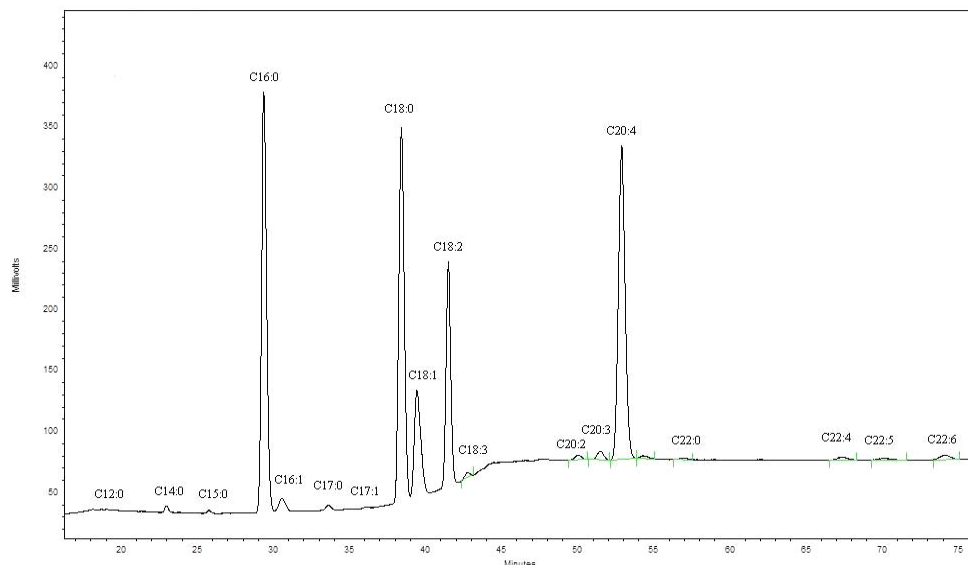


Рис. 1. Хроматограма метилових ефірів жирних кислот ліпідів мітохондрій печінки контрольних щурів

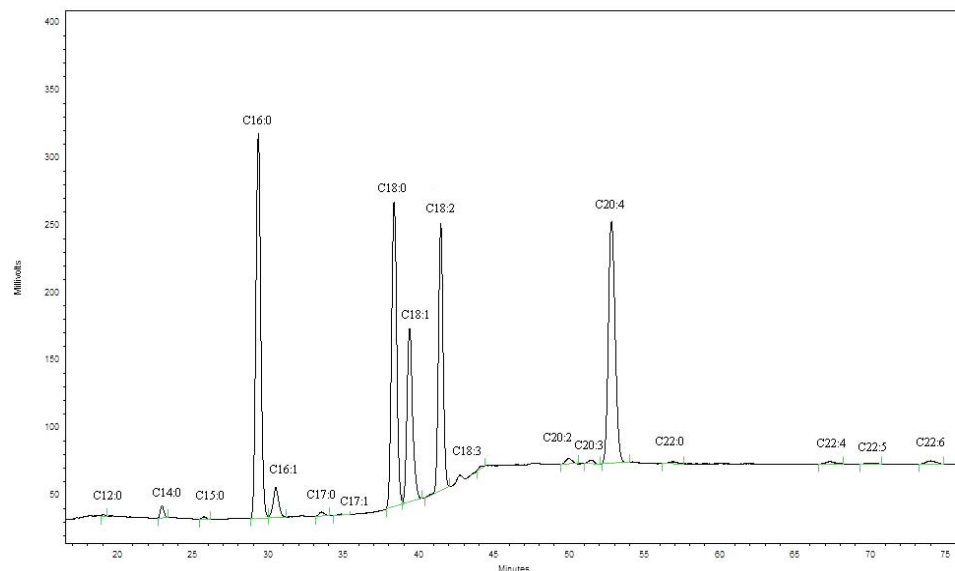


Рис. 2. Хроматограма метилових ефірів жирних кислот ліпідів мітохондрій печінки стресованих щурів

Отримані результати експериментальних досліджень по визначенню спектра жирних кислот ліпідів мітохондрій печінки за умов дії стресу свідчать про структурно-функціональні зміни у мембранних структурах цих органел. Збільшення вмісту таких основних ненасичених жирних кислот, як олеїнова та лінолева, вказує на зростання лабільності мітохондріальних мембран. Це, в свою чергу, може призвести до підвищення латеральної дифузії компонентів мембрани за рахунок зменшення взаємодії між молекулами, збільшення дифузії відповідних речовин (наприклад, неполярних сполук) крізь мембрану в зв'язку зі зростанням проміжків між "хвостами" ліпідів, підвищення здатності мембран до розриву. Зниження вмісту ненасичених жирних кислот, особливо арахідонової ЖК, у складі мітохондрій печінки може бути пов'язано з декількома процесами. З

одного боку, арахідонова кислота є попередником утворення простагландинів – фізіологічно активних речовин, синтез яких може активуватись у відповідь на біологічний стимул. З другого боку, при окисненні жирних кислот, особливо, арахідонової, можуть утворюватись продукти перекисного окиснення ліпідів (ізопростани, малоновий діальдегід та ін.) [2].

Для оцінки інтенсивності протікання перекисного окиснення ліпідів у мітохондріальних мембранах печінки щурів, які піддавались дії стресу, нами було визначено основні продукти цього процесу.

Встановлено, що при дії комбінованого стресу в мітохондріях печінки щурів зростав вміст первинних та проміжних продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів – на 2,2 разів та ТБК-активних сполук – у 2,8 разів порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у мітохондріях печінки щурів за умов дії стресового фактора, ($M \pm m$, $n=10$)

Досліджуваний параметр \ Група тварин	контроль	стрес
Дієнові кон'югати, нМоль х мг білка ⁻¹	381,81 $\pm$ 37,22	839,67 $\pm$ 79,31*
ТБК-активні сполуки, нМоль х мг білка ⁻¹	598,29 $\pm$ 54,36	1678,32 $\pm$ 139,64*
Шиффові основи, ум. од. х мг білка ⁻¹	62,67 $\pm$ 5,87	133,82 $\pm$ 14,03*

*- $p \leq 0,05$ щодо контролю

При дослідженні кінцевих продуктів ПОЛ у мітохондріальній фракції печінки щурів при стресі спостерігалось збільшення вмісту шиффових основ у 2,1 разів відносно контрольних мітохондрій (табл. 1).

Збільшення основних продуктів пероксидації ліпідів у мітохондріальній фракції печінки щурів при дії стресового фактора свідчить про зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у бік генерації активних кисневих метаболітів, що викликає радикальні порушення мембранних структур мітохондрій.

Висновки. При дії стресу на організм у мітохондріях печінки щурів зростає рівень активних форм кисню, які в свою чергу пошкоджують мембранні структури мітохондрій, що призводить до інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів. Виявлені структурні зміни мітохондрій свідчать про розвиток окисного стресу в клітинах печінки щурів за умов дії стресу.

Зміни жирнокислотного складу мітохондрій та зафіксоване зростання продуктів перекисного окиснення ліпідів може призвести до змін властивостей мітохондріальних мембран, зокрема збільшення їх мікрів'язкості, зменшення гідрофобного об'єму, зміна поверхневого заряду мембран, зростання полярності ліпідної фази, збільшення іонної проникності, пошкодження переносників, транспортних АТФаз, окиснення тіоло-

вих сполук. Таким чином, наслідки ліпідної пероксидації можуть бути дуже важкими не тільки для окремої органели, але і для всієї клітини.

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111. – Вып. 6. – С. 923 – 931. 2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972, 252 с. 3. 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. 4. 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. 5. Медведовская И.И., Воронцова М.А. Хроматографический анализ. Практикум // Изд-во "Омск" ОмГУ. – 2002, 76 с. 6. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во Моск. Универ., 1989. – С. 406. 7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Информполиграф, 2002. – 305 с. 8. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66 – 68. 9. Chamulitrat W., Mason R. Lipid peroxyl radical intermediates in the peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenase // J. Biological Chemistry. – 2002. – Vol. 264(35). – P. 20968 – 20972. 10. Folch J., Lees M. and Stanley G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226. – P. 497-509. 11. Porter N.A., Caldwell S.E., Mills K.A. Mechanism of free radical oxidation of unsaturated lipids // Lipids. – 1995. – Vol. 30, №4. – P. 277-290. 12. 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 612,35+616.36

О. Климык, асп., О. Бондзик, магістр,
С. Весельський, д-р біол. наук, М. Макачук, д-р біол. наук

ВПЛИВ ЕСТРОНУ НА ЗОВНІШНЬОСЕКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Досліджували зовнішньосекреторну функцію печінки самок щурів за умов навантаження їх організму естроном, який в опробованій дозі стимулював холерез.

The liver's external secretion function of the female rats under influence of estron was studied. Estron stimulated choleresis at the dose applied.

Вступ. Серед хворих з гастроентерологічними патологіями значну частину складають люди з порушеннями функціонування гепатобіліарної системи [1]. Зокрема, на жовчокам'яну хворобу майже вдвічі частіше хворіють жінки. Слід підкреслити, що в промислово розвинених країнах через кожні десять років кількість хворих на жовчокам'яну хворобу подвоюється. Намагання лікарів терапевтичними та хірургічними засобами вирішити цю проблему не мають цілковитого успіху, оскільки у 73-83 % хворих печінка продовжує продукувати літогенну жовч після холецистектомії. Поряд з цим слід зазначити, що певні порушення в окремих ланках процесу жовчоутворення виявляються також і під час вагітності [2].

В регуляції процесів холерезу в організмі людини та тварин приймають участь як центральні нейрогуморальні механізми, так і автономні системи, які керують функціями травних залоз у шлунково-кишковому тракті. В цій складній системі регуляції зовнішньосекреторної функції печінки певну участь беруть і статеві гормони. Їх участь проявлялась у своєрідних змінах жовчосекреторної функції у різних видів тварин після їх кастрації [3, 4]. Сучасні дослідження вказують на складні взаємозв'язки статевих гормонів з печінкою, оскільки вона віді-

грає роль певного посередника в ряді системних впливів цих стероїдів в організмі людини і тварин [5, 6]. Окрім того, в гепатоцитах печінки виявлені як цитоплазматичні, так і мембранні білки з високою спорідненістю до окремих естрогенів та андрогенів, що вказує на можливість виконання ними рецепторних функцій [7, 8]. Одним із природних естрогенів є естрон (3-Окси-естра-1,3,5 (1 О-триент-17-он), що утворюється з естрадіолу, і більша частина якого циркулює в крові. В заключних етапах перетворення цього роду сполук бере активну участь печінка, певним чином впливаючи на їх рівень в тканинах організму. І не виключено, що виявлені у жінок під час вагітності відхилення в процесах жовчоутворення в певній мірі зумовлені значними змінами у співвідношенні стероїдних статевих гормонів. Однак вплив окремих естрогенів та андрогенів на зовнішньосекреторну функцію печінки залишається недостатньо вивченим, тому метою роботи стало дослідження впливу естроу на процеси жовчоутворення в печінці піддослідних тварин.

Матеріали та методи досліджень. Досліди проведені на білих щурах-самках масою 180-250 г, які перед дослідом були позбавлені їжі на 18-20 годин з вільним доступом до води. Під час дослідів тварини знахо-

дилися під тіопенталовим наркозом (5мг/100г маси тіла тварини), введенням внутрішньочеревинно. Для дослідження зовнішньосекреторної функції печінки щурів після лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз її стінки вводили тонку пластикову канюлю з приєднаною поліетиленовою трубкою, котра з'єднувалась з мікропіпеткою. Впродовж 30 хвилин після канюлювання жовчної протоки визначали вихідний рівень жовчовиділення шляхом збору трьох 10-хвилинних порцій жовчі. Після цього піддослідним тваринам болюсно внутрішньопортально вводили естрон (8 мт/100г маси тіла тварини), розчинений у 200 мкл фізіологічного розчину. Контрольній групі тварин аналогічним способом вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. Об'єм секретованої жовчі реєстрували кожні 10 хвилин протягом трьох годин досліджу. За одиницю, що характеризує інтенсивність секреторної функції печінки, вважали середню об'ємну швидкість секреції жовчі, котру розраховували за об'ємом жовчі (нл), що продукувалась впродовж однієї хвилини у перерахунку на один грам маси тіла (нл/г/хв). Крім того, розраховували сумарний

об'єм жовчі, виділеної впродовж тридцятихвилинних проміжків часу та за весь період досліджу. Статистична обробка результатів проводилась за допомогою пакета програм STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Для оцінки нормальності розподілу використовувався тест Шапіто-Вілка. Для оцінки значущих відмінностей між вибірками з нормальним розподілом даних використовувався t-критерій Стьюдента. Відмінності між контролем та дослідом вважалися вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Холерез у печінці людини та тварин відбувається постійно, але при введенні катетера у загальну жовчну протоку відбувалося порушення ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот. В результаті цього у зовнішньосекреторній функції печінки щурів спостерігалися певні осциляції, котрі ми реєстрували в десятихвилинних пробах жовчі, відібраних в ході експерименту. З рисунку 1 видно, що перші 30 хвилин досліджу після канюлювання жовчної протоки необхідні для стабілізації жовчоток у піддослідних тварин.

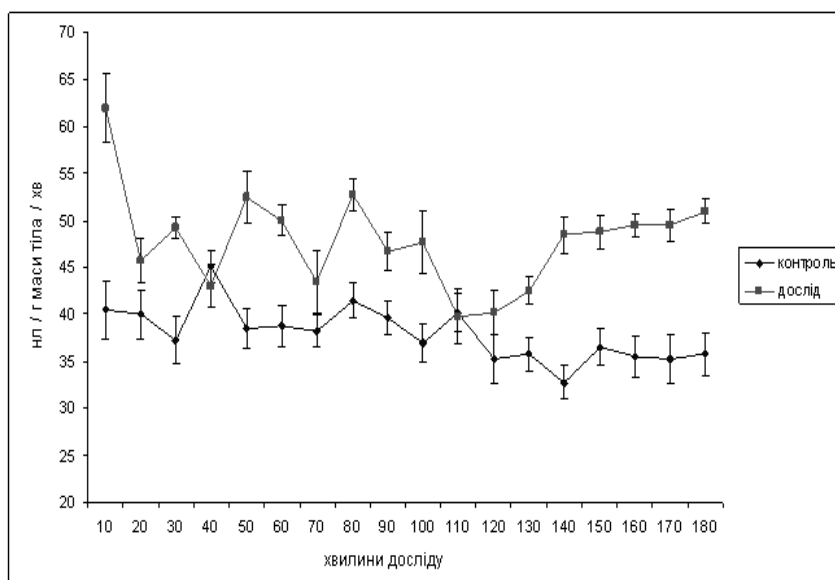


Рис. 1. Динаміка жовчовиділення у щурів-самок під впливом естрогену (8 мкг/100г)

У щурів контрольної групи впродовж трьохгодинного експерименту спостерігалось поступове зниження холерезу від $40,5 \pm 3,06$ нл/г/хв в першій десятихвилинній пробі жовчі до $35,8 \pm 2,37$ нл/г/хв в останній. Як наслідок, об'ємна швидкість холесекреції в кінці контрольного досліджу знизилась майже на 12,3% (рис. 1). Таке зниження холесекреції в значній мірі спричинено, на нашу думку, усуненням саморегулюючої ролі жовчних кислот у зв'язку з розмиканням їх ентерогепатичного кола.

Внутрішньопортальне введення естрогену (8 мкг/100г) зумовило хвилеподібне підвищення секреції жовчі у

самок щурів з декількома максимумами на 5, 8 та 18 десятихвилинних проміжках відповідно (рис.1). Такі зміни холерезу піддослідних тварин можуть в деякій мірі вказувати на складну і тривалу взаємодію статевих гормонів з клітинами печінки, а також певним чином відображати зміни перебігу фізіолого-біохімічних процесів у тканинах цього органу після навантаження гормоном.

І дійсно, естрон у перший півгодинний проміжок часу після його введення в організм щурів обумовив підвищення об'ємної швидкості холесекреції на 18,69% порівняно з контрольними величинами (табл.1).

Таблиця 1. Об'ємна швидкість холесекреції (нл/г/хв) у щурів при дії естрогену ($M \pm m$; $n=21$)

Півгодинні проміжки	Контроль	Дослід
1	$40,87 \pm 2,03$	$48,51 \pm 2,23$
2	$39,86 \pm 1,79$	$47,70 \pm 2,36^*$
3	$37,53 \pm 2,16$	$42,63 \pm 2,9$
4	$35,03 \pm 1,84$	$46,61 \pm 1,72^*$
5	$35,01 \pm 2,34$	$50,02 \pm 1,4^*$

*-відмінності достовірні у порівнянні з контролем, $p \leq 0,05$

У другий півгодинний проміжок часу стимулюючий ефект гормону дещо підсилювався, і різниця в об'ємній

швидкості секреції жовчі у піддослідних тварин зростала на 19,67% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. У третьому

півгодинному проміжку жовчоутворення за дії естроу частково знизилось, але перевищувало значення контрольної групи на 13,59%.

Найбільш потужне посилення холесекреції естроном було зареєстровано в четвертому та п'ятому півгодинних проміжках, що перевищувало контрольні величини на 33,03% ($p < 0,05$) та 40,73% ($p < 0,01$) відповідно. І як наслідок, за весь час експерименту сумарний об'єм секретованої жовчі у дослідній групі порівняно з контролем збільшився на 19,65% ($p < 0,05$). Також підкресливо, що у тварин, яким вводили естрон, не відмічено характерного для контролю зниження рівня жовчоутворення під кінець досліджу.

Отже, при дослідженні впливу естроу в дозі 8 мкг/100 г маси тіла тварин були виявлені різнопланові зміни в зовнішньосекреторній функції печінки самок щурів. Так, якщо в першу годину після внутрішньопортального введення гормону спостерігалось деяке поступове зростання холерезу у піддослідних тварин, то в другій половині досліджу дія препарату значно підсилювалась і тривала до кінця експерименту. Така зміна в зовнішньосекреторній функції печінки, ймовірно, в певній мірі відбувається завдяки багаторівневій взаємодії цього гормону з клітинами печінки із залученням системного впливу (включаючи нейрогуморальні перебудови) на перебіг фізіологічних-біохімічних процесів в тканині даного органу. Таку багатоступеневу і пролонговану реакцію на навантаження організму піддослідних тварин стате-

вими гормонами реєстрували експериментатори і при дослідженні інших функцій та процесів [9, 10, 11].

Як заключення можна констатувати, що естрон в апробованій нами дозі активно впливає на відтворення зовнішньосекреторної функції печінки самок щурів.

1. Дедерер Ю.М., Крылова Н.Л., Устинов Г.Г. Желчнокаменная болезнь – М.: Медицина, 1983. – 173 с. 2. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология: Рук-во для врачей. – М.: Медицинское информационное агенство, 1998. – 592 с. 3. Саратиков А.С., Скакун Н.П. Желчеобразование и желчегонные средства. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 1991. – 260 с. 4. Розен В.Б. Половые гормоны и их циторецепция в множественном контроле функций печени. Вестник АМН СССР. – 1983. – № 2. – С. 80-86. 5. Щепотін І.Б. Сучасні уявлення про молекулярні механізми дії естрогенів // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2007. – 4(21). 6. Игнатенко Л.Л. Определение свободных и связанных форм рецепторов эстрогенов в цитозоле печени крыс методом лигандного обмена при низкой температуре // Вопросы медицинской химии. Москва. – 1988. – Т. 2. 7. Смирнова О.В. Идентификация эстрогенсвязывающих белков в печени человека. // Пробл. эндокринологии. – 1982. – Т. 28, № 6. – С. 35-38. 8. Вишнякова Т.Г., Шныра А.А., Бочаров А.В. и др. Выявление прямого регуляторного действия эстрогенов на гепатоциты, оцениваемого по изменению уровня особого эстрогенсвязывающего белка в первичной структуре клеток // Биохимия. – 1989. – № 4. – С. 694-701. 9. Бабичев В.Н. Рецепторные механизмы действия половых гормонов. Может ли рецептор работать без лиганда? // Проблемы эндокринологии. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 32-38. 10. Ведерникова Н.Н., Майский А.И. Анализ критериев специфичности действия половых гормонов на печеночную ткань // Успехи современной биологии. – 1978. – Т. 86, Вып. 2. – С. 283-292. 11. Сергеев П.В., Минеева Е.Н. Молекулярные механизмы действия эстрадиола (концепции последних лет) // Вести. АМН СССР. – 1990. – № 6. – С. 58-62.

Надійшла до редколегії 03.09.09

УДК 578.85/86

Т. Компанець, канд. біол. наук, О. Постоєнко, канд. біол. наук, Н. Сенчугова, канд. біол. наук

ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ, ЯКІ УРАЖУЮТЬ ХРИЗАНТЕМУ

Розглянуто віруси та вірусні хвороби хризантем з огляду на сучасну класифікацію, прийняту Міжнародним комітетом з таксономії вірусів. Наведено короткі характеристики вірусів, віроїдів та фітоплазм, які зустрічаються на хризантемі.

Chrysanthemum viruses and viral diseases have been reviewed within the scope of the modern classification approved by the International Committee for Taxonomy of Viruses. Brief descriptions of chrysanthemum viruses, viroids and phytoplasmas are given.

Хризантема займає одне з провідних місць в світі серед квітково-декоративних культур. Рослини хризантеми цінують як в озелененні міст, так і в зрізанному вигляді. В умовах раціональної агротехніки вони відзначаються різноманітністю та різнобарвністю суцвіть, відносною стійкістю до бактеріальних та грибних хвороб. Проте, вегетативний спосіб розмноження, вирощування протягом декількох років сприяє розвитку і поширенню вірусних патогенів в культурі.

Вірусні хвороби викликають погіршення декоративних якостей квіток, який передбачає зниження врожаю на 40-70%, що в решті решт приводить до значних економічних збитків (Митрофанова, 1992). Інфекційні хвороби становлять особливу загрозу для великих колекцій багаторічних рослин, у тому числі для хризантеми, які в Україні підтримуються, переважно, у ботанічних садах, державних та приватних господарствах. Для того, щоб здійснювати надійний захист рослин необхідно досконально вивчити біологію збудників. Саме цій проблемі й присвячений наведений нижче огляд літератури.

Як свідчить аналіз літературних джерел, на хризантемі зустрічається ціла низка збудників вірусних захворювань (Van Regenmortel et al., 2000; Fauquet C.M., et al., 2005).

В-вірус хризантеми (Chrysanthemum B virus, carlavirus). Вперше вірус ідентифікований у 1952 році в Голландії Д. Нурдемом (Шпаар, Клайнхемпель, 1986; Коев, 1988). Вірусні частки довжиною 685 нм виявля-

ються в цитоплазмі у всіх частинах інфікованої рослини. Вірусні включення відсутні. На деяких сортах хризантеми спостерігаються ознаки хвороби як на листках, так і суцвіттах, на інших – лише на листках або виключно на суцвіттах. Деякі сорти цієї культури можуть бути прихованими носіями вірусу. Ознаки хвороби на різних сортах неоднакові і можуть мати вигляд мозаїчного та кільчастого візерунків, некротичних плям на листках, спотвореність листків, а також змін забарвлення суцвіть (Fauquet C.M., et al., 2005).

Вірус передається попелицями, механічно як інокуляцією соком так і щепленням, не передається насінням і контактом між рослинами. Вірус поширений скрізь, де вирощується хризантема. Крім хризантеми, вірус може вражувати й інші рослини родини Айстрових. Інколи на рослинах хризантем В-вірус виявляється в комбінації з іншими вірусами, підсилюючи їхню шкодоцинність (Шпаар, Клайнхемпель, 1986; Коев, 1988). На хризантемі відомо три штами цього вірусу, які диференціюються за симптомами, що викликаються ними на петунії (*Petunia hybrida*).

Вірус плямистого в'янення томатів (tomato spotted wilt virus, tospovirus). Це сферичний вірус до складу якого входить два – чотири віріони, оточені спільним суперкапсидом. При морфологічних дослідженнях віріони знаходять у всіх частинах цитоплазми, вакуолях, і, можливо, на цистернах ендоплазматичного ретикулюму (Van Regenmortel et al., 2000). У молодих рослин вірус

викликає зміни на листках у вигляді блідих хлоротичних ділянок, або кільцевих та лінійних візерунків. При подальшому розвитку хвороби може з'являтися "бронзовість" листків. Іноді спостерігаються некрози на листках та стеблах, хворі рослини відзначаються карликовістю, а при інтенсивному розвитку хвороби – гинуть. Час від часу хвороба може розвиватись без симптомів. Вірус передається механічно соком та трипсами (Коев, 1988; Van Regenmortel et al., 2000).

Вірус аспермії томатів (tomato aspermy virus, tospovirus) поширений у всіх зонах вирощування хризантеми. Слід зазначити, що вірус має дуже широке коло хазяїв. Рослина хризантеми, уражені цим вірусом, зовсім не придатна для реалізації, оскільки квіти повністю втрачають декоративну привабливість. Симптоми вірусного ураження проявляються у вигляді з'єднання в трубочки та скручування пелюсток, деформації суцвіть, позеленіння центральних квіток. Суцвіття дрібнішають, а кількість квіток в них різко зменшується. На листках симптоми майже не проявляються, але у деяких сортів спостерігається білий лінійний візерунок, дифузні хлоротичні кільця та плями. Інтенсивність прояву симптомів зростає під час цвітіння рослини (Коев, 1988). Віріони знаходять в цитоплазмі і клітинних вакуолях. При морфологічних дослідженнях уражених клітин спостерігають включення у вигляді кристалів (Van Regenmortel et al., 2000). Вірус передається попелицями, насінням та інкуляцією соку, не передається через контакт між рослинами. В рослинах вірус аспермії томатів часто зустрічається разом з В-вірусом хризантеми (Власов, 1992; Gutierrez, 1996).

Окремі види хризантем є природними хазяями вірусів. Так, на рослинах *Ch. leucanthemum* у 1922 році було ідентифіковано вірус жовтої карликовості картоплі (Potato yellow dwarf virus, nucleorhabdovirus). Вірус відноситься до нуклеофіторабдовірусів і може викликати на рослинах симптоми посвітління жилок, затримку росту, мозаїку, локальні хлоротичні ушкодження, деформацію листків тому що інфекція поширюється досить швидко і може закінчуватися загибеллю рослин. При морфологічних дослідженнях в цитоплазмі клітин знаходили вірусні включення, причому не тільки в мезофілі та флоемі листків, але й у коренях. Крім хризантеми *Ch. Leucanthemum*, вірус може інфікувати рослини ще з 9 родин. Вірус жовтої карликовості картоплі від рослини до рослини передається персистентно цикадками та попелицями, а в лабораторних умовах – механічно; насінням вірус не передається. Вірус поширений у Північній Америці та Канаді (Hsu, 1983).

На рослинах хризантеми *Ch. morifolium* було ідентифіковано вірус карликового поникнення вівса (Oat blue dwarf virus, marafivirus). Перше повідомлення про цей вірус на хризантемі датується 1971 р. (Навалинське, Самунайтен, 1996). Інфіковані рослини мають карликовий вигляд, листки таких рослин стають жорсткими. Вірус карликового поникнення вівса на хризантемі викликає стерильність плодів. Характерною ознакою цього захворювання є вирости по лінії листкової жилки та зміна кольору всієї рослини. Вірусні частки виявляються в листках, коренях, меристемі та флоемі; вони локалізовані у цитоплазмі. В уражених рослинах спостерігається утворення мембранних, кристалічних включень (в цитоплазмі) та віроплазм. Вірус передається за допомогою комах. Не передається механічною інкуляцією соку, контактом інфікованих рослин, насінням та пилом. Вірус зустрічається в Канаді, Фінляндії, Швеції та США (Fauquet C.M., et al., 2005).

У 1986 році з'явилося повідомлення про виявлення на хризантемі *Ch. segetum* вірусу зональної крапчастості пеларгонії (Pelargonium zonate spot virus, ourmiavirus). Вірус на рослинах хризантеми викликає жовту крапчастість, проте візуальні симптоми швидко зникають. Віріони розмірами 35x25 нм мають бацилоподібну форму, можуть знаходитися як у цитоплазмі, так і в ядрі та ядерці клітин мезофілу, епідермісу та флоєми. Крім цього, при вірусній інфекції у клітинах відмічалось пошкодження хлоропластів і везикул (Vovlas та ін., 1986). Вірус передається механічною інкуляцією соку, при щепленні, через насіння та пилок. Вірус поширений переважно в Італії.

Останнім часом в літературі з'явилися повідомлення про знаходження ще ряду вірусів на хризантемі. Це – помірний вірус корончастої хризантеми – *Ch. coronarium*. Перше повідомлення про нього (Garland chrysanthemum temperate virus, alphacryptovirus) в Японії датується 1983 роком (Natsuaki et al., 1983). Віріони мають ізометричну форму. Захворювання на рослинах має безсимптомний характер. Вірус передається насінням і не передається механічною інкуляцією соку (Natsuaki та ін., 1983).

У 1994 році на хризантемі виду *Ch. frutescens* був описаний вірус крапчастості хризантеми (chrysanthemum spot virus, potyvirus). Хвороба поширена в Італії (Bertaccini, 1994).

Крім вище наведених, на рослинах хризантеми виду *Ch. morifolium*, було виявлено вірус огіркової мозаїки (cucumber mosaic virus, cucumovirus). Симптоми ураження досить різноманітні, найчастіше спостерігається мозаїчне забарвлення листків, кільцева плямистість, некротичні плями та кільця на них. У сортів із червоними, "бронзовими" і коричневими квітками відзначається часткова або повна зміна забарвлення в жовто-червоно-фіолетовий, світлорозовий або яскравочервоний колір. Уражені квітки стають плямистими, або зовсім біліють. У жовтих сортів зміна забарвлення квітів відбувається рідко, а у білих майже зовсім не спостерігається. Суцвіття стають більш дрібними, ніж у здорових рослин. За симптомами ця хвороба подібна до аспермії, але проявляється слабкіше. Вірус передається механічною інкуляцією соку, насінням і за допомогою комах, в тому числі й попелицями неперсистентно. В цитоплазмі інфікованих клітин цей вірус формує включення у вигляді кристалів ромбовидної, гексагональної або сферичної форми, інколи з'являються цілі порожнисті структури, що містять у собі віріони (Van Regenmortel et al., 2000).

У Молдові було виявлено хворобу білої плямистості квітів хризантем, яка викликається Х-вірусом картоплі (Potato virus X, potexvirus). У сортів хризантеми із суцвіттями які забарвлені у фіолетовий колір, цей вірус призводить до виникнення білих плям на пелюстках. В деяких випадках на листках спостерігається хлороз, крапчастість та деформація листових пластинок. Вірус легко передається механічно та через контакти між хворими та здоровими рослинами (Коев, 1988).

Вірус розеточності хризантем (Chrysanthemum rosette virus) викликає жовту облямівку жилок листка, чітко виражену кучерявість, укорочення листових черешків та квітконосів; рослина набуває розетковидну форму. У деяких сортів укорочуються і згортаються пелюстки квіток, центральні суцвіття зменшуються і набувають зеленого кольору, з'являються маленькі та недорозвинені квітки. Деякі сорти можуть бути безсимптомними носіями вірусу. Інфекція передається при живцюванні

або через інфікований сік (Шпаар, Клайнхемпель, 1986; Коев, 1988; Van Regenmortel et al., 2000).

Поряд із вірусами, на хризантемі сибірській (*Dendranthema grandiflorum* або *Chrysanthemum arcticum*) знайдено два віроїди – хлоротичної крапчастості (*Chrysanthemum chlorotic mottle pelamoviroid*, родина *Avsunviroidae*) та карликовості (*Chrysanthemum stunt pospiviroid*, родина *Pospiviroidae*). Віроїд карликовості вперше був виявлений у 1945 році у США. Розмір РНК віроїду складає 354 – 356 нуклеотидів. Інфекція передається механічно і за вегетативного розмноження рослин. Віроїд викликає затримку росту (карликовість) рослини. Віроїд хлоротичної плямистості, описаний в Японії, має 398–399 нуклеотидів; викликає на рослині жовту плямистість листків і локальні некрози. Інфекція передається за допомогою попелиць і кліщів (Dufour et al., 2009).

Хризантема також уражується мікоплазмою жовтяниці айстри (*Aster yellows*). Хворі рослини можуть мати надмірний ріст живців, їхні листки жовті, більш витончені, жилки безбарвні; спостерігається вкорочення пагонів, насіння формується, але є стерильним. Крім хризантеми мікоплазма інфікує рослини 40 родин. Інфекція передається цикадками, збудник розмножується і зберігається в тілі комахи до 100 днів. Ознаки захворювання на рослині проявляються через 10–40 днів після інфікування. Особливо загрозливим для поширення інфекції є суха погода, коли цикадки мігрують з бур'янів на зрошувальні ділянки. Досить часто цикадки передають інфекцію на здорові рослини інших родин (O'Mara, 1993).

Таким чином, можна зробити висновок, що рослини хризантеми чутливі до багатьох вірусів, здатних погіршувати зовнішній вигляд суцвіть та знижувати комерційну цінність цієї культури. Проте, донині найбільш шкочинним залишається Вірус хризантеми.

1. Митрофанова О.В. Вирусные болезни промышленных цветочных культур и биотехнологические приемы их оздоровления: Дис... д-ра биол. РАСХН. – СПб., – 1992. – 72 с. 2. Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E.B., Estes, M.K., Lemon, S.W., Menloff, J., Mayo, M.A., Mc Geoch, D.J., Pringle, C.R., Wickener, R.B. Virus Taxonomy – Seventh Report of the International Committee on Taxonomic of Viruses. Academic Press. 2000. – 1024 p. 3. Борьба с вирусными болезнями растений / Под ред. Шпаар Д., Клайнхемпель Х. – М.: Агропромиздат, 1986. – 480 с. 4. Коев Г.В. и др. Болезни и вредители хризантем. Методы диагностики и меры борьбы. – Кишинёв: Штиинца, 1988. – 59 с. 5. Власов Ю.И. Вирусные и микоплазменные болезни растений. – М.: Агропромиздат, 1992 – 232 с. 6. Hsu T.P. Dual Transmission of the Aster Yellows Mycoplasma-like Organism and the oat blue Dwarf Virus and its effect on Longevity and Fecundity of the Aster Leafhopper Vector // Phytopathology. – 1983. – Vol.69, №8. – P. 843-845. 7. Gutierrez H., Gaona H., Mir I., Gardenas M. Elimination of tomato aspermy virus from chrysanthemum by shoot tip culture and chemotherapy // Abstr. Word Cong. In vitro Cell. Dev. Biol. Anim. San Francisco, Calif., June 22-27. – 1996 – P. 341-342. 8. Nagata T., De Avila A.C // Transmission of chrysanthemum stem necrosis virus, a recently discovered tospovirus, by two thrips species. // J. Phytopathol. – 2000. – 148, № 2. – С. 123 – 125. 9. Навалинскене М., Самунайтене М. Вирусные болезни цветочных растений. Результаты идентификации вирусов, поражающих хризантемы // Biologija. – 1996. – №4. – С. 66-74. 10. Bertaccini A., Bellardi M., Marani F. Descriptions and List of Chrysanthemum spot virus in Chrysanthemum frutenscens // Plant Disease. – 1994. – №7. – P.377-381. 11. Vovlas C. Purification and characterization of Pelargonium zonate spot virus // Plant Disease. – 1986. – Vol.76, № 8. – 905-909. 12. Dufour D., Pena M., Gago S., Flores R., Gallego J. Structure-function analysis of the ribozymes of chrysanthemum chlorotic mottle viroid: a loop-loop interaction motif conserved in most natural hammerheads // J.Nucleic Acids Res. – 2009. – 37(2) – P. 65 – 71. 13. O'Mara J., Bauernfeind R., Stevens A., Gast K.L.B., Stevens S. Aster yellows // Commercial Specialty Cut Flower Production; Cooperative Extension Service, Manhattan, Kansas – 1993. – №10. – 6 p.

Надійшла до редколегії 03.09.09

УДК 612.821.83; 612.821

Т. Куценко, канд. біол. наук, доц.

ПРОЯВ МІЖПІВКУЛЬНОЇ АСИМЕТРІЇ ПРИ ПОВТОРНОМУ ПРОХОДЖЕННІ ПРЯМОГО І ЗВОРОТНОГО ТЕСТІВ СТРУПА

При повторному проходженні тесту Струпа функціональна асиметрія проявляється переважно при реагуванні на конгруентні подразники (співпадіння семантичного значення і кольору слова). За латентними періодами реакцій ефект Струпа краще проявляється при проходженні зворотного тесту Струпа (релевантний стимул – слово), а за кількістю помилок – при проходженні прямого тесту Струпа (релевантний стимул – колір). При повторних проходженнях тесту Струпа зростає функціональна асиметрія, а також зменшується прояв ефекту Струпа. Зміна типу релевантного подразника для кожної руки із слова на колір викликає більше функціональне напруження, ніж зміна однотипного подразника (слова на слово або кольору на колір).

At successive performance of Stroop tests functional asymmetry appeared mostly in reaction on congruent stimuli (coincidence of semantic meaning and color of word). By the reaction time Stroop effect is more prominent under performance of reversed Stroop test (relevant stimulus – a word), and by the errors quantity – under performance of Stroop test (relevant stimulus – color). At successive performance of Stroop tests functional asymmetry increase, while Stroop effect decrease. Changing of the type of relevant stimulus for each hand from word to color evoke stronger functional tension, than changing of the same stimulus (word by a word or color by a color).

Вступ. Ефект Струпа (за ім'ям автора) [9] полягає у тому, що обстежуваному подається слово, яке означає певний колір, написане або відповідним кольором – конгруентне (напр., "червоне" червоним), або білим кольором (нейтральне), або невідповідним кольором – неконгруентне ("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. Ефект Струпа оцінюють також за кількістю помилок, яка у випадку неспівпадіння є найбільшою. При прямому тесті Струпа обстежуваний має реагувати на колір, яким написане

слово, нехтуючи його семантичним значенням, при зворотному тесті Струпа (який використовують рідше) релевантним є значення слова, а колір має ігноруватись [5]. У всіх відомих випадках дослідження ефекту Струпа для відповідей використовувалась одна (домінантна) рука, або відповіді давались вголос. В даному дослідженні обстежувані дають відповідь обома руками. Дослідження міжпівкульної асиметрії зачіпає питання метаконтролю виконання завдання з боку тієї чи іншої півкулі та їх узгодженої роботи. У попередніх публікаціях ми показали відмінності відповідей обстежуваних двома руками і кожною рукою окремо і виявили, що одна рука не пригнічує роботу іншої, як це показано в

ряді робіт (див. літогляд [4]), а, навпаки, їх взаємодія сприяє кращому виконанню завдання [3]. Прояв ефекту Струпа залежить від умов тестування, особливостей пред'явлення подразників, і, можливо, тому, на відміну від інших авторів [7], ми не виявили більшого прояву ефекту Струпа для лівої півкулі, а, навпаки, наші результати вказують на його кращий прояв для правої півкулі [3]. Релевантні подразники мають переваги у обробці правою (першосигнальні) і лівою (другосигнальні) півкулями мозку відповідно [7, 10], хоча ситуація є значно складнішою; зокрема, виділяють декілька систем обробки вербальної інформації, пов'язаних із кожною із півкуль [1]. Виходячи з наведених міркувань, було висунуте припущення, що при повторних проходженнях тесту Струпа із зміною типу подразника для кожної руки може бути отримана додаткова інформація відносно розуміння механізмів міжпівкульної взаємодії.

Об'єкт та методи досліджень. Обстеження 47 осіб обох статей, правшів (студентів біологічного факультету віком від 18 до 23 років) проводились за допомогою комп'ютерної методики тестування прямого і зворотного ефектів Струпа [3]. Пред'являлась серія із 120 подразників, котрі являють собою слово ("ЗЕЛЕНИЙ" або "КРАСНИЙ"), яке може бути висвітлено червоним або зеленим кольором у центрі екрану комп'ютерного монітору. Враховувались ЛП реакції та кількість помилок. Послідовність виконання була наступною: тест 1 (зворотний ефект Струпа): на слово "ЗЕЛЕНИЙ" потрібно було реагувати лівою рукою, на слово "КРАСНИЙ" – правою; тест 2 (зворотний ефект Струпа): на слово "ЗЕЛЕНИЙ" потрібно було реагувати правою рукою, на слово "КРАСНИЙ" – лівою; тест 3 (прямий ефект Струпа): на зелений колір потрібно було реагувати правою рукою, на червоний колір – лівою; тест 4 (прямий ефект

Струпа): на зелений колір потрібно було реагувати лівою рукою, на червоний колір – правою. Тести виконувались у вказаній послідовності, проміжок між їх виконанням складав близько 5-ти хвилин.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2001). Нормальність розподілів змінних перевірялась тестом Шапіро-Вілка. Оскільки всі тести проходили одні і ті ж самі обстежувані в різні моменти часу, а розподіл практично всіх параметрів за критерієм Шапіро-Вілка був відмінний від нормального ($p < 0,05$), для порівняння двох залежних вибірок було застосовано критерій Вілкоксона. Розраховувались рангові коефіцієнти кореляції Спірмана. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним $p = 0,05$ і на графіках позначався " * ". Зважаючи на те, що переважна більшість параметрів мала розподіл, відмінний від нормального, для опису вибіркового розподілу вказували Ме [25; 75] (Ме – медіана; 25 і 75 – нижній і верхній кватилі).

Результати та їх обговорення. Ефект Струпа чутливий до зміни функціонального стану. Відомо, що при повторному проходженні тестів ефект Струпа зменшується. В нашому дослідженні обстежувані проходили тест Струпа чотири рази підряд. За ЛП сенсомоторних реакцій ефект Струпа найкраще був виражений при проходженні першого тесту, при проходженні другого він був виявлений лише для правої руки, третього – для лівої, при проходженні четвертого ефекту Струпа виявлено не було (рис., позначення відмінностей під стовпчиками). Певною мірою, можна було б говорити про те, що ефект Струпа краще виражений при проходженні зворотного, а не прямого тесту Струпа, але, можливо, зниження ефекту пов'язано саме з повторними проходженнями тесту.

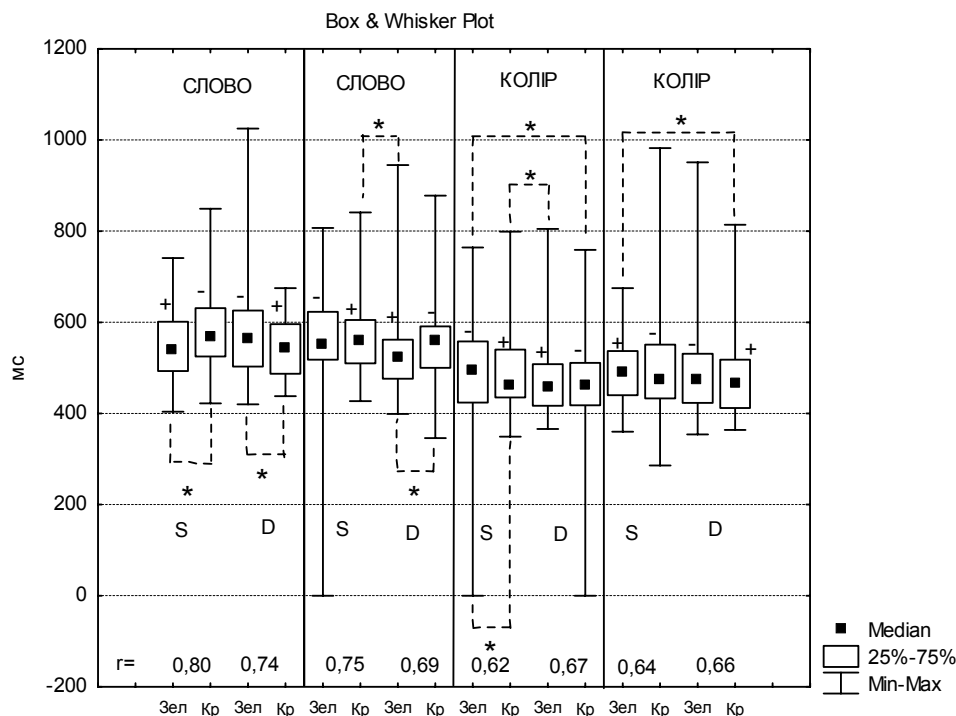


Рис.1. Латентні періоди реакцій на зворотний та прямий тести Струпа

Примітка: на осі ординат Зел – слово "зелений" або зелений колір, Кр – слово "красный" або червоний колір, S – ліва рука, D – права рука, "+" – конгруентний подразник, "-" – неконгруентний подразник, r – коефіцієнти кореляції між показниками кожної руки, СЛОВО, КОЛІР – тип релевантного подразника

З іншого боку, міжпівкульна асиметрія, яка оцінювалась за відмінністю реакцій на однотипні подразники різними руками (конгруентні або, навпаки, неконгруент-

ні), не виявилась при першому проходженні тесту, тоді як при всіх інших проходженнях тесту вона проявлялась (див. рис., позначення відмінностей над стовпчи-

ками). При цьому асиметрія у трьох випадках проявлялась саме для конгруентних подразників, і лише один раз, при зміні типу релевантного подразника із слова на колір – для неконгруентних. Іншими словами, конгруентні подразники ліва півкуля (права рука) розпізнає швидше, ніж права півкуля (ліва рука), а якщо подразники неконгруентні, обидві півкулі розпізнають цю інформацію однаково довго. У випадку конгруентних подразників це може бути пов'язано із домінуванням центрального процесора лівої півкулі, який бере на себе провідну роль у прийнятті рішень [6]. У випадку неконгруентних подразників конкуруючі потоки інформації нівелюють міжпівкульну асиметрію, адже домінуюча роль півкулі може змінюватись в залежності від функціонального стану [7]. Отриманий результат надзвичайно цікавий і потребує подальшого дослідження, хоча він певною мірою узгоджується із даними, отриманими із використання фМРТ, за якими неузгодженість відповіді пов'язана із активацією лівої премоторної кори, тоді як семантична невідповідність активувала білатерально передню поясну звивину і острівкову кору [8].

За значеннями коефіцієнтів кореляції між конгруентними/неконгруентними показниками для кожної руки можна судити про напруження в межах функціональних підсистем, які складаються в мозку для вирішення завдання (див. рис.). Всі коефіцієнти є статистично значущими, проте найвищі значення спостерігаються при першому проходженні тесту, що можна розглядати як впрацювання і формування жорсткої системи, спрямованої на вирішення завдання. При наступних проходженнях тесту значення коефіцієнтів знижуються, що може свідчити про досягнення стану стійкої працездатності і зниження функціонального напруження.

Кожен раз при зміні тесту змінювалось завдання, яке поставало перед обстежуваним. При перших двох проходженнях тесту релевантним подразником було слово, третього і четвертого – колір. При переході від першого тесту до другого для кожної руки змінювалось слово, на яке потрібно було реагувати, при переході від третього до четвертого – колір; при переході від другого до третього тесту змінювалось значення подразника – від слова до кольору. Саме в третьому тесті спостерігається найбільша функціональна асиметрія і найнижчий коефіцієнт кореляції для лівої руки, що може свідчити про труднощі, які виникають перед обстежуваними при необхідності зміни типу подразника (див. рис.).

Про ефективність і складність виконання тесту можна судити і за кількістю помилок. Загальна кількість помилок при проходженні кожного із тестів не відрізнялась. Функціональна асиметрія за кількістю помилок не виявлена, тоді як ефект Струпа був чітко виражений при проходженні прямих тестів Струпа (третього і четвертого) і лише для лівої руки – при другому прохо-

дженні зворотного тесту Струпа. Таким чином, за ЛП реакцій ефект Струпа краще проявляється при проходженні зворотного тесту Струпа, а за кількістю помилок – при проходженні прямого тесту Струпа. Таку розбіжність можна пояснити тим, що у випадку правильних відповідей, які оцінювали за ЛП реакцій, формується досить жорстка метасистема, яка у випадку здійснення помилок розпадається на підсистеми [2]. Реакції при цьому менше контролюються з боку механізмів селективної уваги, є менш усвідомлюваними. Можливо, саме тому за кількістю помилок краще проявляється ефект Струпа, як менш свідомо контрольований процес.

Висновки. При повторному проходженні тесту Струпа функціональна асиметрія проявляється переважно при реагуванні на конгруентні подразники (співпадіння семантичного значення і кольору слова) як прояв діяльності метасистеми, спрямованої на правильне виконання завдань. За латентними періодами реакцій ефект Струпа краще проявляється при проходженні зворотного тесту Струпа (релевантний стимул – слово), а за кількістю помилок – при проходженні прямого тесту Струпа (релевантний стимул – колір). При повторних проходженнях тесту Струпа зростає функціональна асиметрія, а також зменшується прояв ефекту Струпа, ймовірно, внаслідок навчання. При послідовному проходженні тестів зміна типу релевантного подразника для кожної руки із слова на колір викликає більше функціональне напруження, ніж зміна однотипного подразника (слова на слово або кольору на колір).

1. Ильиченок И. Р., Сысоева О. В., Иваницкий А. М. Две семантические системы мозга для быстрого и медленного различения абстрактных и конкретных слов // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – Сентябрь-Октябрь 2007. – том 57, № 5. – С. 566-575.
2. Куценко Т., Філімонова Н. Аналіз підсистем обробки інформації при дослідженні функції креативності // Вісник Київського університету (серія Біологія) – 2008. – Вип. 52. – С. 47-49.
3. Куценко Т.В., Філімонова Н.Б., Костенко С.С. Прояв прямого і зворотнього ефекту Струпа при відповідях обома руками та кожною рукою окремо // Вісник Черкаського університету. Серія "Біологічні науки". – Черкаси, 2009 (друку).
4. Adam R., Güntürkün O. When one hemisphere takes control: metacontrol in pigeons (*Columba livia*) // PLoS ONE, Jan 2009. – 4 (4). – p.e5307.
5. Atkinson, C.M., Drysdale, K.A., Fulham, W.R. Event-related potentials to Stroop and reverse Stroop stimuli // International Journal of Psychophysiology 47 (1). – Jan 2003. – p.1-21.
6. Faw B. Pre-frontal executive committee for perception, working memory, attention, long-term memory, motor control, and thinking: A tutorial review // Consciousness and Cognition. – March 2003. – V.12, Issue 1. – P. 83-139.
7. MacLeod C.M. Half a Century of Research on the Stroop Effect: An Integrative Review // Psychological Bulletin, 109 (2). – Mar 1991. – p.163-203.
8. Melcher, T. Gruber, O. Decomposing interference during Stroop performance into different conflict factors: An event-related fMRI study // Cortex, 45 (2). – Feb 2009 – p.189-200.
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

Наукове видання



ВІСНИК КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуск 56

Друкується за авторською редакцією

Оригінал-макет виготовлено Видавничо-поліграфічним центром "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, економіко-статистичних даних, власних імен та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали. Рукописи та дискети не повертаються.

Засновник та видавець – Київський національний університет імені Тараса Шевченка. Свідоцтво Міністерства інформації України про державну реєстрацію засобів масової інформації КІ № 251 від 31.10.97. Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", директор Г.Л.Новікова. Адреса ВПЦ: 01601, Київ, б-р Тараса Шевченка, 14, кімн. 43. ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28



Підписано до друку 07.04.10. Формат 60x84^{1/8}. Вид. № 3. Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Наклад 500. Ум. друк. арк. 7,7. Обл.-вид. арк. 10,0. Зам. № 210-5208.

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