

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

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів та студентів.

Подано експериментальные данные об особенностях строения, развития и функционирования растительных и животных организмов, флору и фауну Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными УНЦ "Институт биологии" в области физиологии растений и животных, генетики, ботаники, зоологии, микробиологии, вирусологии. Изложены также новые данные биохимических и биофизических основ регуляции в клетках и органах в норме и после воздействия различных физико-химических факторов, приведены результаты новых методических разработок.

Для преподавателей, научных сотрудников, аспирантов и студентов.

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of Biology" 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 РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ	Л. І. Остапченко, д-р біол. наук, проф. Є. О. Торгалло, канд. біол. наук (відп. секр.); С. Є. Вакал, асист. (техн. секр.); С. Сабо, д-р біол. наук, проф. (м. Ірвайн, США. Університет Каліфорнії); О. В. Жолос, д-р біол. наук, проф. (Королівський університет Белфаста, м. Белфаст, Великобританія); М. Шандор, д-р біол. наук, проф. (Західно-Угорський Університет, м. Сомбатхей, Угорщина); С. Юозас, д-р біол. наук, проф. (Інститут ботаніки, м. Вільнюс, Литва); Б. Каленгхем, проф. (м. Кембридж, Великобританія); В. О. Іваниця, д-р біол. наук, проф.; Т. В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; Д. Н. Говорун, д-р біол. наук, проф.; Дж. Воллес, д-р біол. наук, проф. (Торонто, Онтаріо, Канада); І. Г. Емельянов, д-р біол. наук, проф.; Е. М. Держинський, д-р біол. наук, проф.; І. Ю. Костіков, д-р біол. наук, проф.; О. Я. Склярів, д-р біол. наук, проф.; В. С. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.; М. Ю. Макаруч, д-р біол. наук, проф.; В. П. Поліщук, д-р біол. наук, проф.; В. К. Рибальченко, д-р біол. наук, проф.; Н.Ю. Таран, д-р біол. наук, проф.; А. В. Сиволоб, д-р біол. наук, проф.; А. Г. Мойсеєнок, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. НАН Білорусії
Адреса редколегії	03127, Київ-127, просп. акад. Глушкова, 2а, ННЦ "Інститут біології" ☎ (38044) 521-35-98; www.biovestnik.com; bulletin.vestnik@gmail.com
Затверджено	Вченою радою ННЦ "Інститут біології" 13.06.2016 (протокол № 12)
Атестовано	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/3 від 14.04.10
Зареєстровано	Міністерством юстиції України. Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 16053-4525 ПР від 09.11.09
Засновник та видавець	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, 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
Журнал входить до наукометричних баз / Abstracted and Indexed:	Index Copernicus (з 2012 р. ICV-2013 = 5,23), Cite Factor (з 2014 р.), Research Bible (з 2013 р.), Academic Keys (з 2013 р.), DOAJ (з 2013 р.), EBSCO.EJS (з 2012 р.), Free medical journals list of Geneva Foundation for Medical Education and Research (з 2014 р.); HINARI (з 2013 р.); Medical Journals Links (з 2013 р.); OAJI (з 2012 р.); The Knowledge Network (з 2014 р.); Ulrich's Periodicals Directory (з 2012 р.); WorldCat (з 2013 р.); E-Library.ru

ЗМІСТ

Стойко С., Барна М. IN MEMORIAM Володимира Івановича Чопика (4 червня 1929 р. – 3 грудня 2015 р.)	5
Драницина А., Дворченко К., Гребіник Д., Остапченко Л. Експресія генів <i>Cftr</i> , <i>Snn1b</i> та <i>Slc9a3</i> в епітеліюцитах дванадцятипалої кишки щурів за умов тривалої гіпохлоргідрії шлунка та при введенні мультипробіотика	8
Соколенко В. Особливості активності професійних фагоцитів у мешканців територій, забруднених радіонуклідами	13
Нужина Н., Ткачук О., Фукаляк А. Динаміка пігментного комплексу трьох видів шипшини за умов гіпертермії.....	16
Бурлака Ю., Гринь Н., Верьовка С. Дослідження агрегаційної здатності тромбоцитів у хворих на рак гортані	20
Калиновський В., Пустовалов А., Держинський М., Гродзюк Г., Андрюшина Н. Вплив наночастинок та йонів золота на морфо-функціональний стан сім'яників статевонезрілих щурів.....	23
Горобець Л., Яненко В. Птахи в живленні пугача (<i>BUBO BUBO L.</i>) Передкавказзя	27
Кузнєцова М., Галенова Т., Савчук О. Дослідження гострої та підгострої токсичності екстракту лушпиння квасолі звичайної за умов його перорального введення	31
Молчанюк Н. Динаміка ультраструктурних змін хоріоретинального комплексу очей щурів, викликаних великою дозою метанолу	36
Харькова А., Мінченко О. Експресія генів <i>IGF1R</i> , <i>IGFBP4</i> та <i>IGFBP5</i> у клітинах гліоми лінії U87 за умов дефіциту глютаміну.....	41
Будаш Г., Білько Н. Диференціювання індукованих плюрипотентних стовбурових клітин в кардіоміоцити в суспензійній культурі з постійним перемішуванням та в спеціальних планшетах з мікролунками	46
Палагеча Р., Таран Н., Галениеце А., Томсоне С. Представники родини <i>MAGNOLIACEAE</i> JUSS., що зростають у різних кліматичних зонах, в колекціях ботанічних садів Київського національного університету імені Тараса Шевченка та Латвійського університету.....	51
Гончаревський С., Мартинюк В. Динаміка температури репрезентативних зон шкіри людини у умовно здорових молодих людей	57
Корольова О. Гриби класу <i>Dothideomycetes</i> лісових рослинних угруповань степової зони України.....	61
Крохмаль І. Концепція прогнозу успішності інтродукції трав'янистих багаторічників до степової зони України	66
Устянська О., Вовчук І., Петров С., Будняк О. Гоженко С. Регуляція тіаміном активності трипсиноподібних ферментів в тканинах білих щурів	78
Шатинська О., Іскра Р. Корекція цитратом магнія оксидативного стресу в крові щурів з експериментальним діабетом	81
Джус О., Гарманчук Л., Сторожук О., Орисик В., Зборовський Ю., Вовк М. Вплив <i>N</i> -ГІДРОКСИ-4-([<i>(E)</i> -2ФЕНІЛЕТЕНИЛ]СУЛЬФОНІЛ)АМІНО)БУТАНАМІДУ на показники клітинного циклу та адгезивні характеристики трансформованих клітин	84
Мірошник Н. Структура дендрофлори та інвазивна активність видів-інтродуцентів правобережжя середнього Придніпров'я.....	89

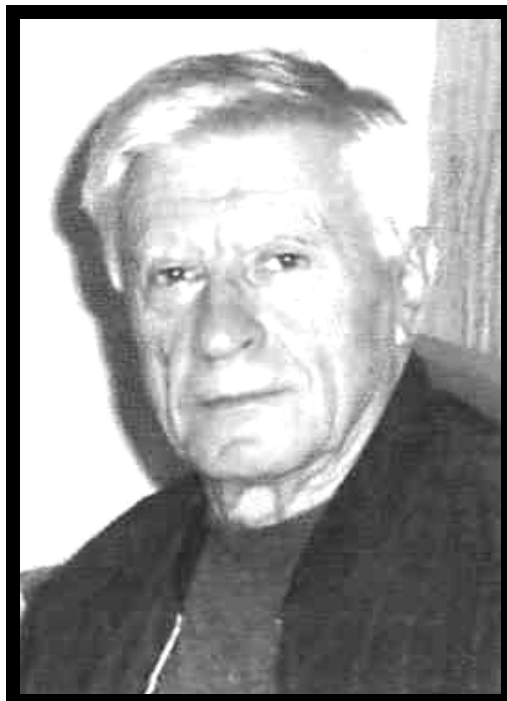
СОДЕРЖАНИЕ

Стойко С., Барна М. IN MEMORIAM Владимира Ивановича Чопика (4 июня 1929г. – 3 декабря 2015 г.).....	5
Драницина А., Дворщенко Е., Гребинь Д., Остапченко Л. Экспрессия генов <i>Cftr</i> , <i>Snn1b</i> и <i>Slc9a3</i> в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки крыс при длительной желудочной гипохлоргидрии и при введении мультипробиотика.....	8
Соколенко В. Особенности активности профессиональных фагоцитов у обитателей территорий, загрязненных радионуклидами.....	13
Нужина Н., Ткачук О. Особенности анатомического строения листьев некоторых видов рода <i>ROSA</i> в связи с их засухоустойчивостью.....	16
Бурлака Ю., Гринь Н., Вережка С. Исследование агрегации тромбоцитов у больных раком гортани	20
Калиновский В., Пустовалов А., Дзержинский М. Влияние наночастиц золота на морфо-функциональное состояние семенников неполовозрелых крыс	23
Городец Л., Яненко В. Птицы в питании филина (<i>Bubo bubo</i> L.) Передкавказья	27
Кузнєцова М., Галенова Т., Савчук А. Исследование острой и подострой токсичности экстракта створок фасоли обыкновенной при условии его перорального введения.....	31
Молчанюк Н. Динамика ультраструктурных изменений хориоретинального комплекса глаз крыс, вызванных большой дозой метанола	36
Харькова А., Минченко О. Экспрессия генов <i>IGF1R</i> , <i>IGFBP4</i> и <i>IGFBP5</i> в клетках глиомы линии U87 при дефиците глутамина.....	41
Будаш Г., Билько Н. Дифференцирование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в кардиомиоциты в суспензионной культуре с постоянным перемешиванием и в специальных планшетах с микролунками.....	46
Палагеча Р., Таран Н., Галениец А., Томсоне С. Представители семейства <i>MAGNOLIACEAE</i> JUSS., произрастающие в разных климатических зонах, в коллекциях ботанических садов Киевского национального университета имени Тараса Шевченко и Латвийского университета	51
Гончаревский С., Мартынюк В. Динамика температуры репрезентативных зон кожи человека в условно здоровых молодых людей	57
Королёва О. Грибы класса лесных растительных сообществ степной зоны Украины	61
Крохмаль И. Концепция прогноза успешности интродукции травянистых многолетников в степную зону Украины	66
Устьянская О., Вовчук И., Петров С., Будняк А., Гоженко С. Регуляция тиамином активности трипсиноподобных ферментов в тканях белых крыс	78
Шатинская Е., Искра Р. Коррекция цитратом магния оксидативного стресса в крови крыс с экспериментальным диабетом	81
Джус Е., Гарманчук Л., Сторожук О., Орысык В., Зборовский Ю., Вовк М. Влияние <i>N</i> -ГИДРОКСИ-4-({(E)-2ФЕНИЛЭТЕНИЛ}СУЛЬФОНИЛ}АМИНО)БУТАНАМИДА на показатели клеточного цикла и адгезивные характеристики трансформированных клеток.....	84
Мирошник Н. Структура дендрофлоры и инвазионная активность видов-интродуцентов правобережья среднего Приднєпровья	89

CONTENTS

Stoiko S., Barna M. IN MEMORIAM Volodumura I. Chopuka (4 june 1929r. – 3 december 2015r.).....	5
Dranitsina A., Dvorchshenko K., Grebinyk D., Ostapchenko L. Expression of <i>Cftr</i> , <i>Snn1b</i> and <i>Slc9a3</i> genes in rat duodenal upon long-term gastric hypochlorhydria and with administration of multiprobiotic.....	8
Sokolenko V. Specifies of professional phagocyte activity in residents of radiation contaminated areas	13
Nuzhyna N., Tkachuk O. THE leaf's anatomical features of some species <i>ROSA</i> in relation to their drought resistance	16
Burlaka Iu., Gryn' N., Verevka S. Investigation of platelet aggregation in patients with laryngeal cancer	20
Kalynovskyi V., Pustovalov A., Grodzyuk G., Andriushina N. Testicular morpho-functional state of immature rats under the effect of gold nanoparticles and ions.....	23
Gorobets L., Yanenko V. Birds in nourishment of Eagle-owl (<i>Bubo bubo</i> L.) in Ciscaucasia region	27
Kuznietsova M., Halenova T., Savchuk O. Acute and sub-acute toxicity studies of an extract from white bean pods under the condition of its intragastris administration	31
Molchayuk N. Dynamics of ultrastructural changes in the chorioretinal complex of rat eyes induced by high dose of methanol	36
Kharkova A., Minchenko O. Expression of <i>IGF1R</i> , <i>IGFBP4</i> and <i>IGFBP5</i> genes in U87 glioma cells upon glutamine deprivation	41
Budash G., Bilko N. Induced pluripotent stem cells differentiation into cardiomyocytes by rotating suspension culture and in specific plates with microwells.....	46
Palagecha R., Taran N., Galeniece A., Tomsone S. Representatives of the MAGNOLIACEAE JUSS. Family growing upon the different climetic condition, from the botanical garden collection of National Taras Shevchenko University of Kiev and Latvian university	51
Goncharevskyi S., Martynyuk V. Dynamics temperature representative areas of human skin in relatively healthy young people.....	57
Korolyova O. Dothideomycetes of forest plants communities of the steppe zone of Ukraine.....	61
Krokhmal I. The concept of forecasting success introduction herbaceous perennials in the Ukraine steppe	66
Ustjansky O., Petrov S., Vovchuk I., Budnyak O., Gozhenk S. Regulation of trypsin-like enzyme activity in the tissues of white rats with thiamine	78
Shatynska O., Iskra R. Correction magnesium citrate oxidative stress in blood of rats with experimental diabetes	81
Dzhus O., Garmanchuk L., Storozhuk O., Orysyk V., Zborovsky Y., Vovk M. Effects of <i>N-HYDROXY-4-([(E)-2PHENYLETHENYL] SULFONYL)AMINO)BUTANAMIDE</i> on cell cycle and adhesive properties in tumor cells.....	84
Miroshnik N. Structure of dendroflora and invasive activity of introduced species on the right bank of Dnipro	89

IN MEMORIAM ВОЛОДИМИРА ІВАНОВИЧА ЧОПИКА (4 ЧЕРВНЯ 1929 Р. – 3 ГРУДНЯ 2015 Р.)



3 грудня 2015 р. у Києві на 87 році життя відійшов у вічність видатний український ботанік, флорист, систематик, фітосозолог, еколог, фітогеограф, доктор біол. наук, професор, дійсний член Академії наук вищої школи України Володимир Іванович Чопик. Він народився в селянській родині у мальовничому гірському селі Тереблї Тячівського району Закарпатської області, село було засновано 1380р. Чопик В.І. належить до покоління закарпатців, яке пережило три політичні державні режими, що позначилося на їхній освіті, вихованні, менталітеті. Навчання в народній школі, потім "горожанській"(не повній середній) школі та гімназії здійснювалися за чехословацькою, угорською системами освіти, в якій вагомому значенню надавалося, крім спеціальних предметів, чеській, угорській, німецькій, латинській мовам. Після возз'єднання Закарпаття з Радянською Україною всіх учнів 4-5 класів горожанської школи було переведено до 8-го класу новоствореної радянської десятирічки. У результаті цих реформ юнак Чопик здобував середню освіту упродовж 12-13 років.

Мальовничі дубові й букові ліси у басейні однойменної річки Тереблї, правої притоки Тиси, де розташоване рідне село Володимира Івановича, мало чималий вплив на вибір його життєвого шляху. Тому, закінчивши успішно середню школу, Володимир Іванович поступив у 1948 р. на біологічний факультет новоствореного Ужгородського університету, спеціалізуючись на кафедрі ботаніки. Після закінчення університету у 1953 р. він обіймав посаду старшого наукового співробітника університетського ботанічного саду Це сприяло знайомству В.І. Чопика з рядом відомих ботаніків та географів, які приїжджали на Закарпаття – академіком АН СРСР В. Б. Сочавою, тоді ще кандидатами наук В. Г. Хржановським, А. І. Барбаричем, яких він супроводжував в ботанічних екскурсіях по Карпатах, що й визначило його подальші наукові інтереси. Восени 1954 р. Володимир Іванович вступив до аспірантури Інституту ботаніки АН УРСР й під керівництвом доктора біол. наук, професора М. І. Котова підготував і у квітні 1958 р. успішно захистив кандидатську дисертацію на тему "Флора й рослинність західної частини Українських Карпат".

Після короткочасної роботи в Президії Академії наук України на посаді наукового консультанта Відділення біології, Володимир Іванович переходить на посаду наукового співробітника в Центральний ботанічний сад АН УРСР. Його запросив директор саду академік М. М. Гришко й доручив завершити створення ботаніко-географічної ділянки "Карпати", розпочатої професором О. І. Соколовським. В.І.Чопик здійснив одинадцять експедицій в Карпати, звідки завозив живий посадковий матеріал і насіння для поповнення колекції на карпатській ділянці. Він зібрав також понад 2500 гербарних аркушів, чим поповнював гербарні колекції Центрального ботанічного саду та Інституту ботаніки АН України.

У зв'язку з підготовкою "Визначника рослин Українських Карпат" у 1969 р. В. І. Чопика було переведено на посаду старшого наукового співробітника Інституту ботаніки. Тут він інтенсивно продовжує досліджувати флору Карпат, здійснює експедиційні поїздки в Чехословаччину і Польщу для ознайомлення з флорою Західних Карпат. Неодноразові поїздки у гірські райони Кавказу та Середньої Азії дали можливість з'ясувати ботаніко-географічні зв'язки та флоро-генетичну спорідненість флор цих гірських систем з флорою Карпат, що було відображено в публікаціях Володимира Івановича. На підставі цих досліджень він підготував і в 1973 р. успішно захистив докторську дисертацію "Аналіз високогірської флори Українських Карпат". У 1976 р. виходить його монографія "Високогірська флора Українських Карпат". Через рік вийшов друком "Визначник рослин Українських Карпат", підготовлений колективом авторів за редакцією В. І. Чопика та була опублікована серія інших публікацій, в т. ч. з охорони рідкісних рослин. Флористичне багатство Карпат Володимир Іванович Чопик досліджував не лише як ботанік, але й як уродженець і патріот цього

го краю, який знав добре його природні умови. На вчених радах директор Інституту ботаніки АН України академік Дмитро Костянтинів Зеров слушно наголошував, що найбільше ботаніків для України дав мальовничий і флористично цікавий басейн річки Терембі, в якому народилися В. І. Комендар, В. Чопик, І. М. Григора, С. М. Стойко.

На підставі вивчення флори, аналізу ендеміків і реліктів В. І. Чопик висунув нову гіпотезу про походження, шляхи формування високогірської флори Карпат та її флоро-генетичні зв'язки з флорами гірських систем Європи. Упродовж багатьох років він продовжував вивчати флористичне різноманіття Карпат та поширення реліктових й інших раритетних видів. Оцінивши належним чином ці наукові здобутки, відомий російський ботанік Р. В. Камелін на сторінках "Ботанического журнала" констатував, що завдяки згаданим публікаціям "...флора Карпат одна з найбільш вивчених на даному етапі регіональних флор Радянського Союзу".

Володимир Іванович Чопик один із піонерів наукових досліджень в галузі охорони видового різноманіття рослинного світу України, що відображено в чисельних його ботанічних публікаціях упродовж 1963 – 2015 рр. Проводячи хорологічні дослідження раритетних ендемічних та реліктових видів, він звертав увагу не лише на антропогенні причини їх зникання, але й на причини історико-географічні. Підсумком його природоохоронних досліджень була публікація у 1980 р. у співавторстві з зоологом Федоренком першої "Червоної книги України". Він приймав також участь у першому та другому випусках "Красной книги СССР". На прохання академіка А. Л. Тахтаджяна, В. І. Чопик брав участь у випуску колективної праці про рідкісні та ендемічні види рослин на території СРСР, які були потрібні до Флори Європи (перше й друге видання, 1976, 1983 рр.).

За рекомендацією професора Ленінградського університету О. І. Толмачова у 1972 р. В. І. Чопик був включений до складу авторського колективу фітохорологів СРСР, який, разом з науковцями 30 європейських країн, приймав участь у багатотомному виданні "Atlas florae Europaeae". Тривалий час проф. В. І. Чопик був членом Головного редакційного Комітету і співавтором усіх опублікованих 14 томів: Т. I (1972) – Т. XIV (2007 р.) "Атласу флори Європи". Участь у цьому виданні науковців інших університетів і наукових установ сприяла формуванню флорохорологічної школи в Україні. У 1975 р., обіймаючи посаду завідувача відділу систематики і географії рослин Інституту ботаніки, В. І. Чопик започаткував новий напрям досліджень, який передбачав випуск багатотомної "Хорології флори України".

У 1978 р. проф. Чопика запрошено очолити кафедру вищих рослин Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Як педагог, ботанік, еколог він щедро ділиться своїми знаннями з студентами, магістрантами, аспірантами, докторантами. Кафедра зосередила увагу на вивченні флори Середнього Придніпров'я, результатом чого був випуск колективної праці "Конспект флори Середнього Придніпров'я".

Узагальнюючи та осмислюючи результати досліджень екологічного стану навколишнього середовища та органічного світу, В. І. Чопик приходив до висновку, що дотеперішні екологічні заходи не в стані призупинити деградацію природного середовища та збіднення біорізноманіття оскільки базуються на засадах технократизму. Щоби зберегти різноманіття рослинного й тваринного світу, потрібне нове мислення, нова парадигма, яка передбачала б перехід від *антропоцентризму* (примат інтересів людини) до *біоцентризму* (примат охорони усіх форм життя на Землі). На цю тему він опублікував статтю в журналі Освіта (2009) та спільну статтю з К. М. Ситником у Віснику НАН України (2009).

Необхідно окремо відзначити заслуги В. І. Чопика у підготовці висококваліфікованих ботаніків нової генерації. Він підготував 18 кандидатів та докторів наук, які працюють у вищих навчальних закладах та науково-дослідних установах в Україні та за кордоном..

Упродовж багаторічної творчої діяльності В. І. Чопик брав активну участь у громадському і науковому житті. Він був членом редколегій ряду наукових журналів та збірників України, відповідальним редактором міжвузівського збірника "Проблемы общей и молекулярной биологии", щорічника "Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка", наукового журналу "Біологія" та інших наукових фахових видань. Володимир Іванович був членом Акредитаційної комісії Міністерства освіти і науки України, членом спеціалізованих вчених рад із захисту докторських і кандидатських дисертацій. Нагороджений відзнакою "Відмінник народної освіти УРСР" (1982), є лауреатом премії імені Тараса Шевченка Київського національного університету (1999), Софіївський професор (1997). Багато сил та енергії професор В. І. Чопик віддавав роботі на посаді Головного вченого секретаря та члена президії АН ВШ України.

З 2007 р. й до кончини життя професор В. І. Чопик очолював кафедру екології та фізіології рослин біологічного факультету Кременецького обласного гуманітарно-педагогічного інституту імені Тараса Шевченка (нині Кременецька обласна гуманітарно-педагогічна академія імені Тараса Шевченка). Працюючи на кафедрі він зацікавився флорою Поділля, брав участь у міжнародних і Всеукраїнських конференціях, присвячених флорі й рослинності цього фізико-географічного регіону.

Знаючи добре флору Карпат, проф. В. І. Чопик на схилі років доповнив Визначник рослин Українських Карпат (1977) і, разом з провідним науковим співробітником відділу систематики та флористики судинних рослин Інституту ботаніки НАН України, доктором біол. наук М. М. Федорончуком, видав 2015 р. Флору Українських Карпат (711 с.), яка включає 2532 види природної та адвентивної флори судинних рослин. Ця фундаментальна праця матиме вагомe значення для збереження фітогенотипу гірського регіону. У передмові до Флори автор констатує, що у країнах, на території яких розташована карпатська гірська система, вже завершена інвентаризація флори. Тому було б доцільно видати "Хорологічну флору Карпат". Прийняти участь у написанні такої колективної праці мав намір В. І. Чопик. На жаль передчасна смерть не дозволила йому здійснити цей намір. Помер Володимир Іванович 3 грудня 2015 р. Похований в Києві коло своєї дружини.

Проф. Чопик В. І. автор понад 200 наукових праць, кількох монографій та навчальних посібників. Він співавтор наукових ботанічних довідників, опублікованих у Києві, Москві, Ленінграді, Англії, Фінляндії, Болгарії, Словаччині. В історію української ботанічної науки професор Чопик В. І. увійшов як класик вітчизняної флористики та систематики. Пам'ять про його творче життя та внесок в ботаніку і систематику рослин залишиться на завжди.

Основні наукові праці професора В. І. Чопика

1. Визначник рослин Українських Карпат / [В. І. Чопик, М. І. Котов, В. В. Протопопова та ін.]; за ред. В. І. Чопика. – К.: Наук. думка, 1977. – 432 с.

2. Конспект флори середнього Придніпров'я: навч. посіб. / [В. І. Чопик, Ю. О. Войтюк, М. М. Бортняк та ін.]. – К.: Фітосоціоцентр, 1998. – 139 с.
3. Красная книга СРСР: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных и растений. – Т. 2. – Ч. VIII. Высшие растения (сосудистые) / [сост. В. Н. Андреева, М. В. Баранова, В. И. Чопик и др.]; науч. ред. Н. Г. Васильев, Л. В. Денисова, Р. В. Камелин, В. Н. Тихомиров. – [2-е изд., перер. и доп.]. – М.: Лесн. пром-сть, 1984. – 480 с.:ил.
4. Невідомі сторінки наукової спадщини та життя Віллібальда Бессера / [В. І. Чопик, М. М. Барна, Л. С. Барна, О. К. Буковська] // Наук. запис. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2007. – № 2 (32). – С. 154–161.
5. Определитель высших растений Украины / [Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, В. И. Чопик и др.]. – Киев: Наук. думка, 1987. – 548 с.: ил.
6. Редкие и исчезающие виды флоры СССР / [Габриэлян Г. Н., Денисова Л. В., Чопик В. И. и др.]; под ред. акад. А. Л. Тахтаджяна. – [2-е изд., доп.]. – Л.: Наука, 1981. – 264 с.
7. Чопик В. И. Редкие и исчезающие растения Украины: справочник / В. И. Чопик. – Киев: Наук. думка, 1978. – 216 с.
8. Чопик В. И. Дикорастущие полезные растения Украины / В. И. Чопик, Л. Г. Дудченко, А. Н. Краснова. – Киев: Наук. думка, 1983. – 410 с.
9. Чопик В. И. Флора и технический прогресс / В. И. Чопик // Укр. ботан. журн. – 1973. – Т. 58, № 3. – С. 281–289.
10. Чопик В. І. Актуальні питання охорони рослин / В. І. Чопик // Укр. ботан. журн. – 1976. – Т. 33, № 5. – С. 449–456.
11. Чопик В. І. Високогірна флора Українських Карпат / В. І. Чопик. – К.: Наук. думка, 1976. – 320 с.
12. Чопик В. І. Гербарій. Історія створення та функціонування. / Чопик В. І., Мякушко Т. Я., Соломаха Т. Д. – К.: Фітосоціоцентр, 1999. – 130 с.
13. Чопик В. І. Каталог видів флори України, занесених до Бернської Конвенції про охорону дикої флори і фауни та природних середовищ існування в Європі / В. І. Чопик. – К.: Фітосоціоцентр, 1999. – 52 с.
14. Чопик В. І. Латинська ботанічна номенклатура: навч. посіб. / В. І. Чопик, А. В. Єна. – К.: РВЦ "Київський університет", 1996. – 57 с.
15. Чопик В. І. Назви рослин в українськомовних словниках: посіб. / В. І. Чопик, О. П. Гайдученко. – К.: РВЦ "Київський університет", 2000. – 112 с.
16. Чопик В. І. Нариси історії біологічного факультету КНУ ім. Тараса Шевченка / Чопик В. І., Бердишев Г. Д., Голда Д. М. – К.: Фітосоціоцентр, 2004. – 168 с.
17. Чопик В. І. Наукові основи охорони рідкісних видів флори України / В. І. Чопик // Укр. ботан. журн. – 1970. – Т. 27, № 6. – С. 693–703.
18. Чопик В. І. Про охорону рослин на Україні / В. І. Чопик. – К., 1963. – 128 с.
19. Чопик В. І. Рідкісні рослини України / В. І. Чопик. – К.: Наук. думка, 1970. – 188 с.
20. Чопик В. І. Рівень освітнього стандарту та соціальна структура студентів університету св. Володимира / В. І. Чопик // Наук. запис. Терноп. держ. пед. ун-ту. Сер.: Біол. № 4. – 2002. – С. 116–124.
21. Чопик В. І. Рідкісні рослини УРСР та їх охорона / В. І. Чопик. – К.: Т-во "Знання", 1963. – 48 с.
22. Чопик В. І. Слово про освіту, збереження біорізноманіття і всього живого на Землі / В. І. Чопик // Українознавство. – 2009. – № 1. – С. 38–45.
23. Чопик В. І. Сучасна стратегія біологічної освіти // Журн. Ойкумена (Український екологічний вісник). – К.: АН УРСР, 1991. – № 5. – С. 21–29.
24. Чопик В. І. Червона книга Української РСР / В. І. Чопик, А. П. Федоренко. – К.: Наук. думка, 1980. – 505 с.
25. Чопик В. І. Флора Українських Карпат / В. І. Чопик, М. М. Федорончук. – Тернопіль: ТзОВ "Терно-граф", 2015. – 712 с.: іл.
26. Atlas florae Europaeae / W. Chopyk [et al.]. – Helsinki. – V. I (1972) – V. XIV (2007)

Публікації про життя та творчу діяльність професора Володимира Івановича Чопика

1. Хто є хто в Україні. – Київ, 1997.
2. Нариси історії біологічного факультету. – Київ, 2004.
3. Академія наук вищої школи України. Довідник. – Київ, 2007.
4. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2009. – № 1-2 (39). – Тернопіль.
5. Український ботанічний журнал. – 2009. – Т. 66, № 4. – Київ.
6. Газета "Замок" Кременецького обласного гуманітарно-педагогічного інституту імені Тараса Шевченка. – 2009. – № 35–38. – Кременець.
7. Чорноморський ботанічний журнал. – 2009. – № 3. – Херсон.
8. Науковий вісник національного університету біологічних ресурсів і природокористування. – 2010. – № 1. – Київ.
9. Енциклопедія Київського національного університету імені Тараса Шевченка. – Київ, 2010.
10. Гербарії України. Index Herbariorum Ucrainicum. – Київ, 2011.
11. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2014. – № 2 (59). – Тернопіль.

УДК 577.21:612.34:616.33-008.821.14

А. Драницина, канд. біол. наук, К. Дворченко, д-р біол. наук,
Д. Гребіник, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *CFTR*, *SLC9A3* ТА *SNN1B* В ЕПІТЕЛІОЦИТАХ ДВНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ШЛУНКОВОЇ ГІПОХЛОРИДРІЇ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ МУЛЬТИПРОБІОТИКА

Показано зростання рівня експресії генів *Cftr* і *Slc9a3* та зниження рівня мРНК гена *Snn1b* в епітеліоцитах ворсинок та крипт дванадцятипалої кишки на фоні інтенсифікації процесів утворення вільних радикалів за гіпоацидних умов. При введенні мультипробіотика Симбітер за тих самих умов рівень експресії проаналізованих генів в епітеліоцитах ворсинок та крипт наближався до контрольних значень.

Ключові слова: шлункова гіпохлоридрія, дванадцятипала кишка, експресія гена, *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1b*, мультипробіотик.

Вступ. Знижена кислотність шлункового соку, що виникає за рахунок порушення секреції гідрохлоридної кислоти парієтальними клітинами (ПК) шлунка, супроводжує значну кількість патологічних станів органів травної системи. Особливу увагу привертають препарати, котрі гальмують секрецію кислоти ПК шлунка: інгібітори H^+/K^+ – АТФази (інгібітори протонної помпи) – омепразол, пантопразол тощо [1, 2]. Будучи достатньо безпечними, вони, тим не менш, здатні призводити до підвищення рівня гастрину в крові – гіпергастринемії [3]. Крім цього, розвиток дисбіозу – один із ключових наслідків тривалої гіпоацидності, при якому спостерігається колонізація шлунково-кишкового тракту (ШКТ) умовно-патогенною мікрофлорою, яка викликає тривалу ендогенну інтоксикацію і є додатковим чинником, який, окрім гіпергастринемії, сприяє шлунковому канцерогенезу, а також виникненню спорадичних пухлин в інших ділянках ШКТ, зокрема у дванадцятипалій кишці (ДПК) [4, 5]. Накопичення прозапальних молекул із джерела ендогенного запалення і вплив клітинних та секреторних компонентів дисбіотичної мікрофлори можуть призводити до розвитку запального процесу, наслідком чого є як потужна генерація активних форм кисню (АФК), так і ініціація окисного стресу (ОС) [6-7]. Діарея, яка є доволі розповсюдженим проявом гіпохлоридрії шлунка, спричинюється, головним чином, порушеннями механізмів абсорбції іонів (в основному, Na^+ , H^+ , Cl^-) [4, 8].

Ген муковісцидозу – *Cftr* – ген електрогенного трансмембранного регуляторного білку CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), який функціонує як Ca^{2+} – залежний хлорний канал в епітелії кишечника, в основному, в крипах [8, 9]. Показано підвищення експресії *Cftr*, секреторну діарею при дії бактеріальних ентеротоксинів [8].

Ген *Slc9a3* кодує електронейтральний натрій-водневий антипортер 3, також відомий як натрій-водневий транспортер 3 (NHE3) або SLC9A3 (solute carrier family 9 member 3), що, в першу чергу, відповідає за підтримання балансу натрію, більшою мірою, в апікальних мембранах ворсинок кишечника [8, 10].

Ген *Snn1b* кодує β субодиницю електрогенного епітеліального конститутивно активного мембранозв'язаного натрієвого каналу – ENaC (також відомий як натрієвий не нейрональний канал 1 (SCNN1), або амілорид-чутливий натрієвий канал (ASSC)), який проникний, в основному, для протонів, Li^+ і особливо для іонів Na^+ ; також представлений більшою мірою в апікальних мембранах ворсинок кишечника [9, 11]. Показано зміну експресії *Snn1b* та *Slc9a3* при муковісцидозі, виразковому коліті, запальній хворобі кишечника (IBD) тощо, як у людини, так і в тварин [8, 12].

Для корекції структурно-функціональних порушень у ШКТ використовують пробіотичні препарати, які виконують важливу роль у підтриманні загального гомеостазу організму за рахунок оптимізації його мікроекологічного статусу [13, 14]. Препарати групи "Симбітер® ацидофі-

льний" концентрований (далі Симбітер) є максимально наближеною до природних мікробіоценозів організму людини та тварин концентрованою біомасою живих клітин мультикомпонентного симбіозу пробіотичних бактерій (*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *P. acidipropionici*, *Lactococcus lactis*, *Acetobacter aceti*, *Streptococcus salivarius*) [13, 14].

На сьогодні, мало що відомо про можливу роль аномалій у транспорті електролітів у патогенезі діареї, пов'язаної з дисбіотичними змінами внаслідок дії тривалої гіпохлоридрії. Тому метою роботи було проаналізувати експресію генів *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1* в епітеліоцитах ДПК щурів за довготривалого пригнічення кислотоутворення в шлунку та при введенні мультипробіотичного препарату.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідженні використовували білих нелінійних статевозрілих щурів-самців з масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні виварію. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій для проведення медико-біологічних досліджень із використанням тварин відповідно до "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових експериментів або в інших наукових цілях".

Тварин розділяли на чотири групи. У контрольній (першій) групі використовували щурів, яким протягом 28 діб вводили інтраперитонеально 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій. Тварини другої групи протягом 28 діб перорально отримували Симбітер (виробництва ТОВ "О.Д. Пролісок") у дозі 0,14 мл/кг, розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій. Моделювання гіпоацидного стану (третя група) проводили за допомогою внутрішньочеревного введення 14 мг/кг омепразолу 1 раз на добу протягом 28 діб [15]. Четверта група щурів одночасно з інтраперитонеальним введенням омепразолу перорально отримувала Симбітер у вищезазначеній дозі. Кількість тварин у кожній експериментальній групі – 6. Концентрацію органічних гідропероксидів вимірювали в системі сорбітол – ксилінол помаранчевий [16]. Вміст загального білка визначали за методом Лоурі [17].

Епітеліоцити ворсинок та крипт із ДПК ізолювали за допомогою низькотемпературного методу [18]. РНК отримували за методом Chomczynski [19]; Синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (Real-time PCR, кПЛР) за допомогою комерційного набору "Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix" ("Thermo Scientific", Литва), використовуючи по 0,4 мкмоль/л кожного праймера, проводили за таких, рекомендованих фірмою-виробником, температурних умов: синтез кДНК 50°C – 30 хв; ініціююча денатурація 95°C – 15 хв; далі 40 циклів: денатурація ДНК 95°C – 15 с; гібридизація праймерів 50°C – 35 с; добування ланцюга 72°C – 30 с; елонгація ампліфікатів 72°C – 5 хв.

У реакціях було використано такі послідовності праймерів: для *Cftr* – прямий –

ACTCTTCTTCAGCTGGACCACACCA та зворотний – AAAGCATCGCCGGAGGGCGT; *Slc9a3* – прямий – CCTGATGGGCGAACTGAAGA та зворотний – GCAGTGACTCCCCAAAAACA; для *Snn1b* – прямий – ATTCCAGCCCCTTCCAGTAC та зворотний – GGGTACTGGTGGTGTGGT; для *Actb* (ген β -актину, що використовується в якості внутрішнього контролю реакції завдяки конститутивній експресії) – прямий – TGGGACGATATGGAGAAGAT та зворотний – ATTGCCGATAGTGATGACCT. Відтворюваність результатів ампліфікації було перевірено в паралельних експериментах шляхом повторення кПЛР на зразках РНК усіх тварин, із кожним праймером не менше трьох разів. Після кожного циклу ампліфікації зчитувалась флуоресценція барвника SYBR Green I, а по закінченні реакції будувалась крива плавлення для контролю утворення димерів праймерів та специфічності реакції. Початкову кількість мРНК обраховували за порівняльним C_T методом "ΔΔC_T Method", ефективність ПЛР реакцій була однаковою ($E_x = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$, $\text{slope} < 0,1$ [20]). Відносну кількість мРНК зазначених генів нормалізували до мРНК *Actb*.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили на комп'ютері з використанням програмного пакету GraphPad Prism 5.04 (GraphPad Software Inc., США). Отримані дані тестували на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Вілکا. Подальший обрахунок результатів відбувався за допомогою двофакторного дисперсійного аналізу (two-way ANOVA) із пост тестом Бонферонні. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного $\pm$ середньоквадратичне відхилення (дисперсія) – SD. Результати вважали значущими, коли $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. З'ясовано, що за умов тривалої шлункової гіпохлоридрії в епітеліальних клітинах ДПК вміст органічних гідропероксидів зростає: в епітеліоцитах ворсинок – в 1,5 раза ($p \leq 0,001$), в епітеліоцитах крипт – в 1,4 раза ($p \leq 0,001$) відносно контролю. Збільшення рівня пероксиду гідрогену може бути наслідком гіпоксії та розвитку запалення у ДПК, яке супроводжується посиленням процесів утворення вільних радикалів [6, 21]. При сумісному введенні мультипробіотика Симбітер щурам із гіпоацидним станом зазначений показник знижувався в 1,4 раза ($p \leq 0,001$) в обох групах дуоденальних клітин відносно групи тварин, яким вводили омепразол. Це свідчить про зменшення запальних процесів у ДПК за рахунок протимікробної та антиоксидантної дії мультипробіотика Симбітер [7, 13, 14, 21]. Таким чином, на першому етапі дослідження показано інтенсифікацію прооксидантного фактору в клітинах ДПК за гіпоацидних умов та показано його пригнічення за умов введення мультипробіотика.

У результаті проведених нами експериментальних досліджень було показано, що рівні експресії гена *Cftr* в контрольній та другій групі епітеліоцитів крипт значуще не відрізнялися, так само як і у ворсинках. За умов тривалого пригнічення кислотопродукуючої функції шлунка щурів цей показник був вищим: в епітеліоцитах ворсинок – у 2,3 раза ($p \leq 0,0001$), в епітеліоцитах крипт – у 2,4 раза ($p \leq 0,0001$) відносно контролю. Рівень мРНК гена *Cftr* в епітелії ворсинок ДПК щурів, які разом з омепразолом отримували мультипробіотик, був в 1,6 раза нижчим ($p \leq 0,0001$) ніж у тварин третьої групи. За аналогічних умов зазначений показник у клітинах епітелію крипт знизився в 1,4 раза ($p \leq 0,001$) по відношенню до показників групи з гіпоацидним станом шлунка та лишився підвищеним в 1,7 раза ($p \leq 0,001$) відносно контролю (рис. 1.).

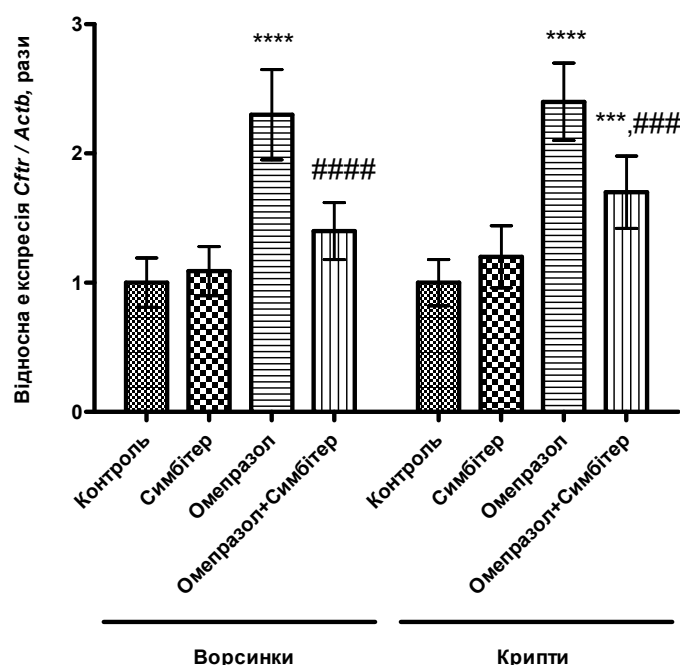


Рис. 1. Рівень експресії мРНК гена *Cftr* в різних типах епітеліальних клітин дванадцятипалої кишки щурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика.

**** – $p \leq 0,0001$, *** – $p \leq 0,001$ відносно контролю; #### – $p \leq 0,0001$,
 ### – $p \leq 0,001$ відносно тварин, яким вводили лише омепразол

Дослідження характеру експресії гена *Slc9a3* показало, що рівні його експресії в контрольній та другій групі епітеліоцитів крипт значуще не відрізнялися, так

само як і у ворсинках. За умов гіпоацидності шлунка цей показник був вищим: в епітеліоцитах ворсинок – в 1,6 раза ($p \leq 0,0001$), в епітеліоцитах крипт – в 1,4 раза

($p \leq 0,01$) відносно контролю. Рівень мРНК зазначеного гена в епітелії як ворсинок, так і крипт ДПК щурів четве-

ртої групи був в 1,3 раза нижчим ніж у тварин третьої групи ($p \leq 0,05$) (рис. 2.).

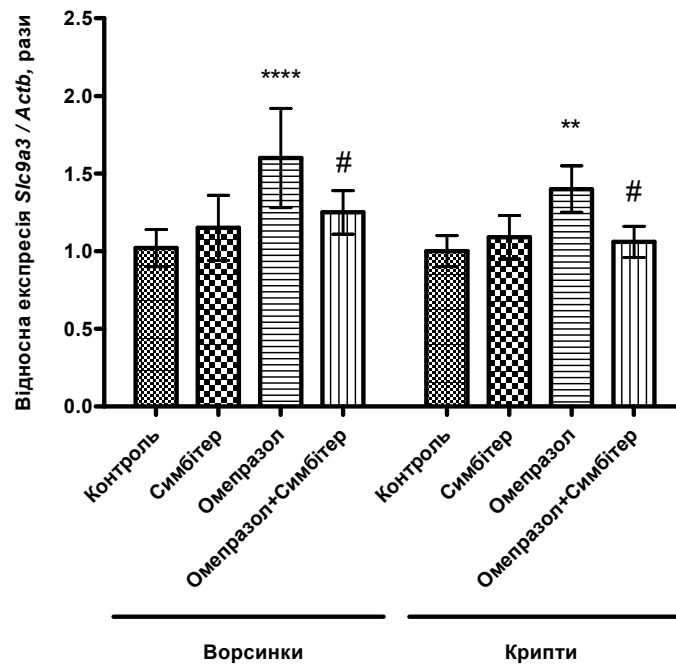


Рис. 2. Рівень експресії мРНК гена *Slc9a3* в різних типах епітеліальних клітин дванадцятипалої кишки щурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика.

**** – $p \leq 0,0001$, ** – $p \leq 0,01$ відносно контролю;
– $p \leq 0,05$ відносно тварин, яким вводили лише омепразол

Нами було виявлено, що рівні експресії гена *Snn1b* в контрольній та другій групі епітеліоцитів крипт і ворсинок значуще не відрізнялися, так само як було показано для *Cfr* та *Slc9a3*. За умов тривалого пригнічення кислотопродуруючої функції шлунка щурів цей показник знижувався: в 2 рази в епітеліоцитах ворсинок ($p \leq 0,0001$) і в 1,9 рази в криптах ($p \leq 0,0001$) відносно контролю. Рівень мРНК гена *Snn1b* в епітелії ворсинок ДПК

щурів, які разом з омепразолом отримували мультипробіотик, повертався до контрольних значень у порівнянні з тваринами третьої групи ($p \leq 0,0001$). За аналогічних умов зазначений показник у криптах зростав в 1,6 рази ($p \leq 0,01$) по відношенню до показників групи з гіпоацидним станом шлунка та лишався зменшеним в 1,3 рази ($p \leq 0,05$) відносно контролю (рис. 3.).

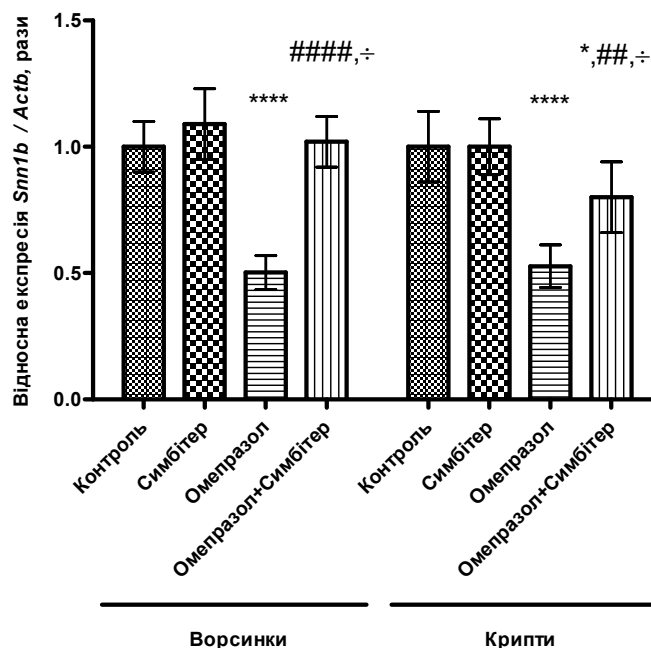


Рис. 3. Рівень експресії мРНК гена *Snn1b* в різних типах епітеліальних клітин дванадцятипалої кишки щурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика.

**** – $p \leq 0,0001$, * – $p \leq 0,05$ відносно контролю;
– $p \leq 0,0001$, ## – $p \leq 0,01$ відносно тварин, яким вводили лише омепразол; ÷ – $p \leq 0,05$ ворсинки порівняно з криптами.

Порушення у всмоктуванні NaCl та води є характерною ознакою запалення в слизовій кишечника й призводять до діареї [4, 8, 9]. Супутні механізми останньої можуть поєднувати активування секреції, зменшення поглинання та дефекти бар'єрної функції епітелію [22]. Хоча CFTR відіграє вирішальну роль у регуляції електролітного гомеостазу, не так багато відомо про експресію його гена в слизовій оболонці кишечника при запаленні. Показано підвищення як експресії *Cftr*, так і цАМФ – залежної секреції іонів Cl⁻, а також опосередковані впливом CFTR інгібування реабсорбції Na⁺ й активування Cl⁻/HCO₃⁻ – транспортеру SLC26A3 (кодується геном *Slc26a3*) при різних патологічних станах у ШКТ тощо [8, 9, 23]. Таким чином, гіперекспресія *Cftr* може призвести як до підвищеної секреції іонів хлору, так і до зниження поглинання іонів натрію в слизовій оболонці, і в кінцевому рахунку сприятиме діареї, наприклад, при дії бактеріальних ентеротоксинів [8]. Нами було проаналізовано вплив тривалої шлункової гіпоацидності на експресію головних генів транспортерів електролітів, які відповідають за розподіл NaCl і води у кишечнику. У нашій роботі було показано вірогідне зростання експресії *Slc9a3* за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії і за підвищеної експресії *Cftr*, що може свідчити про порушення в поглинанні Na⁺ ворсинками та криптами епітелію ДПК, і можна співставити з роботами, де продемонстровано *Cftr*-індуковану експресію мРНК гена *Slc9a3* [8, 23].

У хребетних канали ENaC контролюють реабсорбцію натрію в нирках, товстій кишці. При муковісцидозі, коли CFTR не функціонує, показано гіперекспресію *Snn1b*, що призводить до подальшого зменшення секреції солі й води за рахунок підвищеної реабсорбції Na⁺ [9, 12]. Нами показано вірогідне зменшення експресії гена *Snn1b* за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії й на тлі підвищеної експресії *Cftr*, що може свідчити про зниження реабсорбції іонів натрію в епітеліоцитах ДПК. Таким чином, CFTR може відігравати важливу роль у патогенезі діареї, асоційованої із запаленням, шляхом зміни функцій та властивостей Cl⁻, Na⁺, K⁺ – каналів, Cl⁻/HCO₃⁻ – транспортеру SLC26A3, NHE3, ENaC, зміни в секреції слизу й поглинанні води [8, 9, 23].

У той же час у деяких дослідженнях на різних моделях запалення отримано неоднозначні результати й запропоновано, що так як порушення у всмоктуванні Na⁺ і Cl⁻ асоційовані зі зменшенням різниці електричних потенціалів та активності Na⁺/K⁺-АТФ-ази клітини, функціонування якої є також необхідною для апікальної секреції Cl⁻ [23], можна припустити, що аномалії в поглинанні іонів натрію та хлору більшою мірою, ніж у секреції іонів хлору, є первинними, а порушення в поглинанні води – вторинними в патогенезі діареї [8, 9, 23].

Отже, встановлені зміни експресії генів *Cftr*, *Snn1b*, *Slc9a3* в епітеліоцитах ворсинок та крипт за умов тривалої шлункової гіпоацидності свідчать про розвиток патологічних процесів у тканині ДПК, зокрема запалення та діареї внаслідок збільшення трансепітеліальної секреції іонів хлору та пригнічення епітеліального всмоктування NaCl. При цьому продемонстровано ключову роль саме дисбіозу травного тракту в ініціації пошкодження епітеліоцитів та визначено, що до біохімічних механізмів ушкодження ДПК за умов тривалої шлункової гіпоацидності залучається інтенсифікація прооксидантного фактору, що посилюється за цих умов, та експресія генів *Cftr*, *Snn1b*, *Slc9a3*, рівень якої зростає у відповідь на патогенну мікрофлору. Нормалізація експресії проаналізованих генів при застосуванні мультипробіотичного препарату також свідчить про істотний внесок дисбіотичних порушень у патологічні процеси, що відбуваються в епітеліоцитах ДПК за умов тривалої

гіпохлоргідрії. Стосовно можливих механізмів впливу мультипробіотика Симбітер на експресію генів у ДПК, перш за все, слід зазначити його здатність елімінувати бактеріальну колонізацію ШКТ та дисбіоз [7, 13, 14]. Ефективність дії досліджуваного препарату пов'язана з широким спектром його біологічної активності (продукти життєдіяльності бактеріальних штамів, представлених в препараті Симбітер: коротколанцюгові жирні кислоти, вітаміни тощо володіють антиоксидантними властивостями, завдяки чому вони здатні гальмувати розвиток ОС та знижувати інтенсивність запальних і деструктивних процесів у ШКТ й асоційованих органах) та високим рівнем безпечності для організму [7, 14-16, 21].

Висновки. Показано, що тривале експериментальне пригнічення кислотної секреції шлунка супроводжується зміною експресії генів *Cftr*, *Snn1b*, *Slc9a3* в епітеліоцитах ДПК щурів. При введенні мультипробіотика Симбітер за тих самих умов рівень експресії цих генів в епітеліоцитах ворсинок і крипт наближався до контрольних значень. Отримані дані можуть свідчити про залучення цих головних медіаторів транспорту електролітів у патогенез діареї при розвитку запального процесу в ДПК, обумовленого дисбіотичними змінами за умов тривалої гіпохлоргідрії.

Список використаних джерел.

1. Shin J. Molecular mechanisms in therapy of acid-related diseases / J. Shin, O. Vagin, K. Munson [et al.] // Cell and molecular life sciences. – 2008. – Vol. 65, N 2. – P. 264-281. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
2. Sundstrom A. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for acute pancreatitis – results from a Swedish Case-Control Study / A. Sundstrom, K. Blomgren, L. Alfredson [et al.] // Pharmacoeconomics and drug safety. – 2006. – Vol. 15, N 3. – P. 141-149. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
3. Johnson D. A. Reported side effects and complications of long-term proton pump inhibitor use / D. A. Johnson, EC Oldfield IV // Clinical gastroenterology and hepatology. – 2013. – Vol. 11 – P. 458-464. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
4. Barrett K. Physiology of the gastrointestinal tract. 4th edition / K. Barrett, F. Ghishan, J. Merchant [et al.]. – New York : Academic Press, 2006. – 2080 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com>
5. Thomson A. Safety of long-term use of proton pump inhibitors / A. Thomson, M. Sauve, N. Kassam [et al.] // World journal of gastroenterology. – 2010. – Vol. 16, N 19. – P. 2323-2330. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
6. Zhang R. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation / R. Zhang, M. L. Brennan, Z. Shen [et al.] // The journal of biological chemistry. – 2002. – Vol. 277. – P. 46116-46122. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
7. Дворченко К.О. Вплив окисного стресу на рівень експресії генів TGF-β і HGF у печінці щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та за введення мультипробіотика Симбітер / К.О. Дворченко, О.О. Берник, А.С. Драничина [та ін.] // Український біохімічний журнал. – 2013. – Т. 85, №5. – С. 114-123.
8. Lohi H. Upregulation of CFTR expression but not SLC26A3 and SLC9A3 in ulcerative colitis / H. Lohi, S. Mäkelä, K. Pulkkinen [et al.] // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2002. – Vol. 283 – P. G567-G575. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
9. Kunzelmann K. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease / K. Kunzelmann, M. Mall. // Physiol Rev. – 2002. – Vol. 82 – P. 245-289. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
10. Spencer A. G. Intestinal inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger 3 prevents cardiorenal damage in rats and inhibits Na⁺ uptake in humans / Spencer A. G., Labonte E. D., Rosenbaum D. P. [et al.] // Sci Transl Med. – 2014. – Vol. 6, N 227. – P. 227-36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
11. Mall M. Increased airway epithelial Na⁺ absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice / M. Mall, B. R. Grubb, J. R. Harkema [et al.] // Nature Medicine. – 2004. – Vol. 10, N 5. – P. 487-493. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
12. Toczyłowska-Mamińska R. Ion transporting proteins of human bronchial epithelium / R. Toczyłowska-Mamińska, K. Dołowy // Journal of Cellular Biochemistry. – 2012. – Vol. 113, N 2. – P. 426-432. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
13. Culligan E. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects / E. Culligan, C. Hill, R. Sleator // Gut pathogens. – 2009. – Vol. 1, N 19. – P. 38-49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
14. Iankovsky D. Microbiota and human health / D. Iankovsky, G. Dymant. – Kyiv: LLC Chervona Ruta-Turs, 2008. – 552 p.

15. Tsyriuk O. I. Effect of omeprazole-induced hypergastrinemia on the basal gastric secretion in rats / O.I. Tsyriuk, T.V. Beregova // Bulletin of biological and medical issues. – 2007. – N 3. – P.38-43. Available from: <http://www.iris-nbuv.gov.ua>

16. Flint N. A low-temperature method for the isolation of small-intestinal epithelium along the crypt-villus axis / N. Flint, F. L. Cove, G. S. H. Evans // Biochemical journal. – 1991. – Vol. 280 (Pt 2). – P.331–334. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

17. Jiang Z.-Y. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation / Z.-Y. Jiang, A. C. Woollard, S. P. Wolff // FEBS Lett. – 1990. – Vol. 268, N 1. – P. 69-71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

18. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // The journal of biological chemistry. – 1951. – 193, N 1. – P. 265–275. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

19. Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // Analytical biochemistry. – 1987. – Vol. 162. – P.156-159. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

20. Hee Lee Won. Irradiation induces regionally specific alterations in proinflammatory environments in rat brain / Won Hee Lee, W. E. Sonntag, M. Mitschelen [et al.] // Int J Radiat Biol. – 2010. – Vol. 280, N 2. – P. 132–144. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

21. Lutgendorff F. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis / F. Lutgendorff, L. M. Trullsson, L. P. van Minnen [et al.] // American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology. – 2008. – Vol. 295, N 5. – P. 1111-1121. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

22. Sandle G. I. Cellular basis for defective electrolyte transport in inflamed human colon / G. I. Sandle, N. Higgs, P. Crowe [et al.] // Gastroenterology. – 1990. – Vol. 99 – P. 97–105. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

23. Jakab R. L. Physiological relevance of cell-specific distribution patterns of CFTR, NKCC1, NBCe1, and NHE3 along the crypt-villus axis in the intestine / R. L. Jakab, A. M. Collaco, N. A. Ameen // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2011. – Vol. 300, N 1. – P. G82-98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

References

- Shin J, Vagin O, Munson K, Kidd M, Modlin IM, Sachs G. Molecular mechanisms in therapy of acid-related diseases. Cell Mol Life Sci. 2008;65(2):264-81. PubMed Central PMCID: PMC3081136.
- Sundstrom A, Blomgren K, Alfredsson L, Wiholm BE. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for acute pancreatitis – results from a Swedish Case-Control Study. Pharmacoeconomic Drug Saf. 2006;15(3):141-9. PubMed PMID: 16200654.
- Johnson DA, Oldfield EC IV. Reported side effects and complications of long-term proton pump inhibitor use. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013;11:458-64. PubMed PMID: 23247326.
- Barrett K, Ghishan F, Merchant J, Said HM, Wood JD. Physiology of the gastrointestinal tract. 4th ed. New York: Academic Press; 2006. 2080 p.
- Thomson A, Sauve M, Kassam N, Kamitakahara H. Safety of long-term use of proton pump inhibitors World J Gastroenterol. 2010;16(19):2323-30. PubMed PMID: 20480516.
- Zhang R, Brennan ML, Shen Z, MacPherson JC, Schmitt D, Molenda CE, et al. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. J Biol Chem. 2002;277:46116–22. PubMed PMID: 12359714.

7. Dvorchshenko K, Bernyk O, Dranitsina A, Senin S, Ostapchenko L. Vplyv oksydnogo stresu na riven ekspresii geniv TGF- β i HGF u pechini schuriv v umovah trivaloi shlunkovoi hipohlorhidrii ta za vvedennya multiprobiotika Symbiter. Ukr Biochem J. 2013;85(5):114-23. Ukrainian.

8. Lohi H, Mäkelä S, Pulkkinen K, Höglund P, Karjalainen-Lindsberg ML, Puolakkainen P, et al. Upregulation of CFTR expression but not SLC26A3 and SLC9A3 in ulcerative colitis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002;283(3):G567-75. PubMed PMID: 12181169.

9. Kunzelmann K, Mall M. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease. Physiol Rev. 2002;82:245–89. PubMed PMID: 11773614.

10. Spencer AG, Labonte ED, Rosenbaum DP, Plato CF, Carreras CW, Leadbetter MR, et al. Intestinal inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger 3 prevents cardiorenal damage in rats and inhibits Na⁺ uptake in humans. Sci Transl Med. 2014;6(227):227-36. PubMed PMID: 24622516.

11. Mall M, Grubb BR, Harkema JR, O'Neal WK, Boucher RC. Increased airway epithelial Na⁺ absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice. Nat Med. 2004;10(5):487–93. PubMed PMID: 15077107.

12. Toczyłowska-Mamińska R, Dolowy K. Ion transporting proteins of human bronchial epithelium / R. Toczyłowska-Mamińska. J Cell Biochem. 2012;113(2):426–432. PubMed PMID: 21975871.

13. Culligan E, Hill C, Sleator R. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects. Gut Pathog. 2009;1(19):38-49. PubMed PMID: 19930635.

14. Iankovsky D. Microbiota and human health / D. Iankovsky, G. Dymant. – Kyiv : LLC Chervona Ruta-Turs, 2008. – 552 p.

15. Tsyriuk OI, Beregova TV. Vplyv omeprazole-vyklikaioi uipergastrinemii na shkunkovu sekreciyu u schuriv. Visnik problem biologii i medicine. 2007;3:38-43. Ukrainian.

16. Flint N, Cove FL, Evans GS. A low-temperature method for the isolation of small-intestinal epithelium along the crypt-villus axis. Biochem J. 1991;280(Pt 2):331-4. PubMed PMID: 1747105.

17. Jiang ZY, Woollard AC, Wolff SP. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation. FEBS Lett. 1990;268(1):69-71. PubMed PMID: 2384174.

18. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1):265-75. PubMed PMID: 14907713.

19. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem. 1987;162(1):156-9. PubMed PMID: 2440339.

20. Hee Lee Won, Sonntag WE, Mitschelen M, Yan Han, Lee Yong Woo. Irradiation induces regionally specific alterations in proinflammatory environments in rat brain. Int J Radiat Biol. 2010;280(2):132–44. PubMed Central PMCID: PMC2827151.

21. Lutgendorff F, Trullsson LM, van Minnen LP, Rijkers GT, Timmerman HM, Franzén LE. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008;295(5):G1111-21. PubMed PMID: 18832452.

22. Sandle GI, Higgs N, Crowe P, Marsh MN, Venkatesan S, Peters TJ. Cellular basis for defective electrolyte transport in inflamed human colon. Gastroenterology. 1990;99(1):97-105. PubMed PMID: 2344946.

23. Jakab RL, Collaco AM, Ameen NA. Physiological relevance of cell-specific distribution patterns of CFTR, NKCC1, NBCe1, and NHE3 along the crypt-villus axis in the intestine. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2011;300(1):G82-98. PubMed PMID: 21030607.

Надійшла до редколегії 16.02.16

A. Драницина канд. биол.наук., Е. Дворченко д-р. биол. наук., Д. Гребиньк канд. биол. наук.,Л. Остапченко д-р. биол.наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ЕКСПРЕСИЯ ГЕНОВ *Cftr*, *Snn1b* u *Slc9a3* В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ КРЫС ДЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛУДОЧНОЙ ГИПОХЛОРИДРИИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ МУЛЬТИПРОБИОТИКА

Показано увеличение уровня экспрессии генов *Cftr*, *Slc9a3* u уменьшение уровня мРНК гена *Snn1b* в эпителиоцитах ворсинок и крипт двенадцатиперстной кишки крыс на фоне интенсификации процессов образования свободных радикалов в гипоацидных условиях. При введении мультипробиотика Симбитер в тех же условиях уровень экспрессии данных генов в эпителиоцитах ворсинок и крипт приближался к контрольным значениям.

Ключевые слова: желудочная гипохлоридрия, двенадцатиперстная кишка, экспрессия гена, *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1b*, мультипробиотик.

A. Dranitsina PhD., K. Dvorchshenko DSc., D. Grebinyk PhD., L. Ostapchenko DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

EXPRESSION OF CFTR, SNN1B AND SLC9A3 GENES IN RAT DUODENAL UPON LONG-TERM GASTRIC HYPOCHLORHYDRIA AND WITH ADMINISTRATION OF MULTIPROBIOTIC

The increasing of *Cftr*, *Slc9a3* and the decreasing of *Snn1b* gene's expression in rat duodenal villus and crypt epithelial cells against the background of intensification of free radical formation upon gastric hypoacidic conditions were shown. The level of above mentioned gene's expression both in villus and crypt epitheliocytes approached to the control value upon the treatment of hypoacidic rats with multiprobiotic Symbiter.

Key words: gastric hypoacidity, duodenal, gene expression, *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1b*, multiprobiotic.

УДК 577.3+612.017:612.118

В. Соколенко, канд. біол. наук
Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького, Черкаси

ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ ПРОФЕСІЙНИХ ФАГОЦИТІВ У МЕШКАНЦІВ ТЕРИТОРІЙ, ЗАБРУДНЕНИХ РАДІОНУКЛІДАМИ

Вивчали показники фагоцитарної активності у осіб віком 18-24 роки, які з народження проживали на територіях, забруднених радіонуклідами внаслідок аварії на ЧАЕС. Виявили, що протягом всіх аналізованих років спостерігається поступове зниження показників фагоцитарного числа та фагоцитарного індексу, особливо виражених для популяції моноцитів. Спостерігається зростання негативних кореляційних зв'язків між активністю ^{137}Cs на забруднених територіях та фагоцитарною активністю моноцитів у їх населення від 1995 до 2014 року.

Ключові слова: фагоцитарна активність, аварія на ЧАЕС, активність ^{137}Cs .

Вступ. Вважається, що найбільш чутливою до впливу іонізуючого випромінювання є Т-клітинна ланка специфічного імунітету. Це зумовлено особливостями тимусного розвитку спеціалізованих Т-лімфоцитів, зокрема, процесами диференціювання та експресії специфічних мембранних рецепторів [1; 2; 3; 4; 5]. Проте, останнім часом звертається увага, що лише при ефективній взаємодії факторів неспецифічної і специфічної резистентності організму забезпечується повноцінний контроль за постійністю і однорідністю клітинно-молекулярного (антигенного) складу організму. Недостатність неспецифічних факторів захисту, як правило, призводить до важких порушень протиінфекційної і протипухлинної резистентності організму людини. За останні роки отримані численні дані щодо ролі вродженого імунітету у єдиній системі імунобіологічного нагляду організму, що дозволяють переосмислити її важливість, зокрема, за умов дії екстремальних факторів середовища [6; 7].

Одну з провідних функцій у процесі діяльності вродженого імунітету відіграють професійні фагоцити – нейтрофіли й моноцити. Фагоцитоз є еволюційно давнім адаптаційним процесом. У примітивних організмів він використовується для поглинання макромолекул поживних речовин, у вищих організмів, реалізуючись спеціалізованими клітинами, запускає широкий спектр спеціалізованих біологічних процесів, зокрема, певні етапи специфічної імунної реакції, елімінацію апоптичних та некротичних клітин і т.д. [7; 8].

В літературі зустрічаються досить суперечливі дані щодо чутливості фагоцитарної ланки природної резистентності організму до впливу іонізуючого випромінювання, особливо, хронічного опромінення малими дозами [9; 10]. У той же час, для населення України таке питання є актуальним, оскільки значні території зазнали радіаційного забруднення внаслідок аварії на ЧАЕС у 1986 році, що сприяло виникненню багатьох медичних проблем [11; 12; 13].

Це зумовило актуальність наших досліджень і визначили мету: вивчити особливості фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів у осіб, що проживають на територіях, забруднених радіонуклідами.

Матеріали та методи. Дослідження активності фагоцитарних популяцій проводили у студентів чоловічої та жіночої статі віком 18-24 років, що приїхали на навчання з території посиленого радіоекологічного контролю (Канівський, Звенигородський та Лисянський райони Черкаської області, IV-а радіаційна зона, щільність забруднення ґрунтів ізотопами ^{137}Cs 1-5 Кі/км²).

Ми проаналізували показники за 1995, 2000, 2005 та 2010 та 2014 роки. На період аналізу обстежені не мали гострих чи хронічних захворювань, не проходили радіо- чи хіміотерапію. Кількість обстежених за кожен рік – 40-50 осіб.

Контрольну групу склали студенти, що приїхали на навчання з відносно екологічно чистих територій: Дра-

бівського, Золотоніського, Чигиринського районів. Кількість обстежених 65 осіб.

Кількість лейкоцитів підраховували в камері Горяєва, фагоцитарних популяцій – на основі кров'яного мазка, фарбованого за Романовским-Гімзою. Фагоцитарний індекс (ФІ) та фагоцитарне число (ФЧ) нейтрофілів і моноцитів підраховували за їх здатністю поглинати бактерії *S. aureus* з наступним фарбуванням мазків за Романовским-Гімзою [14].

Дані про стан радіаційного забруднення територій отримали в обласній санітарно-епідеміологічній станції (м. Черкаси) та регіональній державній лабораторії ветеринарної медицини (м. Черкаси).

Обстеження студентів та забори крові проводили кваліфіковані медичні працівники на базі санаторію-профілакторію "Едем" при Черкаському національному університеті та біохімічної лабораторії міської лікарні №1 м. Черкаси. Забір здійснювали вранці, до вживання їжі.

Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики. Дані представлені у вигляді: середнє арифметичне $\pm$ похибка середнього арифметичного ($M \pm m$). Достовірність різниці між вибірками визначали за t-критерієм Стьюдента. Кореляційний аналіз проводили з використанням коефіцієнта кореляції (лінійної залежності) Пірсона. Статистичну достовірність знайденого коефіцієнта кореляції визначали за формулою $t_r = r/m_r \geq t_{st} \{ v = N-2 \}$, де t_r – критерій достовірності коефіцієнту кореляції, r – вибірковий коефіцієнт кореляції, m_r – помилка репрезентативності вибіркового коефіцієнту кореляції (знаходиться за формулою $\sqrt{1-r^2/N-2}$), N – число корельованих пар дат, t_{st} – стандартне значення критерію Стьюдента, знайдене за таблицею для встановленого числа вільностей та порогу імовірності безпомилкових прогнозів.

Результати та обговорення. Встановлено, що аналізовані показники як у контрольній групі, так і в обстежених з територій, забруднених радіонуклідами, перебували в межах норми, рекомендованої у даних літератури [6].

Аналіз фагоцитарного числа та фагоцитарного індексу показав, що у обстежених спостерігається тенденція до зниження показників у нейтрофілів з набуттям достовірної значимості у 2010 та 2014 роках, а також достовірне зниження показників у популяції моноцитів, які однак залишаються у межах норми (табл. 1).

Проведено аналіз кореляційної залежності аналізованих показників від радіаційного забруднення території. На територіях, звідки прибули обстежені, щільність забруднення ґрунту ізотопами ^{137}Cs коливалась від 17 до 165 КБк/м² у 1995 році і від 10 до 91 КБк/м² у 2014 р. Встановлено, що фагоцитарний індекс та фагоцитарне число нейтрофілів не демонструють вірогідної кореляції з активністю радіонуклідів, проте, знак коефіцієнту кореляції міняється з позитивного на негативний.

Таблиця 1. Показники фагоцитарної активності у обстежених, отримані у різні роки

Показн.	1995 M±m	2000 M±m	2005 M±m	2010 M±m	2014 M±m	Контроль M±m
	1	2	3	4	5	
ФЧ, нейт.	75,21±0,651	75,05±0,598	74,99±0,596	74,54±0,675	74,59±0,619	76,11±0,445
ФІ, нейт.	5,01±0,314	4,96±0,310	4,89±0,315	4,73±0,296	4,70±0,289	5,72±0,298
ФЧ, мон.	74,01±0,516	73,71±0,615	73,79±0,599	73,01±0,510	72,96±0,489	75,45±0,418
ФІ, мон.	4,14±0,416	4,09±0,401	4,10±0,386	3,95±0,315	3,95±0,269	5,51±0,395

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

Тобто, протягом певного періоду фагоцитарна активність нейтрофілів змінює напрямок залежності від радіаційного забруднення. Фагоцитарна активність моноцитів демонструє вірогідну зворотну кореляцію з актив-

ністю радіонуклідів, причому, з часом значення коефіцієнту кореляції зростає, незважаючи на зниження активності внаслідок розпаду ^{137}Cs (рис. 1).

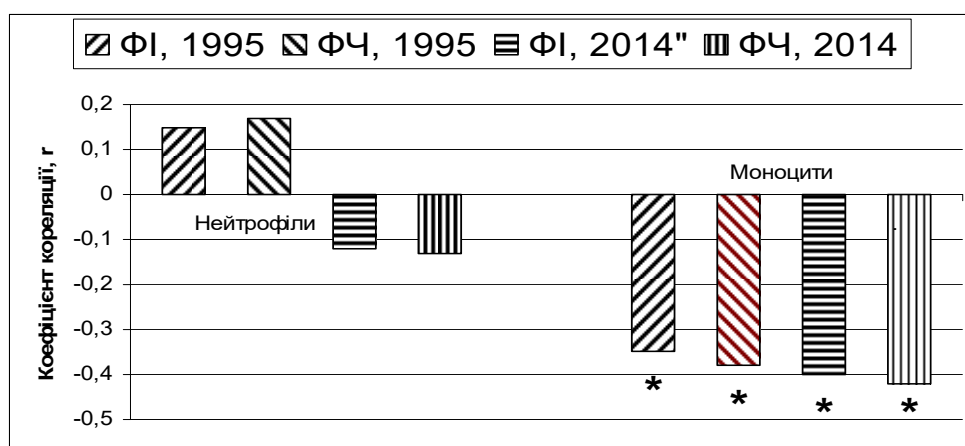


Рис. 1. Кореляційна залежність між активністю ^{137}Cs та показниками фагоцитарної активності нейтрофілів і моноцитів у обстежених, що проживають на забруднених територіях;

* – вірогідність коефіцієнту кореляції, $p < 0,05$

Дані літератури дають досить суперечливу інформацію щодо впливу іонізуючого випромінювання на вміст нейтрофілів. При гострому опроміненні відмічається різке зниження вмісту цієї популяції, що пов'язують з ураженням незрілих попередників та короткою тривалістю життя зрілих гранулоцитів. Проте, при хронічному опроміненні малими дозами рівень нейтрофілів часто підвищується на фоні ослаблення моноцитарної та лімфатичної реакції [3; 8; 9; 15].

Такі повідомлення узгоджуються з отриманими нами даними, зокрема, відміченим у попередніх публікаціях зниженням рівня лімфоцитів [16] на фоні підвищення рівня нейтрофілів, тобто, компенсацією мононуклеарів за рахунок гранулоцитів, що є типовим відображенням помірної стресової реакції [17]. Проте, зростання рівня гранулоцитарних фагоцитів відбувається на фоні певного зниження їх фагоцитарної активності. Можливо, ефект зумовлюється формуванням нейтрофілів з певними патологіями, оскільки в експериментах показано, що радіаційно індукована стимуляція проліферативної активності гранулоцитарного кровотворення супроводжується значною кількістю похибок при мітозах [6; 8; 11].

Зниження фагоцитарної активності моноцитів може свідчити про ще одну потенційну небезпеку: пригнічення фагоцитарного числа і, особливо, фагоцитарного індексу сигналізують про погіршення рецепторних можливостей макрофагів, і, відповідно, зниження антигенпрезентуючих властивостей і здатності до кооперації з Т-хелперами. Тим більше, за умов хронічного радіаційного опромінення малими дозами рівень Т-хелперів

може бути зниженим, що також відмічалось у наших попередніх публікаціях [18].

Висновки.

У мешканців територій, забруднених радіонуклідами внаслідок аварії на ЧАЕС, спостерігаються ознаки пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів, особливо, моноцитів, незважаючи на зниження активності довгоживучих радіонуклідів у IV радіаційній зоні. Тому бажано продовжити регулярні медичні огляди населення територій посиленого радіоекологічного контролю.

Список використаних джерел

1. Assessment of Some Immune Parameters in Occupationally Exposed Nuclear Power Plants Workers: Flowcytometry Measurements of T, B, NK and NKT Cells / [I. Gyuleva, D. Panova, J. Djounova et al.] // Dose-Response – 2015. – V.13, #1. – P.1-15.
2. Influence of low dose irradiation on differentiation, maturation and T-cell activation of human dendritic cells / [J. Jahns, U. Anderegg, A. Saalbach et al.] // Mutat. Res. – 2011. – V.709-710. – P. 32-39.
3. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells / [D. Heylmann, F. Rodel, T. Kindler, B. Kaina] // Biochim. Biophys. Acta – 2014. – V.1846. – P. 121-129.
4. The effect of ionizing radiation on the homeostasis and functional integrity of murine splenic regulatory T cells / [A. Balogh, E. Persa, E.N. Bogdarndi et al.] // Inflamm. Res. – 2013. – V.62. – P. 201-212.
5. The therapeutic activity of low-dose irradiation on experimental arthritis depends on the induction of endogenous regulatory T cell activity / [L. Weng, R.O. Williams, P.L. Vieira et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2010. – V.69. – P. 1519-1526.
6. Paul W. Fundamental immunology / W. Paul, 7th ed. – Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – 1283 p.
7. Thomas A.C. "Of mice and men": arginine metabolism in macrophages / A.C. Thomas, J.T. Mattila // Front. Immunol. – 2014. – V.5. – P.479.
8. Ghosh B. Phagocytic activity of neutrophils in chronic obstructive pulmonary disease / B. Ghosh, K. Pyasi // Lung India – 2016. – V.33. – P.114.

9. Ionizing radiation modulates human macrophages towards a pro-inflammatory phenotype preserving their pro-invasive and pro-angiogenic capacities / [A.T. Pinto, M.L. Pinto, A.P. Cardoso et al.] / Scientific Reports. – 2016. – V.6. – P.e18765.

10. Low and moderate doses of ionizing radiation up to 2 Gy modulate transmigration and chemotaxis of activated macrophages, provoke an anti-inflammatory cytokine milieu, but do not impact upon viability and phagocytic function / [R. Wunderlich, A. Ernst, F. Rödel et al.] – Clin. Exp. Immunol. – 2015. – V.179. – P. 50-61.

11. Cellular immunity and telomere length correlate with cognitive dysfunction in clean-up workers of the chernobyl accident / [D.A. Bazyka, K.N. Loganovsky, I.N. Ilyenko et al.] // Clinical Neuropsychiatry – 2013. – V.10, #6. – P.280.

12. Effects of long-term low-level radiation exposure after the Chernobyl catastrophe on immunoglobulins in children residing in contaminated areas: prospective and cross-sectional studies / [D. McMahon, V. Vdovenko, W. Karmaus et al.] // Environmental Health – 2014. – V.13, #1. – P. 36-50.

13. Heterogeneous relationships between abundance of soil surface invertebrates and radiation from Chernobyl / [V. Bezrukov, A.P. Moller, G. Milinevsky et al.] // Ecological Indicators. – 2015. – V.52. – P.128-133.

14. Иммунология: Практикум / [Е.У. Пастер, В.В. Овод, В.К. Позур и др.] – К.: Выща школа. – 1989. – 280 с.

15. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells / [D. Heylmann, F. Rodel, T. Kindler, B. Kaina] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer – 2014. – V. 1846, #1. – P. 1-276.

16. Соколенко В.Л. Показники лейкоцитарної формули у осіб, що тривалий час проживали на радіаційно забруднених територіях / В.Л. Соколенко, С.В.Соколенко // Вісник Черкаського університету. 2010. – Випуск 180. – С. 112-116.

17. Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress / [G.E. Hodes, M.L. Pfau, M. Leboeuf et al.] // PNAS – 2014. – V.111, #45. – P. 16136-16141.

18. Соколенко В.Л. Показники Т-клітинної ланки імунітету у осіб, що тривалий час проживали на радіаційно забруднених територіях / В.Л.Соколенко, С.В. Соколенко // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка, Медико-біологічні науки. – 2012. – №9. – С.128-133.

References

1. Gyuleva IM, Penkova KI, Rupova IT, Panova DY, Djounova JN. Assessment of Some Immune Parameters in Occupationally Exposed Nuclear Power Plants Workers: Flowcytometry Measurements of T, B, NK and NKT Cells. Dose Response. 2015; 13(1):1-15.

2. Jahns J, Anderegg U, Saalbach A, Rosin B, Patties I, Glasow A. et al. Influence of low dose irradiation on differentiation, maturation and T-cell activation of human dendritic cells. Mutat Res. 2011;709-710:32-9.

3. Heylmann D, Rodel F, Kindler T. & Kaina B. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells. Biochim Biophys Acta. 2014; 1846:121-9.

4. Balogh A, Persa E, Bogdarndi EN, Benedek A, Hegyesi H, Sarfra'ny G, Lumniczky K. The effect of ionizing radiation on the homeostasis and functional integrity of murine splenic regulatory T cells. Inflamm Res. 2013; 62:201-12.

5. Weng L, Williams RO, Vieira PL, Screaton G, Feldmann M, Dazzi F. The therapeutic activity of low-dose irradiation on experimental arthritis depends on the induction of endogenous regulatory T cell activity. Ann Rheum Dis. 2010;69:1519-26.

6. Paul W. Fundamental immunology. W. Paul, 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

7. Thomas AC & Mattila JT. "Of mice and men": arginine metabolism in macrophages. Front Immunol. 2014; 5: 479.

8. Ghosh B, Pyasi K. Phagocytic activity of neutrophils in chronic obstructive pulmonary disease. Lung India. 2016; 33:114.

9. Pinto AT, Pinto ML, Cardoso AP, Monteiro C, Pinto MT, Maia AF et al. Ionizing radiation modulates human macrophages towards a pro-inflammatory phenotype preserving their pro-invasive and pro-angiogenic capacities. Scientific Reports. 2016; 6:18765.

10. Wunderlich R, Ernst A, Rödel F, Fietkau R, Ott O, Lauber K et al. Low and moderate doses of ionizing radiation up to 2 Gy modulate transmigration and chemotaxis of activated macrophages, provoke an anti-inflammatory cytokine milieu, but do not impact upon viability and phagocytic function. Clin Exp Immunol. 2015; 179: 50-61.

11. Bazyka DA, Loganovsky KN, Ilyenko IN, Chumak SA, Marazziti D, Maznichenko OL, Kubashko AV. Cellular immunity and telomere length correlate with cognitive dysfunction in clean-up workers of the chernobyl accident. Clinical Neuropsychiatry. 2013; 106: 280-1.

12. McMahon DM, Vdovenko VY, Karmaus W, Kondrashova V, Svendsen E, Litvinetz OM, Stepanova YI. Effects of long-term low-level radiation exposure after the Chernobyl catastrophe on immunoglobulins in children residing in contaminated areas: prospective and cross-sectional studies. Environ Health. 2014;13(1): 36-50.

13. Bezrukov V, Moller AP, Milinevsky G, Rushkovsky S, Sobol M, Mousseau TA. Heterogeneous relationships between abundance of soil surface invertebrates and radiation from Chernobyl. Ecological Indicators. 2015;52:128-33.

14. Paster EU, Ovod VV, Pozur VK. Immunology: Workshop. Kiev: High school;1989.

15. Heylmann D., Rodel F., Kindler T. & Kaina B. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells. Biochim Biophys Acta. 2014; 1846: 121-9.

16. Sokolenko VL, Sokolenko SV. Leukogram indicators in people who lived a long time in contaminated areas. Herald of Cherkassy University. 2010;180:112-6.

17. Hodes GA, Pfau ML, Leboeuf M, Golden SA, Christoffel DJ, Bregman D et al. Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress. PNAS. 2014; 111(45):16136-41.

18. Sokolenko VL, Sokolenko SV. Indicators of T-cell immunity in people who lived a long time in contaminated areas. Herald of Luhansk State University, Biomed Sci. 2012; 9:128-33.

Надійшла до редколегії 01.03.16

В. Соколенко, канд.биол.наук

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького, Черкаси

ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ФАГОЦИТОВ У ОБИТАТЕЛЕЙ ТЕРРИТОРИЙ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАДИОНУКЛИДАМИ

Изучали особенности фагоцитарной активности у лиц в возрасте 18-24 лет, с рождения проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами вследствие аварии на ЧАЭС. Обнаружили, что в течение всех рассматриваемых лет наблюдается постепенное снижение показателей фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса, особенно выраженное для популяции моноцитов. Наблюдается рост негативных корреляционных связей между активностью ¹³⁷Cs на загрязненных территориях и фагоцитарной активностью моноцитов у их населения от 1995 до 2014 года.

Ключевые слова: фагоцитарная активность, ЧАЭС, активность ¹³⁷Cs.

V. Sokolenko, PhD

Cherkasy State University of Bohdan Khmelnytsky, Cherkasy

SPECIFICS OF PROFESSIONAL PHAGOCYTE ACTIVITY IN RESIDENTS OF RADIATION CONTAMINATED AREAS

We studied phagocytic activity indices in patients aged 18-24 who lived from birth in the territories contaminated with radionuclides due to the Chernobyl catastrophe. We revealed that in the analyzed years there has been a gradual decline in indices of phagocytic number and phagocytic index, especially pronounced for populations of monocytes. There is a growing negative correlation between the activity of ¹³⁷Cs in contaminated areas and phagocytic activity of monocytes in the population of these territories from 1995 to 2014.

Keywords: phagocytic activity, Chernobyl, the activity of ¹³⁷Cs.

УДК 582.711.712:581.522.5:504.055

Н. Нужина, канд. біол. наук, О. Ткачук, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ОСОБЛИВОСТІ АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ ЛИСТКІВ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *ROSA* У ЗВ'ЯЗКУ З ЇХ ПОСУХОСТІЙКІСТЮ

Досліджено анатомічну будову листків таких видів роду *Rosa*: *R. donetzica*, *R. kokanica*, *R. roxburhii*, *R. rugosa*, *R. spinosissima*. Виявлено, що за анатомічною будовою рослини видів *R. donetzica* та *R. kokanica* мають дуже низьку посухостійкість. Найбільш виражені ксероморфні ознаки притаманні рослинам виду *R. rugosa* та *R. spinosissima*.

Ключові слова: *Rosa*, анатомічна будова, листок, посухостійкість.

Вступ. В останні три десятиліття в Україні, як і в усьому світі, спостерігається стійка тенденція до підвищення середньорічних температур повітря [6]. Погодно-кліматичні умови стають все більш нестабільними – різкі температурні коливання та часті відлиги взимку, високі температури і дефіцит вологи влітку відчутно впливають на розвиток рослинності. Зміни, які відбуваються в онтогенезі рослин, заслуговують на увагу біологів і потребують ретельного аналізу особливостей адаптації рослинних організмів в сучасних умовах глобальної і регіональної кліматичної динаміки.

З-поміж зібраного у Ботанічному саду ім. акад. О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка дендрологічного розмаїття рослин родини *Rosaceae* Juss. важливе місце займають представники роду *Rosa* L. Шипшини завдяки біоекологічним особливостям, цілком властивостям і декоративним якимось здавна були і залишаються дотепер надзвичайно цінними господарськими рослинами, що привертають увагу дослідників. У Ботанічному саду проводяться дослідження онтогенезу, стійкості й адаптації інтродуцентів колекції *Rosa* L. в сучасних умовах погодно-кліматичних змін.

Пізнання особливостей будови листка, як одного з найбільш поліфункціональних і пластичних органів рослини, виявлення структурних змін, що відбуваються в ньому під впливом несприятливих факторів середовища, дозволяє визначити механізми і оцінити ступінь адаптації як кожного окремого виду, так і роду в цілому. В сучасних літературних джерелах представлено значний спектр наукових напрацювань щодо адаптивних особливостей шипшин різних регіонів [1, 5, 9, 10]. Але в умовах України досліджень анатомічних особливостей будови листка дикорослих видів *Rosa* немає. З огляду на це, метою представленої роботи є порівняльний аналіз анатомічних особливостей будови листка різних за посухостійкістю високодекоративних видів шипшини колекції Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктами досліджень слугували п'ять видів роду *Rosa* L. – *R. donetzica* Dubovik, *R. kokanica* (Regel) Regel et Juz., *R. roxburhii* Tratt., *Rosa rugosa* Thunb. f. *alba* (Ware) Rehd., *R. spinosissima* L. різного географічного походження, віком від 5 років і більше, інтродукованих у Ботанічному саду ім. акад. О. В. Фоміна.

Для анатомічного вивчення листових пластинок заготовляли листки у фенофазу початку достигання плодів, яка в умовах м. Києва припадає на посушливий період. Заготовляли листки вранці з річних приростів (6-й від основи приросту), вивчали серединні частини листових пластинок. Досліджували по 2 листки з 5 рослин кожного виду. Зразки фіксували in FAA, та виготовляли поперечні зрізи товщиною 10-15 мкм за допомогою заморозуючого мікротома. Зрізи забарвлювали сафраніном [8]. Також проводили мацерацію листків з метою вивчення структур епідерми з адаксіальної та абаксіальної поверхонь листка. При описуванні епідер-

ми листової пластинки використовували методики Fatemeh Z. та Захаревича [3, 12]. Мікроскопічні виміри проводили за допомогою окуляр-мікрометра на мікроскопі XSP-146TR та програми Image J. Статистична обробка даних проводилась за допомогою програми Statistica 8. Достовірність результатів визначали за t-критерієм Стюдента. Фотографії зроблені за допомогою цифрової камери Canon Power Shot A630.

Результати та їх обговорення. Наші багаторічні фенологічні спостереження за рослинами роду *Rosa*. в умовах Ботанічного саду, з огляду на сучасні погодно-кліматичні зміни останніх десятиліть, показали, що найбільш посухостійкою з відібраних для даної роботи шипшин була далекосхідна *Rosa rugosa*. Упродовж останнього десятиліття вона відмінно витримувала тривалу літню посуху, щорічно добре росла і розвивалася та рясно плодоносила. Досить посухостійкими в умовах літньої посухи виявилися середньоазіатські види *R. roxburhii*. і *R. spinosissima*, котрі, не зважаючи на втрату листового тургору у денні години літньої спеки, щорічно рясно плодоносили. Вразливими до літньої посухи виявилися *R. donetzica* – рідкісний вид флори України і середньоазіатський – *R. kokanica*. Обидва види у період літньої посухи потребують додаткового поливу, без якого вони втрачають значну частину плодів.

Листки досліджених видів роду *Rosa* дорсовентральні, гіпостоматичні. Продихи аномотичного типу, оточені 4 – 6 клітинами. Епідермальні клітини з адаксіальної сторони мають прямолінійні обриси та багатокутну або квадратну проекцію у *R. kokanica*, *R. roxburhii* та *R. rugosa*; прямолінійно-звивисті обриси та багатокутну і витягнуту проекцію у *R. spinosissima* та прямолінійно-рідкозвивисті обриси і витягнуту або розплатану проекцію у *R. donetzica*. З абаксіальної сторони клітини епідерми мають розплатану проекцію у всіх досліджуваних видів. Обриси епідермальних клітин з нижньої сторони відрізняються у різних видів: прямолінійно-рідкозвивисті у *R. kokanica* і *R. rugosa*, звивисті і рідкозвивисті у *R. roxburhii*, звивисті у *R. donetzica*, хвилясті у *R. spinosissima*.

Поверхня листової пластинки в даних видів вкрита одноклітинними нитчастими трихомами з різною інтенсивністю, лише у *R. spinosissima* вони відсутні. Так, верхня сторона листової пластинки у *R. roxburhii* найгустіше вкрита короткими одноклітинними трихомами. У *R. kokanica* з нижньої сторони спостерігаються поодинокі довгі нитчасті трихоми. Характерним є те, що у всіх досліджуваних видів з абаксіальної сторони трихом більше ніж з адаксіальної. По мірі збільшення щільності покриву трихомами нижньої сторони пластинки види розміщені в наступній послідовності: *R. donetzica* = *R. kokanica* < *R. roxburhii* < *R. rugosa*. Характерною відмінністю *R. rugosa* є наявність на абаксіальній стороні листка залозистих трихом з багатоклітинними ніжкою та голівкою. Таким чином, листові пластинки *R. roxburhii*

та *R. rugosa* найбільш вкриті трихомами, а отже захищені від надмірної інсоляції.

Як свідчать результати, досліджувані види шипшин мають подібну анатомічну будову листка: одношарову епідерму, вкриту кутикулою; два шари стовбчастої паренхіми, губчаста паренхіма складається з 3 шарів клітин та великих міжклітинників; навколо провідних пучків багато включень оксалату кальцію (практично відсутні

оксалати у *R. kokanica* і *R. roxburhii*), зверху і знизу провідні пучки оточені кутовою коліновою (рис. 1 А-Д). Характерними діагностичними ознаками рослин виду *R. rugosa* можна вважати аркоподібну форму зовнішньої клітинної стінки абаксальної епідерми, порівняно з майже прямою у інших досліджуваних шипшин, що сприяє кращому затіненню листової поверхні, а також наявність багатоклітинних залозистих трихом (рис. 1 Б, В).

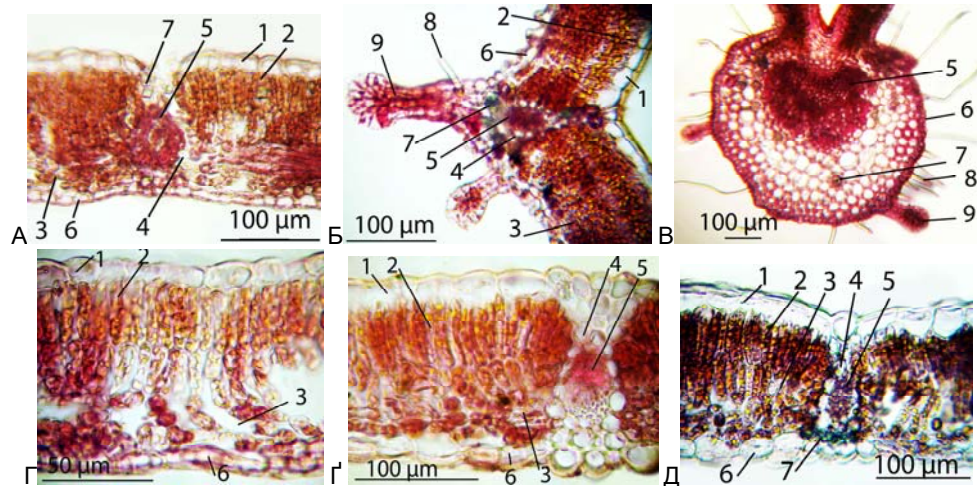


Рис. 1. Поперечний переріз листової пластинки:

А) *R. donetzica*, Б) *R. rugosa*, В) *R. rugosa* (центральна жилка), Г) *R. kokanica*, Е) *R. roxburhii*, Д) *R. spinosissima*. Де: 1-адаксіальна епідерма, 2-стовбчастий мезофіл, 3-губчастий мезофіл, 4-клітини обкладки, 5-провідний пучок, 6-абаксальна епідерма, 7-оксалати кальцію, 8-криючі трихоми, 9-залозисті трихоми

Аналіз морфометричних параметрів свідчить про те, що товщина адаксіальної епідерми та її зовнішньої клітинної стінки, порівняно з абаксальною стороною біль-

ше у всіх досліджуваних видів (табл. 1, рис. 2). Однак, захисна функція нижньої сторони компенсується значно більшою щільністю трихом.

Таблиця 1. Морфометричні показники листка шипшин

Назва виду	Товщина морфометричних показників, мкм						
	листка	епідерма		паренхіма		зовн. кл.ст. ад.еп.	зовн. кл.ст. аб.еп.
		адаксіальна	абаксіальна	стовбчастаї	губчаста		
<i>R. donetzica</i>	151,8±11,0	16,7±2,0	12,7±2,8	78,4±8,4	40,7±5,0	3,1±1,0	1,7±0,5
<i>R. kokanica</i>	94,9±14,0*	18,4±3,0	16,9±4,3*	39,7±12,0	21,3±4,9*	3,8±1,1	2,5±1,1*
<i>R. roxburhii</i>	157,0±13,5*^	26,3±4,8*^	15,3±3,4*	81,0±12,5*^	30,9±5,9*^	6,1±2,0*^	2,7±1,6*
<i>R. rugosa</i>	132,5±9,2*^o	22,2±3,0*^o	19,9±4,0*^o	58,4±6,0*^o	28,2±6,0*^	5,6±2,2*^	5,3±1,1*^o
<i>R. spinosissima</i>	171,7±8,4*^~	31,6±5,3*^o~	22,6±3,0*^o~	70,4±8,7*^o~	40,5±5,3*^o	6,9±1,4*^	5,0±1,5*^o

де, * – $P \leq 0,05$ – порівняно з *R. donetzica*, ^ – $P \leq 0,05$ – порівняно з *R. kokanica*, ° – $P \leq 0,05$ – порівняно з *R. roxburhii*, ~ – $P \leq 0,05$ – порівняно з *R. rugosa*; зовн. кл.ст.ад.еп. – зовнішня клітинна стінка адаксіальної епідерми, зовн.кл.ст.аб.еп. – зовнішня клітинна стінка абаксіальної епідерми.

Найтовща епідерма з обох сторін та його зовнішня оболонка у *R. spinosissima*, що корелює з найтовщою листовою пластинкою, тоді як найтонший листок *R. kokanica* вкритий тонкою епідермою (табл.1). Однак, відсоток покривної тканини у останнього виду найбільший серед розглянутих (рис.2). Відсоток покривної тканини у *R. donetzica* найменший. Як відомо, потовщення епідерми та її зовнішньої стінки за рахунок кутикули та воскового нальоту вказує на стійкість до водного дефіциту [14]. Таким чином, за даними параметрами посухостійкими видами є *R. spinosissima*, *R. rugosa* та *R. roxburhii*, а найменш посухостійкими видами є

R. kokanica і *R. donetzica*. Зменшення товщини листка вказує на стійкість до водного дефіциту [7, 13]. Найтонша листовая пластинка характерна для *R. kokanica* і *R. rugosa*, а найтовща для *R. spinosissima*. Разом з цим, ознакою ксероморфності є також зменшення лінійних розмірів листків [7]. За цим показником види розподілились в такій послідовності: найменша листовая пластинка характерна *R. spinosissima* (завдовжки 14,0±2,0 мм, завширшки 8,0±1,0 мм) → *R. kokanica* (25,3±2,5 мм / 12,3±0,5 мм) → *R. donetzica* (25,7±3,0 мм / 11,0±0,5 мм) → *R. rugosa* (33,7±3,5 мм / 22,3±3,0 мм) → *R. roxburhii* (42,0±4,0 мм / 19,7±0,5 мм).

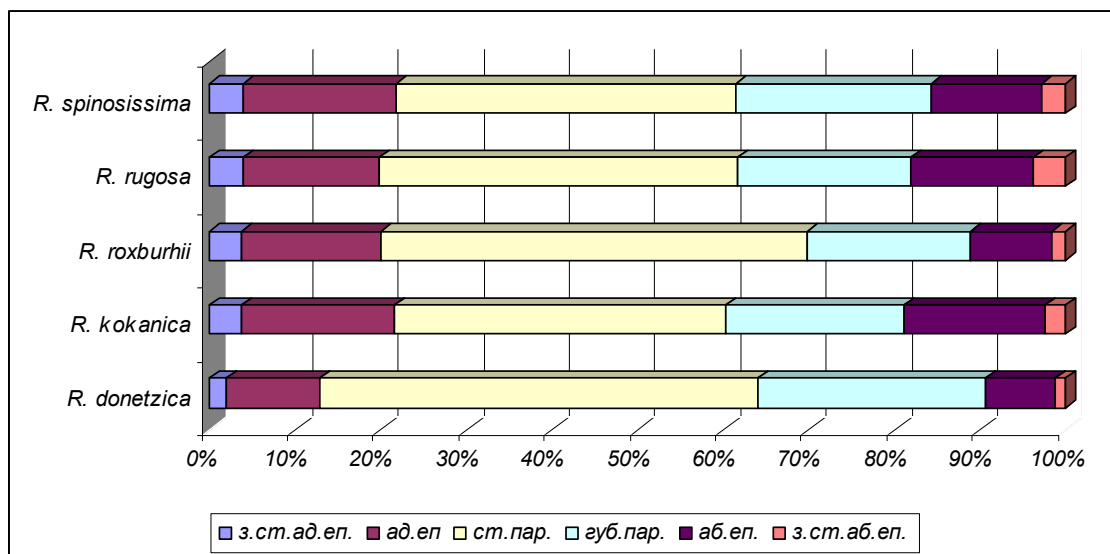


Рис. 2. Гістограма розподілу різних анатомічних структур листка рослин роду Rosa

де, з.ст.ад.еп. – зовнішня клітинна стінка адаксіальної епідерми, ад.еп. – адаксіальна епідерма, ст.пар. – стовбчаста паренхіма, губ.пар. – губчаста паренхіма, аб.еп. – абаксіальна епідерма, з.ст.аб.еп. – зовнішня клітинна стінка абаксіальної епідерми.

Цікаво відмітити, що відносно велика товщина листка *R. donetzica* та *R. roxburhii* забезпечена розвитком саме паренхімної тканини, особливо стовбчастої (рис. 1, табл. 1). Співвідношення палисадної до губчастої паренхіми зменшується в такій послідовності: *R. roxburhii* (2,6), *R. rugosa* (2,07), *R. donetzica* (1,95), *R. kokanica* (1,90), *R. spinosissima* (1,75). Як відомо з літератури, більший розвиток палисадної паренхіми порівняно з губчастою є ксероморфною ознакою листків [4].

Отримані результати показують, що за такими показниками, як кількість продихів та площа клітин адаксіальної епідерми всі види достовірно відрізняються між собою (табл. 2). Довжина продихів – найменш мінливий

показник в межах роду. Найбільша кількість продихів поряд з великими їх розмірами спостерігається у *R. rugosa* та *R. donetzica*. Що вказує на підвищену здатність випаровувати воду, що сприяє зменшенню перегрівання порівняно з іншими видами. Тому збільшення щільності продихів є позитивною ознакою будови епідерми рослин за умов гіпертермії [7, 11], але зменшує посухостійкість рослин. Найменша кількість продихів, характерна для *R. spinosissima*. З іншого боку, порівняно велика площа епідермальних клітин у *R. spinosissima*, *R. donetzica* та *R. roxburhii* є показником відносно меншої посухостійкості.

Таблиця 2. Анатомічні характеристики епідерми листка шипшин

Назва виду	Площа клітини, мкм ²		Продихи		
	адаксіальна епідерма	абаксіальна епідерма	кількість, шт./мкм ²	довжина, мкм	ширина, мкм
<i>R. donetzica</i>	728±215	1590±461	94,3±28,7	49,7±3,7	35,4±3,3
<i>R. kokanica</i>	770±209*	772±171*	41,8±3,5*	25,2±1,8*	21,7±4,1
<i>R. roxburhii</i>	1183±334*^	925±170*	55,0±5,4*^	25,8±2,6*^	18,7±2,1*^
<i>R. rugosa</i>	671±161*^°	512±69*	160,0±42,8*^°	25,4±2,6*^	17,9±1,6°
<i>R. spinosissima</i>	1290±261*^~	1009±222*^~	27,1±2,8*^~	34,2±3,1*^~	23,6±2,2*^~

де, * – P≤0,05 – порівняно з *R. donetzica*, ^ – P≤0,05 – порівняно з *R. kokanica*, ° – P≤0,05 – порівняно з *R. roxburhii*, ~ – P≤0,05 – порівняно з *R. rugosa*.

Збільшення щільності продихів вказує на підвищену здатність випаровувати воду, що поряд з великою щільністю клітин епідерми (за рахунок дрібних розмірів) сприяє зменшенню перегрівання рослини. Тому такі ознаки будови епідерми мезофітних рослин, на думку деяких дослідників, є позитивними за умов посухи [2, 11]. Проте ми вважаємо, що збільшення кількості продихів сприяє адаптації до високої температури середовища, яка часто супроводжує посуху. Це підтверджується даними інших вчених: більш посухостійкі види роду *Rosa* характеризуються значним зменшенням кількості продихів на одиницю площі [9]. Таким чином, найбільша кількість продихів поряд з дрібними їх розмірами, малими клітинами епідерми та сильно розвинутою системою жилкування спостерігається у *R. rugosa* (табл. 2). Таке пристосування до посушливих умов характерно для геміксерофітів, у яких гарно розвинута

коренева система, що сприяє інтенсивному випаровуванню води. Найменша кількість продихів та великі розміри клітин епідерми та продихового апарату, характерні для *R. spinosissima*.

Висновки. Таким чином, результати проведених досліджень анатомічних особливостей будови листків п'яти видів роду *Rosa* показали, що *R. donetzica* і *R. kokanica* мають найнижчу посухостійкість, що підтверджується нашими багаторічними фенологічними спостереженнями за шипшинами в умовах Ботанічного саду. Найбільш посухостійкими виявилися рослини виду *R. rugosa*. Витримувати умови з дефіцитом води даним рослинам, на нашу думку, сприяють такі анатомічні ознаки як: велика кількість одноклітинних криючих та багатоклітинних залозистих трихом, що зменшують вплив інсоляції на листову пластинку, а отже перегрів, та зменшують турбулентні потоки повітря біля епідер-

ми, знижуючи транспірацію; потовщена зовнішня епідермальна клітинна стінка, яка має аркоподібну форму; найменша площа епідермальних клітин; найбільша (порівняно з іншими дослідженими видами) кількість оксалатів кальцію, що допомагає утримувати воду в паренхімі; значне співвідношення стовбчастої до губчастої паренхіми. Дещо менш посухостійкими за анатомічними ознаками виявилися рослини *R. spinosissima*. Відсутність трихом на поверхні *R. spinosissima* компенсується великою товщиною епідерми та її зовнішньої клітинної стінки, звивистими обрисами епідермальних клітин, мінімальною (відносно розглянутих видів) кількістю продихів, наявністю оксалатів кальцію. За анатомічною будовою рослини *R. roxburhii* мають середній ступінь посухостійкості, порівняно з іншими 4 видами. Результати, отримані мікроскопічними методами підтверджують та уточнюють наші фенологічні дані, що вказує на доцільність використання даних методів для швидкого виявлення найбільш посухостійких видів та форм.

Список використаних джерел

1. Бирюлёва Э. Анатомо-морфологические особенности листовой пластинки видов и форм рода *Rosa* L. в условиях Присивашья Крыма / Э. Бирюлёва, З. Клименко, А. Челомбит // Вісник: Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. – 2009. – Вип. 25–27. – С. 32–33.
2. Василевская В. К. Формирование листа засухоустойчивых растений / В. К. Василевская – Ашхабад, 1954. – 183 с.
3. Захаревич С. Ф. К методике описания листа / С. Ф. Захаревич // Вестник Ленинградского университета. – 1954. – № 4. – С. 65–75.
4. Езау К. Анатомия семенных растений / Езау К. – М., 1980. – 558 с.
5. Кудайбергенова А. К. Биологические особенности *Rosa acicularis* Lindl. в условиях Иссык-Кульской области Кыргызстана: автореферат ... к.б.н.: 03.02.01. / Кудайбергенова А. К. – Бишкек, 2012. – 20 с.
6. Мельник М. А. Жаростійкість різних садових груп і сортів троянд / М. А. Мельник, О. В. Дубова, В. О. Лях // Інтродукція рослин. – 2014. – № 1. – С. 84–86.
7. Овруцька І. І. Анатомо-морфологічні ознаки *Sium Latifolium* L. у різних умовах зростання / І. І. Овруцька // Укр. ботан. журн. – 2012. – Т. 69, № 1–С. 125–133.
8. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева – М., Агропромиздат, 1988. – 271 с.
9. Резанова Т. А. Особенности анатомического строения листа у видов рода *Rosa* L. (*Rosaceae* Juss.) / Т. А. Резанова, В. Н. Сорокопудов, Е. Н. Свиначев // Научные ведомости. Серия Естественные науки. – 2011. – №9, (104), Вып. 15/1. – С. 340–350.
10. Рубцова Е. Анатомические показатели как критерий зимостойкости выходящих роз рода *Rosa* L. в условиях Лесостепи / Е. Рубцова, Т.

Рожок, Н. Джуренко, И. Коваль // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2011. – Вип. 56. – С. 245–249.

11. Шматко И. Г. Устойчивость растений к водному и температурному стрессам / И. Г. Шматко, И. А. Григорюк, О. Е. Шведова – К., Наук. думка, 1989. – 221 с.

12. Fatemeh Z. Stomatal observations in Dicotyledons / Z. Fatemeh // Pakistan Journal of Biological Sciences. 2007. – Vol. 10, № 2. – P. 199–219.

13. Hickey M., King C. Xeromorphic. The Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms. / M. Hickey, C. King – Cambridge, Cambridge University Press, 2001. – 208 с.

14. Levitt J. Responses of plants to environmental stress. / J. Levitt – New York, 1972. – 697 p.

References

1. Biryulyova E., Klimenko Z., Chelombit A. [Anatomical and morphological features of the lamina of species and forms the genus *Rosa* L. in conditions Crimean Sivash]. Visnyk: Introduktsiya ta zberezheniya roslynnoho riznomanitya. 2009; 25–27: 32–33. (In Russian).
2. Wasilewska V. K. [Leaf formation of drought-resistant plants] Ashgabat. 1954: 183. (In Russian).
3. Zaharevich S. F. [To procedure leaf description]. Vestnik Leningradskogo universiteta. 1954; 4: 65–75. (In Russian).
4. Ezau K. [Anatomy of seed plants]. M. 1980: 558. (In Russian).
5. Kudajbergenova A. K. Biologicheskie osobennosti *Rosa acicularis* Lindl. v usloviyah Issyk-Kul'skoj oblasti Kyrgyzstana: avtoreferat k.b.n.: 03.02.01. – Bishkek, 2012: 20. (In Russian).
6. Melnyk M. A., Dubova A. V., Lyah V. A. [Heat resistance of various garden groups of roses]. Introduktsiya roslyn. 2014; 1: 84–86. (In Ukrainian).
7. Ovrutskaya I. I. [Anatomic and morphological characteristics of the *Sium Latifolium* L. in different growth conditions]. Ukr. Botan. Zh. 2012; 69(1):125–133. (In Ukrainian).
8. Pausheva Z. [Plant cytology practicum]. M. 1988: 271.
9. Rezanova T. A., Sorokopudov V. N., Svinarev E. N. [Features of the anatomical structure of the leaf in the species of the genus *Rosa* L. (*Rosaceae* Juss.)]. Nauchnye vedomosti. Seriya Estestvennye nauki. 2011; 9(104), (15/1): 340–350. (In Russian).
10. Rubtsova E., Rozhok T., Dzhurenko N., Koval I. [Anatomic indicators as a measure of winter hardiness of climbing roses genus *Rosa* L. in conditions forest-steppe] Visnyk L'vivskoho universytetu. Seriya biolohichna. 2011; 56: 245–249. (In Russian).
11. Shmatko I. G., Grigoryuk I. A., Shvedova O. E. [The plant resistance to water and temperature stress] K. 1989: 221. (In Russian).
12. Fatemeh Z. Stomatal observations in Dicotyledons. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2007; 10(2):199–219.
13. Hickey M., King C. Xeromorphic. The Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms. 2001:208.
14. Levitt J. Responses of plants to environmental stress. New York. 1972: 697.

Надійшла до редколегії 29.02.16

Н. Нужи́на, канд. биол. наук, О. Ткачук, канд. биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ОСОБЕННОСТИ АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ЛИСТЬЕВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА ROSA В СВЯЗИ С ИХ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬЮ

Исследовано анатомическое строение листьев таких видов рода *Rosa*: *R. donetzica*, *R. kokanica*, *R. roxburhii*, *R. rugosa*, *R. spinosissima*. Обнаружено, что за анатомическим строением растения видов *R. donetzica* и *R. kokanica* имеют очень низкую засухоустойчивость. Наиболее выраженные ксероморфные признаки присущи растениям вида *R. rugosa* и *R. spinosissima*.

Ключевые слова: *Rosa*, анатомическое строение, лист, засухоустойчивость.

N. Nuzhyna, PhD, O. Tkachuk, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE LEAF'S ANATOMICAL FEATURES OF SOME SPECIES ROSA IN RELATION TO THEIR DROUGHT RESISTANCE

The leaf anatomy of species of the genus *Rosa*: *R. donetzica*, *R. kokanica*, *R. roxburhii*, *R. rugosa*, *R. spinosissima* was studied. It was found that the plants *R. donetzica* and *R. kokanica* have very low drought tolerance by the anatomical structure. The plants of species *R. rugosa* and *R. spinosissima* have most xeromorphy features.

Key words: *Rosa*, anatomical organization, leaf, drought tolerance.

УДК 616.211/.232-006:612.015

Ю. Бурлака, наук. співроб., Н. Гринь, наук. співроб., С. Верьовка, д-р біол. наук
ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України", Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ АГРЕГАЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ ТРОМБОЦИТІВ У ХВОРИХ НА РАК ГОРТАНІ

Провести порівняльне дослідження агрегаційної функції тромбоцитів у хворих з різними стадіями раку гортані для виявлення найбільш показових порушень та визначення найбільш інформативних відмін. Проведено порівняльну оцінку показників агрегації тромбоцитів в плазмі крові хворих на рак гортані порівняно з такою в контрольній групі умовно здорових осіб. Встановлено посилення АДФ низки показників агрегації тромбоцитів при всіх використаних концентраціях індуктора. При III-ій стадії онкологічного процесу поряд зі збільшенням частки осіб з гіперагрегацією тромбоцитів вистігали вірогідне зменшення в крові кількості тромбоцитів та збільшення кількості осіб з тромбоцитопенією.

У хворих з II-у і III-ю стадіями раку гортані спостерігали значні зміни ступеня, швидкості та часу агрегації в бік збільшення їх рівнів відносно відповідних контрольних даних. Найбільш суттєві їх порушення відмічаються при II-й стадії онкологічного процесу.

Ключові слова: рак гортані, тромбоцити, агрегація, аденозиндифосфат.

Вступ. Відомо, що у формуванні тромбофілічного статусу у пацієнтів з онкопатологією значну роль відіграють зміни в системі зсідання крові. Доведено, що у більшості онкологічних хворих є тромбогенні порушення, котрі характеризуються гіпертромбінемією та гіперфібриногенемією, а в частині випадків гіпертромбоцитозом, дефіцитом плазміногену, підвищенням активності VIII фактора і порушенням в системі протеїну С [10].

Приживлення злоякісних клітин є багатограним процесом взаємодій в системі пухлинна клітина – кров – ендотелій мікросудин. Експериментальні дані свідчать про те, що тромбоцити в крові утворюють агрегати з пухлинними клітинами, полегшуючи їх взаємодію з ендотелієм. Важливими модулюючими факторами є продукти метаболізму арахідонової кислоти в тромбоцитах і ендотелії. Встановлено, що тромбаксан А2 збільшує, а простаглілін зменшує ступінь взаємодії пухлинних клітин і тромбоцитів [1]. Підтримка адекватного рівня мікроциркуляції також пов'язана з функціональною активністю тромбоцитів і багато в чому визначає тромборезистентність судинної стінки, а тим самим і неможливість прикріплення тромбоцитарно-пухлинного комплексу. Загальновідомо, що пухлинні клітини потрапляють в кров при некрозі первинного вогнища, при відриванні клітин дозрілих метастазів, а також при оперативному видаленні пухлини. Показано, що 93-95% пухлинних клітин, що потрапили в кровообіг, елімінуються макрофагами. Однак при збільшенні агрегаційної активності клітин крові, тромбопластичних властивостей плазми навколо пухлинних клітин утворюється тромбоцитарно-фібриногена оболонка, яка надійно захищає їх від імунного нагляду. При цьому ймовірність метастазування різко зростає [1, 8].

Найбільш достовірними методами оцінки тромбоцитарно-судинного гомеостазу є дослідження швидкості і ступеня зменшення оптичної густини тромбоцитарної плазми при додаванні індукторів агрегації [7].

Мета роботи – дослідження агрегаційної функції тромбоцитів та частоти їх гіперреактивності у хворих на рак гортані.

Об'єкт та методи досліджень. Було обстежено 35 пацієнтів ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України" (м. Київ). У дослідженні брали участь лише чоловіки з первинними злоякісними новоутвореннями гортані, віком від 45 до 65 років (середній вік складав 55 років). З них у 18 пацієнтів діагностовано плоскоклітинний ороговілий рак гортані II-ої стадії ($T_2N_0M_0$), а у 17 – III-ої стадії ($T_3N_0M_0$). Контрольну групу склали 20 умовно здорових людей. Всі групи були рандомізовані за віком та статтю.

Агрегацію тромбоцитів досліджували на фотооптичному агрегометрі AP2110 "Солар" (Білорусь). Кров для дослідження отримували з літкової вени широкою голкою в пластикові пробірки з антикоагулянтом 3,8% натрію цитратом у співвідношенні 9:1 зранку натщесерце. Багату та бідну тромбоцитами плазму крові для дослідження агрегації тромбоцитів отримували звичайними методами [4]. Агрегацію тромбоцитів досліджували упродовж перших 3 год після забору крові. В якості індуктора агрегації використовували аденозиндифосфат (АДФ) ("Технологія-Стандарт", Барнаул). Робочі розведення реактивів готували безпосередньо перед дослідженням згідно з рекомендаціями фірми-виробника.

Для оцінки процесу агрегації тромбоцитів використовували АДФ в кінцевих концентраціях: 0,625; 1,25; 2,5; 5 та 10 мкмоль/л. Реєстрували: ступінь агрегації (СА, %) – максимальний рівень світлопропускання плазми крові після внесення індуктора агрегації; швидкість агрегації (ША, %/хв) – зміна світлопропускання плазми крові після внесення індуктора агрегації; час агрегації (хв) – час досягнення максимального ступеня агрегації [3].

При додаванні індуктора агрегації до багатої тромбоцитами плазми крові спочатку відбувається зміна форми тромбоцитів (з дискоїдної на сферичну), з'являється псевдоподії, відбувається первинна зворотна агрегація (перша фаза агрегації), а потім за рахунок секреції власних біологічно активних речовин тромбоцитів виникає друга незворотна фаза агрегації [2]. При додаванні АДФ в низьких концентраціях (0,625-1,25 мкмоль/л) процес агрегації тромбоцитів завершується на першій фазі і є повністю зворотним. Використання середньої концентрації АДФ (2,5 – 5,0 мкмоль/л) дозволяє отримати незворотну двофазну агрегаційну криву, що відображає процеси первинної та вторинної агрегації. При більш високих концентраціях (10,0 мкмоль/л) АДФ викликає однофазну незворотну агрегацію, що свідчить про більш бурхливу агрегацію тромбоцитів, коли друга фаза практично на шаровується на першу [2,5].

Результати та їх обговорення. Перед проведенням досліджень агрегації тромбоцитів вимірювали їх кількість в збагаченій на тромбоцити плазмі крові. У хворих з II-ю стадією онкологічного процесу цей показник становив $322,44 \pm 20,28$ тис/мкл, а у хворих з III-ю стадією захворювання – $232,19 \pm 8,35$ тис/мкл. Нормальні її значення дорівнювали ($335,11 \pm 14,73$) тис/мкл. Таким чином встановлено, що у хворих з II-ю стадією онкологічного процесу кількість тромбоцитів наближена до показників норми, а при III-ій стадії захворювання вона вірогідно знижена ($p < 0,001$). Але слід взяти до уваги, що агрегометр підраховує лише кількість тромбоцитів, а не відсоткове співвідношення їх груп. Так, в

літературі описані випадки, коли частина незрілих або дегенеративних форм клітин перевищує норму і тоді ефективність дії тромбоцитів різко знижується, при тому, що їх кількість залишається в нормі [9]. Хворим з III-ою стадією захворювання притаманна тромбоцитопенія. Крім того встановлено достовірні відміни цього по-

казника у пацієнтів з II-ою та III-ою стадіями онкологічного захворювання ($p < 0,001$).

В результаті проведених досліджень виявлені істотні відмінності за рівнем світлопропускання плазми крові між хворими на рак гортані та здоровими особами, отримані у відповідь на різні дози індуктора (табл.1).

Таблиця 1. Кількісні параметри агрегаціограм у здорових осіб та у хворих на рак гортані

Групи	Параметри агрегаціограм		
	Ступінь агрегації, %	Швидкість агрегації, %/хв	Час,хв
Концентрація АДФ – 0,625 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	28,07±6,10	15,90±3,39	1,15±0,31
Хворі на рак гортані II-ї ст.	66,54±8,65 $p < 0,01$	35,83±5,19 $p < 0,01$	7,13±0,98 $p < 0,001$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	63,25±3,47 $p < 0,001$	27,3±5,61	5,95±0,77 $p < 0,001$
Концентрація АДФ – 1,25 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	48,40±5,01	29,13±3,30	2,88±0,56
Хворі на рак гортані II-ї ст.	77,82±3,90 $p < 0,001$	47,64±4,97 $p < 0,01$	7,67±0,27 $p < 0,001$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	68,89±6,65 $p < 0,05$	34,22±3,59 $p < 0,05$	7,25±0,54 $p < 0,01$
Концентрація АДФ – 2,5 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	59,77±5,00	35,07±3,14	6,82±0,32
Хворі на рак гортані II-ї ст.	92,54±8,97 $p < 0,01$	50,35±6,86 $p < 0,05$	5,92±0,20 $p < 0,05$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	76,32±5,66 $p < 0,05$	44,53±4,80	8,02±0,22 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$
Концентрація АДФ – 5 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	59,21±5,54	29,26±4,02	8,71±0,20
Хворі на рак гортані II-ї ст.	86,33±6,57 $p < 0,01$	49,63±4,73 $p < 0,001$	7,20±0,43 $p < 0,01$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	116,47±15,91 $p < 0,01$	49,35±6,57 $p < 0,02$	7,66±0,26 $p < 0,01$
Концентрація АДФ – 10 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	67,27±5,31	49,97±5,05	7,16±0,41
Хворі на рак гортані II-ї ст.	93,32±8,44 $p < 0,02$	68,04±5,69 $p < 0,05$	8,60±0,39 $p < 0,02$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	90,43±8,03 $p < 0,02$	72,56±8,77 $p < 0,05$	8,71±0,27 $p < 0,01$

Примітка: p – вірогідність різниці між відповідними показниками у хворих і практично здорових людей

p_1 – вірогідність різниці між відповідними показниками у хворих з різними стадіями раку гортані

Для виявлення гіпо- та гіперагрегації використовували АДФ у низьких концентраціях (0,625 та 1,25 мкг/мл). в обох групах хворих при використанні розчину АДФ в концентрації 0,625 мкг/мл спостерігали вірогідне підвищення ступеня агрегації в середньому у 2,4 рази порівняно з групою контролю ($p < 0,01$ -0,001), а при дозі агрегуючої речовини 1,25 мкг/мл цей показник також статистично вірогідно підвищувався в середньому у 1,5 рази ($p < 0,05$ -0,001). Для дослідження агрегаційних властивостей тромбоцитів використовували АДФ у концентраціях

2,5 та 5,0 мкг/мл. При концентрації індуктора 2,5 мкг/мл СА тромбоцитів у хворих на II-у і III-ю стадію раку гортані є вірогідно вищою відносно контрольної величини: відповідно (92,54±8,97) та (76,32±5,66) проти (59,77±5,00) ($p < 0,05$ -0,01). Як видно, при використанні розчину АДФ в концентрації 5,0 мкг/мл також відбувалось вірогідне підвищення СА як при II так і при III-ій стадіях онкологічного процесу у 1,5 та 2 рази відповідно ($p < 0,01$). При проведенні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 10,0 мкг/мл цей показник вірогідно підвищувався в середньому у 2,4 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,02$). Достовірних відмін СА між хворими з II-у і III-ю стадіями онкологічного захворювання при всіх використаних концентраціях агрегуючої речовини виявлено не було.

Таким чином, можна стверджувати, що хворим на рак гортані притаманна гіперреактивність тромбоцитів

(одночасно до трьох доз індуктора), яка найбільш виражена при II-ій стадії захворювання і дещо знижується з прогресуванням онкологічного процесу. За даними літератури критерієм гіперреактивності тромбоцитів є ступінь індукованої агрегації тромбоцитів, яка перевищує 60% [11,12].

Результати дослідження змін світлопропускання плазми крові після внесення індуктора агрегації у хворих на рак гортані показали наступне: при використанні розчину АДФ в концентрації 0,625 мкг/мл відбувалось вірогідне підвищення ША у хворих з II-ою стадією у 2,2 рази ($p < 0,01$). При III-ій стадії онкологічного процесу цей показник також змінювався в напрямку збільшення, але не був достовірно відмінним від такого як в порівнянні з контролем так і між групами хворих. При концентрації індуктора 1,25 мкг/мл ША тромбоцитів у хворих з II-ою стадією була прискореною порівняно з нормою ($p < 0,01$). При III-ій стадії вона в середньому був вищою за таку в контролі, але не достовірно через значні розбіжності індивідуальних показників, але в той же час статистично вірогідно нижчою порівняно з II-ою стадією онкологічного процесу ($p_1 < 0,01$). При концентрації АДФ 2,5 мкг/мл у хворих з II-ою стадією ША тромбоцитів також зростала і ставала достовірно відмінною від свого контрольного значення ($p < 0,05$), але відміна ША при III-ій стадії та між групами обстежених при цій концентрації агрегуючої речовини достовірною не була. При про-

веденні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 5,0 мкг/мл цей показник вірогідно підвищувався в середньому у 1,7 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,02-0,001$). При концентрації індуктора 10 мкг/мл ША тромбоцитів у хворих на II-у і III-ю стадії раку гортані також вірогідно вища відносно відповідного контрольного показника: $(68,04 \pm 5,69)$ та $(72,56 \pm 8,77)$ проти $(49,97 \pm 5,05)$ ($p < 0,05$).

При визначенні часу початку максимального ступеня агрегації тромбоцитів в обох групах хворих було встановлено, достовірне збільшення цього показника порівняно з контролем при найменшій концентрації АДФ : у 6,2 та 5,0 рази відповідно ($p < 0,001$). При проведенні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 1,25 мкг/мл цей показник також вірогідно підвищувався в середньому у 2,5 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,01-0,001$). При концентрації індуктора 2,5 та 5 мкг/мл встановлено вірогідне зниження часу максимального ступеня агрегації ($p < 0,05-0,001$) у хворих з II-ю стадією онкологічного процесу на тлі підвищення цього показника у хворих з III-ю стадією порівняно з відповідним контролем ($p < 0,05-0,01$). Крім того, встановлено достовірні відмінності цього показника між II-у і III-ю стадіями онкологічного захворювання ($p < 0,001$) при використанні розчину АДФ в концентрації 2,5 мкг/мл. При проведенні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 10,0 мкг/мл цей показник вірогідно підвищувався в середньому у 1,2 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,02-0,01$).

Таким чином, проведені нами дослідження продемонстрували значні порушення агрегаційної функції тромбоцитів у хворих на рак гортані. З досліджуваних параметрів агрегатограм найбільші відмінності між групами виявлено у пацієнтів з II-ю стадією в ступені та швидкості агрегації і менші – за часом агрегації тромбоцитів, зокрема при використанні індуктора в концентрації 2,5 мкг/мл цей показник дещо знижений порівняно як з групою контролю так і з III-ю стадією онкологічного процесу. Типовим для хворих з III-ю стадією раку гортані є посилення відповіді тромбоцитів на стимуляцію їх АДФ та тромбоцитопенія.

Виявлене порушення агрегації тромбоцитів, у хворих на рак гортані може поглиблюватись з віком (середній вік пацієнтів 55 років). Оскільки з даних літератури відомо, що після 45-річного віку навіть у здорових людей поступово підвищується агрегаційна активність тромбоцитів. Це призводить до збільшення вмісту в їх крові активних форм кров'яних пластинок, що, в свою чергу, призводить до підвищення кількості циркулюючих агрегатів різноманітних розмірів. При цьому може посилюватись негативний вплив на організм факторів середовища, сприяючи реалізації спадкової схильності до різноманітних захворювань. Виявлене з віком прискорення агрегації тромбоцитів при використанні слабких агоністів (АДФ та адреналін), що взаємодіють з рецепторами їх мембрани та стимулюють експресію фібриногенових рецепторів (GPIIb-IIIa) та активність фосфоліпази A2, безперечно пов'язане з підвищенням виходу з фосфоліпідів арахідонової кислоти та посиленням утворення тромбосана A2 [6].

Висновки.

1. У хворих на рак гортані з II-у і III-ю стадіями спостерігаються досить виражені зміни ступеня, швидкості та часу агрегації в бік збільшення їх рівнів відносно відповідних контрольних даних. Найбільш суттєві їх порушення відмічаються при II-й стадії онкологічного процесу.

2. У хворих на рак гортані II-ої стадії тромбоцити виявляли гіперреактивність одночасно до всіх використа-

них концентрацій індуктора, незважаючи на те, що їх кількість наближена до показників норми. Це може бути пов'язано із збільшенням вмісту в популяції кров'яних пластинок незрілих або дегенеративних форм клітин, що різко знижує ефективність дії тромбоцитів.

3. Поряд з встановленою гіперагрегацією тромбоцитів у хворих з III-ю стадією захворювання відзначають вірогідне зниження в крові кількості тромбоцитів та збільшення кількості осіб з тромбоцитопенією.

Список використаних джерел.

1. Афанасьєва А.Н. Исследование функциональной активности тромбоцитов в онкологической практике / А.Н. Афанасьєва // Сибирский онкологический журнал. – 2002. – №2. – С. 67 – 68.
2. Волков Г.Л., Платонова Т.Н., Савчук А.Н., Горницкая О.В., Чернышенко Т.М., Краснобрижая Е.Н. Современные представления о системе гемостаза – К.. Научная думка 2005. 292 с.
3. Инструкция по определению агрегационной активности тромбоцитов на анализаторе AP 2110 (Под ред. Чещевик М.А.) – Минск, 1995. – С. 22.
4. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. (Под ред. Меншиков В.В.) – Москва, Медицина, 1987. – 368 с.
5. Люсов В.А. К методу определения агрегации тромбоцитов и эритроцитов. / В.А. Люсов, Ю.Б. Белоусов, М.П. Савенков // Лаб. дело. – 1976. – № 8. – С. 463-468.
6. Медведев И.Н. Агрегационная активность тромбоцитов у здоровых лиц второго зрелого возраста / И.Н. Медведев, Н.В. Кутафина // Fundamental Research. – 2012. – №8. – С.362–366.
7. Парахонский А.П. Агрегационные свойства тромбоцитов при хронической ишемической болезни сердца / А.П. Парахонский // Modern High Technologies. – 2012. – №9. – С. 52 – 53.
8. Тропин С.В. Анализ осложнений комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого / С.В. Тропин, С.В. Миллер, С.А. Тузилов, А.А. Завьялов [и др] // Сибирский онкологический журнал. – 2007. – №4. – С. 50 – 56.
9. Шевчук С.В. Характеристика stanu агрегаційної здатності тромбоцитів у хворих на системний червоний вовчак // С.В. Шевчук // Український ревматологічний журнал. – 2007. – №2(28). – С. 32 – 36.
10. Шилова А.Н. Функциональная активность тромбоцитов у онкобольных / А.Н. Шилова, А.Ф. Лазарев, Е.Ф. Котовщикова // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – Приложение №1. – С. 123–124.
11. Yee D.L. Aggregometry detects platelet hyperreactivity in healthy individuals / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // Blood. – 2005. – №106(8). – P. 2723 – 2729.
12. Yee D.L. Platelet hyperreactivity generalizes to multiple forms of stimulation / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // J. Thromb Haemost. – 2006. – №4(9). – P. 2043 – 2050.

References

1. Afanasyeva A.N. The study of the functional activity of platelets in oncology practice / A.N. Afanasyeva // Siberian Journal of Oncology. – 2002. – №2. – P. 67 – 68.
2. Volkov G.L., Platonov T.N., Savchuk A.N., Gornitskaya O.V., Chernyshenko T.M., Krasnobrizhaya E.N. Modern ideas about the system of hemostasis – K.. Naukova Dumka 2005. 292 p.
3. Instructions for determining the platelet aggregation activity analyzer AP2110 (Ed Cheschevich M.A.) – Minsk, 1995. – p. 22.
4. Laboratory Methods in clinic. Directory. (Ed Menshikov V.V.) – Moscow, Medicine, 1987. – 368 p.
5. Lyusov V.A. To the method of determination of platelet and erythrocytes aggregation / V.A. Lyusov, Y.B. Belousov, M.P. Savenkov // Lab.work. – 1976. – № 8. – P. 463-468.
6. Medvedev I.N. Platelet aggregation in healthy individuals a second mature age / I.N. Medvedev, N.V. Kutafin // Fundamental Research – 2012. – №8. – P.362–366.
7. Parakhonsky A.P. Aggregation of platelets in patients with chronic ischemic heart disease / A.P. Parakhonsky // Modern High Technologies. – 2012. – №9. – P. 52 – 53.
8. Tropin S.V. Analysis of the combined treatment of complications of non-small cell lung cancer / S.V. Tropin, S.V. Miller, S.A. Tuzikov, A.A. Zavyalov, [at all] // Siberian Journal of Oncology. – 2007. – №4. – P. 50 – 56.
9. Shevchuk S.V. Characteristics of platelet aggregation in patients with systemic lupus erythematosus // S.V. Shevchuk // Ukrainian Journal of Rheumatology. – 2007. – №2(28). – P. 32 – 36.
10. Shilova A.N. The functional activity of platelets in cancer patients / A.N. Shilova, A.F. Lazarev, E.F. Kotovshchikova // Siberian Journal of Oncology. – 2011 – Ap. №1. – P. 123-124.
11. Yee D.L. Aggregometry detects platelet hyperreactivity in healthy individuals / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // Blood. – 2005. – №106(8). – P. 2723 – 2729.
12. Yee D.L. Platelet hyperreactivity generalizes to multiple forms of stimulation / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // J. Thromb Haemost. – 2006. – №4(9). – P. 2043 – 2050.

Ю.Бурлака, науч. сотр., Н. Гринь, науч. сотр., С.Вережка, д-р биол. наук
ГУ "Институт отоларингологии им. проф. А.С. Коломийченко НАМН Украины", Киев, Украина

ИССЛЕДОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ

Исследовали агрегационную функцию тромбоцитов у больных с разными стадиями рака гортани для выявления наиболее показательных нарушений и определения наиболее информативных отличий. Проведена сравнительная оценка показателей агрегации тромбоцитов в плазме крови больных раком гортани по сравнению данными в контрольной группе условно здоровых лиц. Установлено усиление АДФ ряда показателей агрегации тромбоцитов при всех использованных концентрациях индуктора. При III-й стадии онкологического процесса наряду с увеличением количества лиц с гиперагрегацией тромбоцитов отмечали достоверное уменьшение в крови количества тромбоцитов и увеличение числа лиц с тромбоцитопенией. У больных с II-ой и III-й стадиями рака гортани наблюдаются значительные изменения степени, скорости и времени агрегации в сторону увеличения их уровней относительно соответствующих контрольных данных. Наиболее существенные нарушения отмечаются при II-й стадии онкологического процесса.

Ключевые слова: рак гортани, тромбоциты, агрегация, аденозиндифосфат.

Iu. Burlaka, fellow researcher, N. Gryn', fellow researcher, S. Verevka, head of laboratory, Dr.Sci. Biol
National Academy of Medical Sciences of Ukraine prof. O.S. Kolomyichenko Institute of Otolaryngology, Kyiv, Ukraine

INVESTIGATION OF PLATELET AGGREGATION IN PATIENTS WITH LARYNGEAL CANCER

A comparative study of the induced platelet aggregation in patients with laryngeal cancer to determine the most revealing informative violations. It was compared evaluation of results of platelet aggregation in the blood plasma of patients with laryngeal cancer compared to the healthy persons. It was found intensification of ADP induced platelet aggregation in the concentration range which was used. At the same time with the increase the number of patients with platelet hyperaggregation reliable platelet decrease in blood and increase of patients with thrombocytopenia at the III-rd stage of laryngeal cancer are observed. In patients with II-nd and III-rd stage of laryngeal cancer was found increase in the level, rate and aggregation time compared to the healthy persons. The most significant violations observed in the II-nd stage of the cancer process.

Keywords: laryngeal cancer, platelet, aggregation, ADP.

УДК [57.044:546.59]:591.463.2

В. Калиновський, асп., А. Пустовалов, канд. біол. наук, М. Дзержинський, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
Г. Гродзюк, канд. хім. наук, Н. Андрюшина, канд. хім. наук
ТОВ "Наномедтех", Київ

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ТА ЙОНІВ ЗОЛОТА НА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СІМ'ЯНИКІВ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

Досліджували вплив золота у формі колоїду та солі на функціонування сім'яників статевонезрілих щурів. Встановлено, що йони золота стимулюють проліферативні процеси в сперматогенному епітелії, а також підвищують функціональну активність інтерстиціальних клітин. Наночастинки золота, навпаки, пригнічували ендокринну функцію сім'яника, а також гальмували статеве дозрівання. Таким чином, не зважаючи на стимулюючий характер солі золота, при переході до нанорозмірного класу цей метал набуває токсичних властивостей.

Ключові слова: Наночастинки, золото, сім'яник.

Вступ. Препарати золота традиційно застосовуються для лікування аутоімунних захворювань, у першу чергу ревматоїдного артриту [14]. Хоча золото традиційно вважається металом з низькою біологічною активністю, у ряді досліджень було показано можливість його накопичення в ендокринних органах [12]. Дані ж щодо впливу солей золота на активність репродуктивної системи є суперечливими [4].

Наночастинки золота є перспективним матеріалом сучасної нанобіотехнології та наномедицини. Специфічні фізико-хімічні властивості зумовлюють розробку підходів щодо застосування нанорозмірного золота у різноманітних системах детекції [11], для розробки вакцин [13], адресної доставки лікарських засобів, фототермальної терапії онкологічних захворювань [5, 6]. Але широке застосування наночастинок золота у медицині обмежене потенційним токсичним впливом цього агента. У дослідженнях *in vitro* було показано можливість ушкодження різних клітин внаслідок дії колоїдного золота [9]. В той же час літературні і дані щодо подібних досліджень *in vivo* є дуже обмеженими, особливо це стосується дослідження репродуктивної токсичності наноматеріалів [10]. Зважаючи на те, що у дослідженнях фармакокінетики наночастинок золота було показано можливість перетину ними гематотестикулярного бар'єру, питання впливу препаратів колоїдного золота на процеси сперматогенезу та тестикулярного стероїдогенезу є вкрай актуальним [3].

Тому метою нашої роботи було порівняння впливу йонів та наночастинок золота на репродуктивну систему статевонезрілих самців щурів.

Матеріали і методи. Розчини наночастинок золота отримували шляхом відновлення тетрахлораурату (III) натрію (NaAuCl_4) аскорбіновою кислотою у лужному середовищі, у присутності поліфосфату натрію. Для цього у водний розчин Au^{3+} 1×10^{-3} моль/л додавали, при інтенсивному перемішуванні, $2,5 \times 10^{-4}$ моль/л водного розчину поліфосфату натрію, 1×10^{-2} моль/л гідроксиду натрію та 1×10^{-3} моль/л аскорбінової кислоти. Перемішування продовжували протягом 10 хв. Отримані колоїди зберігали при кімнатній температурі без попадання прямих сонячних променів. Розчин наночастинок досліджували методом растрової електронної мікроскопії за допомогою растрового мікроскопа LMU Mira3 Tescan (Tescan a.s., Чеська Республіка) при напрузі прискорення 5–20 кВ. Мікроскоп був обладнаний приставкою Oxford X-MAX 80 мм для енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії (Oxford Instruments, США). Розмір отриманих частинок визначали методом лазерної фотокореляційної спектроскопії здійснювали на приладі Zeta Sizer Nano S (Malvern, Великобританія). Колоїди опромінювали гелій-неоновим лазером з $\lambda = 633$ нм, розсіяне світло реєстрували під кутом 173° .

Дослідження проведено на 32 самцях білих нелінійних щурів з початковою масою 80-100 г. Вік тварин на початку експерименту становив 21 день, що відповідає віку статевонезрілих тварин. Щурів утримували в умовах віварію на стандартному раціоні.

Методом рандомізації тварин було розподілено на 4 групи по 8 тварин. Тваринам I групи (контроль 1) вводили 0,9% розчин NaCl ("Індар", Україна) з розрахунку 0,1 мл / 100 г маси щура. Тваринам II групи (контроль 2) вводили розчин, що складався з $2,5 \times 10^{-4}$ моль/л водного розчину поліфосфату натрію, 1×10^{-2} моль/л гідроксиду натрію та 1×10^{-3} моль/л аскорбінової кислоти (0,1 мл розчину / 100 г маси щура). Тваринам III та IV груп вводили розчини NaAuCl_4 та наночастинок золота відповідно з розрахунку 0,1 мг золота/100 г маси щура. Всі препарати вводили інтраперитонеально протягом 10 діб.

На 10 добу тварин декапітували, лівий сім'яник фіксували у рідині Буена та заливали у парафін за стандартною гістологічною методикою [1]. Зрізи товщиною 8 мкм забарвлювали гематоксиліном Бюмера та еозинном. Гістологічні препарати аналізували на мікроскопі Olympus BX51 (Японія), обладнаного цифровою фотокамерою Camedia C-5050 zoom і програмним забезпеченням Olympus DP Soft 3.2. Для оцінки морфофункціонального стану сім'яників визначали діаметр звивистих сім'яних каналців, висоту сперматогенного епітелію та площу поперечного перерізу ядер інтерстиціальних клітин Лейдіга [1].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0. Дані презентували як середнє $\pm$ похибка середнього ($M \pm m$). Для оцінки нормальності розподілу даних використовували W критерій Шапіро-Уїлка. Оскільки всі отримані нами дані були розподілені нормально, різницю між середніми оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента. Значущими вважали відмінності при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Колоїдні розчини наночастинок золота були стабільними протягом не менше ніж двох тижнів. Розміри наночастинок складали 7,5-12,5 нм (рис. 1).

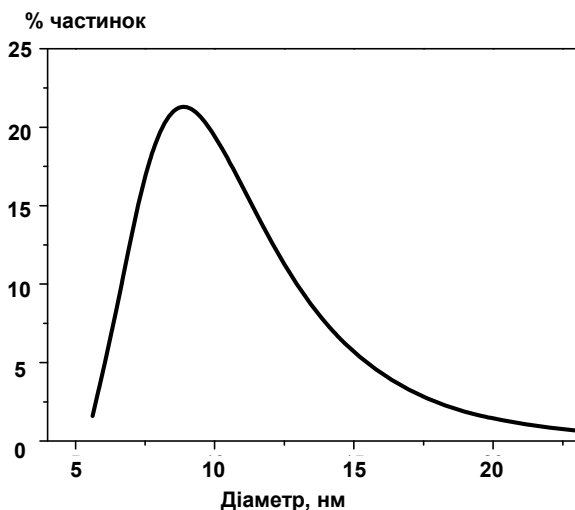


Рис 1. Розподіл наночастинок за гідродинамічним розміром, визначений методом лазерної фотокореляційної спектроскопії

При дослідженні сім'яників тварин контрольної групи (контроль 1) було встановлено, що діаметр звивистих

сім'яних каналців дорівнював $87,23 \pm 1,12$ мкм, а висота сперматогенного епітелію складала $36,52 \pm 0,48$ мкм. Якісно стінка каналця складалась з шару сперматогоній, 1-2 шарів сперматоцитів та 1-2 шарів круглих сперматид. Такий клітинний склад свідчить про незавершеність процесу статевого дозрівання. Площа поперечного перерізу клітин Лейдіга становила $17,38 \pm 0,37$ мкм². Морфологічно межі інтестиціальних клітин були слабо помітні, ядра помірно базофільні, містять одне ядерце та невелику кількість пристінкового гетерохроматину. Ці ознаки свідчать про помірний рівень функціональної активності ендокринної частини сім'яника [4].

Введення розчину поліфосфату натрію (контроль 2) не призвело до виникнення якісних змін, порівняно з групою контроль 1. Морфометричні показники в даній групі становили: діаметр звивистих сім'яних каналців – $86,52 \pm 0,92$ мкм, висота сперматогенного епітелію – $35,93 \pm 0,41$ мкм, площа перерізу ядер клітин Лейдіга – $17,75 \pm 0,33$ мкм². Всі наведені параметри не відрізняються від показників групи контроль 1. Враховуючи вищезазначене, можна стверджувати, що виявлені нам біологічні ефекти зумовлені дією саме золота.

Введення розчину NaAuCl_4 протягом 10 діб призвело до достовірного зростання висоти сперматогенного епітелію ($39,15 \pm 0,57$ мкм) та діаметру звивистих каналців ($103,23 \pm 1,45$ мкм) (рис. 2). Морфологічно це проявлялось у значному збільшенні кількості клітин сперматогенного ряду: в залежності від стадії сперматогенезу в каналці можна було знайти 3-4 шари круглих сперматид, або шар видовжених сперматид. В той же час дозрілих сперматозоїдів не було виявлено у жодному з каналців. Такі результати свідчать про прискорення темпів статевого дозрівання, хоча воно ще не дійшло завершення [1]. Клітини Лейдіга характеризувались великим світлим ядром, гетерохроматину майже не було помітно, площа поперечного перерізу ядра становила $19,26 \pm 0,48$ мкм², що достовірно відрізняється від відповідного показника групи контроль 2. Подібні результати були отримані у дослідях Biswas і співавт. [2] – автори пов'язують стимулюючий ефект солей золота з активацією тестикулярних гідроксистероїд-дегідрогеназ, хоча точний механізм цього явища залишається невідомим.

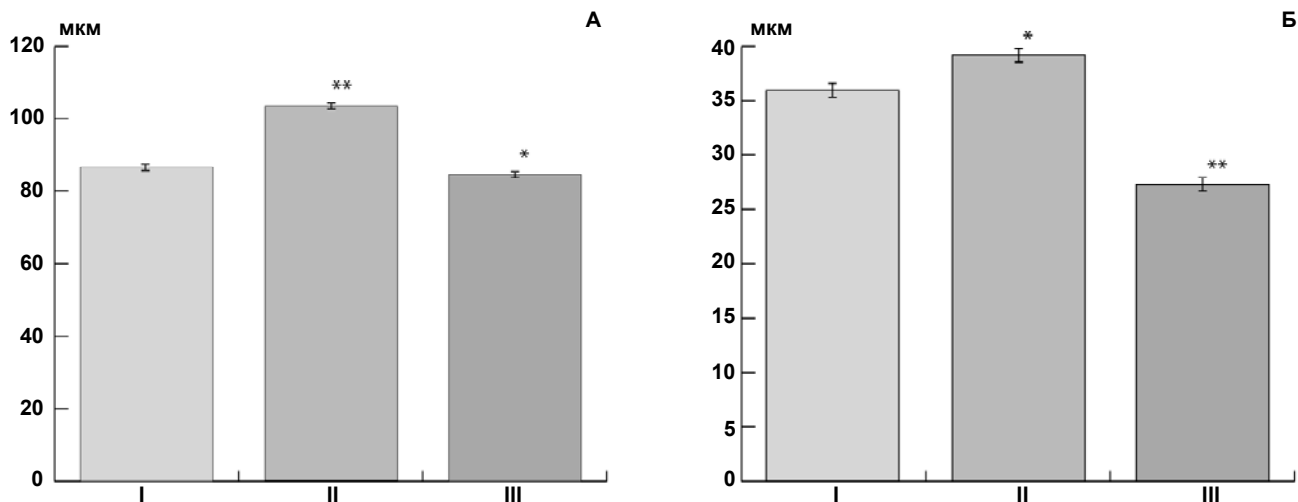


Рис 2. Діаметр звивистих сім'яних канальців (А) та висота сперматогенного епітелію (Б) статевонезрілих щурів, яким вводили сіль та наночастинки золота:

I – контроль 2, II – введення солі золота, III – введення наночастинок золота (n=8)

* – відмінності від контрольної групи достовірні при $P \leq 0,05$; ** – відмінності від контрольної групи достовірні при $P \leq 0,01$.

При аналізі сім'яних залоз тварин, яким вводили розчин наночастинок золота, було встановлено, що діаметр звивистих сім'яних канальців становив $84,55 \pm 0,99$ мкм, а висота сперматогенного епітелію – $27,30 \pm 0,39$ мкм. Обидва показники є достовірно нижчими за відповідні показники тварин контрольних груп. Не зважаючи на те, що наночастинки золота можуть пошкоджувати гематотестікулярний бар'єр з наступними патологічними змінами органу, при морфологічному аналізі стінки звивистих

канальців не було виявлено яких-небудь патологічних змін, які вказували б на структурні пошкодження [8]. Серед сперматогенних клітин часто були відсутні сперматиди, сперматозоїдів виявлено також не було. Ядра клітин Лейдіга виглядали конденсованими, зафарбовувались базофільно. Площа їхнього поперечного перерізу склала $15,78 \pm 0,38$ мкм², що достовірно менше відповідного параметру контрольних груп (рис. 3).

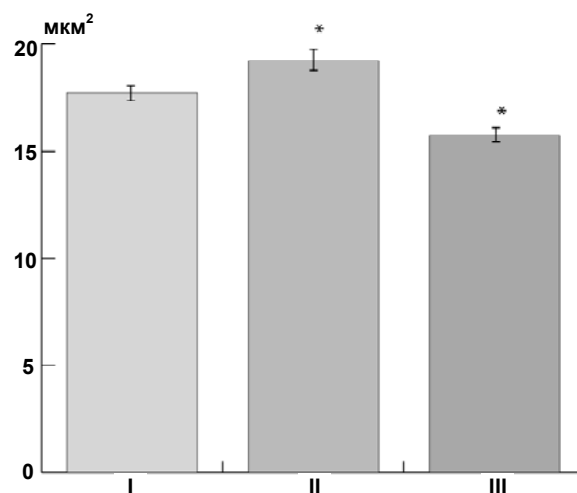


Рис 3. Площа поперечного перерізу ядер клітин Лейдіга статевонезрілих щурів, яким вводили сіль та наночастинки золота:

1 – введення розчину контроль 2, 2 – введення солі золота, 3 – введення наночастинок золота (n=8)

* – відмінності від контрольної групи достовірні при $P \leq 0,05$.

Вищенаведені ознаки свідчать про сповільнення сперматогенезу та зниження функціональної активності сім'яних залоз. В дослідях на дорослих мишах Li та співав. показали, що введення наночастинок золота, модифікованих поліетилєнглїколем призвело до порушення в роботі ендокринної частини сім'яника без впливу на сперматогенез [7]. Автори пов'язують такий ефект із порушенням роботи органа внаслідок безпосереднього накопичення наночастинок в клітинах Сертолі та інтерстиціальних клітинах.

Отже, введення солі золота протягом 10 діб призвело до зростання функціональної активності сім'яників, а введення колоїдного розчину – до зменшення.

Висновки. Отримані нами результати свідчать, що, не зважаючи на стимулюючий вплив золота у формі йонів, наночастинки золота є токсичними для репродуктивної системи статевонезрілих щурів. Враховуючи здатність даних наночастинок накопичуватись в сім'яних залозах, слід уважніше підходити до використання колоїдних розчинів золота у клінічній практиці.

Список використаної літератури

1. Матвієнко М.Г. Тестикулярна активність молодих, зрілих і старих щурів після введення празозину та мезатону при блокаді й активації кісспептинергічної системи / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, М.Е. Держинський // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2012. – Т.114, Вип 6. – С. 66–78.
2. Морфологічні зміни в тестикулах щурів 24-місячного віку під впливом кісспептина на фоні блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніну / М. Матвієнко, А. Пустовалов, Н. Бузинська [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. – 2012. – Т.95, № 2. – С. 170-173.
3. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats / S. Balasubramanian, J. Jittiwat, J. Manikandan [et al.] // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31, No 8. – P. 2034-2042.
4. Biswas N. Effects of gold on testicular steroidogenic and gametogenic functions in immature male albino rats / N. Biswas, A. Chattopadhyay, M. Sarkar // Life Sci. – 2004. – Vol.76. – P. 629-36.
5. Engineering of hetero-functional gold nanorods for the in vivo molecular targeting of breast cancer cells / M. Eghtedari, A. Liopo, J. Copland [et al.] // Nano Lett. – 2009. – Vol. 9, No 1. – P. 287-91.
6. Gold Nanoparticle-Mediated Detection of Circulating Cancer Cells / K. Bhattacharyya, B. Goldschmidt, M. Hannink [et al.] // Clin Lab Med. – 2012. – Vol.32, No 1. – P. 89-101.
7. Gold nanoparticles elevate plasma testosterone levels in male mice without affecting fertility / W. Li, F. Wang, Z. Liu [et al.] // Small. – 2013. – Vol. 27, No 9(9-10). – P. 1708-1714.
8. Lan Z. Nanoparticles and spermatogenesis: how do nanoparticles affect spermatogenesis and penetrate the blood-testis barrier / Z. Lan, W. Yang // Nanomedicine-UK. – 2012. – Vol. 7, No 4. – P. 579-96.
9. Pekkanen A. Nanoparticle enhanced optical imaging and phototherapy of cancer / A. Pekkanen, M. DeWitt, M. Rylander // Biomed Nanotechnol. – 2014. – Vol. 10, No 9. – P. 1677-1712.
10. Pizent A. Reproductive toxicity of metals in men / A. Pizent, B. Tariba, T. Živković // Arh Hig Rada Toksikol. – 2012. Vol.63. – P. 35-46.
11. Ray P. Nanogold-based sensing of environmental toxins: excitement and challenges / P. Ray, Yu. H. P. Fu // J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. – 2011. – Vol. 29, No 1. – P. 52-89. doi: 10.1080/10590501.2011.551315.
12. Subcellular localization of gold in suprarenal testicle and thyroid glands after injection of alloxysine in rats / L. Manoubi, M. Jaafoura, A. Skhiri-Zhioura // Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). – 1994. – Vol.40, No 4. – P. 483-487.
13. Surface-engineered gold nanorods: promising DNA vaccine adjuvant for HIV-1 treatment / L. Xu, Y. Liu, Z. Chen [et al.] // Nano Lett. – 2012. – Vol. 12, No 4. – P. 2003-2012. doi: 10.1021/nl300027p.
14. The biological activity of auranofin: implications for novel treatment of diseases / J. Madeira, D. Gibson, W. Kean [et al.] // Inflammopharmacology. – 2012. – Vol.20, No 6. – P. 297-306.

References

1. Balasubramanian S, Jittiwat J, Manikandan J, Ong C-N, Yu L, Ong W-Y. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats. Biomaterials 2010;31:2034–42.
2. Bhattacharyya K, Goldschmidt B, Hannink M, Alexander S, Jurkevich A, Viator J. Gold Nanoparticle-Mediated Detection of Circulating Cancer Cells. Clin Lab Med 2012;32:89–101.
3. Biswas NM, Chattopadhyay A, Sarkar M. Effects of gold on testicular steroidogenic and gametogenic functions in immature male albino rats. Life Sci 2004;76:629–36.
4. Matvienko MG, Pustovalov AS, Buzynska NO, Dzerzhinsky ME. Morphofunctional changes in 24-month rat testes under kisspeptin influence against blockade and activation of alpha-adrenergic receptors and melatonin administration. BMIR, 2012;95(2):170-3. Ukrainian.
5. Eghtedari M, Liopo AV, Copland JA, Oraevsky AA, Motamedi M. Engineering of hetero-functional gold nanorods for the in vivo molecular targeting of breast cancer cells. Nano Lett. 2009 Jan;9(1):287-91.
6. Lan Z, Yang W-X. Nanoparticles and spermatogenesis: how do nanoparticles affect spermatogenesis and penetrate the blood–testis barrier. Nanomedicine-Uk 2012;7:579–96.
7. Li W, Wang F, Liu Z, Wang Y, Wang J, Sun F. Gold Nanoparticles Elevate Plasma Testosterone Levels in Male Mice without Affecting Fertility. Small 2013;9:1708–14.
8. Madeira JM, Gibson DL, Kean WF, Klegeris A. The biological activity of auranofin: implications for novel treatment of diseases. Inflammopharmacology. 2012 Dec;20(6):297-306.
9. Manoubi L, Jaafoura MH, Skhiri-Zhioura A, el Hili A, Berry JP, Galle P. Subcellular localization of gold in suprarenal testicle and thyroid glands after injection of alloxysine in rats. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 1994 Jun;40(4):483-7.
10. Matvienko MG, Pustovalov AS, Dzerzhinsky ME. Testicular activity of young, mature and old rats after administration of prazosin and meztaton during blockade and activation of kisspeptinergic system. Problems of ecological and medical genetics and clinical immunology. 2012; 6(114): 66–78. Ukrainian.
11. Pekkanen AM, DeWitt MR, Rylander MN. Nanoparticle enhanced optical imaging and phototherapy of cancer. J Biomed Nanotechnol. 2014 Sep;10(9):1677-712.
12. Pizent A, Tariba B, Živković T. Reproductive Toxicity of Metals in Men. Archives Industrial Hyg Toxicol 2012;63:35–46.
13. Ray PC, Yu H, Fu PP. Nanogold-based sensing of environmental toxins: excitement and challenges. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2011;29(1):52-89. doi: 10.1080/10590501.2011.551315.
14. Xu L, Liu Y, Chen Z, Li W, Liu Y, Wang L, et al. Surface-engineered gold nanorods: promising DNA vaccine adjuvant for HIV-1 treatment. Nano Lett. 2012 Apr 11;12(4):2003-12. doi: 10.1021/nl300027p.

Надійшла до редколегії 29.02.16

В. Калиновский, асп., А. Пустовалов, канд. биол. наук, М. Держинский, д-р биол. наук
 Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
 Г. Гродзюк, канд. хим. наук, Н. Андришина, канд. хим. наук
 ООО "Наномедтех", Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕМЕННИКОВ НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

Исследовали влияние золота в форме коллоида и соли на функционирование семенников половозрелых крыс. Установлено, что ионы золота стимулируют пролиферативные процессы в сперматогенном эпителии, а также повышают функциональную активность интерстициальных клеток. Наночастицы золота, напротив, подавляли эндокринную функцию семенника, а также тормозили половое созревание. Таким образом, не смотря на стимулирующий характер соли золота, при переходе к наноразмерному классу этот металл приобретает токсические свойства.

Ключевые слова: Наночастицы, золото, семенник.

V. Kalynovskyi, PhD stud., A. Pustovalov, PhD, M. Dzerzhynsky, DSc
 Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
 G. Grodzjuk, PhD, N. Andriushina, PhD
 Nanomedtech-LLC, Kyiv, Ukraine

TESTICULAR MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF IMMATURE RATS UNDER THE EFFECT OF GOLD NANOPARTICLES AND IONS

Effect of ionic and colloidal gold on the testicular function of immature rats was investigated. It was shown that gold ions promote proliferative processes in the spermatogenic epithelium, and also increase interstitial cells' functional activity. At the same time, gold nanoparticles downregulated testicular endocrine function and slowed down puberty. To sum up, despite of the stimulatory nature of gold, transforming to nanoscale is accompanied by the obtaining of toxic properties.

Key words: Nanoparticles, gold, testis.

УДК 591.531.22/.29+598.2

Л. Горобець, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
Національний науково-природничий музей Національної Академії наук України, Київ,
В. Яненко, канд. біол. наук
Міжнародна академія екології та медицини, Київ

ПТАХИ В ЖИВЛЕННІ ПУГАЧА (*BUBO BUBO* L.) ПЕРЕДКАВКАЗЗЯ

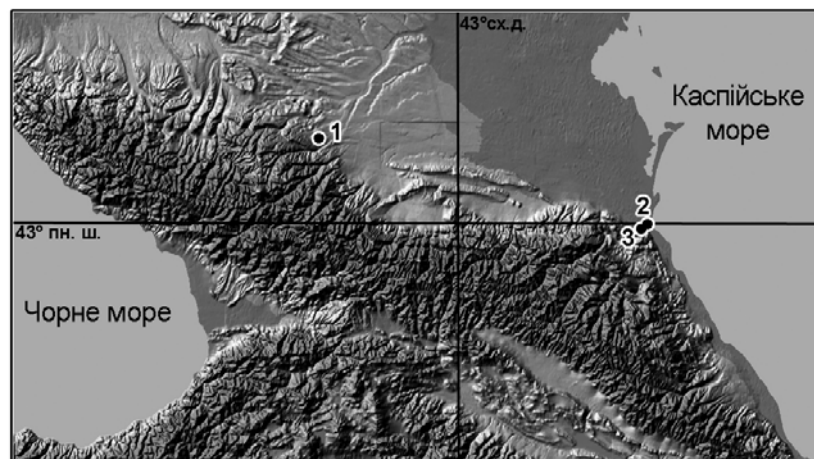
В роботі представлено результати дослідження видового складу птахів, рештки яких виявлені в пелетках пугачів Передкавказзя. Матеріали зібрані в трьох точках регіону мають низький індекс схожості, що не перевищує 0,1 (за Сьоренсенем), що вказує на високу ступінь поліфагії пугача. Серед виявлених видів наявні крупні хижі птахи (такі як яструб великий та зимняк), а також рідкісні в наші дні сова сіра та сова вухата. Частка птахів у харчуванні пугачів Передкавказзя зростає в період осінніх міграцій. Домашні птахи рідкісні серед здобичі пугача.

Ключові слова: пугач, трофіка, пелетки.

Вступ. Пугач є рідкісним осілим і кочуючим видом Передкавказзя. Протягом останніх десятиліть чисельність європейських популяцій помітно скорочується [2] і північне передгір'я Кавказу не є винятком. Зокрема, наприкінці ХХ ст. в Дагестані чисельність цього виду не перевищувала 80-90 пар [1]. Тоді як ще в 1950-х років це був досить звичайний вид [6]. Але навіть тепер, коли помітна тенденція до скорочення чисельності, відмічені випадки проникнення пугача в околиці міст, в тому числі і м. Махачкала [1]. У випадках закріплення в біогеоценозі, пугач, як вид, що займає вершину трофічних пірамід, здійснює значний вплив на екосистему. Живлення пугача в різних регіонах може суттєво відрізнятися [2] і тому дані з кожної частини ареалу доповнюють інформацію про біологію виду. В науковій літературі представлені дані про живлення отримані в різних регіонах, але Кавказ описаний лише на прикладі Вірменії [8] та околиць г. Джульфа (Азербайджан) [5], для Передкавказзя це питання не висвітлене. До того ж в обох згаданих роботах основну увагу приділено питанню "шкоди чи

користі" пугача, що не відповідає сучасним уявленням про роль хижаків. В даній роботі представлено аналіз видового складу птахів, рештки яких виявлено в пелетках (погачках) пугача. Матеріал було зібрано в серпні 1952 р., радянським зоологом і палеонтологом Н.К. Верещагіним в серпні 1952 р., тобто в часи, коли пугач ще був звичайним видом в регіоні. Матеріал залишався не обробленим до недавнього часу. Сьогодні збори подібного матеріалу ускладнені низькою чисельністю пугача та напруженою ситуацією в регіоні, що підвищує цінність зборів Н.К. Верещагіна.

Матеріали та методи. Матеріал дослідження: рештки птахів в пелетках пугача, зібрані в трьох місцях Передкавказзя: розщелині Баксан (Кабардино-Балкарська Республіка), урвищі Тарні (околиці м. Махачкала, Республіка Дагестан) та поблизу селища Капчугай (на сьогодні не існує, територія Республіки Дагестан) (рис. 1). Матеріал зберігається в палеонтологічному відділі Національного науково-природничого музею НАН України (м. Київ) (далі: ННПМ).



Визначення проводили за допомогою порівняльної остеологічної колекції птахів ННПМ. Всі проміри проведено за [9], проміри вказані в мм, всі дані промірів є авторськими матеріалами.

В урочищі Тарні виявлено рештки дрібної качки, які належали або чирянці великій (*Anas querquedula*) або малій чирянці (*Anas crecca*). Оскільки розрізнити ці два види за характерними ознаками не можливо, проводили визначення за розмірами. Плечова кістка із пелеток пугача завдовжки 58,5 мм (в *Anas querquedula*: 59,8-66,9 мм, n=9; в *Anas crecca*: 58,5-

59,9 мм, n=2), променева кістка 46,7 мм (в *Anas querquedula*: 51,6-54,3 мм, n=5; в *Anas crecca*: 46,5-51,4 мм, n=3), медіальна довжина коракоїду 33,5 мм (в *Anas querquedula*: 34,4-38,4 мм, n=8; в *Anas crecca*: 33,0-34,8 мм, n=2). Оскільки є незначне перекриття в розмірах двох видів, визначенню сприяє те, що наявна не одна, а три кістки. Всі вони знаходяться в діапазоні *Anas crecca* і трохи менше *Anas querquedula*.

Видовий склад птахів із пелеток пугача представлений в табл. 1, табл. 2 та табл. 3.

Таблиця 1. Рештки птахів із пелеток пугача в розщелині Баксан (Кабардино-Балкарська Республіка)

Вид	Кістка									мінімальна кількість особин	Загалом
	нижня щелепа	вилочка	коракоїд	плечова кістка	ліктьова кістка	карпометакарпальна кістка	стегнова кістка	тібіотарзальна кістка	тарзометатарзальна кістка		
<i>Anas platyrhynchos</i>	1	1	1	-	-	-	-	-	1	1	4
<i>Anas strepera</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>Coturnix coturnix</i>	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	3
<i>Buteo lagopus</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1
<i>Crex crex</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1
<i>Scolopax rusticola</i>	-	-	-	-	2	3	1	1	2	3	9
Charadriidae	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Corvus corax</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>Alauda arvensis</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1
<i>Melanocorypha calandra</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
<i>Turdus sp.</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Загалом	1	1	5	1	2	3	3	4	5	11	24

Таблиця 2. Рештки птахів із пелеток пугача в урвищі Тарні (околиці м. Махачкала, Республіка Дагестан)

Вид	Кістка											мінімальна кількість особин	Загалом
	нижня щелепа	вилочка	лопатка	коракоїд	плечова кістка	ліктьова кістка	променева кістка	карпометакарпальна кістка	стегнова кістка	тібіотарзальна кістка	тарзометатарзальна кістка		
Anas crecca	-	-	1	1	1	-	1	-	-	1	1	1	6
Aythya marila	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1
Aythya ferina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Clangula hyemalis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Perdix perdix	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	2	3
Coturnix coturnix	-	-	-	-	2	2	-	-	3	-	1	3	8
Gallus domestica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	2
Ixobrychus minutus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Falco tinunculus	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3	3
Falco vespertinus	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	3
Gallinula chloropus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
Fulica atra	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	2	1
cf. Numenius phaeopus	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1
Columba palumbus	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	1
Streptopelia turtur	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	4	4
Coracias garrullus	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Caprimulgus europaeus	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1
Strix aluco	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1
Asio otus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	2
Corvus monedula	2	-	-	-	8	1	1	1	2	1	2	7	15
Corvus frugilegus	-	1	-	-	-	-	1	1	4	2	6	5	15
Garrullus glandarius	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	2	3
Pastor roseus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
Alaudidae	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	2
Turdus sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
Passeres	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3
Aves	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	3
Загалом	3	1	2	4	21	13	4	3	13	7	21	43	86

Таблиця 3. Рештки птахів із пелеток пугача із околиць с. Капчугай (Республіка Дагестан)

Вид	Кістка											мінімальна кількість особин	Загалом
	нижня щелепа	грудина	лопатка	коракоїд	плечова кістка	ліктьова кістка	променева кістка	карпометакарпальна кістка	стегнова кістка	тібіотарзальна кістка	тарзометатарзальна кістка		
<i>Anas platyrhynchos</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
<i>Perdix perdix</i>	1	1	1	2	2	2	1	4	-	-	2	4	18
<i>Alectoris graecca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	2
<i>Crex crex</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1
<i>Accipiter gentilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	2
<i>Columba livia</i>	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	2	3
<i>Oriolus oriolus</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>Parus major</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>Petronia nivalis</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Загалом	2	1	1	2	4	4	1	6	2	1	4	13	30

Результати та їх обговорення

Видовий склад решток птахів, виявлений в пелетках пугача із трьох точок Передкавказзя суттєво відрізняється (Таблиця 4). При порівнянні видів у місцях Баксан-Капчугай індекс схожості Сьоренсена становить 0,1; Тарні-Баксан ще менше: 0,06; для Тарні-Капчугай індекс схожості рівний нулю. Це вказує на високу ступінь поліфагії пугача, який не має певних вподобань, а полює на будь-яку здобич, яку спроможний вбити. Відмітимо, що серед жертв пугача чимало хижих птахів, в тому числі таких сильних як яструб великий (*Accipiter gentilis*), зимняк (*Buteo lagopus*). Також виявлено рештки крука (*Corvus corax*), але молодого.

Серед решток видів, представлених в пелетках пугача із Передкавказзя переважають види, що зустрічаються в регіоні на прольоті (табл. 4). Гніздуючі або зимуючі види зустрічаються значно рідше і, зазвичай їх статус передбачає також наявність на прольоті ("гніздуючий, пролітний" або "зимуючий, пролітний"). Отже, в

досліджуваному регіоні пугач полює на птахів переважно під час їх прольоту, але якого: весняного, осіннього чи обох? Вирішенню цього питання сприяє обстеження решток на предмет збереження медулярної тканини. Відомо, що вона формується у трубчастих кістках самок в гніздовий сезон або безпосередньо перед ним, в тому числі наприкінці весняної міграції [10] і відносно добре зберігається навіть у пелетках (наші дані на основі аналізу пелеток хижих птахів із Терсько-Кумської низовини, що зберігаються в ННПМ). Серед оброблених матеріалів, в жодній кістці не виявлено медулярної тканини, отже вони належали особинам, впольованим за межами гніздового сезону та весняних міграцій: в період осінньої міграції, або зимівлі. Зимовий сезон є малоюмовірним, оскільки виявлено чимало решток видів, які не зимують в регіоні (а саме: широконоса, перепілка, бугайчик, кібчик, деркач, слуква, припутень, горлиця звичайна, сиворакша, дрімлюга, вивільга, шпак рожевий).

Таблиця 4. Об'єднаний видовий список решток птахів, виявлених в пелетках пугача та їх видовий список в Східному Передкавказзі

Вид	Видовий статус (по Джамирзоев и др., 2008; Джамирзоев и др., 2010; Плакса, 2010)			Місце знахідки		
	Наявний в гніздовий сезон	Наявний в сезон міграцій	Наявний на зимівлі	Урвище Тарні	Баксан	Капчугай
<i>Anas platyrhynchos</i>	+	+	+		x	x
<i>Anas strepera</i>	+	+			x	
<i>Anas crecca</i>		+	+	x		
<i>Aythya marila</i>		+	+	x		
<i>Aythya ferina</i>		+	+	x		
<i>Clangula hyemalis</i>		?	?	x		
<i>Alectoris graecca</i>	+	+	+			x
<i>Perdix perdix</i>	+	+	+	x		x
<i>Coturnix coturnix</i>	+	+		x	x	
<i>Ixobrychus minutus</i>	+	+		x		
<i>Accipiter gentilis</i>	?	+	+			x
<i>Buteo lagopus</i>		+	+		x	
<i>Falco tinunculus</i>	+	+	+	x		
<i>Falco vespertinus</i>	+	+		x		
<i>Crex crex</i>	?	?			x	x
<i>Gallinula chloropus</i>	+	?	+	x		
<i>Fulica atra</i>	+	+	+	x		
<i>Scolopax rusticola</i>		+			x	
<i>cf. Numenius phaeopus</i>	?	+		x		

Закінчення табл. 4

Вид	Видовий статус (по Джамирзоев и др., 2008; Джамирзоев и др., 2010; Плакса, 2010)			Місце знахідки		
	Наявний в гніздовий сезон	Наявний в сезон міграцій	Наявний на зимівлі	Урвище Тарні	Баксан	Капчугай
<i>Columba livia</i>	+	+	+			x
<i>Columba palumbus</i>	+	+		x		
<i>Streptopelia turtur</i>	+	+		x		
<i>Coracias garrullus</i>	+	+		x		
<i>Caprimulgus europaeus</i>	+	?		x		
<i>Strix aluco</i>	+	+	+	x		
<i>Asio otus</i>	?	+	+	x		
<i>Alauda arvensis</i>	+	+	+		x	
<i>Melanocorypha calandra</i>	+	+	+		x	
<i>Corvus corax</i>	+	+	+		x	
<i>Corvus monedula</i>	+	+	+	x		
<i>Corvus frugilegus</i>	+	+	+	x		
<i>Garrullus glandarius</i>	?	+	+	x		
<i>Oriolus oriolus</i>	+	+				x
<i>Pastor roseus</i>	+	+		x		
<i>Parus major</i>	+	+	+			x
<i>Turdus sp.</i>	-	-	-	x	x	
<i>Montifringilla nivalis</i>		+	+			x

Примітка: "+" – вид наявний в даний сезон; "?" – вид ймовірно наявний в даний сезон; "-" – статус неможливо визначити, оскільки рештки визначено до рівня роду; "x" – рештки виду виявлено в пелетках пугача в даному місці.

В рештках із урвища Тарні, що знаходиться в околицях м. Махачкала, виявлено дві особини сов різних видів: вухатої сови (*Asio otus*) та сови сірої (*Strix aluco*). В наші дні на території Дагестану це не численні птахи, що гніздяться далеко від людських поселень [1]. Відомо, що пугач полює в першу чергу на найбільш масову здобич [2]. Очевидно в середині ХХ ст. їх чисельність вухатої та сірої сови була значно вище, оскільки пугач добував їх в околицях міста.

Домашні птахи майже відсутні серед здобичі пугача. Лише в урочищі Тарні знайдено дві тарзометатарзальних кістки, що належали одній напівдорослій особині курки. Цей факт має значення для природоохоронної діяльності, оскільки вказує, що пугач не наносить шкоди птахівництву. Більше того, як було зазначено вище, жертвами пугача може бути яструб великий, який полює і на домашню птицю.

Висновки

За результатами дослідження решток птахів у пелетках пугачів Передкавказзя робимо наступні висновки:

1) Видовий склад птахів у раціоні пугача може суттєво відрізнятися в залежності від біотопу навіть при порівнянні живлення птахів, що проживають в одному регіоні.

2) На території Передкавказзя пугач полює на птахів переважно в період осінніх міграцій.

3) Попри те що видовий спектр здобичі пугача надзвичайно широкий, в ньому майже відсутні домашні птахи.

Список використаної літератури

1. Вилков Е.В. Сова Дагестана // Беркут. – Вып. 1. – № 16. – 2007. – С.79-86.
2. Гаврилов Э.И. и др. Птицы России и сопредельных регионов: Рябкообразные, Голубеобразные, Кукушкообразные, Сорообразные. – Москва: Наука, 1993 – 400 с.
3. Джамирзоев Г.С., Букреев С.А., Насрулаев Н.И. Птицы дельты Терека. История изучения и видовой состав // Труды государственного природного заповедника "Дагестанский". – Вып. 3. – 2008 – С.117-132.
4. Джамирзоев Г.С., Букреев С.А., Насрулаев Н.И. Птицы Ногайской степи. История изучения и видовой состав // Труды государственного природного заповедника "Дагестанский". – Вып. 2. – 2008 – С.83-93.
5. Мартиросян Б.А. Материалы по питанию и хозяйственному значению филина в окрестностях г. Джульфы Нахичеванской АССР //

Известия АН Армянской ССР. Серия: Биология. – Т.12. – №9. – 1959. – С.143-145.

6. Пишванов Ю.В. Филин // Красная книга Дагестана. – Махачкала: Дагестанское книжное издательство, 1998 – С. 159.

7. Плакса С.А. Обзор состояния популяций диких животных в региональных заказниках Дагестана // Труды государственного природного заповедника "Дагестанский". Вып. 3. – 2010. – С.133-146.

8. Соснихина Т.М. Польза и вред филина в сельском хозяйстве Армянской ССР // Известия АН Армянской ССР. Серия: Биология и сельхоз. науки. – Т. 1. – Вып. 3. – 1949. – С.272-281.

9. Driesch A. von den. A guide to the measurement of animal bones from archaeological sites // Peabody Museum Bulletin. no 1. – 1976. – P.102-137.

10. Rick A.M. Bird medullary bone: a seasonal dating technique for faunal analysts // Bulletin of Canadian Archaeological Association. – no 7. – 1975. – P.183-190.

References

1. Vilkov EV Owls of Dagestan. Berkut. 2007; 16(1): 79-86. Russian.
2. Gavrilov EI & other Birds of Russia and neighboring regions: Pterocletiformes, Columbiformes, Cuculiformes, Owls. Moscow:Nauka; 1993. Russian.
3. Dzhanmirzoev GS, Boukreev SA, Nasrullaev NI Birds Terek delta. The history of research and species composition. Proceedings of the National Nature Reserve "Dagestan". 2008; Suppl. 3; S.117-132. Russian.
4. Dzhanmirzoev GS, Boukreev SA, Nasrullaev NI Birds Nogai steppe. The history of research and species composition. Proceedings of the National Nature Reserve "Dagestan". 2008; Suppl. 2; S.83-93. Russian.
5. Martirosyan BA The materials on nutrition and economic value of Eagle-owl (*Bubo bubo* L.) in the vicinity of Julfa Nakhchivan ASSR // Proceedings of the Academy of Sciences of the Armenian SSR. Series: Biology.1959; Suppl.12.№9. S143-145. Russian.
6. Pishvanov YV Eagle-owl (*Bubo bubo* L.) The Red Book of Dagestan. Makhachkala Dagestan Publishing 1998; S.143-145. Russian.
7. Plaksa SA Review of the status of wildlife populations in the regional sanctuaries in Dagestan. Proceedings of the National Nature Reserve "Dagestan". 2010; Suppl. 3; S.133-146. Russian.
8. Sosnihina TM Benefits and harms of Eagle-owl (*Bubo bubo* L.) in agriculture Armenian SSR. Proceedings of the Academy of Sciences of the Armenian SSR. Series: Biology and farming. science.1949; Suppl.1.№3. S272-281. Russian.
9. Driesch A. von den. A guide to the measurement of animal bones from archaeological sites // Peabody Museum Bulletin. no 1. – 1976. – P.102-137.
10. Rick AM. Bird medullary bone: a seasonal dating technique for faunal analysts // Bulletin of Canadian Archaeological Association. – no 7. – 1975. – P.183-190.

Надійшла до редколегії 12.04.16

Л. Горобец, канд. биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
Национальный научно-природоведческий музей Национальной Академии наук Украины, Киев, Украина,
В. Яненко, канд. биол. наук
Международная академия экологии и медицины, Киев, Украина

ПТИЦЫ В ПИТАНИИ ФИЛИНА (*BUBO BUBO* L.) ПЕРЕДКАВКАЗЬЯ

В работе представлены результаты исследования видового состава птиц, остатки которых обнаружены в погадках филинов из Предкавказья. Материалы собранные в трёх точках региона имеют крайне низкий индекс сходства, который не превышает 0,1 (по Сёрсенсену), что указывает на высокую степень полифагии филина. Среди обнаруженных видов присутствуют крупные хищные птицы (такие как ястреб-тетеревятник и зимняк), а также редкие в наши дни серая неясыть и сова ушастая. Доля птиц в питании филинов Предкавказья увеличивается в период осенних миграций.

Ключевые слова: филин, трофика, погадки.

L. Gorobets, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
National Museum of Natural History at the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
V. Yanenko, PhD
The International Academy of Ecology and Medicine, Kyiv, Ukraine

BIRDS IN NOURISHMENT OF EAGLE-OWL (*BUBO BUBO* L.) IN CISCAUCASIA REGION

The article deals with the results of research into species composition of birds whose remains were discovered in Eagle-owl pellets in Ciscaucasia region. The materials collected in three locations of the region have very low similarity index which doesn't exceed 0,1 (Sørensen index). This fact indicates a high level of Eagle-owl polyphagia. During the research, the birds of prey (ex. Goshawk and a Rough-legged buzzard) as well as rare Tawny owl and Long-eared owl were identified. A part of birds in the nourishment of eagle-owls increases during autumnal migrations. The poultry is extremely rare found among Eagle-owl prey.

Key-words: Eagle-owl, trophism, pellet.

УДК 615.322:615.099:582.736

М. Кузнєцова, асп., Т. Галєнова, канд. біол. наук,
О. Савчук, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТА ПІДГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЕКСТРАКТУ ЛУШПИННЯ КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ ЗА УМОВ ЙОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ

Статтю присвячено вивченню гострої та підгострої токсичності сухого екстракту лушпиння квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*). Проведені дослідження по вивченню гострої токсичності екстракту показали, що він відноситься до класу малотоксичних сполук за класифікацією К.К. Сидорова (LD_{50} при внутрішньошлунковому введенні перевищує 2000 мг/кг). При дослідженні підгострої токсичності екстракту встановлено достовірне збільшення коефіцієнтів маси печінки та нирок, що може свідчити про існування побічних ефектів дії екстракту за умов його довготривалого введення.

Ключові слова: сухий екстракт, квасоля звичайна, токсичність.

Вступ. Як допоміжні засоби при лікуванні цукрового діабету (ЦД) широко використовують лікарські рослини [2]. Квасоля звичайна (*P. vulgaris*) відома у народній медицині як ефективний антидіабетичний засіб. Науковий інтерес до терапевтичного потенціалу *P. vulgaris* виправданий результатами численних досліджень, які демонструють гіпоглікемічні ефекти витяжок листя та бобів квасолі на різних тваринних моделях [7], позитивний вплив цих екстрактів на контроль апетиту та маси тіла [6]. Серед хворого на ЦД населення України популярністю користується насій лушпиння квасолі *P. vulgaris*. Зважаючи на це, в попередніх наших дослідженнях увага була сфокусована на вивченні антидіабетичних ефектів саме цієї фітосировини – сухого екстракту лушпиння *P. vulgaris* (200 мг/кг/доба) за умов його 28-денного введення щурам за моделлю ЦД, індукованою стрептозотоцином [12]. Згідно якого було доведено, що екстракт лушпиння *P. vulgaris* має виражені гіпоглікемічні [10], антиоксидантні [9] та імунomodуючі [8] властивості, позитивно впливає на процес клітинного метаболізму глюкози та зменшує клінічні прояви ЦД [3]. Оскільки терапія з використанням фітозасобів нерідко супроводжується супутніми, на жаль, небажаними реакціями з боку організму, питання визначення потенційного ризику при застосуванні лікарських засобів рослинного походження є першочерговим. У вітчизняній науковій літературі є відомості щодо проведення токсикологічних досліджень густого екстракту квасолі, згідно яких дана сировина належить до практично нетоксичних речовин (V клас за класифікацією К.К. Сидорова)

[4]. Однак, результати попередніх досліджень стосувалися густого екстракту всієї наземної частини *P. vulgaris*, а отже вивчення токсичності сухого екстракту лушпиння *P. vulgaris* залишається актуальним.

Метою даної роботи було визначення гострої та підгострої токсичності екстракту лушпиння квасолі звичайної (*P. vulgaris*) за умов його внутрішньошлункового введення.

Матеріали та методи. Водний екстракт лушпиння квасолі звичайної готували наступним чином [11]. Подрібнені сухі стручки (оплодні) квасолі масою 132 г заливали 1 л окропу. Суміш поміщали на киплячу водяну баню на 20 хв, після чого відвар настоювали при кімнатній температурі 25°C. Екстракт фільтрували та центрифугували при 1000 g протягом 10 хв. Отриманий супернатант ліофільно висушували за допомогою апарату LyoQuest (Telstar, Іспанія) до одержання сухого залишку екстракту, який зберігали при -20°C. У експериментах використовували свіжоприготовлений водний розчин сухого екстракту.

Дослідження було проведено на білих безпородних щурах-самцях масою 220-250 г. При роботі з лабораторними тваринами дотримувалися загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах згідно з "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і погодженими з положеннями "Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, Франція, 1985) та Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження"

від 26.02.2006 р. Тварин утримували за стандартних санітарних умов віварію: при температурі 19-24°C, вологості не більше 50%, природному світловому режимі "день-ніч" у пластикових клітках, на збалансованому харчовому раціоні. Перед проведенням експерименту тварини пройшли акліматизацію в умовах кімнати для проведення досліджень протягом 7 діб.

Гостру та підгостру токсичність сухого екстракту лушпиння *P. vulgaris* вивчали за умов його внутрішньо-шлункового введення, що передбачається для застосування в клінічній практиці [5].

Вивчення гострої токсичності сухого екстракту лушпиння *P. vulgaris* проведено на 72 щурах. У даному експерименті досліджували три дози (відповідно було сформовано три дослідні групи по 18 тварин у кожній): 200 мг/кг – доза, ефективність якої перевірена і доведена попередніми дослідженнями, 1000 мг/кг та 2000 мг/кг – дози, які відповідно у 5 та 10 раз перевищують ефективну. Щури контрольної групи (n = 18) замість екстракту отримували воду. За 24 год до введення екстракту щурів позбавляли їжі. Сухий екстракт лушпиння *P. vulgaris* вводили у вигляді водного розчину, однократно, внутрішньошлунково натще, після чого тварин утримували ще 4 год без їжі з вільним доступом до води.

Згідно з методичними рекомендаціями [5, 1], постійне спостереження за тваринами здійснювали протягом перших чотирьох годин після введення екстракту/води; впродовж наступної доби здійснювали погодинну перевірку стану тварин; спостереження за тваринами продовжували протягом 14 днів. У ході дослідження оцінювали загальний стан щурів, поведінку, виживаність, динаміку споживання щурами води та корму.

Для визначення сироваткових біохімічних маркерів гострої токсичності та більш віддалених ефектів токсичного ураження, від кожної з груп щурів, що отримували відповідну дозу екстракту, рандомізовано відбирали і умутили по 6 тварин через 4 години, 1 добу та 14 діб після введення екстракту. Також проводили макроскопічну оцінку стану внутрішніх органів дослідних щурів, вилучали печінку та нирки з метою їх зважування та визначення вагових коефіцієнтів.

Вивчення підгострої токсичності екстракту лушпиння *P. vulgaris* проводили за умов його щоденного внутрішньошлункового введення щурам (n = 6) у дозі 200 мг/кг/доба протягом 28 діб. Вибір даної дози та часового інтервалу обґрунтований позитивними результатами наших попередніх досліджень щодо антидіабетичних ефектів екстракту за умов його щоденного введення щурам за моделлю ЦД у дозі 200 мг/кг протягом 28 діб. Контрольні тварини (n = 6) щодня внутрішньошлунково отримували воду в об'ємі 10 мл/кг. Протягом експерименту здійснювали постійне спостереження за клінічним станом та поведінкою дослідних тварин. По закінченні експерименту тварин декапітували, проводили макроскопічну оцінку стану внутрішніх органів, визначали вагові коефіцієнти печінки та нирок.

Основні біохімічні показники сироватки крові визначали із застосуванням біохімічного аналізатора Microlab 300 (ELITechGroup, Франція), використовуючи відповідні стандартні набори (Human GmbH, Німеччина). Вагові коефіцієнти печінки та нирок (пари) визначали як співвідношення маси відповідного органу до загальної маси тіла тварини. Результати представлені у перерахунку на 100 г маси тіла тварини.

Результати та обговорення. Вивчення гострої токсичності є обов'язковим етапом дослідження нових лікарських засобів, оскільки дозволяє оцінити небезпечність речовин для здоров'я за умов короткотривалої дії та визначити клас токсичності й широту терапевтичної дії.

При вивченні гострої токсичності показано, що після однократного введення водного розчину сухого екстракту лушпиння *P. vulgaris*, навіть за умов його максимальної досліджуваної дози (2000 мг/кг), у щурів не спостерігали ознак інтоксикації, як в день введення екстракту, так і протягом наступних 14 діб. Тварини, які отримували різні дози екстракту, не відрізнялися за своєю поведінкою та зовнішнім виглядом від щурів, які замість екстракту отримували воду. Щури були активними, реагували на світлові подразники, порушення дихання та судом не спостерігали, стан шерстяного покриву залишався без змін. У всіх експериментальних групах тварин, які отримували різні дози екстракту, не спостерігалось змін приросту маси тіла, а також різниці у споживанні корму та води (дані не представлені). Не було відмічено також летальних випадків у ході проведеного експерименту. Визначення ЛД₅₀ для щурів не видається можливим. Відповідно до методичних рекомендацій [5] максимальна доза речовин IV класу токсичності – 5000 мг/кг, однак введення такої кількості рослинної сировини було лімітовано складністю введення надто насиченого розчину екстракту а також максимально допустимим об'ємом розчину для перорального введення щурам (2 мл). Свій вибір максимальної досліджуваної дози (2000 мг/кг) ми аргументували методичними рекомендаціями щодо проведення доклінічних досліджень, згідно яких за відсутності кінцевих точок фармакодинаміки достатньою є доза, яка в 10 разів перевищує ефективну дозу [1].

Зважаючи на те, що наслідком дії екзогенних сполук та препаратів частіше всього є зміна метаболічного навантаження таких органів як печінка та нирки, як один з критеріїв оцінки токсичної дії екстракту лушпиння *P. vulgaris* ми ретельно вивчили стан саме цих внутрішніх органів: зовнішній вигляд, масу, сироваткові біохімічні маркери, що відображають їх функціонування. При патолого-анатомічному розтині дослідних тварин встановлено, що за розміром, кольором та консистенцією дані внутрішні органи не відрізнялися від органів контрольних щурів. Показано, що вагові коефіцієнти як печінки, так і нирок у щурів, які однократно отримували різні дози екстракту, не відрізнялися від вагових коефіцієнтів органів тварин контрольної групи на всіх термінах експерименту (табл. 1).

Таблиця 1. Відносна маса печінки та нирок (г/100 г маси тіла) щурів за умов однократного введення екстракту лушпиння *P. vulgaris* при дослідженні гострої токсичності; M±m, n=6

Група тварин	печінка			нирки		
	4 години	1 доба	14 доба	4 години	1 доба	14 доба
контроль	3,04 ± 0,60	3,32 ± 0,33	4,05 ± 0,26	0,56 ± 0,08	0,59 ± 0,07	0,59 ± 0,04
200 мг/кг	3,64 ± 0,62	3,42 ± 0,15	3,45 ± 0,36	0,63 ± 0,05	0,60 ± 0,07	0,61 ± 0,06
1000 мг/кг	3,07 ± 0,23	3,45 ± 0,42	4,40 ± 0,30	0,62 ± 0,03	0,58 ± 0,05	0,63 ± 0,04
2000 мг/кг	3,09 ± 0,15	3,36 ± 0,27	3,44 ± 0,34	0,57 ± 0,05	0,60 ± 0,06	0,61 ± 0,05

* – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів

У клініці найбільш інформативним тестом щодо виявлення токсичних ефектів екзогенних препаратів, у тому числі рослинного походження, є визначення сироваткових маркерів [6]. Нами було досліджено ключові біохімічні показники сироватки крові щурів, які отримували

різні дози екстракту, на різних термінах експерименту. Встановлені результати вказують на відсутність гепато- та нефротоксичних ефектів екстракту лушпиння *P. vulgaris* у досліджуваних дозах за умов його однократного введення (табл. 2).

Таблиця 2. Біохімічні показники сироватки крові щурів за умов однократного введення екстракту лушпиння *P. vulgaris* при дослідженні гострої токсичності; $M \pm m$, n=6

Час	4 години				1 доба				14 діб			
Група	Контроль	200 мг/кг	1000 мг/кг	2000 мг/кг	Контроль	200 мг/кг	1000 мг/кг	2000 мг/кг	Контроль	200 мг/кг	1000 мг/кг	2000 мг/кг
Заг. білок (мг/л)	68,8±7,4	74,0±4,5	65,2±4,1	66,4±4,0	83,6±8,2	77,7±0,5	78,3±2,4	74,4±4,3	70,0±8,2	58,2±4,3	64,4±2,8	68,0±1,5
Альбумін (мг/л)	35,4±3,4	37,7±3,4	33,7±2,0	35,8±1,1	41,7±3,4	40,1±1,1	40,2±1,1	38,1±1,0	37,8±3,4	25,0±0,8	31,2±4,6	32,6±1,9
Заг. білірубін (мкмоль/л)	2,3±0,7	2,0±0,4	1,5±0,4	1,7±0,5	1,9±0,7	2,5±0,7	2,6±0,2	1,5±0,3	1,0±0,7	1,7±0,3	2,2±0,7	1,6±0,3
Пр. білірубін (мкмоль/л)	0,6±0,1	0,9±0,2	0,7±0,2	0,9±0,1	0,7±0,1	1,1±0,4	1,0±0,1	0,7±0,2	0,6±0,1	0,8±0,2	0,9±0,2	0,8±0,1
АЛТ (од/л)	74,5±3,3	81,2±5,3	63,9±6,8	60,1±7,6	71,1±3,1	98,8±18,0	74,2±1,9	58,0±13,0	68,1±3,1	85,3±17,1	91,9±7,8	73,7±4,1
АСТ (од/л)	246,7±34,1	228,0±36,7	208,2±33,9	191,2±21,4	179,4±45,1	215,0±16,6	180,3±21,5	173,9±10,9	195,7±45,1	244,1±51,1	250,4±43,2	235,5±25,5
ГГТ (од/л)	3,9±3,0	3,0±0,6	2,3±1,2	2,4±0,7	2,4±1,0	4,7±0,3*	2,5±0,3	2,9±1,2	4,2±1,0	4,0±0,9	3,3±0,5	1,8±0,2
ЛФ (од/л)	365,7±61,5	522,0±45,5	634,1±48,6	398,7±66,8	440,3±58,5	736,8±71,5	384,5±42,4	450,3±38,5	429,0±58,5	770,3±112,7	881,2±96,7	672,6±47,6
Амілаза (од/л)	796,7±66,3	717,2±98,7	701,3±71,2	681,3±15,1	679,1±29,4	667,5±47,7	688,4±14,0	621,6±30,0	796,7±56,3	704,8±18,8	767,8±78,7	587,0±10,6
Глюкоза (ммоль/л)	6,9±0,6	6,7±0,3	5,6±0,4	6,0±0,3	6,5±0,6	6,9±0,6	6,8±0,1	6,3±0,3	5,89±0,6	4,9±0,1	4,8±1,3	6,3±0,1
Сечовина (ммоль/л)	6,4±1,5	4,7±0,3	4,4±0,3	4,3±0,6	6,4±1,5	4,6±0,4	4,0±0,3	5,2±0,8	6,4±1,5	4,9±0,4	5,9±0,8	4,2±0,2
Креатинін (мкмоль/л)	56,8±5,3	62,3±7,3	56,4±4,7	53,8±5,2	56,8±5,3	54,3±4,2	52,3±1,2	54,3±3,0	56,8±5,3	55,5±2,8	57,1±4,1	57,6±1,8
Заг. холестерин (ммоль/л)	1,8±0,2	1,8±0,1	1,6±0,1	1,6±0,4	1,8±0,2	1,8±0,0	1,7±0,5	1,8±0,3	1,8±0,2	1,6±0,1	2,1±0,1	1,6±0,2
K ⁺ (ммоль/л)	6,8±0,5	7,0±0,2	6,9±0,1	6,6±0,9	6,8±0,5	6,3±0,4	6,0±0,2	6,4±0,3	6,8±0,5	6,5±0,4	6,2±0,6	6,1±0,3
Na ⁺ (ммоль/л)	143,3±1,5	147,0±2,0	144,7±0,6	140,3±3,5	143,3±1,5	142,3±1,5	145,0±1,0	143,7±1,5	143,3±1,5	142,0±2,0	142,3±1,5	145,0±1,7
Ca ²⁺ (ммоль/л)	0,8±0,08	1,1±0,1	1,1±0,1	0,8±0,1	0,8±0,05	0,9±0,07	0,9±0,06	0,8±0,1	0,8±0,04	0,8±0,1	0,9±0,1	0,9±0,05
Cl ⁻ (ммоль/л)	106,3±1,5	106,7±0,6	107,0±1,7	104,7±3,5	106,3±1,5	105,7±0,6	105,3±1,5	104,7±1,2	106,31,5	104,3±1,5	104,3±1,2	105,0±1,0

* – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів, які отримували воду

Отримані результати переконали нас у відсутності токсичних ефектів сухого екстракту лушпиння *P. vulgaris* навіть при найвищій досліджуваній дозі 2000 мг/кг, яка була більшою за терапевтичну дозу у 10 разів. Таким чином, можна зробити висновок про його належність до IV класу токсичності (малотоксичних речовин).

Оскільки для досягнення бажаного терапевтичного ефекту в клінічній практиці передбачається вживання екстракту лушпиння *P. vulgaris* протягом тривалого часу, доцільним було дослідження підгострої токсичності даного екстракту. Тривалість досліджень токсичності при повторних введеннях лабораторним тваринам для більшості лікарських засобів біотехнологічного походження, як правило, складає 1 – 3 місяці [1]. Враховуючи той факт, що період експерименту, протягом якого було доведено ефективність сухого екстракту лушпин-

ня *P. vulgaris* в дозі 200 мг/кг, складав 28 днів, визначення підгострої токсичності екстракту передбачалося у цій же дозі та часовому інтервалі.

Упродовж 28 днів, змін поведінки, клінічних проявів інтоксикації, як і випадків загибелі тварин не відмічено. При дослідженні динаміки приросту маси тіла дослідних тварин, споживання води та корму щурами впродовж 28-денного введення екстракту не встановлено статистично достовірних відмінностей цих показників між двома досліджуваними групами тварин.

У таблиці 3 представлені дані відносної маси печінки й нирок у щурів після 28-денного введення екстракту. Встановлено, що у групі щурів, які протягом 28 днів отримували екстракт, показник відносної маси печінки був вищим на 17% ($p < 0,05$), а нирок – на 25% ($p < 0,05$), порівняно з контрольною групою.

Таблиця 3. Відносна маса печінки та нирок (г/100 г маси тіла) щурів за умов 28-денного введення екстракту лушпиння *P. vulgaris* при дослідженні підгострої токсичності; $M \pm m$, $n=6$

Група тварин	печінка	нирки
Контроль	3,58 $\pm$ 0,11	0,63 $\pm$ 0,06
<i>P. vulgaris</i> (200 мг/кг)	4,21 $\pm$ 0,19	0,79 $\pm$ 0,05

* – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів

Збільшення маси печінки та нирок у дослідних щурів може свідчити про певне метаболічне навантаження на дані органи за умов довготривалого споживання екстракту лушпиння *P. vulgaris*.

Нами не було встановлено міжгрупових відмінностей досліджуваних біохімічних показників сироватки крові, за

винятком активності гамма-глутамілтрансферази (ГГТ), яка була зниженою в 1,5 рази ($p < 0,05$) у щурів, які отримували екстракт *P. vulgaris* (табл. 4).

Таблиця 4. Біохімічні показники сироватки крові щурів за умов 28-денного введення екстракту лушпиння *P. vulgaris* при дослідженні підгострої токсичності; $M \pm m$, $n=6$

Показник	Група тварин	
	Контроль	<i>P. vulgaris</i> (200 мг/кг)
Загальний білок (мг/л)	67,15 $\pm$ 3,0	69,68 $\pm$ 3,72
Альбумін (мг/л)	34,1 $\pm$ 1,87	34,85 $\pm$ 3,73
АЛТ (од/л)	56,08 $\pm$ 8,23	59,30 $\pm$ 7,88
АСТ (од/л)	182,25 $\pm$ 15,16	200,45 $\pm$ 28,04
ГГТ (од/л)	4,28 $\pm$ 0,93	2,93 $\pm$ 0,48
Креатинін (мкмоль/л)	63,05 $\pm$ 3,70	64,45 $\pm$ 3,18
Сечова кислота (ммоль/л)	111,23 $\pm$ 13,48	122,88 $\pm$ 13,73
Сечовина (ммоль/л)	7,00 $\pm$ 0,74	6,38 $\pm$ 1,20
ЛПНЩ (ммоль/л)	0,21 $\pm$ 0,03	0,22 $\pm$ 0,01
ЛПВЩ (ммоль/л)	0,68 $\pm$ 0,06	0,8 $\pm$ 0,14
Тригліцериди (ммоль/л)	0,68 $\pm$ 0,11	0,63 $\pm$ 0,1
K ⁺ (ммоль/л)	6,2 $\pm$ 0,18	6,38 $\pm$ 0,73
Na ⁺ (ммоль/л)	141,75 $\pm$ 2,06	140,50 $\pm$ 3,51
Ca ²⁺ (ммоль/л)	0,73 $\pm$ 0,16	0,81 $\pm$ 0,11
Cl ⁻ (ммоль/л)	102,50 $\pm$ 2,38	102,25 $\pm$ 2,22

* – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів

Висновки. Таким чином, при вивченні гострої токсичності екстракту лушпиння *P. vulgaris* при внутрішньошлунковому введенні щурам (в дозах – 200 мг/кг, 1000 мг/кг, 2000 мг/кг) не було встановлено ознак інтоксикації та загибелі експериментальних тварин. Екстракт лушпиння *P. vulgaris* відноситься до IV класу токсичності – малотоксичних речовин, за класифікацією К.К. Сидорова [5]. Необхідно зазначити, що при дослідженні підгострої токсичності екстракту спостерігали вірогідне збільшення вагових коефіцієнтів печінки та нирок, що може свідчити про певне метаболічне навантаження на ці органи. Для повнішої токсикологічної характеристики доцільно провести детальне вивчення більш віддалених наслідків дії водного екстракту лушпиння *P. vulgaris*

на організм. Зважаючи на антидіабетичні ефекти даного екстракту, безумовно, перспективним є визначення та виділення активних фітокомпонентів, що дозволить знизити ризик розвитку небажаних наслідків на функціонування організму в цілому.

Список використаних джерел

1. Волошина О.С. Доклінічні дослідження лікарських засобів: конспект лекцій для студ. Напрям підготовки 6.051401 "Біотехнологія" ден. та заоч. форм навч./ О.С. Волошина; НУХТ. – К., 2013.
2. Конечна Р.Т. Фітозасоби в лікуванні цукрового діабету / Р.Т. Конечна, Новіков В.П. // Вісник Національного університету "Львівська політехніка". – 2008. – № 622. – С. 64-70.
3. Кузнецова М.Ю. Вуглеводний обмін при цукровому діабеті 1-го типу у щурів за умов застосування водного екстракту лушпиння квасолі

звичайної / М.Ю. Кузнєцова, Т.І. Галєнова, О.М. Савчук [та ін.] // Фізіол. журн. – 2015. – Т. 61, № 6. – С. 96-103.

4. Рибак В.А. Експериментальне визначення токсикологічних властивостей, ульцерогенної та місцевоподразнюючої дії густого екстракту квасолі / В.А. Рибак, Л.М. Малоштан, О.В. Павиченко // Світ медицини та біології. – 2015. – Т. 3, № 51. – С. 107-111.

5. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. Рекомендації Держ. фармакол. центр. / О.В. Стефанов. – К.: Вид. дім "Авіцена", 2001.

6. Barrett M.L. A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (Phaseolus vulgaris): a review of clinical studies on weight loss and glycemic control / M.L. Barrett, J.K. Udani // Nutr J. – 2011 Mar. – Vol. 17, N 10. – P. 24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21414227>

7. Helmstädter A.J. Beans and diabetes: Phaseolus vulgaris preparations as antihyperglycemic agents / A.J. Helmstädter // J Med Food. – 2010 Apr. – Vol. 13, N 2. – P. 251-254.

8. Kyznetsova M.Y. Aqueous Extract from Phaseolus vulgaris Pods On Cytokine Profile Of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats / M.Y. Kyznetsova, D.O. Lavrovska, A.Y. Zhyvolozhnyi [et al.] // RJPBCS – 2015 Feb. – Vol. 6, N 1. – P. 511-520.

9. Kyznetsova M.Y. Aqueous Extract from Phaseolus vulgaris Pods on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes Activity in the Liver and Kidney of Diabetic Rats / M.Y. Kyznetsova, O.M. Makieieva, D.O. Lavrovska [et al.] // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2015 May. – Vol. 5, N 5. – P. 001-006.

10. Kyznetsova M.Y. Effect of Aqueous Extract from Phaseolus vulgaris Pods on blood glucose and body weight in diabetic rats / M.Y. Kyznetsova, T.I. Halenova, O.V. Dovgusha [et al.] // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. – 2014. – Vol. 11, N 18. – P. 12-23.

11. Venkateswaran S. Antioxidant effect of Phaseolus vulgaris in streptozotocin-induced diabetic rats / S. Venkateswaran, L. Pari // Asia Pac J Clin Nutr. – 2002. – Vol. 11, N 3. – P. 206-209.

12. Zafar M. Effects of STZ-Induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: a comparative study / M. Zafar // Int. J. Morphol. – 2010. – Vol. 28, N 1. – P. 135-142.

References

1. Voloshyna OS. Doklinichni doslidzhennya likars'kykh zasobiv: konspekt lektsiy dlya stud. Napryamu pidhotovky 6.051401 "Biotehnolohiya" den. ta zaoch. form navch. NUKHT. K; 2013. Ukrainian.

2. Konechna RT, Novikov VP. Fitozasoby v likuvanni tsukrovoho diabetu. Visnyk Natsional'noho universytetu "L'vivs'ka politekhnika". 2008;622:64-70. Ukrainian.

3. Kuznyetsova MYu, Halenova TI, Savchuk OM, [et al.] Vuhlevodnyy obmin pry tsukrovomu diabeti 1-ho typu u shchuriv za umov zastosuvannya vodnoho ekstraktu lushpynnya kvasoli zvychnoyi. Fiziol. zhurn. 2015;61(6):96-103. Ukrainian.

4. Rybak VA, Maloshtan LM, Pavychenko OV. Eksperymental'ne vyznachennya toksykologichnykh vlastyvostey, ul'tserohennoyi ta mistsevoopodraznyuyuchoyi diyi hustoho ekstraktu kvasoli. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2015;3(51):107-111. Ukrainian.

5. Stefanov OV. Doklinichni doslidzhennya likars'kykh zasobiv: Metod. Rekomendatsiyi Derzh. farmakol. tsentr. K.: Vyd. dim "Avitsena"; 2001. Ukrainian.

6. Barrett ML, Udani JK. A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (Phaseolus vulgaris): a review of clinical studies on weight loss and glycemic control. Nutr J. 2011 Mar;17(10):24. doi: 10.1186/1475-2891-10-24.

7. Helmstädter AJ. Beans and diabetes: Phaseolus vulgaris preparations as antihyperglycemic agents. J Med Food. 2010 Apr;13(2):251-4.

8. Kyznetsova MY, Lavrovska DO, Zhyvolozhnyi AY, Dovgusha OV, Halenova TI, Savchuk OM, Ostapchenko LI. Effect of Aqueous Extract from Phaseolus vulgaris Pods On Cytokine Profile Of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. RJPBCS 2015 Feb;6(1):1511-20.

9. Kyznetsova MY, Makieieva OM, Lavrovska DO, Tymoshenko MO, Sheverova D.P, Halenova TI, Savchuk OM, Ostapchenko LI. Effect of Aqueous Extract from Phaseolus vulgaris Pods on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes Activity in the Liver and Kidney of Diabetic Rats. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015 May;5(5):001-006. doi: 10.7324/JAPS.2015.50501

10. Kyznetsova MY, Halenova TI, Dovgusha OV, Savchuk OM Effect of Aqueous Extract from Phaseolus vulgaris Pods on blood glucose and body weight in diabetic rats. Visnyk Kyivsk'koho natsional'noho universytetu imeni Tarasa Shevchenka. Seriya: Biolohiya. 2014;11(18):12-23.

11. Venkateswaran S, Pari L. Antioxidant effect of Phaseolus vulgaris in streptozotocin-induced diabetic rats. Asia Pac J Clin Nutr. 2002;11(3):206-209.

12. Zafar M Effects of STZ-Induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: a comparative study. Int. J. Morphol. 2010;28(1):135-142.

Надійшла до редколегії 31.05.16

М. Кузнєцова, асп., Т. Галєнова, канд. биол. наук,

О. Савчук, д-р биол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ И ПОДОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКСТРАКТА СТВОРОК ФАСОЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ ПРИ УСЛОВИИ ЕГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

Статья посвящена изучению острой и подострой токсичности сухого экстракта створок фасоли обыкновенной (*P. vulgaris*). Проведенные исследования по изучению острой токсичности экстракта показали, что он относится к классу малотоксичных соединений по классификации К.К. Сидорова (LD_{50} при внутрижелудочном введении превышает 2000 мг/кг). При исследовании подострой токсичности экстракта установлено достоверное увеличение коэффициентов массы печени и почек, что может свидетельствовать о существовании побочных эффектов действия экстракта в условиях его длительного введения.

Ключевые слова: сухой экстракт, фасоль обыкновенная, токсичность.

M. Kuznetsova, PhD student, T. Halenova, PhD,

O. Savchuk, doctor of sciences

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

ACUTE AND SUB-ACUTE TOXICITY STUDIES OF AN EXTRACT FROM WHITE BEAN PODS UNDER THE CONDITION OF ITS INTRAGASTRIC ADMINISTRATION

The article is devoted to the studies of acute and sub-acute toxicity of dry extract from white bean (*P. vulgaris*) pods. The acute toxicity study of the extract was carried out according to the conventional classification of K.K. Sidorov and showed that the extract refers to low-toxic substances (LD_{50} following its intragastric administration is greater than 2000 mg/kg). The study of extract sub-acute toxicity showed the increasing of relative liver and kidney weight, which may indicate the existence of adverse effects of the extract under the conditions of its long-term administration.

Key words: dry extract, white bean, toxicity.

УДК 617.735-778.317-092.19:615.916

Н. Молчанюк, канд. биол. наук
Государственное учреждение "Институт глазных болезней и тканевой терапии
имени В.П. Филатова НАМН Украины", Одесса

ДИНАМИКА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ГЛАЗ КРЫС, ВЫЗВАННЫХ БОЛЬШОЙ ДОЗОЙ МЕТАНОЛА

Электронно-микроскопически изучались структуры хориоретинального комплекса (ХРК) глаз крыс: хориокапилляры, пигментный эпителий сетчатки (ПЭС) и фоторецепторные клетки сетчатки через 40 минут, 1 час 10 мин., 1, 3, 7 и 14 суток после однократного внутрибрюшинного введения метанола в дозе 7,0 г/кг массы тела. Показано, что первичные и значительные деструктивные изменения, среди структур ХРК, наблюдались в клетках ПЭС, которые характеризовались альтерацией митохондрий и канальцев гладкой эндоплазматической сети, сглаженностью базальных складок и очаговым разрушением апикальных микроворсинок. В динамике исследования структур ХРК деструктивные процессы в его клетках нарастали. Параллельно в этих клетках отмечались признаки компенсаторно-восстановительных процессов.

Ключевые слова: хориоретинальный комплекс, хориокапилляры, пигментный эпителий и фоторецепторные клетки сетчатки, метанол, ультраструктура.

Введение. Известно, что метанол является высокотоксичным одноатомным спиртом и представляет собой бесцветную прозрачную жидкость, по вкусу и запаху напоминающий этиловый спирт. На сегодняшний день участились случаи отравлений метанолом как в Украине, так и в других странах, что связано с распространением некачественной алкогольной продукции, добавлением его в изделия бытовой химии, к продуктах лакокрасочной промышленности, используют его также в качестве различных добавок к горючим веществам, что увеличивает вероятность случайного или хронического воздействия метанола на организм. В связи с этим возникает важность изучения механизмов его токсичности для человека, а также для других живых существ. Экскурс в литературу показал, что вопросами влияния метанола на орган зрения исследователи интересовались давно. Нами найдены работы еще 30-х годов XX века, посвященные изучению клинических случаев, вызванных острым отравлением метанолом. Клинические исследования показали, что при остром отравлении метанолом в первую очередь резко снижается острота зрения, и, зачастую, наступает слепота в случае несвоевременного оказания медицинской помощи пострадавшему. Предполагается, что метанол первично поражает зрительный нерв, сетчатку и ткани головного мозга [1]. В научной литературе представлены немногочисленные экспериментальные исследования, посвященные изучению морфологических изменений, физиологических и биохимических показателей в сетчатке и зрительном нерве животных, вызванных действием метанола [2, 3, 4, 5, 6]. Данные авторы предположили, что наблюдавшиеся изменения в зрительном нерве при остром отравлении метиловым спиртом связаны с нарушением аксоплазменной циркуляции. В последние годы появились единичные сообщения, посвященные изучению электрофизиологических показателей и ультраструктуры зрительного анализатора крыс после метанолового отравления в дозе 1,8 г/кг массы тела [2]. Авторы обнаружили выраженные дистрофически-дегенеративные изменения в структурах сетчатки, зрительного нерва и затылочной доли коры головного мозга. Предполагается, что в результате метаноловой интоксикации происходит глубокое нарушение биоэнергетических процессов в данных тканях [5, 7]. Однако выявленные исследования разрозненные и не дают четкого представления о механизмах повреждающего действия метанола на элементы зрительного анализатора. Нами ранее опубликованы работы относитель-

но влияния небольших доз метанола на ультраструктуру хориокапилляров (ХК) и сетчатки крыс [8, 9].

Целью настоящего исследования явилось выявление изменений в структурах хориоретинального комплекса (ХРК) глаз крыс в динамике наблюдения, вызванных большой дозой метанола.

Материал и методы исследования. Работа выполнена на 24 взрослых крысах линии Вистар массой 250- 300 г, подразделенных на 2 группы: I-я – опытная, в которой крысам внутрибрюшинно, однократно вводили метанол в дозе 7,0 г/кг массы тела. Для крыс ЛД 50, при внутрибрюшинном введении метанола, составляет 9,6 г/кг массы тела. II-я группа – контрольные животные, которым вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Изучались структуры ХРК глаз крыс: ХК, пигментного эпителия сетчатки (ПЭС) и фоторецепторных клеток (ФК) сетчатки через 40 минут, 1 час 10 мин., 1, 3, 7 и 14 суток после введения метанола. Эвтаназия животных осуществлялась в соответствии с положениями "Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей" (Страсбург, 1986). Обработка материала осуществлялась по общепринятой в электронной микроскопии методике и подробно описана в статье [9]. Изучались и фотографировались объекты в электронном микроскопе ПЭМ-100-01.

Результаты исследования и их обсуждение. При электронно-микроскопическом исследовании структур ХРК выявлено, что спустя 40 минут – 1 час 10 минут после введения метанола в слое ХК, в отличие от материала контрольной группы, отмечалось электронно-плотное содержимое в просвете ХК и несколько повышенное число полисом, свободных рибосом, элементов зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС) и митохондрий в цитоплазме части эндотелиальных клеток (ЭК). Другая часть ЭК ХК характеризовалась повышенной электронной плотностью цитоплазматического матрикса, содержащего набухшие митохондрии. Другие структуры в клетках были плохо различимы. Следует отметить, что в большей части митохондрий ЭК наблюдалась очаговая или полная деструкция крист.

В эти сроки слой ПЭС сохранял свою архитектуру, однако в ряде клеток наблюдалось разреженное расположение элементов гладкой эндоплазматической сети (ГЭС) и набухание внутримитохондриального матрикса части митохондрий с очаговой деструкцией крист (Рис.1).

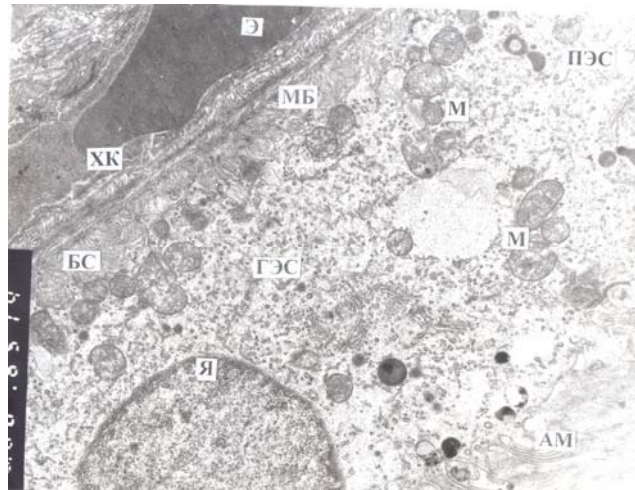


Рис. 1. Ультраструктура хориоретинального комплекса крысы через 40 минут после внутрибрюшинного введения метанола в дозе 7,0 г/кг массы тела крысы. Хориокапилляры с повышенной электронной плотностью содержимого просвета. Очаги разрушения элементов гладкой эндоплазматической сети и апикальных микроворсинок клетки пигментного эпителия

Электронная микрофотография. X 6 000.

Условные обозначения: ХК – хориокапилляр, Э – эритроцит, МБ – мембрана Бруха, ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, БС – базальные складки, М – митохондрии, Я – ядро, ГЭС – гладкая эндоплазматическая сеть, АМ – апикальные микроворсинки.

В фоторецепторном отделе сетчатки выявлялись единичные наружные сегменты (НС) с деструкцией мембранных дисков и определялась фрагментация или деструкция крист митохондрий в некоторых внутренних сегментах (ВС) ФК. Цитоплазма и ядра ФК были, практически, нормальными. В синапсах ФК отмечалась фрагментация крист митохондрий.

Спустя 1 – 3 суток после введения метанола признаки альтеративных изменений в элементах ХРК были более выраженными. В слое ХК наблюдались как ХК со структурой, описанной выше, так и ХК, ЭК которых имели просветленную цитоплазму и уменьшенное число органелл, митохондрии в них также находились в состоянии альтерации. В таких ЭК фенестры, на истонченных участках цитоплазмы, местами плохо определялись. Повышенной электронной плотностью отличалась и мембрана Бруха (МБ).

В эти сроки в слое ПЭС клетки находились в различном состоянии: часть клеток имели структуру, близкую

к нормальной, часть же их была с элементами деструкции внутриклеточных органелл, выраженных в различной степени. Преимущественно наблюдались клетки, в которых, были разрушены каналцы ГЭС, на их месте рыхло лежал хлопьевидный материал. В цитоплазме также определялось повышенное число митохондрий различных размеров, располагающихся под базальными складками, но все они имели полную или очаговую деструкцию крист и просветленный внутримитохондриальный матрикс, а крупные органеллы были с разрушенной наружной мембраной. В этих клетках сосредоточивались также единичные свободные рибосомы, полисомы и элементы ЗЭС. В их апикальной области наблюдалось много лизосом и остаточных телец, отмечалась фрагментация и очаговое разрушение апикальных микроворсинок. В базальной области этих клеток отсутствовали складки на большом их протяжении (Рис.2).

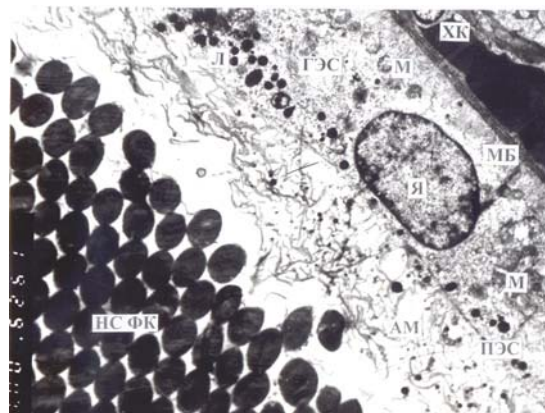


Рис. 2. Ультраструктура сетчатки крысы через 1 сутки после внутрибрюшинного введения метанола в дозе 7,0 г/кг массы тела крысы. Электронно-плотное содержимое в просвете хориокапилляров и мембраны Бруха. Сглаженность базальных складок и апикальных микроворсинок, деструкция митохондрий и элементов гладкой эндоплазматической сети

Электронная микрофотография. X 3 000. Условные обозначения: ХК – хориокапилляры, МБ – мембрана Бруха, ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, М – митохондрии, Я – ядро, ГЭС – гладкая эндоплазматическая сеть, Л – лизосомы, АМ – апикальные микроворсинки, НС ФК – наружные сегменты фоторецепторных клеток.

Под апикальными микроворсинками клеток ПЭС отмечались скопления фрагментов НС, среди них только единичные были с очаговой деструкцией мембран дисков. Часть же НС имела нормальную ультраструктуру, однако их членики были значительно удлинненными, что отражало нарушение процесса фагоцитоза апикальными микроворсинками клеток ПЭС. В ряде НС ФК отмечались щели между мембранами, что свидетельствовало об отеке и нарушении плотной упаковки мембран в диске. В слое ВС ФК отмечалось патологичес-

кое состояние некоторых митохондрий, выражающееся в гомогенизации крист или их очаговом разрушении. Структуры цитоплазмы ФК находились в различном состоянии. У части ФК цитоплазматические органеллы имели признаки гидропических изменений, другие находились в нормальном состоянии. В то же время небольшая часть ФК характеризовалась значительными деструктивными изменениями. В области ФК был выражен межклеточный отек (Рис.3).

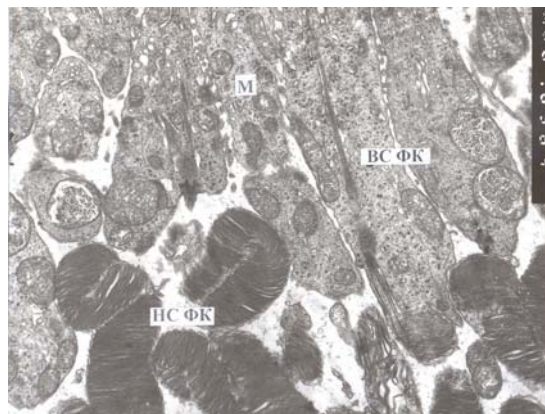


Рис. 3. Ультраструктура сетчатки через 1 суток после введения метанола в дозе 7,0 г/кг массы тела крысы. Дезорганизация и деформация дисков наружных сегментов, гомогенизация крист митохондрий и расширение цистерн зернистой эндоплазматической сети фоторецепторных клеток сетчатки

Электронная микрофотография X 6 000. Условные обозначения: ВС ФК – внутренние сегменты фоторецепторных клеток, НС ФК – наружные сегменты фоторецепторных клеток, М – митохондрия.

Синапсы ФК, в эти сроки, были с просветленной аксоплазмой, в которой располагались митохондрии с глубокой деструкцией крист. Постсинаптические окончания дендритов биполярных клеток и аксонов горизонтальных клеток у части синапсов были с признаками альтерации, в этой области определялись осmioфильные конгломераты. Признаки межклеточного отека, наблюдавшиеся в фоторецепторном слое в предыдущие сроки, сохранялись и здесь.

Спустя 7-14 суток наблюдения ЭК ХК отличались полиморфными изменениями: от клеток с признаками деструкции цитоплазматических органелл, уменьшением количества органелл, до клеток с элементами компенсаторно-восстановительных процессов в которых выявлялось увеличенное количество внутриклеточных

органелл, особенно свободных рибосом, полисом и элементов ЗЭС. Следует отметить, что во все сроки изучения материала выявлялись ХК, в которых просвет был электронно-прозрачным или заполнен хлопьевидным или зернистым материалом, т.е. не отличался от материала контрольных животных. При этом структура клеток ПЭС, располагающихся под такими ХК, была также более сохранной и МБ имела электронно-прозрачную плотность.

В слое ПЭС деструктивные изменения в клетках были более выраженными и затрагивали большее количество клеток. Параллельно в их цитоплазме выявлялось большое количество полисом и мелких цистерн ЗЭС, что отражало усиление белоксинтезирующих процессов (Рис.3).

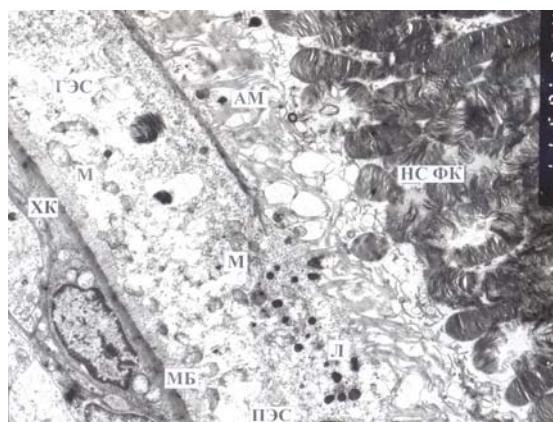


Рис. 4. Ультраструктура хориоретинального комплекса сетчатки крысы через 14 суток после внутрибрюшинного введения метанола в дозе 7,0 г/кг массы тела крысы. Крупная эндотелиальная клетка с ядром и набухшими митохондриями и увеличенным содержанием рибосом и полисом. Просвет хориокапилляра резко сужен. Деструкция мембранных структур и плазмолеммы в клетке пигментного эпителия, деформация дисков наружных сегментов и очаговая деструкция их мембран

Электронная микрофотография. X 3 000.

Условные обозначения: ХК – хориокапилляры, МБ – мембрана Бруха, ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, М – митохондрии, Я – ядро, ГЭС – гладкая эндоплазматическая сеть.

НС были деформированные, некоторые с очаговой деструкцией мембран дисков, скопились под апикальными микроворсинками клеток ПЭС. В фоторецепторном отделе выражен межклеточный отек. В этом сроке также оставались признаки отека в области отростков мюллеровских клеток и у наружной пограничной мембраны сохранялись, как и в предыдущие сроки. В НС и ВС ФК изменения также были аналогичны тем, которые описаны в предыдущие сроки, затрагивая большее количество клеток. В синапсах, по сравнению с предыдущими сроками, выражены признаки отека в сферах палочек и в терминалах нервных клеток, отмечалось также разрушение митохондрий, особенно, крупных размеров.

Анализ материала показал, что однократное внутрибрюшинное введение метанола в дозе 7,0 г/кг массы тела крысы вызывало патологические изменения в ультраструктурах ХРК, которые прогрессировали в динамике (40 мин. – 14 суток). В клетках ПЭС эти явления проявлялись в наибольшей степени, заключающиеся преимущественно, в альтерации митохондрий и канальцев ГЭС, в очаговом разрушении плазматических мембран, что приводило к нарушению энергообразования, детоксикационной и других функций этих клеток. Отсутствие в части клеток базальных складок, наблюдающееся уже через 40 мин. после введения метанола и отражающее нарушение насосной функции клеток ПЭС, приводило к дефициту необходимых веществ, поступающих из ХК в клетки ПЭС. Это вызывало нарушение метаболических процессов в клетках ПЭС. Кроме того, метанол также оказывал непосредственное повреждающее действие на плазматические мембраны, что отражалось в их рыхлости, нечеткости контуров, в разрушении, в частности, апикальных микроворсинок клеток ПЭС. Разрушение апикальных микроворсинок, а также, по-видимому, и рецепторов, располагающихся на их мембранах, привело к блокаде процесса фагоцитоза, в результате чего наблюдалось скопление обломков мембран НС ФР под клетками ПЭС. В то же время в этих и других клетках ХРК отмечалась реакция митохондрий по типу их истощения, что, возможно, связано с большим расходом энергии на внутриклеточные компенсаторно-восстановительные процессы. Хотя нельзя исключить и прямого токсического действия метанола на эти органеллы. Рядом авторов ранее высказывалось предположение о том, что повреждение митохондрий в сетчатке и зрительном нерве, вызванное острым отравлением экспериментальных животных, приводило к структурно-функциональным нарушениям в указанных структурах [5, 12]. В то же время известно, что родопсин, располагающийся на мембранах НС ФК, участвует в фотохимических процессах. При его участии происходит преобразование световой энергии в энергию нервного импульса. Для реализации этого процесса необходим витамин А, который в норме поступает из печени в клетки ПЭС и необходим для образования родопсина [10]. Однако витамин А, по – видимому, также не поступал из ХК в клетки ПЭС, так как вещества, находящиеся в ХК подвергались изменениям под действием метанола, о чем свидетельствовало электронно-плотное содержимое его просвета. В литературе представлены данные об изменениях реологических свойств крови, деструкции белков, о повреждении форменных элементов крови и других структур плазмы под влиянием больших доз метанола [11]. В нашем случае, резкое снижение

необходимых веществ, поступающих из ХК в клетки ПЭС и разрушение их цитоплазматических органелл, привело к дефициту веществ для самих клеток ПЭС в результате чего нарушились биосинтетические и другие процессы в клетках ПЭС, в том числе, и образование родопсина, в итоге ослабевали или прекращались фотохимические реакции на мембранах НС ФР. Кроме того, выявленные нами альтеративные изменения в синапсах также влияли на процесс передачи нервного импульса по зрительному тракту. Все вышеизложенное, в целом, и приводило к снижению или потере зрения, отмечающееся у людей при остром отравлении метанолом. Как пишет вышеупомянутый автор [10], нарушение образования родопсина ведет, в дальнейшем, к дистрофии сетчатки. Однако в клетках ПЭС, обладающих выраженными способностями к восстановлению, во все сроки наблюдения, проявлялись признаки компенсаторно-восстановительных процессов, что отражалось в повышении числа свободных рибосом, полисом, элементов ЗЭС и митохондрий, что свидетельствовало об активации биосинтезирующей и энергообразующей функций, направленных на постепенное восстановление типичных для этих клеток органелл. Местами в апикальной области клеток наблюдались также единичные фагосомы, отражающие восстановление процесса фагоцитоза на отдельных участках клеток ПЭС.

Несмотря на вышеизложенное, к концу срока наблюдения (14 суток) процессы деструкции в клетках ПЭС несколько нарастали, отмечались большие поля опустошения цитоплазмы, определялись признаки выраженной дегенерации органелл и очаги разрушения плазмолемм клеток. В фоторецепторном отделе сетчатки выявлялась альтерация структур различной степени выраженности, вплоть до очагового некроза отдельных клеток.

Проведенное исследование выявило ультраструктурные изменения, вызванные большой дозой метанола на элементы ХРК, что открывает некоторые стороны механизмов его повреждающего действия на структуры сетчатки. Для более детального понимания этих механизмов, включая весь зрительный тракт, исследования будут продолжаться в дальнейшем.

Выводы.

1. Однократное внутрибрюшинное введение метанола в дозе 7,0 г/кг массы тела крысы, приводило в клетках ПЭС к практически полному опустошению внутриклеточных органелл, за исключением ядер, к значительной деструкции апикальных микроворсинок и отсутствию базальных складок на большом протяжении этих клеток.
2. В динамике исследования, от 40 мин. до 14 суток, патологические изменения в структурах ХРК затрагивали все большее количество клеток, становились более выраженными и глубокими.
3. В ЭК ХК и ФК сетчатки степень выраженности патологических изменений зависели от глубины повреждения ПЭС.

Список использованных источников

1. Думброва Н.Е. Влияние метанола на ультраструктуру нервных элементов сетчатки глаза крыс / Н.Е. Думброва, Н.И. Молчанюк // Журн. АМН Украины. -2010. – Т.16, № 3. – С. 507-514.
2. Молчанюк Н.И. Свето- и электронно-микроскопическое изучение хориокапилляров, пигментного эпителия и фоторецепторных клеток сетчатки крыс в динамике после введения различных доз метанола / Молчанюк Н.И. // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2015. – 1 (18). – С. 74 – 78.

3. Островский М.А. Химия и молекулярная физиология зрения, светочувствительный белок родопсин /Островский М.А., Т.Б. Фельдман Т.Б. //Успехи химии, – 2012, Т. 81, – № 11.- С. 1071-1090.

4. Серов В.В. Влияние острого отравления метанолом на перекисное окисление липидов и концентрацию в крови кортикостерона / Серов В.В., Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. // Вестн. новых медицинских технологий. – 2007. – Том XIV, № 1. – С. 81 – 85.

5. Цимбалюк В.И. Электрофизиологические и морфологические показатели, состояние зрительного анализатора в динамике применения трофина при интоксикации метанолом / В. И. Цимбалюк, А. Т. Носов, Л. Л. Чеботарёва, [и др.] // Укр. нейрохирургич. журн. – 2004. – № 3. – С. 97-102.

6. Шульпина Н.Б. Алкогольная интоксикация и орган зрения. / Н.Б. Шульпина, В.Е. Рожнов, Ф.Р. Галиаскарова // Вестн. офтальмол. - 1987. – № 1. – С. 62 – 65.

7. Baumbach GL, Cancilla PA, Martin-Amat G, Tephly TR [et al.]. Alterations of the morphological findings of the retina and optic nerve //Arch. Ophthalmol. – 1977. – N 10. – P.1859 – 1865.

8. Dowling J.E. The electroretinogram and glial responses. In:Dowling JE ed.The retina: An approachable part of the brain. –1987.Cambridge, Massachusetts, Belknap Press. – P. 164-186.

9. Eells J.T., Salzman M.M., Trusk T.C. Inhibition of retinal mitochondrial function in methanol intoxication // Toxicologist. – 1995. – N 15. – P. 21-23.

10. Eells J.T. Methanol- induced visual toxicity in the rat // Pharmacol.Exptl.Ther. –1991. 257:- P. 56-63.

11. Rajamani R. Oxidative stress induced by methotrexate alone and in the presence of methanol in discrete regions of the rodent brain, retina and optic nerve / R. Rajamani, A.Muthuvel, M. Senthilvelan, [et al.] // Toxicol. Lett. – 2006. – Vol.12, N 5. – P. 12-15.

12. Treichel J.L. Retinal toxicity in methanol poisoning / J.L. Treichel, T.G. Murray, T.C. Burton [et al.] // Retina. 2004. – Vol. 24. – P. 309-312.

References

1. Dumbrova NE, MolchanyukNI. [Effect of methanol on the ultrastructure of retinal nerve cells of rats eye] // Journal Academy of Medical Sciences of Ukraine. 2010;16 (3): 507-514.

2. Molchanyuk NI. [Light and electron microscopic study of choriocapillaries, pigment epithelium and photoreceptor cells in the retina of rats in dynamics after administration of different doses of methanol] //Bulletin of Kyiv National Taras Shevchenko University. Problems of regulation of physiological functions. 2015; 1 (18): 74 – 78.

3. Ostrovsky MA, Feldman TB. [Chemistry and Molecular Physiology of view, the photosensitive protein rhodopsin] // Russian Chemical Reviews. 2012;81(11):1071-1090.

4. Serov VV, Zabrodskii PF, Kirichuk VF. [Influence of acute methanol poisoning on lipid peroxidation and concentration of corticosterone in the blood]. // Vestn. new medical technologies. 2007;14(1): 81 – 85.

5. Tsimbalyuk VI, Nosov TA, Chebotarev LL, et al.[Electrophysiological and morphological parameters, the state of the visual analyzer in the dynamics of the application trofina intoxication methanol] // Ukr.neyrohurgich. Zh. 2004; (3): 97-102.

6. Shulpina NB, Rožnov VE, Galiaskarova FR. [Alcohol intoxication and eye sight] // Vestn. ophthalmol. -1987. – 1. – P. 62 – 65.

7. Baumbach GL, Cancilla PA, Martin-Amat G, Tephly TR et al. Alterations of the morphological findings of the retina and optic nerve //Arch. Ophthalmol. 1977;Oct;95 (10):1859 – 1865. PubMed PMID:71893

8. Dowling J.E. The electroretinogram and glial responses. In:Dowling JE ed.The retina: An approachable part of the brain. 1987;Cambridge, Massachusetts, Belknap Press.;164-186.

9. Eells JT., Salzman MM., Trusk TC. Inhibition of retinal mitochondrial function in methanol intoxication // Toxicologist. 1995; (15): 21-23.

10. Eells J.T. Methanol- induced visual toxicity in the rat // Pharmacol.Exptl.Ther. 1991; 257: 56-63.

11. Rajamani R, Muthuvel A, Senthilvelan M, et al. Oxidative stress induced by methotrexate alone and in the presence of methanol in discrete regions of the rodent brain, retina and optic nerve // Toxicol. Lett. 2006;May;12 (5): 12-15.

12. Treichel JL, Murray TG, Burton TC et al. Retinal toxicity in methanol poisoning // Retina. 2004; 24: 309-312.

Надійшла до редколегії 03.06.16

Н. Молчанюк канд. біол. наук

Державна установа "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України", Одеса, Україна

ДИНАМІКА УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ОЧЕЙ ЩУРІВ, ВИКЛИКАНИХ ВЕЛИКОЮ ДОЗОЮ МЕТАНОЛУ

Електронно-мікроскопічно вивчалися структури хоріоретинального комплексу (ХРК) очей щурів: хоріокапіляри, пігментний епітелій сітківки (ПЕС) і фоторецепторні клітини сітківки через 40 хвилин, 1 година 10 хв., на 1, 3, 7 і 14 добу після одноразового внутрішньочеревного введення метанолу в дозі 7,0 г/кг маси тіла. Показано, що первинні та значні деструктивні зміни, серед структур досліджуваного комплексу, спостерігались в клітинах ПЕС, які характеризувались альтерацією мітохондрій і каналців гладкою ендоплазматичної сітки, вирівнюванням базальних складок і вогнищевим руйнуванням апікальних мікроворсинок. В динаміці дослідження структур ХРК деструктивні процеси в клітинах наростали. Паралельно в цих клітинах відзначались ознаки компенсаційно-відновних процесів.

Ключові слова: хоріоретинальний комплекс, хоріокапіляри, пігментний епітелій і фоторецепторні клітини сітківки, метанол, ультраструктура.

N. Molchanyuk, PhD, the senior researcher

State institution "The Filatov institute of eye diseases and tissue therapy of the national academy of medical sciences of Ukraine", Odessa, Ukraine

DYNAMICS OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE CHORIORETINAL COMPLEX OF RAT EYES INDUCED BY HIGH DOSE OF METHANOL

The structure of chorioretinal complex (CRC) of rat eyes was studied by electron microscopy: choriocapillaris, retinal pigment epithelium (RPE) and retinal photoreceptor cells after 40 minutes, 1 hour and 10 minutes, on the first 1st, 3rd, 7th and 14th days after a single intraperitoneal injection of methanol in a dose of 7.0 g/kg of body weight. It was shown that the primary and significant destructive changes in the structures of the studied complex were observed in the RPE cells, which are characterized by alteration of mitochondria and tubules of smooth endoplasmic reticulum, equation of basal folds and local destruction of the apical microvilli. The destructive processes in the cells were growing in the dynamics of CRC structures research. In parallel, the features of compensatory-regenerative processes in these cells were detected.

Keywords: chorioretinal complex, choriocapillaris, retinal pigment epithelium, retinal photoreceptor cells, ultrastructure, methanol.

УДК 577.112.7

А. Харькова, асп.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
О. Мінченко, проф.
Інститут біохімії імені О.В. Палладіна, Київ

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *IGF1R*, *IGFBP4* ТА *IGFBP5* У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87 ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ ГЛУТАМІНУ

Робота присвячена вивченню експресії генів рецептора подібного до інсуліну фактора росту (*IGF1R*) та протеїнів *IGFBP4* та *IGFBP5*, що зв'язуються з подібними до інсуліну факторами росту, у клітинах гліоми лінії U87 за умов дефіциту глутаміну у зв'язку з пригніченням сенсорно-сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулулу *ERN1* (ензим сигналювання від ендоплазматичного ретикулулу до ядра), який контролює проліферацію клітин. Встановлено, що за умов дефіциту глутаміну спостерігається посилення експресії гена *IGFBP4* та пригнічення експресії *IGF1R* на рівні мРНК у контрольних клітинах гліоми, але експресія *IGFBP5* у цих клітинах не залежить від наявності глутаміну в поживному середовищі. У той же час, пригнічення *ERN1* модифікує ефект дефіциту глутаміну на експресію гена *IGFBP5*, оскільки у клітинах гліоми, що не експресують функціонально активний ензим *ERN1*, дефіцит глутаміну призводить до пригнічення експресії гена цього *IGFBP*. Ми також показали, що експресія всіх досліджених генів у клітинах гліоми регулюється сигнальним ензимом *ERN1* за стандартних умов культивування, оскільки пригнічення *ERN1* істотно посилює експресію генів *IGFBP4* та *IGFBP5*, протеїнові продукти яких є основними інгібіторами про-проліферативної активності подібних до інсуліну факторів росту *IGF1* та *IGF2*. За умов пригнічення активності *ERN1* у клітинах гліоми спостерігається також зростання рівня експресії гена *IGF1R* у порівнянні з контрольними клітинами гліоми. Результати цієї роботи продемонстрували, що нестача глутаміну порушує експресію досліджених генів і що пригнічення *ERN1* переважно змінює експресію цих генів.

Ключові слова: *ERN1*, експресія генів, *IGF1R*, *IGFBP4*, *IGFBP5*, лінія клітин гліоми U87, дефіцит глутаміну.

Вступ. Функціонування системи інсуліноподібного фактора росту (*IGF* – Insulin Like Growth Factor) є важливим механізмом регуляції клітинної проліферації і диференціації в нормі та за багатьох патологічних станів. Основними компонентами системи *IGF* є ліганди (*IGF1* та *IGF2*), рецептори (*IGF1R* та *IGF2R*), протеїни, що зв'язують *IGF* (*IGFBP1-6* – *IGF-Binding Proteins 1-6*) або містять *IGFBP*-домени (*IGFBP7-10*), відомі також як протеїни, пов'язані із *IGFBP* (*IGFBPpr* – *IGFBP-Related Proteins*) [11]. Взаємодія *IGF* з рецепторами призводить до активації проліферації, міграції, інвазії, метастазування та має антиапоптичні ефекти. *IGFBP* регулюють активність *IGF*, зв'язуючи їх у тимчасово неактивні комплекси, з одного боку, заважаючи взаємодії з рецепторами, а з іншого – захищаючи від деградації та створюючи пул розчинних *IGF* у плазмі крові і тканинах [15]. Таким є загальний принцип функціонування системи *IGF*, але кожен протеїн має також додаткові, незалежні від *IGF* функції. Протеїни *IGF* за структурою та амінокислотною послідовністю подібні до молекули проінсуліну, звідки і походять їх назва, тому неодноразово було показано перехресну активацію рецепторів інсуліну (*IR*) та *IGF* (*IGF1R*), а також можливість утворення так званих гібридних рецепторів [7]. Гени *IGF1R* та *IR* мають на 70% ідентичну нуклеотидну послідовність [9]. Обидва рецептори належать до трансмембранних рецепторів із тирозинкіназою активністю (EC 2.7.10.1) та являють собою гетеротетрамерні протеїни, що містять по дві позаклітинні α -субодиниці та дві трансмембранні β -субодиниці, поєднані дисульфідними зв'язками [16]. Після зв'язування ліганду із Cys-збагаченим сайтом α -субодиниці β -субодиниця набуває тирозинкіназою активності, автофосфорилується та фосфорилує внутрішньоклітинні субстрати [17].

IGFBP4 – секреторний протеїн, що зв'язує як *IGF1*, так і *IGF2*, на високому рівні експресується фібробlastами, остеокцитами та клітинами простати, має здебільшого анти-проліферативні ефекти: надекспресія *IGFBP4* в пухлинах простати та прямої кишки призводить до пригнічення росту цих пухлин *in vivo* [6], тоді як в пухлинах легень, молочної залози, прямої кишки, щитоподібної залози та нейробластоми рівень експресії *IGFBP4* є нижчим у порівнянні з відповідними нормальними тканинами [10]. Виключенням є пухлини нирок, які

in vivo та *in vitro* синтезують більше протеїну *IGFBP4*, ніж нормальні клітини нирки [18].

IGFBP5 – також секреторний протеїн, який є другим (після *IGFBP3*) за концентрацією в плазмі крові та кількістю *IGF*, який з ним зв'язується. Лише у складі молекул *IGFBP5* та *IGFBP3* було показано наявність сигналу ядерної локалізації, що забезпечує транспортування цих протеїнів до ядра за участю імпорту β . Унікальною властивістю *IGFBP5* у порівнянні з іншими *IGFBP* є його здатність конкурувати із *TNF- α* (*Tumor Necrosis Factor- α*) за зв'язування з *TNFR1* (*TNF Receptor 1*), пригнічуючи ефекти *TNF- α /TNFR1* [8].

Ріст злоякісних пухлин, в тому числі гліом, асоціюється з гіпоксією та дефіцитом поживних речовин, а також стресом ендоплазматичного ретикулулу (ЕР), обумовленим накопиченням у люмені ЕР не згорнутих чи неправильно згорнутих протеїнів, на поверхні молекул яких експонуються залишки гідрофобних амінокислот [2]. ЕР – надзвичайно чутливий до змін гомеостазу клітинний компартмент, в якому відбувається фолдинг та посттрансляційні модифікації протеїнів, їх дозрівання перед транспортуванням до апарату Гольджі, а також точний контроль їх структури. Сигнальний шлях, опосередкований ензимом *ERN1* (*Endoplasmic Reticulum to Nuclei 1 Signaling*) є основною та найбільш еволюційно консервативною сенсорно-сигнальною системою стресу ЕР [2, 12]. За умов його активації спостерігається не лише пригнічення синтезу протеїнів на рибосомах, а і припиняється транспорт новосинтезованих протеїнів до ЕР, активується фолдинг протеїнів, що вже є в ЕР, та деградація не згорнутих протеїнів [12]. *ERN1* має два каталітичних домени: серин/треонінкіназний, що здійснює автофосфорилування та димеризацію *ERN1*, та ендорибонуклеазний, який відповідає за ініціацію альтернативного сплайсингу пре-мРНК транскрипційного фактора *XBP1* (*X-box Binding Protein 1*) та деградацію цілого ряду мРНК, контролюючи таким чином рівень їх експресії [13]. Сплайс-варіант мРНК *XBP1* транскрибується з утворенням транскрипційного фактора *XBP1*, який надалі контролює експресію сотень генів, продукти яких беруть участь у виході клітини зі стану стресу, регуляції процесів проліферації та клітинної загибелі [2].

Мета роботи: вивчення експресії генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* у клітинах гліоми лінії U87 з пригніченням функціональної активності ензиму *ERN1* за

умов дефіциту глутаміну для визначення ролі ензиму ERN1 у регуляції експресії цих генів та їх можливу роль в інгібуванні проліферації клітин гліоми, що не експресують функціонально активний ERN1.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на клітинах гліоми людини лінії U87, отриманих із "ATCC" (США). Клітини культивували у поживному середовищі DMEM (Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium; "Gibco", "Invitrogen", США) з високою концентрацією глюкози (4,5 г/л), до якого додавали 2 ммоль/л глутаміну, 10% ембріональної сироватки телят ("Equitech-Bio, Inc.", США), пеніцилін (100 одиниць/мл; "Gibco") та стрептоміцин (0,1 мг/мл; "Gibco") за температури 37°C в інкубаторі з 5% CO₂. У цій роботі були використані дві сублінії цих клітин гліоми: 1) контрольні клітини (вектор), що були стабільно трансфіковані вектором pcDNA3.1; 2) клітини з повним пригніченням функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (dnERN1), трансфіковані домінант-негативною конструкцією dnERN1, що експресувала ERN1 без протеїнкіназного та ендорибонуклеазного доменів. Пригнічення функції ензиму ERN1 було раніше оцінено по рівню фосфорилування ERN1 та утворенню альтернативного сплайс-варіанту XBP1 за умов індукованого тунікаміцином (10 мкг/мл протягом 2 годин) стресу ендоплазматичного ретикулулу [14]. При дослідженні впливу дефіциту глутаміну спочатку видаляли середовище вирощування, промивали фосфатно-сольовим розчином (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 4,3 mM Na₂HPO₄, 1,4 mM KH₂PO₄, pH 7,4), а потім додавали середовище DMEM без глутаміну і витримували протягом 16 годин в інкубаторі.

РНК із клітин гліоми виділяли як було описано раніше [1, 14]. Осади РНК промивали 75 % етанолом, розчиняли у воді, вільній від рибонуклеаз, переосаджували етанолом для додаткового очищення від можливих залишків фенолу, знову розчиняли у воді і використовували для синтезу комплементарної ДНК. Концентрацію РНК та її спектральні характеристики визначали на безкуветному спектрофотометрі NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Синтез кДНК проводили за допомогою "QuantiTect Reverse Transcription Kit" ("QIAGEN", Німеччина) згідно протоколу виробника.

Рівень експресії генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* у клітинах гліоми визначали методом кількісної полімеразної реакції у реальному часі, використовуючи "7900 HT Fast Real-Time PCR System" (Applied Biosystems) або "Mx 3000P QPCR" ("Stratagene", La Jolla, CA, США) та "SYBRGreen Mix" ("AB gene", "Thermo Fisher Scientific", Epsom, Surrey, UK). Ампліфікацію проводили протягом 40 циклів для всіх досліджених генів за таких температурних умов циклу: 95°C – 30 сек., 55°C – 30 сек. та

72°C – 30 сек. Нуклеотидні послідовності праймерів, що використовували для ампліфікації кДНК генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5*, послідовності генів, що їм відповідають, а також довжина продуктів ампліфікації кількісної полімеразної ланцюгової реакції наведені у табл. 1. Дизайн та селекцію праймерів проводили у програмі "Primer3web", версія 4.0.0 (<http://primer3.ut.ee/>). По рівню експресії мРНК гена бета-актину оцінювали рівень експресії мРНК досліджуваних генів. Олігонуклеотидні праймери були отримані з компанії "Sigma-Aldrich" (США).

Аналіз результатів дослідження експресії генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* виконували за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення – програми "Differential expression calculator", статистичний аналіз проводили з використанням *t*-критерію однієї проби (one sample *t* test) або *t*-критерію для двох незалежних вибірок. Значення експресії генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* представляли у відсотках від контролю (100 %), ефект дефіциту глутаміну в клітинах гліоми з пригніченою функціональною активністю ензиму ERN1 (dnERN1) порівнювали з цими ж клітинами, що культивували у повноцінному поживному середовищі із концентрацією глутаміну 2 ммоль/л. Представлені середні значення $\pm m$ чотирьох експериментів.

Результати дослідження та їх обговорення. Як видно із даних, наведених у табл. 2, рівень експресії гена *IGF1R* за умов дефіциту глутаміну в поживному середовищі знижується у контрольних клітинах гліоми (вектор), що мають функціонально активний сенсорно-сигнальний ензим ERN1, на 19 % ($p < 0,05$) у порівнянні з цими ж клітинами гліоми, що росли у середовищі з глутаміном. Водночас, у клітинах з пригніченою активністю кінази та ендорибонуклеази ERN1 (dnERN1) рівень експресії гена *IGF1R* також знижується за умов дефіциту глутаміну, але значно більшою мірою: -41 % ($p < 0,05$) при порівнянні з контрольними клітинами з вектором і -53 % ($p < 0,05$) при порівнянні з відповідним контролем – клітинами гліоми, що експресують функціонально неактивний ензим ERN1 (dnERN1), які були вирощені у середовищі із глутаміном (табл. 2 та рис. 1). Це свідчить про значно більшу чутливість експресії гена *IGF1R* до дефіциту глутаміну за умов пригнічення протеїнкіназної та ендорибонуклеазної активності сенсорно-сигнального ензиму ERN1. Також було показано, що пригнічення ензиму ERN1 призводить до підвищення відносного рівня експресії гена рецептора *IGF1R* у клітинах гліоми лінії U87 (+26 %; $p < 0,05$) у порівнянні з контрольними клітинами (вектор) за нормальних умов інкубації (табл. 2).

Таблиця 1. Олігонуклеотидні праймери, що використовувались для визначення рівня експресії мРНК досліджуваних генів методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції комплементарних ДНК

Ген	Послідовності праймерів (п – прямий, з – зворотний)	Відповідні послідовності генів	Довжина ампліфікованого фрагмента (п.н.з.)	Номер гена в базі GenBank
<i>β-актин</i> (<i>ACTB</i>)	п: 5'-cgaccactggcatcgatg-3' з: 5'-gtgtggcggtacaggtctt-3'	п: 704-723 з: 937-918	233	X00351
<i>IGF-1R</i>	п: 5'-gccactactactatgccggg-3' з: 5'-gtgcatccttgagcatctg-3'	п: 875-856 з: 1111-1092	255	NM_000875
<i>IGFBP-4</i>	п: 5'-caccacaacaacagcttcag-3' з: 5'-agttggggatggggatgatg-3'	п: 679-698 з: 922-903	243	NM_001552
<i>IGFBP-5</i>	п: 5'-agtgaagaaggaccgcagaa-3' з: 5'-gcagcttcatccgtacttg-3'	п: 1227-1246 з: 1528-1509	301	NM_000599

Таблиця 2. Рівень експресії генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* у клітинах гліоми лінії U87, трансфікованих вектором pсDNA3.1 (Вектор) за даними кількісної полімеразної ланцюгової реакції: вплив дефіциту глутаміну.

Рівень експресії цих мРНК нормалізували за рівнем експресії гена бета-актину) і представляли у відсотках від контролю (контрольні клітини з вектором), прийнятого за 100 %; $n = 4$; * – $p < 0,05$ при порівнянні з контролем

№ п/п	Ген	Дефіцит глутаміну у клітинах з вектором	Пригнічення ERN1 (dnERN1)	Дефіцит глутаміну у клітинах з dnERN1
1	<i>IGF1R</i>	$81 \pm 4,9$ *	$126 \pm 6,3$ *	$59 \pm 3,8$ *
2	<i>IGFBP4</i>	211 ± 13 *	538 ± 22 *	1184 ± 54 *
3	<i>IGFBP5</i>	$94 \pm 5,8$	575 ± 33 *	327 ± 21 *

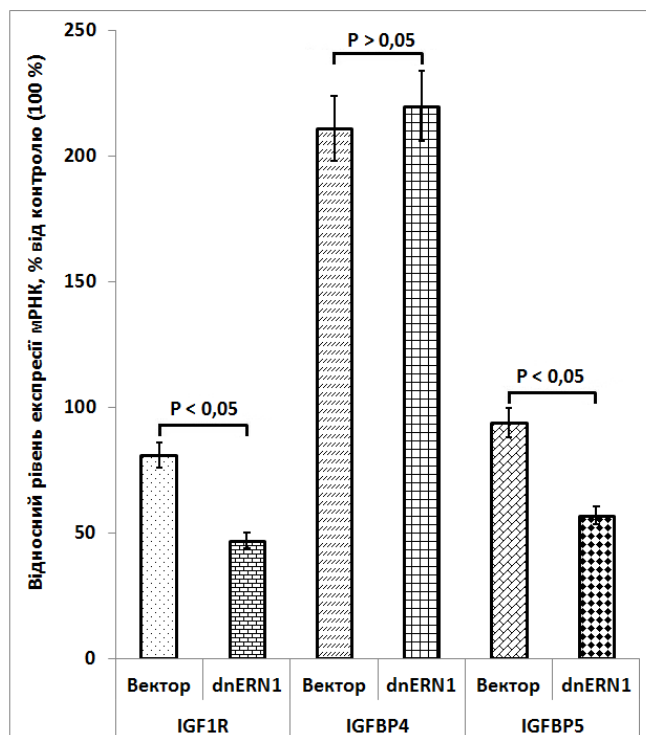


Рис. 1. Рівень експресії генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* у контрольних клітинах гліоми лінії U87, стабільно трансфікованих вектором, та клітинах із домінант-негативною конструкцією ензиму ERN1 (dnERN1) за дефіциту глутаміну по даними кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Рівень експресії цих мРНК нормалізували за рівнем експресії гена бета-актину і представляли у відсотках від контролю для клітин з вектором і для клітин з dnERN1, прийнятих за 100 %; $n = 4$

Із даних, приведених у табл. 2 та на рис. 1 видно, що рівень експресії гена *IGFBP4* за умов дефіциту глутаміну зростає як у контрольних клітинах гліоми (вектор) (+111%; $p < 0,05$), так і у клітинах гліоми з пригніченою активністю кіназного та ендорибонуклеазного доменів ERN1 dnERN1 (+1084%; $p < 0,05$) при порівнянні з цими ж клітинами, що росли за присутності глюкози, але при порівнянні з клітинами гліоми, що експресують функціонально неактивний ензим ERN1 (dnERN1), що росли за присутності глюкози, це збільшення буде набагато меншим (+120%; $p < 0,05$) і істотно не відрізняється від того, що було виявлено у контрольних клітинах гліоми за умов нестачі глутаміну (рис. 1). У той же час, рівень експресії гена *IGFBP4* за умов пригнічення функціональної активності сенсорно-сигнального ензиму ERN1 у клітинах гліоми (dnERN1) за умов присутності глюкози значно зростає (+438%; $p < 0,05$) у порівнянні з контрольними клітинами гліоми (вектор), що культивували на повноцінному поживному середовищі (табл. 2). Таким чином, пригнічення функціональної активності ензиму ERN1 різко збільшує рівень експресії гена *IGFBP4*, але не впливає на чутливість експресії цього гена до дефіциту глутаміну.

Встановлено також, що у контрольних клітинах гліоми, що експресують функціонально активний ензим ERN1 (вектор) експресія гена *IGFBP5* не є чутливою до

дефіциту глутаміну, а у клітинах з пригніченою функцією сигнального ензиму ERN1 експресія гена цього фактора за умов дефіциту глутаміну суттєво збільшується (+227 %; $p < 0,05$) при порівнянні з контрольними клітинами з вектором і знижується (-43 %; $p < 0,05$) при порівнянні з клітинами гліоми, що експресують функціонально неактивний ензим ERN1 (dnERN1), які були вирощені у середовищі із глутаміном, оскільки пригнічення активності ензиму ERN1 різко посилює експресію гена *IGFBP5* (+475%; $p < 0,05$) при порівнянні з контрольними клітинами з вектором за умов присутності глутаміну у середовищі (табл. 2 та рис. 1). Таким чином, пригнічення функціональної активності ензиму ERN1 різко збільшує рівень експресії гена *IGFBP5* та змінює чутливість експресії цього гена до дефіциту глюкози.

Підвищення відносного рівня експресії генів *IGFBP4* (більш, ніж у 5 разів) та *IGFBP5* (майже у 6 разів), яке було виявлено нами у клітинах гліоми людини лінії U87 за умов пригнічення активності ензиму ERN1, підтверджує їх спільну анти-проліферативну роль. Раніше було показано, що надекспресія *IGFBP5* у культурі клітин меланоми людини ліній A375 та A2058 призводить до пригнічення проліферації та міграції цих клітин [19]. Анти-проліферативні ефекти *IGFBP5* пояснюють зокрема здатність внутрішньоклітинного *IGFBP5* впливати на активацію mTORC (Mammalian Target of Rapamycin

Complex), пригнічуючи у такий спосіб сигнальний шлях IGF1, що було показано в культурі ембріональних фібробластів мишей та пухлинних клітинах молочної залози людини лінії MCF7 [5].

Протеїн IGFBP4 є інгібітором росту багатьох типів пухлин, але при дослідженні пацієнтів із гліомами на різних стадіях розвитку та в культурі клітин гліоми ліній U251 та U343 було показано, що надекспресія IGFBP4, як і підвищення кількості цього протеїну, призводить до активації проліферативних процесів, а рівень експресії IGFBP4 у клітинах гліом на стадії астроцитом є вищим за такий у відповідних нормальних тканинах головного мозку [10]. Взагалі, роль IGFBP4 у проліферації гліом є мало дослідженою, а результати різних досліджень часто є суперечливими. Так, результати наших експериментів свідчать про значну активацію експресії IGFBP4 за умов інгібування активності сенсорно-сигнального ензиму ERN1, що загалом має антипроліферативний ефект на клітини гліоми людини лінії U87. Раніше на клітинах гліоми лінії U87MG було показано, що IGFBP4 проявляє незалежні від IGF антиангіогенні та антипухлинні ефекти переважно за рахунок свого C-кінцевого домену, що містить тироглобуліновий домен типу 1. Ефект пригнічення ангиогенезу за участю IGFBP4 також було показано на моделі хоріоантлантоїсної мембрани курячого ембріону [7], що також узгоджується із даними про те, що повне інгібування активності ензиму ERN1 призводить до зниження здатності клітин гліоми лінії U87 (в яких при цьому спостерігається підвищення відносно рівня експресії IGFBP4) до утворення пухлин та росту кровоносних судин на моделі ембріонів курчат [1].

Серед 20 основних протеїногенних амінокислот глутамін є найбільш поширеним в організмі людини і тварин та метаболізується практично в усіх тканинах. У міжклітинній речовині глутамін складає до 25%, а в м'язовій тканині – до 60% від усього пулу вільних амінокислот. При різних критичних станах, а також під час активної проліферації клітин, пул вільного глутаміну виснажується дуже швидко, що компенсується за рахунок протеасомної деградації протеїнів та активації біосинтезу глутаміну. Важлива біологічна роль глутаміну полягає також в тому, що в культурі клітин, як і у плазмі крові *in vivo*, глутамін виступає основним транспортером та донором "нетоксичного" азоту, необхідного для біосинтезу інших (замінних) амінокислот та загалом процесу біосинтезу протеїнів у клітинах, що активно проліферують [4]. Нестача поживних речовин, зокрема глутаміну, є важливим фактором впливу на ріст пухлин *in vivo*, тому відсутність залежності змін у регуляції експресії більшості досліджених генів від функціонування ензиму ERN1 за даних експериментальних умов є свідченням нездатності клітин гліоми у повній мірі перебудувати свій метаболізм для адаптації до пригнічення ензиму ERN1, що у свою чергу свідчить на користь можливості вважати ензим ERN1 перспективною мішенню для протипухлинної терапії.

Отже, результати проведених досліджень свідчать про те, що експресія генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* залежить від функціональної активності ERN1, сенсорно-сигнального ензиму стресу ER, за умов культивування клітин у повноцінному поживному середовищі. Відсутність функціонально активного ензиму ERN1 у клітинах гліоми змінює вплив дефіциту глутаміну на експресію всіх досліджених генів. Отримані дані розкривають нові аспекти молекулярних механізмів пригнічення проліферації клітин гліоми за умов інгібування сигнального ензиму ERN1, що може здійснюватися за рахунок активації експресії генів, які кодують анти-

проліферативні фактори IGFBP4 та IGFBP5 і ефекти яких реалізуються через зв'язування та інактивацію інсуліноподібних факторів росту.

Висновки

1. Встановлено, що повне пригнічення активності ензиму ERN1 призводить до посилення експресії генів *IGF1R*, *IGFBP4* та *IGFBP5* у клітинах гліоми за стандартних умов їх вирощування.

2. Показано, що у контрольних клітинах гліоми за умов дефіциту глутаміну збільшується рівень експресії гена *IGFBP4* та знижується – гена *IGF1R*, а пригнічення ензиму ERN1 посилює ефект дефіциту глюкози на експресію гена *IGF1R* та індукує зміни в експресії гена *IGFBP5*.

3. Результати цієї роботи свідчать про можливу участь генів рецептора подібних до інсуліну факторів росту та генів *IGFBP4* і *IGFBP5* у регуляції процесів проліферації клітин гліоми людини лінії U87 та про чутливість експресії цих генів до умов дефіциту глутаміну в залежності від функціональної активності сенсорно-сигнального ензиму ERN1.

Список використаної літератури

1. Auf G. High epiregulin expression in human U87 glioma cells relies on IRE1α and promotes autocrine growth through EGF receptor / G. Auf, A. Jabouille, M. Delugin [et al.] // BMC cancer. – 2013. – Vol. 13, N 597. – P. 59701–59712.
2. Clarke H.G. Endoplasmic reticulum stress in malignancy / H.G. Clarke, J.E. Chambers, E. Liniker [et al.] // Cancer cell. – 2014. – Vol. 25, N 5. – P. 563–573.
3. Contois L.W. Insulin-like growth factor binding protein-4 differentially inhibits growth factor-induced angiogenesis / L.W. Contois, D.P. Nugent, J.M. Caron [et al.] // The journal of biological chemistry. – 2012. – Vol. 287, N 3. – P. 1779–1789.
4. Cooper A. Central role of glutamate metabolism in the maintenance of nitrogen homeostasis in normal and hyperammonemic brain / A. Cooper, T. Jeitner // Biomolecules. – 2016. – Vol. 6, N 2. – P. 1601–1633.
5. Ding M. Secreted IGFBP5 mediates mTORC1-dependent feedback inhibition of IGF-1 signalling / M. Ding, R. Bruck, Y. Yu // Nature cell biology. – 2016. – Vol. 18, N 3. – P. 319–327.
6. Durai R. Insulin-like growth factor binding protein-4 gene therapy increases apoptosis by altering Bcl-2 and Bax proteins and decreases angiogenesis in colorectal cancer / R. Durai, S.Y. Yang, K.M. Sales [et al.] // International journal of oncology. – 2007. – Vol. 30, N 4. – P. 883–888.
7. Guvakova M. Insulin-like growth factors control cell migration in health and disease / M. Guvakova // The international journal biochemistry and cell biology. – 2007. – Vol. 39, N 5. – P. 890–909.
8. Hwang J.R. Insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5) inhibits TNF-α-induced NF-κB activity by binding to TNFR1 / J.R. Hwang, J.H. Huh, Y. Lee [et al.] // Biochemistry and Biophysical Research Communications. – 2011. – Vol. 405, N 4. – P. 545–551.
9. Kuemmerle J. Insulin-like growth factors in the gastrointestinal tract and liver / J. Kuemmerle // Endocrinology and metabolism clinics of North America. – 2012. – Vol. 41, N 2. – P. 409–423.
10. Praveen Kumar V.R. Insulin like growth factor binding protein 4 promotes GBM progression and regulates key factors involved in EMT and invasion / V.R. Praveen Kumar, P. Sehgal, B. Thota [et al.] // Journal of neuro-oncology. – 2014. – Vol. 116, N 3. – P. 455–464.
11. Lee H. Targeting insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-3 signaling pathways. A novel therapeutic approach for asthma / H. Lee, S.R. Kim, Y. Oh [et al.] // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 2014. – Vol. 50, N 4. – P. 667–677.
12. Lee J. Unfolded protein response signaling and metabolic diseases / J. Lee, U. Ozcan // The journal of biological chemistry. – 2014. – Vol. 289, N 3. – P. 1203–1211.
13. Manie S.N. Cellular mechanisms of endoplasmic reticulum stress signaling in health and disease. 3. Orchestrating the unfolded protein response in oncogenesis: an update / S.N. Manie, J. Lebeau, E. Chevet // American journal of physiology. Cell physiology. – 2014. – Vol. 307, N 10. – P. C901–C907.
14. Minchenko D. The effect of hypoxia and ischemic condition on the expression of VEGF genes in glioma U87 cells is dependent from ERN1 knockdown / D. Minchenko, K. Kubajchuk, O.O. Ratushna [et al.] // Advances in biological chemistry. – 2012. – Vol. 2, N 2. – P. 198–206.
15. Nguyen D.V. An ocular view of the IGF-IGFBP system / D.V. Nguyen, S. Li Calzi, L.S. Shaw [et al.] // Growth hormone and IGF research. – 2013. – Vol. 23, N 3. – P. 45–52.
16. Pollak M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update / M. Pollak // Nature reviews. Cancer. – 2012. – Vol. 12, N 3. – P. 159–169.

17. Singh P. Insulin receptor (IR) and insulin-like growth factor receptor 1 (IGF-1R) signaling systems: novel treatment strategies for cancer / P. Singh, J.M. Alex, F. Bast // Medical oncology. – 2014. – Vol. 31, N 1. – P. 805–819.
18. Ueno K. IGFBP-4 activates the Wnt/beta-catenin signaling pathway and induces M-CAM expression in human renal cell carcinoma / K. Ueno, H. Hirata, S. Majid [et al.] // International journal of cancer. – 2011. – Vol. 129, N 10. – P. 2360–2369.
19. Wang J. Insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5) functions as a tumor suppressor in human melanoma cells / J. Wang, N. Ding, Y. Li [et al.] // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6, N 24. – P. 20636–20649.

References

1. Auf G, Jabouille A, Delugin M, Guerit S, Pineau R, North S [et al.]. High epiregulin expression in human U87 glioma cells relies on IRE1 α and promotes autocrine growth through EGF receptor. *BMC Cancer*. 2013;13(597):59701-12.
2. Clarke HJ, Chambers JE, Liniker E, Marciniak SJ. Endoplasmic reticulum stress in malignancy. *Cancer Cell*. 2014;25(5):563-73.
3. Contois LW, Nugent DP, Caron JM, Cretu A, Tweedie E, Akalu A [et al.]. Insulin-like growth factor binding protein-4 differentially inhibits growth factor-induced angiogenesis. *J Biol Chem*. 2012;287(3):1779-89.
4. Cooper A, Jeitner T. Central role of glutamate metabolism in the maintenance of nitrogen homeostasis in normal and hyperammonemic brain. *Biomolecules*. 2016;6(2):1601-33.
5. Ding M, Bruick R, Yu Y. Secreted IGFBP5 mediates mTORC1-dependent feedback inhibition of IGF-1 signalling. *Nat Cell Biol*. 2016;18(3):319-27.
6. Durai R, Yang SY, Sales KM, Seifalian AM, Goldspink G, Winslet MC. Insulin-like growth factor binding protein-4 gene therapy increases apoptosis by altering Bcl-2 and Bax proteins and decreases angiogenesis in colorectal cancer. *Int J Oncol*. 2007;30(4):883-8.
7. Guvakova M. Insulin-like growth factors control cell migration in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(5):890-909.
8. Hwang JR, Huh JH, Lee Y, Lee SI, Rho SB, Lee JH. Insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5) inhibits TNF- α -induced NF- κ B activity by binding to TNFR1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;405(4):545-51.

9. Kuemmerle J. Insulin-like growth factors in the gastrointestinal tract and liver. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2012;41(2):409-23.
10. Praveen Kumar VR, Sehgal P, Thota B, Patil S, Santosh V, Kondaiah P. Insulin like growth factor binding protein 4 promotes GBM progression and regulates key factors involved in EMT and invasion. *J Neurooncol*. 2014;116(3):455-64.
11. Lee H, Kim SR, Oh Y, Cho SH, Schleimer RP, Lee YC. Targeting insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-3 signaling pathways. A novel therapeutic approach for asthma. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2014;50(4):667-77.
12. Lee J, Ozcan U. Unfolded protein response signaling and metabolic diseases. *J. Biol. Chem.* – 2014;289(3):1203-11.
13. Manie SN, Lebeau J, Chevet E. Cellular mechanisms of endoplasmic reticulum stress signaling in health and disease. 3. Orchestrating the unfolded protein response in oncogenesis: an update. *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2014;307(10):C901-7.
14. Minchenko DO, Kubajchuk KI, Ratushna OO, Komisarenko SV, Minchenko OH. The effect of hypoxia and ischemic condition on the expression of VEGF genes in glioma U87 cells is dependent from ERN1 knockdown. *Advances in Biological Chemistry*. 2012;2(2):198-206.
15. Nguyen DV, Li Calzi S, Shaw LC, Kielczewski JL, Korah HE, Grant MB. An ocular view of the IGF-IGFBP system. *Growth Horm IGF Res*. 2013;23(3):45-52.
16. Pollak M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(3):159-69.
17. Singh P, Alex JM, Bast F. Insulin receptor (IR) and insulin-like growth factor receptor 1 (IGF-1R) signaling systems: novel treatment strategies for cancer // *Med Oncol*. 2014;31(1):805-19.
18. Ueno K, Hirata H, Majid S, Tabatabai ZL, Hinoda Y, Dahiya R. IGFBP-4 activates the Wnt/beta-catenin signaling pathway and induces M-CAM expression in human renal cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2011;129(10):2360-9.
19. Wang J, Ding N, Li Y, Cheng H, Wang D, Yang Q [et al.]. Insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5) functions as a tumor suppressor in human melanoma cells. *Oncotarget*. 2015;6(24):20636-49.

Надійшла до редколегії 02.06.16

A. Харьковская, асп.
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
O. Минченко, проф.
Институт биохимии имени А.В. Палладина, Киев, Украина

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *IGF1R*, *IGFBP4* И *IGFBP5* В КЛЕТКАХ ГЛИОМЫ ЛИНИИ U87 ПРИ ДЕФИЦИТЕ ГЛУТАМИНА

Работа посвящена изучению экспрессии генов рецептора инсулиноподобного фактора роста (*IGF1R*) и протеинов *IGFBP4* и *IGFBP5*, которые связываются с инсулиноподобными факторами роста, в клетках глиомы линии U87 в условиях дефицита глутамина в связи с ингибированием сенсорно-сигнального энзима стресса эндоплазматического ретикулума *ERN1* (энзим сигнализации от эндоплазматического ретикулума до ядра), который контролирует пролиферацию клеток. Установлено, что в условиях дефицита глутамина наблюдается повышение уровня экспрессии гена *IGFBP4* и угнетение экспрессии *IGF1R* на уровне мРНК в контрольных клетках глиомы, но экспрессия *IGFBP5* в этих клетках не зависит от наличия глутамина в питательной среде. В то же время, ингибирование *ERN1* модифицирует эффект дефицита глутамина на экспрессию гена *IGFBP5*, поскольку в клетках глиомы, которые не экспрессируют функционально активный энзим *ERN1*, при дефиците глутамина наблюдается снижение уровня экспрессии гена этого *IGFBP*. Мы также показали, что экспрессия всех исследованных генов в клетках глиомы регулируется сигнальным энзимом *ERN1* при стандартных условиях культивирования, поскольку ингибирование *ERN1* существенно усиливает экспрессию генов *IGFBP4* и *IGFBP5*, протеиновые продукты которых являются основными ингибиторами про-пролиферативной активности инсулиноподобных факторов роста *IGF1* и *IGF2*. В условиях ингибирования активности *ERN1* в клетках глиомы также наблюдается увеличение уровня экспрессии гена *IGF1R* в сравнении с контрольными клетками глиомы. Результаты данной работы продемонстрировали, что недостаток глутамина нарушает экспрессию исследуемых генов и что подавление *ERN1* преимущественно изменяет экспрессию этих генов.

Ключевые слова: *ERN1*, экспрессия генов, *IGF1R*, *IGFBP4*, *IGFBP5*, линия клеток глиомы U87, дефицит глутамина.

A. Kharkova, PhD stud.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
O. Minchenko, prof.
Palladin Institute of Biochemistry, Kyiv, Ukraine

EXPRESSION OF *IGF1R*, *IGFBP4* AND *IGFBP5* GENES IN U87 GLIOMA CELLS UPON GLUTAMINE DEPRIVATION

We have studied the expression of insulin-like growth factor receptor (*IGF1R*) and insulin-like growth factor binding protein (*IGFBP4* and *IGFBP5*) genes in U87 glioma cells upon glutamine deprivation condition in relation to inhibition of *ERN1* (endoplasmic reticulum to nuclei signaling 1), a sensor and signaling enzyme of endoplasmic reticulum stress, which control cell proliferation. It was shown that exposure control glioma cells upon glutamine deprivation condition leads to up-regulation of *IGFBP4* and down-regulation of *IGF1R* expression at the mRNA level in control glioma cells, but *IGFBP5* gene expression in these cells does not depend upon glutamine deprivation. At the same time, inhibition of *IRE1* modifies the effect of glutamine deprivation on the expression of *IGFBP5* gene because in glioma cells without functional activity of *ERN1* glutamine deprivation leads to suppression of this *IGFBP*. We have also shown that the expression of all studied genes in glioma cells is regulated by *ERN1* signaling enzyme at standard condition because *ERN1* inhibition significantly enhances the expression of *IGFBP4* and *IGFBP5* genes. Proteins encoded by these genes are major inhibitors of pro-proliferative activity of insulin-like growth factors *IGF1* and *IGF2*. We have also shown upregulation of the expression level of *IGF1R* gene in glioma cells with *ERN1* knockdown as compared to control glioma cells. Results of this study shown that glutamine deprivation affects the expression of studied genes and that *ERN1* inhibition preferentially changes these genes expression.

Key words: *ERN1*, gene expressions, *IGF1R*, *IGFBP4*, *IGFBP5*, glioma U87 cells, glutamine deprivation.

УДК 599.323.4:591.1

Г. Будащ, асист., Н. Білько, д-р мед. наук, проф.
Національний університет "Києво-Могилянська академія", Київ

ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ ІНДУКОВАНИХ ПЛЮРИПОТЕНТНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН В КАРДІОМІОЦИТИ В СУСПЕНЗІЙНІЙ КУЛЬТУРІ З ПОСТІЙНИМ ПЕРЕМІШУВАННЯМ ТА В СПЕЦІАЛЬНИХ ПЛАНШЕТАХ З МІКРОЛУНКАМИ

Щоб підвищити ефективність диференціювання індукованих плюрипотентних клітин миші в кардіоміоцити, ми порівняли два методи отримання ембріонічних тілець: диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням та формування ембріонічних тілець визначеного розміру в мікролунках AggreWell планшет. Використовували трансгенну клітинну лінію індукованих плюрипотентних стовбурових клітин AT25. Клітини лінії експресували IRES-фланкований зелений флуоресцентний білок (eGFP), під контролем кардіоспецифічного α -MHC промотора. Для перевірки ефективності процесів диференціювання були застосовані методи проточної цитометрії та флуоресцентної мікроскопії. Диференціювання плюрипотентних стовбурових клітин у AggreWell планшетах без додавання факторів диференціювання виявилось більш ефективним, ніж диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням. Проте перевіряючи дію дорзоморфіну, ДМСО, аскорбінової кислоти, G-CSF під час диференціювання згаданими вище методами найбільшу кількість кардіоміоцитів отримали на 11-у добу диференціювання методом суспензійної культури з постійним перемішуванням з додаванням аскорбінової кислоти. Кількість GFP+ клітин становила $2,71 \pm 0,07$ %.

Ключові слова: плюрипотентні стовбурові клітини, індуковані плюрипотентні стовбурові клітини, ембріонічні тільця, кардіоміоцити, диференціювання.

Вступ. Диференціація плюрипотентних стовбурових клітин в кардіоміоцити є важливим етапом створення функціональних тканин серця. Найбільш відомим метод індукції диференціювання *in vitro* є формування клітинних агрегатів, які називають ембріонічні тільця (ЕТ) [11]. Ззовні ЕТ вкриті шаром ектодермальних клітин, всередині містять ядро з ендодермальних клітин, а між двома цими шарами знаходяться мезодермальні клітини [6]. Для того, щоб стимулювати формування різних типів клітин з ембріональних стовбурових клітин або індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (ІПСК) використовуються три основні методи формування ЕТ: формування ЕТ в суспензійній культурі в неадгерентних чашках Петрі, культивування в середовищі з напіврідкою метилцелюлозою, та метод "вісячої краплі" [4, 19].

Під час застосування першого методу поодинокі плюрипотентні стовбурові клітини (ПСК) спонтанно об'єднуються і утворюють агрегати клітини. Однак кількість клітин в кожному окремому агрегаті відрізняється. Тому сформовані ЕТ є гетерогенними за розміром та формою [16], і процес диференціації всередині кожного ЕТ відбувається спонтанно і непередбачувано. За допомогою цього методу були отримані клітини різних типів: нервових клітин-попередників [13], клітин судин [2], кардіоміоцити [8], хондроцити [5], клітини печінки [7] та інші.

Культивування в напіврідкому середовищі, що містить метилцелюлозу переважно використовують для диференціювання гемопоетичних клітин [14]. Окремі клітини висівають в напіврідке середовище, в якому відбувається утворення ЕТ. Недоліком цього способу є те, що матрикс середовища не дозволяє вільне розповсюдження факторів які додаються в ході експерименту. Крім того важко проводити будь-які процедури пов'язані з розкапуванням напівтвердого середовища [10].

ЕТ, сформовані методом вісячої краплі мають тенденцію до утворення клітин мезодермального походження, а саме кардіоміоцитів [15], гладких м'язових клітин [18], хондроцитів [3], клітин нирок [9], адипоцитів [1], гепатоцитів [17] і інших. Цей метод складається з двох етапів: агрегації чітко визначеної кількості ПСК в краплі певного розміру та дозріванні утворених ЕТ під час їх прикріплення до поверхні культурального пластику. Оскільки розмір краплі обмежений до 20-50 мкл, проводити зміну середовища в навколо ЕТ неможливо, а отже майже неможливо впливати на процес диференціювання під час формування ЕТ.

Зважаючи на те наскільки важливим є утворення ЕТ для процесів диференціювання ПСК необхідним є дослідження та покращення методів, які використовуються для формування ЕТ. Тому для того, щоб поліпшити ефективність диференціювання ПСК в кардіоміоцити, ми порівняли два новітні методи отримання ЕТ, які поєднують деякі з переваг основних способів генерації ЕТ. Перший з них це диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням. Неадгерентні чашки Петрі інкубують в CO_2 інкубаторі на горизонтальному орбітальному шейкері. Постійний рух ЕТ покращує їх постачання киснем і дає можливість формувати культури високої щільності [20]. Другий метод це – формування ЕТ визначеного розміру в мікролунках AggreWell планшет. Кожна лунка планшета містить певну кількість мікролунок. Після перенесення суспензій клітин різної концентрації у кожній такій мікролунці формується ЕТ визначених розмірів у залежності від заданої кількості клітин в суспензії. Для того щоб сформувати ЕТ розміром 500 клітин кожне використовували суспензію клітин яка містила 6×10^5 клітин в 2 мл середовища диференціювання.

Матеріали та методи. У роботі були використані лінії ІПСК миші AT25. Лінія клітин AT25 була отримана з фібробластів кінчика хвоста миші під дією індукуючих факторів c-myc, Klf4, Sox2, Oct4, Nanog у лабораторії Р. Яніша та А. Мейснера (США). Ця лінія плюрипотентних стовбурових клітин була генетично модифікованою. Клітини експресували пуроміцин-N-ацетил-трансферазу та IRES-зв'язаний зелений флуоресцентний протеїн (GFP) під контролем кардіоспецифічного α -MHC промотора. Генетична модифікація була виконана А. Фатіма в лабораторії Т. Саріча (Німеччина). Здатність кардіоміоцитів експресувати GFP під контролем кардіоспецифічного α -MHC промотора дала нам змогу застосувати методи проточної цитофлуориметрії та флуоресцентної мікроскопії для перевірки ефективності процесів диференціювання [12].

Недиференційовані лінії стовбурових клітин підтримували на підложці з фідерних клітин, отриманих із лінії фібробластів миші MEF-Neo у поживному середовищі, що складалось із середовища DMEM (Invitrogen, Німеччина), до якого додавали 15 % фетальної телячої сироватки (FBS, Invitrogen, Німеччина), 1 % незамінних амінокислот (Invitrogen, Німеччина), 50 μM 2-меркаптоетанолу (Invitrogen, Німеччина) та 1000 Од/мл ростового фактору LIF (Millipore, США).

Під час диференціювання у планшетах AggreWell (AggreWell, StemCell Technologies) використовували 6×10^5 клітин у 2 мл середовища диференціювання. Такий об'єм одноклітинної суспензії поміщали у кожен лунку планшети AggreWell, яка містила мікролунки. З кожної такої лунки можна отримати до 1200 ЕТ. Клітини культивували у планшетах 48 год. у CO_2 -інкубаторі за температури 37°C та 5 % CO_2 . Середовище диференціювання складалось із середовища IMDM (Invitrogen, Німеччина), до якого додавали 20 % FBS, 1 % незамінних амінокислот, $50 \mu\text{M}$ 2-меркаптоетанолу. На 2-гу добу культивування проводили підрахунок ЕТ під світловим мікроскопом, та переносили суспензію ЕТ у неадгезивні чашки Петрі із середовищем диференціювання. Подальше культивування проводили в CO_2 -інкубаторі на орбітальному шейкері (GFL 3006, GFL, Braunschweig, Німеччина). Середовище культивування замінювали через 7 діб, на 9-у добу після формування ЕТ.

Починаючи з 6-ої доби після початку формування ЕТ кожної доби визначали наявність ЕТ, що спонтанно скорочуються та наявність GFP+ клітин. Після 9-ої доби від початку процесу диференціювання перевірку і підрахунок ЕТ, що містять кардіоміоцити, проводили кожної 2-ої доби, тобто на 9-ту, 11-ту, 13-ту, 15-ту, 17-ту добу диференціювання.

Морфологічне дослідження і прямий підрахунок кількості ЕТ, що скорочуються, та GFP+ клітин проводили за стандартними методиками світлової та флуоресцентної мікроскопії. Використовували мікроскоп Axiovert 10 (ZEISS, Німеччина), об'єктиви зі збільшенням $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$.

Проточну цитофлуориметрію проводили на проточному цитофлуориметрі FACScan (BD Pharmingen), при цьому набирали популяцію з 10000 клітин. Аналіз даних проводили за допомогою програмного забезпечення FSC Express 4 Flow Research Edition (De Novo Software, США). Наявність мертвих клітин визначали із використанням забарвлення пропідієм йодидом (Sigma, Німеччина). Підрахунок кількості живих клітин проводили в гемоцитометрі за стандартною методикою.

Кожний експеримент проводили тричі у трьох повторях. Цифрові дані аналізували з використанням програмного забезпечення Microsoft Office Excel 2007. Достовірність середніх значень двох сукупностей визначали за допомогою t-критерію Стюдента, статистичну достовірність визначали на рівні $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Для того щоб підвищити ефективність диференціювання ПСК в кардіоміоцитів, ми порівняли два новітні методи отримання ЕТ: диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням та формування ЕТ визначеного розміру в мікролунках AggreWell планшет.

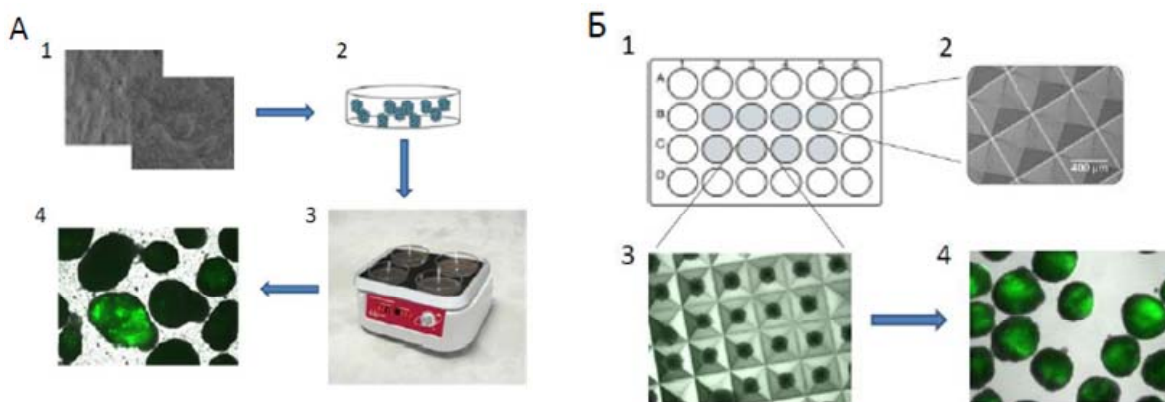


Рис.1. Схематичне зображення процесу диференціювання ПСК в кардіоміоцити різними методами

А – у суспензійній культурі з постійним перемішуванням: 1 – культура ПСК; 2 – ембріоніди тільця в чашці Петрі;

3 – чашки Петрі з ембріонідами тільцями на орбітальному шейкері; 4 – ембріоніди тільця після культивування.

Б – формування ЕТ визначеного розміру в мікролунках AggreWell планшет: 1 – схематичне зображення AggreWell планшет;

2 – схематичне зображення мікролунк; 3- ембріоніди тільця в AggreWell планшеті;

4 – ембріоніди тільця після культивування в AggreWell планшетах

Результати порівняння динаміки диференціювання ІПСК в AggreWell планшетах та суспензійній культурі з постійним перемішуванням показали, що під час диференціювання клітин у планшетах AggreWell спостерігалось подовження часу диференціювання у порівнянні з часом диференціювання в суспензійній культурі (рис. 2.). Так, у суспензійній культурі перші поодинокі GFP+клітини були помітні на 7-у добу диференціювання;

на 9-у добу $1,21 \pm 0,01$ % всіх клітин становили кардіоміоцити, які спонтанно скорочувалися. Максимальну кількість кардіоміоцитів отримували на 11-у добу культивування у чашках Петрі з постійним горизонтальним перемішуванням. Кількість GFP+клітин становила $1,38 \pm 0,02$ %. Починаючи з 13-ої доби культивування, кількість кардіоміоцитів у культурі скорочувалася і становила $0,86 \pm 0,003$ % на 13-удобу і $0,63 \pm 0,01$ % на 15-у добу.

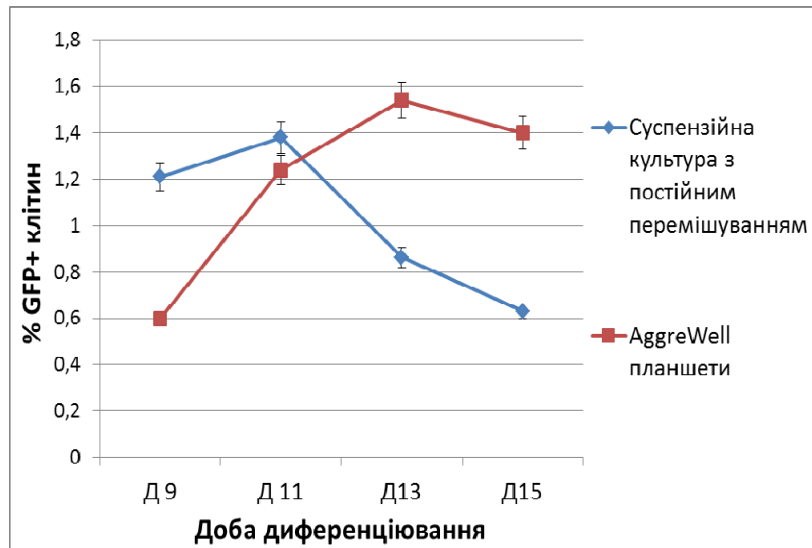


Рис. 2 Динаміка диференціювання ІПСК у суспензійній культурі з постійним перемішуванням та методом формування ET визначеного розміру в мікролунках AggreWell планшетах

При формуванні ET у планшетах AggreWell перші GFP+ клітини спостерігали під флуоресцентним мікроскопом на 8-добу культивування. На 9-добу методом проточної цитофлуориметрії виявляли лише $0,6 \pm 0,01$ % кардіоміоцитів, що вдвічі менше, ніж під час диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням. На 11-добу диференціювання отримували $1,24 \pm 0,02$ % клітин, які спонтанно скорочувалися. І хоча спостерігалася різниця в $0,14 \pm 0,01$ % між культивуванням у планшетах AggreWell і суспензійній культурі, вона була недостовірною ($P \leq 0,05$). Максимальну кількість кардіоміоцитів під час диференціювання у планшетах отримували на 13-добу культивування. Вона становила

$1,54 \pm 0,03$ % GFP+ клітин і була на 44 % більшою, ніж під час диференціювання методом суспензійної культури, та на 10 % більшою, ніж максимальна кількість кардіоміоцитів, отриманих при диференціюванні в суспензійній культурі на 11-добу диференціювання.

Паралельно також було досліджено процес диференціювання ET розміром 500 клітин у суспензійній культурі з постійним перемішуванням та у планшетах AggreWell із додаванням факторів, що сприяють диференціюванню. Використовували такі речовини, як аскорбінова кислота (30 ммоль), ДМСО (1 %), дорзоморфін (2 мкмоль), G-CSF; у контрольних експериментах фактори не додавали (рис.3.).

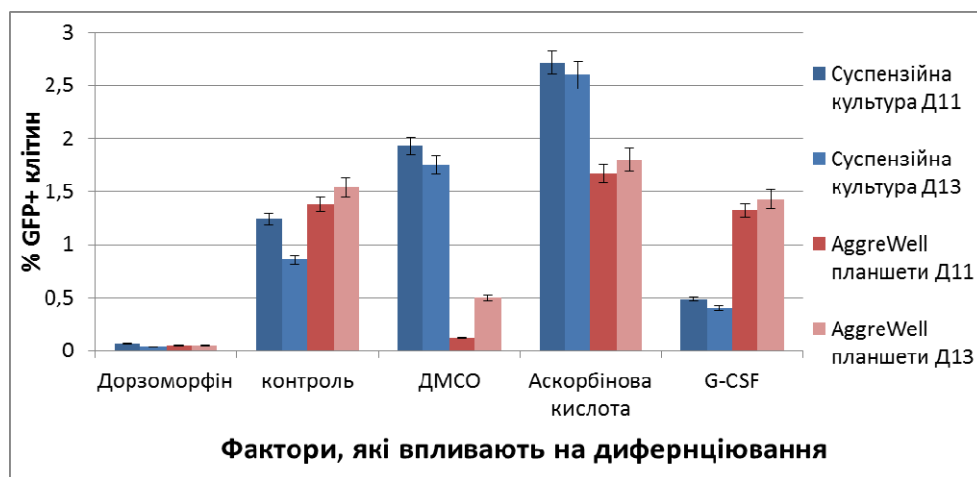


Рис. 3. Ефективність диференціювання ІПСК у кардіоміоцити в планшетах AggreWell та суспензійній культурі з додаванням факторів, які сприяють диференціюванню на 11-у та 13-у добу диференціювання

При застосуванні факторів, що сприяють диференціюванню, тільки в одному випадку в планшетах AggreWell спостерігалася більша кількість кардіоміоцитів, у порівнянні з диференціюванням у суспензійній культурі. Так, застосування G-CSF на 13-добу диференціювання в планшетах AggreWell збільшувало в 2,9 разів в порівнянні з диференціюванням в суспензійній культурі з застосуванням цього ж фактора на

11-добу та в 3,6 разів на 13-добу диференціювання. Було отримано $1,43 \pm 0,001$ % GFP+ клітин в планшетах AggreWell на 13-добу, в той час як у суспензійній культурі отримали $0,49 \pm 0,002$ % і $0,4 \pm 0,003$ % на 11-у та 13-у добу диференціювання.

При застосуванні аскорбінової кислоти і ДМСО відбувалося достовірне збільшення кількості отриманих кардіоміоцитів у суспензійній культурі в порівнянні із

застосуванням планшетів AggreWell. Ефективність диференціювання із застосуванням аскорбінової кислоти в суспензійній культурі в середньому була в 1,5 разу більшою, ніж під час диференціювання в планшетах AggreWell. Так, під час диференціювання в суспензійній культурі на 11-добу було отримано $2,71 \pm 0,07$ % кардіоміоцитів, на 13-добу – $2,6 \pm 0,06$ %, а під час диференціювання в AggreWell планшетах – $1,67 \pm 0,02$ % і $1,8 \pm 0,04$ %, відповідно.

У разі диференціювання з додаванням до живильного середовища ДМСО максимальну кількість кардіоміоцитів отримували в суспензійній культурі на 11-добу диференціювання; вона становила $1,93 \pm 0,03$ % диференційованих клітин. У той же час додавання ДМСО у планшети AggreWell пригнічувало процес диференціювання. Так, якщо в контролі на 11-добу було отримано $1,38 \pm 0,1$ % GFP+ клітин, то в разі додавання фактора їх кількість на цей час зменшувалось до $0,12 \pm 0,001$ % від загальної кількості клітин в суспензії, а на 13-добу вона становила $0,5 \pm 0,02$ % у порівнянні із $1,54 \pm 0,03$ % у контролі.

Додавання дорзоморфіну пригнічувало диференціювання при застосуванні обох методів до межі нульових значень; їх кількість коливалася в межах від $0,04 \pm 0,001$ % до $0,07 \pm 0,001$ % GFP+ клітин.

Диференціювання ІПСК у AggreWell планшетах виявилось більш ефективним ніж диференціювання в суспензійній культурі, проте такий метод займає більше часу. Максимальну кількість диференційованих клітин отримували лише на 13-у добу диференціювання. Крім того, оскільки, даний метод є дуже коштовним, лініє специфічним, довготривалим і має обмеження в кількості утворених агрегатів він не може бути застосований для масового виробництва кардіоміоцитів.

Кількість ЕТ, отриманих з плюрипотентних стовбурових клітин шляхом їх культивування в CO₂-інкубаторі з додаванням середовища диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням становила 15000 – 20000 на одну 10 см чашку Петрі, що в десятки разів перевищувало кількість ЕТ, отриманих з стовбурових клітин спеціалізованих планшетах, де з однієї лунки можна отримати 1200 ЕТ, а загалом з планшети можна отримати до 9600 ЕТ.

Таким чином, на сьогодні найперспективнішим для отримання максимальної кількості кардіоміоцитів *in vitro* для використання в замісній терапії виявився метод отримання ЕТ в суспензійній культурі. Саме він може стати основою для розробки пацієнтспецифічної терапії серцево-судинних захворювань ІПСК в майбутньому.

Висновки. Результати дослідження вказують, що диференціювання ІПСК у AggreWell планшетах без додавання факторів диференціювання виявилось більш ефективним ніж диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням. Проте перевіривши дію дорзоморфіну, ДМСО, аскорбінової кислоти, G-CSF під час диференціювання в суспензійній культурі з постійним перемішуванням та в спеціалізованих планшетах з мікролунками найбільшу кількість кардіоміоцитів отримали на 11-у добу диференціювання методом суспензійної культури з додаванням аскорбінової кислоти. Кількість GFP+ клітин становила $2,71 \pm 0,07$ %.

Список використаної літератури

1. Dani C. Differentiation of embryonic stem cells into adipocytes *in vitro* / C. Dani, A.G. Smith, S. Dessolin [et al.] // J. Cell Sci. – 1997. – Vol. 110. – P.1279–1285. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9202388>

2. Feraud O. Embryonic stem cell derived embryoid bodies development in collagen gels recapitulates sprouting angiogenesis / O. Feraud, Y. Cao, D. Vittet // Lab. Invest. – 2001. – Vol. 81, N 12. – P.1669–1681. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11742037>
3. Hegert C. Differentiation plasticity of chondrocytes derived from mouse embryonic stem cells / C. Hegert, J. Kramer, G. Hargus [et al.] // J. Cell. Sci. – 2002. – Vol. 115. – P.4617–4628. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12415006>
4. Höpfl G. Differentiating embryonic stem cells into embryoid bodies / G. Höpfl, M. Gassmann, I. Desbaillets // Methods Mol. Biol. – 2004. – Vol. 254. – P.79–98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15041757>
5. Hwang N.S. Enhanced chondrogenic differentiation of murine embryonic stem cells in hydrogels with glucosamine / N.S. Hwang, S. Varghese, P. Theprungsirikul [et al.] // J. Biomaterials. – 2006. – Vol. 27, N 36. – P.6015–6023. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16872674>
6. Itskovitz-Eldor J. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies comprising the three embryonic germ layers / J. Itskovitz-Eldor, M. Schuldiner, D. Karsenti [et al.] // Mol. Med. – 2000. – Vol. 6, N 2. – P.88–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10859025>
7. Jones E.A. Hepatic differentiation of murine embryonic stem cells / E. Jones, D. Tosh, D.I. Wilson [et al.] // Exp. Cell Res. – 2002. – Vol. 272, N 1. – P.15–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11740861>
8. Klug M.G. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts / M.G. Klug, M.H. Soonpaa, G.Y. Koh [et al.] // J. Clin. Invest. – 1996. – Vol. 98, N 1. – P.216–224. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8690796>
9. Kramer J. Cells differentiated from mouse embryonic stem cells via embryoid bodies express renal marker molecules / J. Kramer, J. Steinhoff, M. Klinger [et al.] // Differentiation. – 2006. – Vol. 74, N 2-3. – P.91–104. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16533308>
10. Kurosawa H. Methods for inducing embryoid body formation: *in vitro* differentiation system of embryonic stem cells / H. Kurosawa // Journal of bioscience and bioengineering. – 2007. – Vol. 103, N 5. – P.389–398. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17609152>
11. Lee M.Y. High density cultures of embryoid bodies enhanced cardiac differentiation of murine embryonic stem cells / M.Y. Lee, E. Cavaghi Bozkulak, S. Schliffke [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 2011. – Vol. 416, N 1-2. – P.51–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22079290>
12. Meissner A. Direct reprogramming of genetically unmodified fibroblasts into pluripotent stem cells / A. Meissner, M. Wernig, R. Jaenisch // Nat Biotechnol. – 2007. – Vol. 25, N 10. – P.1177–1181. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17724450>
13. Plachta N. Developmental potential of defined neural progenitors derived from mouse embryonic stem cells / N. Plachta, B. Bibel, K.L. Tucker [et al.] // Development. – 2004. – Vol. 131, N 21. – P.5449–5456. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15469972>
14. Kennedy M. A common precursor for primitive erythropoiesis and definitive haematopoiesis / M. Kennedy, M. Firpo, K. Choi [et al.] // Nature. – 1997. – Vol. 386, N 6624. – P.488–493. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9087406>
15. Takahashi T. Ascorbic acid enhances differentiation of embryonic stem cells into cardiomyocytes / T. Takahashi, B. Lord, P. Schulze [et al.] // Circulation. – 2003. – Vol. 107, N 14. – P.1912–1916. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12668514>
16. Wartenberg M. The embryoid body as a novel *in vitro* assay system for angiogenic agents / M. Wartenberg, J. Günther, J. Hescheler, and H. Sauer // Lab. Invest. – 1998. – Vol. 78, N 10. – P.1301–1314. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9800956>
17. Yamada T. *In vitro* differentiation of embryonic stem cells into hepatocyte-like cells identified by cellular uptake of indocyanine green / T. Yamada, M. Yoshikawa, S. Kanda [et al.] // Stem Cells. – 2002. – Vol. 20, N 2. – P.146–154. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11897871>
18. Yamada T. *In vitro* functional gut-like organ formation from mouse embryonic stem cells / T. Yamada, M. Yoshikawa, M. Takaki [et al.] // Stem Cells. – 2002. – Vol. 20, N 1. – P.41–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11796921>
19. Yoshida Y. Recent stem cell advances: induced pluripotent stem cells for disease modeling and stem cell-based regeneration / Y. Yoshida, S. Yamanaka // Circulation. – 2010. – Vol. 122. – P.80–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20606130>
20. Zweigert R. Generation of confluent cardiomyocyte monolayers derived from embryonic stem cells in suspension: a cell source for new therapies and screening strategies / R. Zweigert, M. Burg, E. Willbold [et al.] // Cytotherapy. – 2003. – Vol. 5, N 5. – P.399–413. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14578102>

References

1. Dani C, Smith AG, Dessolin S, Leroy P, Staccini L, Villageois, et al. Differentiation of embryonic stem cells into adipocytes *in vitro*. J. Cell Sci. 1997;110:1279–85.

2. Feraud O, Cao Y, Vittet D. Embryonic stem cell derived embryoid bodies development in collagen gels recapitulated sprouting angiogenesis. *Lab. Invest.* 2001;81(12):1669–81.
3. Hegert C, Kramer J, Hargus G, Müller J, Guan K, Wobus AM, et al. Differentiation plasticity of chondrocytes derived from mouse embryonic stem cells. *J. Cell. Sci.* 2002;115(Pt 23):4617–28.
4. Höpfl G, Gassmann M, Desbaillets I. Differentiating embryonic stem cells into embryoid bodies. *Methods Mol. Biol.* 2004;254:79–98.
5. Hwang NS, Varghese S, Theprungsirikul P, Canver A, Elisseeff J. Enhanced chondrogenic differentiation of murine embryonic stem cells in hydrogels with glucosamine. *Biomaterials.* 2006;27(36):6015–23.
6. Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies comprising the three embryonic germ layers. *Mol. Med.* 2000;6(2):88–95.
7. Jones EA, Tosh D, Wilson DI, Lindsay S, Forrester M. Hepatic differentiation of murine embryonic stem cells. *Exp. Cell Res.* 2002;272(1):15–22.
8. Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, Field LJ. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J. Clin. Invest.* 1996;98(1):216–24.
9. Kramer J, Steinhoff J, Klinger M, Fricke L, Rohwedel J. Cells differentiated from mouse embryonic stem cells via embryoid bodies express renal marker molecules. *Differentiation.* 2006;74(2–3):91–104.
10. Kurosawa H. Methods for inducing embryoid body formation: in vitro differentiation system of embryonic stem cells. *Journal of bioscience and bioengineering.* 2007;103(5):389–98.
11. Lee MY, Cagavi Bozkulak E, Schliffke S, Amos PJ, Ren Y, et al. High density cultures of embryoid bodies enhanced cardiac differentiation of murine embryonic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;416(1–2):51–7.

12. Meissner A, Wernig M, Jaenisch R. Direct reprogramming of genetically unmodified fibroblasts into pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol.* 2007;25(10):1177–81.
13. Plachta N, Bibel B, Tucker KL, Barde Y. A developmental potential of defined neural progenitors derived from mouse embryonic stem cells. *Development.* 2004;131(21):5449–56.
14. Kennedy M, Firpo M, Choi K, Robertson S, Kabrun N, Keller G. A common precursor for primitive erythropoiesis and definitive haematopoiesis. *Nature.* 1997;386(6624):488–93.
15. Takahashi T, Lord B, Schulze PC, Fryer RM, Sarang SS, Gullans SR, Lee RT. Ascorbic acid enhances differentiation of embryonic stem cells into cardiomyocytes. *Circulation.* 2003;107(14):1912–6.
16. Wartenberg M, Günther J, Hescheler J, Sauer H. The embryoid body as a novel in vitro assay system for antiangiogenic agents. *Lab. Invest.* 1998;78(10):1301–14.
17. Yamada T, Yoshikawa M, Kanda S, Kato Y, Nakajima Y, Ishizaka S, Tsunoda Y. In vitro differentiation of embryonic stem cells into hepatocyte-like cells identified by cellular uptake of indocyanine green. *Stem Cells.* 2002;20(2):146–54.
18. Yamada T, Yoshikawa M, Takaki M, Torihashi S, Kato Y, Nakajima Y, et al. In vitro functional gut-like organ formation from mouse embryonic stem cells. *Stem Cells.* 2002;20(1):41–9.
19. Yoshida Y, Yamanaka S. Recent stem cell advances: induced pluripotent stem cells for disease modeling and stem cell-based regeneration. *Circulation.* 2010;122(2):80–7.
20. Zweigert R, Burg M, Willbold E, Abts HF, Ruediger M. Generation of confluent cardiomyocyte monolayers derived from embryonic stem cells in suspension: a cell source for new therapies and screening strategies. *Cytotherapy.* 2003;5(5):399–413.

Надійшла до редколегії 01.04.16

Г.Будаш, асист., Н. Билько, д-р мед. наук, проф.

Национальный университет "Киево-Могилянская академия", Киев, Украина

ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК В КАРДИОМИОЦИТЫ В СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ С ПОСТОЯННЫМ ПЕРЕМЕШИВАНИЕМ И В СПЕЦИАЛЬНЫХ ПЛАНШЕТАХ С МИКРОЛУНКАМИ

Для того чтобы повысить эффективность дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток мыши в кардиомиоциты, мы сравнили два метода получения эмбрионидных телец: дифференцирование в суспензионной культуре с постоянным перемешиванием и формирования эмбрионидных телец определенного размера в микролунках AggreWell планшет. Использовали трансгенную клеточную линию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток AT25. Клетки линии экспрессировали IRES-фланкированный зеленый флуоресцентный белок (eGFP), под контролем кардиоспецифического α -MHC промотора. Для проверки эффективности процессов дифференцировки были применены методы проточной цитометрии и флуоресцентной микроскопии. Дифференцирование индуцированных плюрипотентных клеток в AggreWell планшетах без добавления факторов дифференцировки оказалось более эффективным, чем дифференцирование в суспензионной культуре с постоянным перемешиванием. Однако действие дорсоморфина, ДМСО, аскорбиновой кислоты, G-CSF выше перечисленными методами наибольшее количество кардиомиоцитов получили на одиннадцатые сутки методом суспензионной культуры с добавлением аскорбиновой кислоты. Количество GFP+ клеток составила $2,71 \pm 0,07\%$.

Ключевые слова: плюрипотентные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, эмбрионидные тельца, кардиомиоциты, дифференцирование.

G. Budash, assistant, N. Bilko, DSc

National University of "Kyiv-Mohyla Academy", Kyiv, Ukraine

INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS DIFFERENTIATION INTO CARDIOMYOCYTES BY ROTATING SUSPENSION CULTURE AND IN SPECIFIC PLATES WITH MICROWELLS

In order to enhance the differentiation of induced pluripotent cells into cardiomyocytes, we compared two methods of embryoid bodies formation: differentiation in rotating suspension culture and formation of embryoid bodies from a predetermined numbers of pluripotent stem cells in microwells of AggreWell plates. We used transgenic murine induced pluripotent stem cell line AT25. Cell line expressed IRES-flanked enhanced green fluorescent protein (eGFP) under the control of cardiac α myosin heavy chain promoter (α MHC). We applied flow cytometry and fluorescence microscopy in order to test the efficiency of differentiation processes. Thus, differentiation of pluripotent stem cells in AggreWell plates without adding differentiation factors was more effective than differentiation in rotating suspension culture. However, we obtained the most amounts of cardiomyocytes on the 11-th day in rotating suspension culture with ascorbic acid, after we applied dorsomorphin, DMSO, ascorbic acid, G-CSF with the above-mentioned methods. The amount of GFP+ cells was $2,71 \pm 0,07\%$.

Keywords: pluripotent stem cells, induced pluripotent stem cells, embryoid bodies, cardiomyocytes, differentiation.

УДК 582.677

Р. Палагеча, канд. биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев,
А. Галениец, зав. лабор. древесных растений,
С. Томсоне, д-р мед. наук
Ботанический сад Латвийского университета, Рига,
Н. Таран, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев

**ПРЕДСТАВИТЕЛИ СЕМЕЙСТВА MAGNOLIACEAE JUSS.,
ПРОИЗРАСТАЮЩИЕ В РАЗНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОНАХ,
В КОЛЛЕКЦИЯХ БОТАНИЧЕСКИХ САДОВ КИЕВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО И ЛАТВИЙСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**

Проведено сравнение видового состава листопадных магнолий, произрастающих в ботанических садах им. акад. А.В. Фомина НУЦ "Институт биологии" Киевского национального университета имени Тараса Шевченко и Латвийского университета (Рига). 9 видов, 1 разновидность и 3 гибрида были отобраны как идентичные для коллекций обоих ботсадов и использованы для фенологических наблюдений. Исследованные растения устойчивы к зимним и летним климатическим факторам, отмечены параметры, определяющие их пластичность к меньшему количеству осадков в Украине и Латвии, по сравнению с местами их природного произрастания, и расширяющие возможность использования экзотов в озеленении и ландшафтном дизайне мегаполисов.

Ключевые слова: магнолия, интродукция, изменения климата.

Вступление. В докладе Международного совета ботанических садов (Botanic Gardens Conservation International – BGCI) по охране растений, опубликованном 18-го марта 2016 года [1], обнародована неутешительная информация о том, что многие виды реликтовых растений семейства *Magnoliaceae* находятся под угрозой исчезновения. В дикой природе почти наполовину (48%) сократилось число видов магнолий, одной их древнейших групп растений, которые пережили эпохи глобальных климатических изменений. Исчезновение магнолий вызвано главным образом изменением среды их обитания из-за резких колебаний климата. Угрожающий Красный список (IUCN Red List Categories and Criteria) видов магнолий стимулирует ученых и сторонников защиты природы сосредоточиться на получении новых знаний о стратегиях защиты этих видов. Именно коллекции *ex situ* ботанических садов, дендрариев, семенных банков являются жизненно важной гарантией сохранности видов магнолий и могут быть использованы для исследований уникальных адаптивных механизмов реликтов, их распространения в декоративном садоводстве, а также для репатриации в дикую природу. Экспериментальные данные подтверждают [2], что хотя такие реликтовые виды, как магнолии выступают остатками древней флоры и являются инертными по отношению к нынешним климатическим условиям, их нельзя рассматривать как растения с исчерпанным адаптивным потенциалом. Большая способность организма изменять метаболические реакции в соответствии с условиями существования определяет расширение его нормы реакции и большую способность к адаптации. Биологические свойства растений – цветение, созревание семян, продолжительность вегетации, морфология, а также возможность распространения, перезимовки, устойчивости к болезням и т.д. являются важными факторами успешной адаптации. Именно эти фенологические параметры были положены в основу совместных исследований Ботанического сада Латвийского университета и Ботанического сада имени академика А.В. Фомина Киевского национального университета имени Тараса Шевченко для реализации задач Глобальной стратегии сохранения растений [3] и, представителей семейства *Magnoliaceae*, в частности. Украинские ученые имеют более чем 100 летний, а Латвийские – примерно 60 летний опыт интродукции этих растений в почвенно климатические условия своих стран. Магнолии широко применяются в качестве деко-

ративных растений в обеих странах с обязательным ежегодным определением адаптационных возможностей новых таксонов. Возможность сравнить интродуцированные магнолии даст ценную информацию о пластичности вида и позволит расширять ассортимент таксонов в разных климатических зонах в соответствии с глобальными температурными колебаниями. Целью данного исследования было сравнение видового состава семейства *Magnoliaceae*, произрастающих *ex situ*, в климатических условиях Украины и Литвы, для мониторинга их фенологии и выявления физиолого-биохимических особенностей пластичности.

Материалы и методы. В исследовании использовали многолетние данные фенологических наблюдений за представителями рода *Magnolia* L. ботанических садов им. акад. А.В. Фомина НУЦ "Институт биологии" Киевского национального университета имени Тараса Шевченко и Латвийского университета.

Объекты исследований: 9 видов, 1 разновидность и 3 гибрида листопадных магнолий, *Magnolia acuminata* L., *M. cylindrica* E. H. Wilson, *M. kobus* DC., *M. kobus* 'Borealis', *M. obovata* Thunb., *M. salicifolia* Maxim., *M. sieboldii* K. Koch, *M. stellata* Maxim., *M. tripetala* L., *M. wilsonii* Rehder, *M. x soulangeana* Soul. – Bod., *M. x kewensis* Pearce, *M. x loebneri* Kache, были выявлены как идентичные для коллекций обоих ботсадов и были использованы для фенологических наблюдений.

Характеристика климатически условий произрастания магнолий: одним из основных лимитирующих факторов интродукции магнолий на территории Украины являются экстремальные зимние условия. Киевские зимы отличаются резкими изменениями погоды (от морозов до оттепелей) с суточной амплитудой колебания температуры до 20 – 25 °С, что для растений с непродолжительным периодом покоя, в частности, магнолий достаточно опасно.

Для культивирования магнолий важным фактором является количество осадков. В зоне Степи Украины оно составляет 320 мм, в Закарпатье и Прикарпатье – 620 мм, в Киеве – 590 мм. Среднее годовое количество осадков в Риге составляет около 670 мм. А в районах, где магнолии растут в естественных условиях, сумма осадков значительно выше: в Японии – 800 – 900 мм, Центральном Китае – 1100 – 1200 мм, Гималаях – 1300 – 3060 мм, на Корейском полуострове – 940 мм, на Атлантическом побережье Северной Америки – 1000 – 1500 мм [1].

Западная и центральная части Латвии расположены на берегу Балтийского моря и Рижского залива, что существенно влияет на ее погодные условия. В восточных районах страны это влияние значительно меньше, поэтому климат Латвии можно назвать переходящим – от морского, к континентальному. Согласно данным многолетних наблюдений синоптиков среднегодовая температура в Латвии составляет +5,9°C. Самый теплый месяц – июль, когда средняя температура воздуха достигает +17°C, а средняя максимальная +21,5°C. Самые холодные месяцы – это январь и февраль, средняя температура в эти месяцы составляет около -4,6°C, а средняя минимальная -7,7°C. Абсолютный минимум температур в Украине составляет от -25 до -35 °C, на Южном побережье Крыма -15 °C, для сравнения в Японии от -10 до -20 °C, в Центральном Китае – от -10 до -15 °C, в юго-Восточном Китае, на Корейском полуострове и в Гималаях от -15 до -30 °C, в Северной Америке от -16 до -28 °C.

Поэтому, выращивая магнолии в Украине и Латвии, необходимо, прежде всего обеспечить им должный уход, в том числе полив, мульчирование приствольных кругов. Это нивелирует негативное воздействие на растения недостатка влаги в почве и воздухе и значительно расширяет возможность интродукции данных экзотов.

Результаты и их обсуждения. Семейство *Magnoliaceae* Juss. – одно из древнейших семейств покрытосеменных. Отпечатки листьев, плодов, семян, цветков магнолиевых известны с ценоманских отложений в Европе и Восточной Америке. Палеонтологические находки свидетельствуют о распространении древних представителей семейства в меловом и третичном периодах по всему северному полушарию современных арктических областей. Их ископаемые остатки найдены в северной Европе, Восточной и Северной Америке, на Аляске, в Гренландии, на Шпицбергене, на территории Украины – в палеоцене Путивля [1, 7]. Из 12 родов в семействе, род *Magnolia* L. является самым многочисленным и насчитывает 242 вида [4, 5]. Магнолии относятся к древнейшим цветочным растений, а по данным *Callaway D.J.* [6], одни из первых покрытосеменных, которые были распространены на планете более 140 млн. лет назад. Род магнолия, разделен на два подрода: *Magnolia* (пыльники у растений раскрываются внутрь, цветки развиваются позже листьев), *Yulania* (пыльники раскрываются латерально или сублатерально, цветки развиваются рано) и 11 секций.

Секция *Buergeria* (Sieb. Et Zucc.) Dandy. В секцию входит пять видов магнолий, произрастающих в умеренных районах Азии. Из пяти видов три из Японии (*M. kobus*, *M. salicifolia* M. *stellata*) и два из Китая (*M. biondii* – одна из наиболее северных китайских магнолий, сходна с *M. salicifolia*) и *M. cylindrica* (близка к *M. kobus*). Цветут до распускания листьев. Отличаются устойчивостью как к зимним, так и к летним климатическим условиям Украины и Латвии.

***Magnolia kobus* DC.** (Магнолия кобус). Дерево до 20 м выс., в естественных условиях и до 10-15 м выс. в культуре. Кора ствола темно-серая, слегка трещиноватая, у молодых побегов коричнево-оливковая, гладкая у многолетних серовато-коричневая. Крона широкопирамидальная или широкоовальная 6-7 м в диаметре. Листовые почки слегка опушены, цветочные значительно крупнее, шелковистоопушенные. Листья широкообратнояйцевидные, короткозаостренные на верхушке, клиновидные в основании 10-12 см дл., до 6 см шир., зеленые сверху, бледнее снизу. Черешки тонкие, до 2,5 см дл. Цветки ароматные, молочно-белые, 10 см в диаметре, чашелистиков три, они мелкие, лепестков шесть, на на-

ружной стороне у основания тонкие пурпурные полоски. Тычинки многочисленные, гинецей из многих плодоситиков. Плоды скрученные, на солнечной стороне ярко-малиновые, 4-8 см дл., 1-2 см. шир. Семена черные, 1 см в диаметре, в малиновой мясистой оболочке – саркотесте. Цветет со второй декады и до конца апреля, до распускания листьев, плодоносит в начале октября.

Естественный ареал: Центральная и Северная Япония, южная часть Корейского полуострова, где растет по склонам гор, у горных потоков. Интродуцирована в Англию в 1879 г. В Украине культивируется с 1892 года. Наиболее широко представлена в ботанических садах и дендропарках Украины.

В Ботаническом саду им. акад. А.В. Фомина она растет на участке "Система растений". 44-летнее дерево 6 м высотой, 5 м в ширину имеет густую широко разветвленную крону. Ежегодно в середине апреля покрывается до появления листьев многими белыми бутонами, которые частично покрыты густо опушенными чешуйками. С середины и до конца апреля растение цветет тысячами душистых цветков. В то же время развиваются листья, а в мае, когда заканчивается цветения, магнолия покрывается листьями.

В культуре есть разновидность магнолии кобус – ***Magnolia kobus* var. *borealis* Sarg.** Это дерево до 25 м высотой. Произрастает в Японии на о. Хоккайдо. Листья обратнояйцевидные, до 15 см длиной. Цветки белые душистые, 12-15 см в диаметре, чашевидные, лепестков 6-9. Цветет в апреле. Отличается от основного вида большим размером дерева и большими листьями и цветками. В "Саду магнолий" растут еще 9 крупных растений на склонах.

В ботаническом саду Латвийского университета магнолию кобус выращивают с 1959 г. 57-летняя магнолия выращена из семян полученных из Польши (Познань) и Германии.

***Magnolia salicifolia* (Sieb. Et Zucc.) Maxim.** Магнолия иволистная известна в Японии под названием Таму-шиба. В диком виде она растет в Центральной и Южной Японии на островах Хонсю, Сикоку, Кюсю, Куншу, в горах на высоте 600-1800 м на влажных впадинах вдоль горных рек.

Впервые магнолия иволистная, или анисовая была описана в 1846 г. под названием *Buergeria salicifolia* Sieb. et Zucc. C.J. Maximowicz, который посетил Японию с экспедицией, хорошо изучил это растение и в 1872 г. дал ей название *Magnolia salicifolia* (Sieb. Et Zucc.) Maxim., которое вошло в международную номенклатуру.

Магнолия иволистная растет небольшим деревом с пирамидальной кроной или большим кустом до 8 м высотой с прямыми ветвями. Кора побегов светло-зелено-коричневая. Vegetативные почки голые, удлинённые, длиной до 0,6 см. Цветочные почки конусообразной формы длиной до 2-3 см, 0,7-1,5 см в ширину, густоопушенные шелковистыми ворсинками. Листья узкоэллиптические, ланцетовидные, длиной 12-18 см, шириной 3,0 см, сверху – светло-зеленые, снизу – сизоватые, слегка опушенные, жилки желтоватые. Черешок листа длиной до 2 см. Цветки колокольчатые, 8-10 см высотой, молочно-белые, расположены на концах побегов. Чашелистиков 3, длиной 2 – 2,5 см. Они клиновидные, со светло-зеленым оттенком. Цветок имеет 6 лепестков. Внешние лепестки ленто-лопатообразные, длиной 8-10 см, три внутренних шире и короче, более обратнояйцевидные. Цветоножка обнаженная, что является характерным признаком этого вида.

Магнолия иволистная начинает развиваться в апреле, когда температура воздуха достигает + 10°C, резко увеличиваются цветочные почки, которые цветут

до появления листьев, когда температура повышается до 15-18°C. Это бывает, как правило, в первой декаде или в середине апреля, продолжительность цветения 8-12 дней. Побеги начинают рост в мае. Средний прирост 15-25 см. В первых числах июня большинство побегов рост прекращают, происходит формирование цветочных почек на их верхушках. В июле цветочные почки уже бывают хорошо сформированными. Плодоносит в сентябре. Плод – многолистков, 3 – 4 см длиной, с освещенной стороны плоды розового цвета и немного изогнутой формы.

Размножается магнолия иволистная семенами, которые имеют глубокий морфофизиологический покой и нуждаются в стратификации в увлажненной среде при низких положительных или переменных температурах. Иногда семена прорастают на второй год. Довольно быстрый и перспективный метод размножения этого вида – вегетативный, путем прививки ее на саженцах устойчивой и близкородственной магнолии кобус. На 2-3-й год после прививки саженцы магнолии иволистной начинают цвести и дают прирост до 50 см.

В Ботаническом саду Киевского университета на реликтовом участке растет три экземпляра магнолии иволистной, которые привиты на магнолии кобус. 39-летние растения имеют пирамидальную форму кроны, высоту 10-12 м, диаметр кроны 4,0-4,5 м.

В ботаническом саду Латвийского университета произрастает 16-летний экземпляр, получен из ботанического сада Киевского университета в 2000 году (семена). Ежегодно в начале весны до появления листьев они обильно цветут.

Magnolia stellata (Sieb. Et Zucc.) Maxim (Магнолия звездчатая) очень распространена в Японии. Это любимая магнолия японцев, которая известна под местным названием Shide-Kobushi. Она растет в горных лесах южного Хонсю (Honshu) в районе Токайдо. Немецкие ученые Ph. Siebold и J. Zuccarini в 1835 во время экспедиции в Японию определили это растение как *Buergeria stellata* (Sieb. Et Zucc.). W. Robinson, который изучал флору Японии, дал ей название *Magnolia halleana* Robinson, а в 1872 г. Маленькую магнолию с белыми звездчатыми многолепестковыми цветками он назвал *Magnolia stellata* (Sieb. Et Zucc.) Maxim. Американский ученый B. Blackburn считает, что магнолия звездчатая является карликовой многолепестковой формой магнолии кобус и предложил название *Magnolia kobus* var. *stellata* Black.

Магнолия звездчатая – компактный куст высотой до 3 м, с диаметром кроны 3,5 м. Побеги светло-серые, тонкие, на их концах расположены цветочные почки длиной 2,5-3 см, опушенные шелковистыми ворсинками. Листья длиной 5-8 см, удлинено-овальные с темно-зеленой блестящей поверхностью. Цветки белые, имеют 12 – 24, иногда 33 узких лепестков длиной 4-6,5 см, шириной 0,6-1,4 см. Большинство лепестков во время цветения размещаются радиально, благодаря чему она имеет вид звезды. В апреле, если температура воздуха достигает выше 15 °C, магнолия звездчатая начинает цвести. Она одна из первых встречает весну обильным цветением до появления листьев. Многочисленные цветы обильно покрывают низкий компактный куст, за что ее называют "снежным комом". Сейчас известно много культиваров или садовых форм, отличающихся размером, количеством и цветом лепестков, формой и размерами листьев, а также габитусом растения.

В Ботаническом саду Киевского университета произрастает 6 экземпляров магнолии звездчатой. 31-летнее растение магнолии звездчатой достигает высоты 3,2 м, диаметр кроны имеет 3,5 м. Цветки бе-

лые, в диаметре 8-11 см, с 12-18-ю лепестками, звездчатые, с приятным ароматом. Цветет в апреле до появления листьев. У М. звездчатой "Rosea" лепестки в бутонах и во время раскрытия цветка насыщено розового цвета, а затем цветок становится белым с нежно-розовым оттенком. Чрезвычайно декоративная магнолия звездчатая, привита на магнолии кобус со штамбом 0,7-0,9 м. В коллекции есть два растения 20-летнего возраста 3,5 м высотой, с диаметром кроны 2,7 м. Весной почти одновременно расцветает много белых и звездчатых цветков, которые образуют ярко-белый шар к появлению листьев. Магнолия звездчатая – одна из высокодекоративных растений, особенно во время бутонизации и цветения.

В ботаническом саду Латвийского университета произрастает с 1980 г. Семена получены из ботанического сада им. Гришко НАНУ, Киев. Маленькие размеры, обильное цветение, много декоративных форм этого растения – качества, которые привлекают специалистов по ландшафтному дизайну в создании садов на небольшой территории совместно с вечнозелеными растениями.

Magnolia cylindrica Wilson. Магнолию цилиндрическую в 1925 описал китайский ботаник Чинг (R.C. Ching). Она растет в тени по оврагам на высоте 1000-1500 м. В 1927 г. ее нашел Вильсон в западной части провинции Anhwei на высоте 1280 м. Небольшое листопадное дерево до 10 м высотой. Молодые побеги красно-коричневые, опушенные шелковистыми ворсинками. Кора ствола серая. Зимующие почки маленькие, густо опушенные шелковистыми ворсинками. Листья от узкой до широкообратнояйцевидной формы длиной 10-16 см, шириной 4,5 – 9,5 см, тупые на верхушке, клиновидные у основания. Темно-зеленые, с четкой линией жилок сверху, нижняя поверхность – светлая, серо-зеленая, с придавленными ворсинками по средним жилкам. Черешок листа 1,5-3 см. Цветок имеет 6 лепестков белого цвета с розовым оттенком вдоль жилок, лопатообразной удлиненой формы, внутренние три – длиной 10 см, шириной 3,5 см, внешние три короткие и узкие. Цветоножка опушенная шелковистыми ворсинками. Три чашелистика маленькие, быстро отмирают. Тычинки с бледно-розовыми тычиночными нитками. Гинецей зеленый, выступающий. Плоды цилиндрической формы, длиной 5-7,5 см, 2-2,5 см шириной, свисающие, зеленые, с красными или пурпурными пятнами на светлой стороне. По форме и размеру цветков подобная магнолии обнаженной, но у магнолии обнаженной 9 лепестков. У магнолии цилиндрической есть только 6, а внешняя мутовка создает чашечку с чашелистиков, как у магнолий кобус и иволистной. Магнолия цилиндрическая – зимо- и засухоустойчива. Цветет рано весной в апреле до появления листьев, декоративная и заслуживает введение в озеленение. В ботаническом саду им. акад. А.В. Фомина произрастает 16 летний экземпляр *M. cylindrica* – 3,3 м высотой и 2,5 шириной. Ежегодно обильно цветет, плодоносит. В ботаническом саду Латвийского университета культивируется с 1986 г. Семена получены из Шанхая (Китай).

Секция Oyama Nakai. Секция включает четыре вида листопадных магнолий, произрастающих в умеренных районах Восточной Азии. Все виды очень популярны в культуре благодаря прекрасным цветкам с белоснежными лепестками, контрастными по цвету пурпурно-красными тычинками и зеленым гинецеем. В секцию входят *M. sieboldii*, *M. sinensis*, *M. wilsonii* и *M. globosa*. Магнолии этой секции представляют большой интерес для интродукции в Украине. *M. wilsonii* и *M. Sieboldii* в условиях интродукции в Киеве устойчивы.

Magnolia wilsonii (Finet. Et Gagner.) Rehd. (Магнолия Вильсона) произрастает в Китае в густых лесах на высоте 2100 – 2700 м в западной части провинции Szechwan, южной части Yunnan и на востоке провинции Sikang. В 1906 году она была описана A. Finet и F. Gagnepain как *Magnolia parviflora* var. *wilsonii*. В 1913 г. A. Rehder дает название *Magnolia wilsonii* (Finet. Et Gagner.) Rehd. A. W. Smith описывает эту магнолию под названием *Magnolia taliensis* W. W. Sm. [3]. Магнолия Вильсона – листопадный кустарник или небольшое дерево до 8 м высотой, с кроной диаметром 3,5 – 4 м. Кора ветвей коричневая с чечевичками, побеги тонкие, темно-красно-пурпурные, сначала опушенные, затем голые. Зимние почки смешанные, зеленовато-коричневые, опушенные буроватыми волосками. Цветочные почки сначала размещены в прилистниках. Листья удлинненно-овальные, овально-ланцетные, длиной 12-18 см, шириной 4-6 см, заостренные на верхушке, округлые у основания, зеленые и гладкие сверху, снизу – сизо-зеленые, опушенные шелковистыми светло-коричневыми волосками. Черешок листа имеет длину 2-4 см со следами от прилистников.

Цветы появляются после распускания листьев. Сначала они чашевидные, затем блюдцевидные, свисающие, до 12 см в диаметре, на тонких шелковистых цветоножках, длиной 1,5 – 4,5 см, белые, душистые. Лепестков 9, иногда 12-15, внешние три – узколанцетные к лопатовидным, заостренные или округлые на верхушке и широкие у основания. Внутренние лепестки длиной 4 – 7,5 см завернуты внутрь, округлые у верхушки и коротко-суженные у основания. Тычинок много, розово-пурпурные, гинецей светло-зеленый. Свисающие цветки очень ароматные, по форме напоминают цветок ландыша, только гораздо больше. Цветут в мае-июне неоднократно, продолжительно. Плоды – многолистков, цилиндрические свисающие, розово-малиновые, длиной 5-10 см. Семена неправильно-округлые, заостренные на верхушке, темно-коричневые. Плодоносит в конце сентября. Магнолия Вильсона интродуцирована в Ботаническом саду им. А.В. Фомина из семян полученных из арборетума Рогов (Польша). Растет в виде куста высотой 1,2 – 1,5 м, цветет, зимостойка. Магнолия Вильсона – одна из самых декоративных позднецветущих магнолий. Отличается белыми цветками с контрастными розово-пурпурными тычинками и приятным ароматом. Заслуживает размножения и введения в озеленение садов и парков Украины. В ботаническом саду Латвийского университета интродуцируют этот вид с 2004 года. Семена получены из Польши (Рогов).

Magnolia sieboldii K.Koch. (Магнолия Зибольда) в природе растет в Японии, Корее, Маньчжурии и восточной провинции Китая Ангва вдоль горных рек. В Японии известна под названием "Oyamarende", в Китае – "Tennyoka". В 1846 P.F. Siebold и G. Zuccarini определили эту магнолию как *Magnolia perviflora* Sieb. et Zucc., а в 1853 году K. Koch регистрирует ее под названием *M. sieboldii* K.Koch. Магнолия Зибольда – большой листопадный куст или невысокое дерево до 6-8 м высотой с раскидистой кроной до 7,5 м в ширину. Ветви светло-серые, побеги тонкие серебристо-серые, сначала густо опушенные, позже голые. Почки смешанные, густо опушенные рыжевато-коричневыми ворсинками. Листья широкоэллиптические или широкоовальные, длиной 10-15 см, 5,5-9 см шириной, у основания округлые, на верхушке коротко заостренные. Сверху листья зеленые, снизу – сизо-зеленые, вдоль центральной жилки и боковые жилки шелковисто-опушенные. Цветки сначала чашевидные, позднее становятся блюдцевидные, 9-10 см в диаметре, белые, душистые. Чашелис-

тиков 3, несколько меньших или одинаковые, отогнутые. Лепестков 6-9. Они лопатообразные, широкообратнояйцеобразные, вогнутые, закругленные на верхушке и клиновидные у основания, длиной 5-6 см, шириной 3,5-4,4 см, белые. Тычинки красно-пурпурные. Это вариабельный вид, имеет несколько многолепестковых форм. Тычинки многочисленные, красно-пурпурные, гинецей светло-зеленый. Самой яркой особенностью этого вида является большая, длиной 5-7 см, цветоножка. Цветки не свисают, а держатся горизонтально.

Цветет магнолия Зибольда после появления листьев – с середины мая по июль – иногда одиночные цветки бывают в августе. Плод – многолистков, удлинненно обратнояйцеобразная, длиной 4-7 см, малиновая. Семена в красной оболочке, почковидные, неправильно округлые. Плодоносит в конце сентября – в октябре. Всхожесть семян – 70-80%. В Ботаническом саду им. акад. А.В. Фомина 28-летний куст растет на реликтовом участке. Высота его 2,8 м, диаметр кроны 4,5 x 4,5 м. Ежегодно цветет блюдцевидными цветками с красно-пурпурными тычинками, окруженными белыми лепестками. Магнолия Зибольда зимостойка, распространена далеко на Север, растет в Швеции в г. Осло, в России в г. Санкт-Петербург, комфортно растет в г. Владивосток. В Украине мало распространена, размножается семенами и прививкой на магнолии кобус. Магнолия Зибольда в культуре не превышает 3 м. Вильсон отмечал 6 м, Джонстон в северо-восточной части Кореи регистрировал больше экземпляр – 23,5 м. Из форм известный японский культивар "Kwanso" с 22 лепестками околоцветника по сравнению с нормой 9. Магнолия Зибольда стала родоначальником *M. x watsonii*. Рекомендуется для последующего распространения и использования в садово-парковом искусстве.

В ботаническом саду Латвийского университета культивируют данный вид с 1960 г. Семена получены из Ливерпуля (Великобритания).

Секция *Rytidospermum* Spach. Секция включает девять видов листопадных деревьев и является одной из двух секций, представители встречаются в Азии и Америке. Они отличаются оригинальным зонтикообразным орнаментом листьев, вследствие чего американские виды известны как зонтичные деревья. Как правило, магнолии этой секции цветут после распускания листьев. Представители этой секции *M. obovata*, *M. tripetala*, *M. officinalis* успешно интродуцированы в ботаническом саду Киевского университета, а *M. obovata* единственный представитель рода в природной флоре России (Курильские о-ва, о. Кунашир).

Magnolia obovata Thunb. (Магнолия обратнояйцевидная) – растет в Японии на островах Хоккайдо, Хонсю, Сикоку, Кюсю и на Курильских островах (Кунашир) на высоте 1700 м над уровнем моря. Она известна в Японии под названиями "Ho-no-ki" и "White Bark" – это белокорая магнолия. В 1794 г. Thunberg по форме листьев определил ее как *Magnolia obovata* Thunb. В 1846 P.F. Siebold и J.G. Zuccarini в США зарегистрировали ее под названием *M. hypoleuca* Sieb. et Zucc. Магнолия обратнояйцевидная – крупное листопадное дерево высотой до 30 м с широкой кроной до 15 м в диаметре. Кора ветвей серебристо-серая с чечевичками, побеги толстые, ломкие, пурпурно-серебристые, с выступающими листовыми следами. Почки крупные, смешанные, пурпурно-зеленые, голые, расположены на концах побегов. Листья крупные, обратнояйцевидные, длиной 40-60 см, шириной 15-18 см, ширококлиноподобные у основания и резко заостренные на верхушке. Сверху листья зеленые, снизу – сизо-зеленые, сначала густо опушенные, затем почти голые, с выступающими жилками.

Цветки крупные, обратнойцевидные, до 20 см в диаметре, кремово-белые, очень душистые. Лепестков 9-12, внешние 3 светло-зеленые, иногда с розовым оттенком у основания. 9 внутренних лепестков бело-кремовые, обратноовальные, 8-12 см длиной. Тычинки многочисленные, нити пурпурно-красные, пыльники кремово-желтые. Плоды – многолистковка, крупные, 10-15 см длиной, тускло-пурпурные, шарлаховые, с выступающими клювовидными выростами, семена в красной саркотесте, крупные, с бороздчатой склеротестой. В Ботаническом саду им. А.В. Фомина 43-летняя стройная магнолия обратнойцевидные высотой 8 м, с раскидистой кроной цветет после появления листьев в середине мая. Над мутовкой с 6-8 крупных листьев появляется большой душистый цветок. Цветет обязательно, но длительно, до 25 дней, один цветок – 7-9 дней. В 2001 году, когда было сухое и жаркое лето, магнолия обратнойцевидные вдруг цвела в августе из почек текущего года. Плодоносит в октябре. В "Саду магнолий" растут, цветут и плодоносят четыре магнолии 33-летнего возраста, одна среди них высотой 7 м, хорошо растет, с зонтиками крупных листьев, красивых цветов и выполненных плодов, зимостойкие. В Японии магнолию обратнойцевидную используют как лекарственное растение. С ее коры изготавливают лекарственные препараты. Известный гибрид магнолии обратнойцевидной и магнолии Зибольда под названием *M. x watsonii* Hook. В ботаническом саду Латвийского университета произрастает с 2001 г. Семена получены из Японии. Магнолия обратнойцевидная – замечательный представитель декоративных растений со стройной кроной, душистыми цветками и ярко окрашенными плодами над зонтиком крупных листьев. Она мало распространена, заслуживает размножения, перспективна в озеленении по всей территории Украины.

***Magnolia tripetala* L.** (Магнолия трехлепестковая) – произрастает в лесах на востоке Южной и Северной Америки – от Пенсильвании до Алабамы и от Арканзаса до Миссисипи. В нашей коллекции – это листопадные деревья высотой до 12 м с раскидистой кроной. Листья крупные, до 50 см в длину и до 20 см в ширину, удлиненообратнояйцевидные на верхушке, и у основания заостренные. Цветки крупные, диаметром до 20 – 25 см, кремово-белые. Лепестки у основания узкие. Это позволяет насекомым свободно проникать в цветок и опылять ее. В нашем Ботаническом саду на участке "Сад магнолий" растут 41-летние растения *M. tripetala* до 8 м высотой, ширина кроны – 4 м. В мае появляются листья, а в середине мая из цветочных почек развиваются цветки. На концах побегов 8-10 крупных листьев собраны мутовкой, а над ними появляются большие кремово-белые цветки с сильным, но не совсем приятным запахом, который привлекает насекомых. Осенью обильно плодоносят яркими малиновыми плодами, расположенными на концах побегов над мутовкой листьев. Зимостойка, теневыносливая, требует влажных плодородных почв. Магнолия трехлепестковая перспективна для озеленения в Полесье, в Прикарпатье и Закарпатье Украины. Очень декоративна в групповых и солитерных насаждениях. Экзотической красоты дереву осенью предоставляют густая округлая крона и ярко окрашенные плоды. В ботаническом саду Латвийского университета культивируют эту магнолию с 1955 г.

Секция *Tulipastrum* (Spach) Dandy. Одна из двух секций представители которой встречаются в Азии и Америке. Листопадные деревья и кустарники с листьями, распускающимися до цветения или одновременно с ним. В секцию входят два вида – *M. acuminata* – из Америки и *M. liliflora* из Китая, которые, не смотря на контраст в

окраске цветков, сходны по структуре вегетативных органов и цветков. Эти виды издавна широко культивируются и отличаются устойчивостью в условиях интродукции. В Украине успешно интродуцированы оба вида.

***Magnolia acuminata* L.** (Магнолия заостренная) известна в США под названием American Cucumber tree – американское огуречное дерево. В 1759 Карл Линней определил ее как *Magnolia acuminata* L. Она широко распространена на востоке Северной Америки от Южного Онтарио и Нью-Йорка на юг в Алабаму, Миссисипи и Луизианы и на восток до Арканзаса и востока Оклахомы. Магнолия заостренная – крупное листопадное дерево до 30 м высотой, в молодом возрасте пирамидальное, а позже – широкоразлогое, с кроной до 18 м в диаметре. В Ботаническом саду растет 45-летнее дерево магнолии заостренной 15 м высотой, диаметр пирамидальной кроны 8 x 8 м. Листья овальные, на верхушке заостренные, шириной 7-8 см, 15-20 см длиной. В середине мая появляются бутоны и начинается цветение. Цветок цветет 3-5 дней, после этого желто-зеленые лепестки быстро опадают. Плодоносит в конце сентября малиновыми плодами длиной 5-7 см с 1-3 (7) семенами. Магнолия заостренная – самый морозостойкий вид среди наших магнолий, используется как подвой для менее стойких и более декоративных видов с желтыми цветками. У магнолии заостренной как ландшафтно-экспозиционного растения более ценны листья чем цветы. Цветение происходит незаметно, поскольку желтовато-зеленые цветки распускаются поздней весной и сливаются со светло-зелеными листьями. Она перспективна для использования в озеленении на всей территории Украины. Ее золотисто-желтые листья особенно эффектны осенью. В ботаническом саду Латвийского университета культивируют с 1958 года, получив семена из университетского ботанического сада г. Ужгород.

***M. x soulangiana* Soul.-Bod.** (Магнолия Суланжа) – гибрид магнолии обнаженной (*M. denudata* Desr.) и магнолии лилиецветковой (*M. liliflora* Desr.). Этьен Суланжа-Бодэ в 1820 опылил магнолию обнаженную пыльцой магнолии лилиецветковой и получил новый гибрид с пурпурно-белыми цветками, который назвал магнолия Суланжа (*M. x soulangiana* Soul.-Bod.). Этот гибрид дал много декоративных форм с крупными розовыми, красными, пурпурными цветками. Определены более 50 различных замечательных форм магнолии Суланжа. Магнолия Суланжа – большой листопадный куст 4-6 м высотой, до 8 м в ширину, с чашо- или бокаловидными крупными (до 25 см в диаметре), розовыми, пурпурными цветками. Весной до появления листьев, или когда они только начинают развиваться, появляются одновременно сотни или даже тысячи красивых цветов. Из семян одного экземпляра магнолии Суланжа можно вырастить растения с разным цветом цветков, так как происходит расщепление признаков и появляются новые. В результате семенного размножения мы получали новые декоративные формы. Чтобы получить растения нужной формы, магнолии необходимо размножать вегетативно: отводками, прививкой и полуодревесневшими черенками.

Все формы магнолии Суланжа в условиях Киева зимостойки. В июне взрослые растения прекращают рост и на концах побегов закладывают цветочные почки. К осени они хорошо развиваются и покрываются густоопушенными чешуйками. Корневая система менее устойчива, поэтому на зиму приствольные круги надо прикрывать листьями. В Ботаническом саду им. акад. А.В. Фомина на участке "Сад магнолий" и в коллекционных насаждениях дендрария культивируется более

20 декоративних форм магнолии Суланжа 48-53-летнего возраста. Создан ценный коллекционный фонд, который является маточником для размножения и широкого внедрения исключительно декоративных форм этого гибрида в садах и парках Украины. География магнолии Суланжа с годами расширяется. Коллекция ее декоративных форм не исчерпывается описанными. Есть растения, формы которых еще не выяснены. Дальнейшие исследования помогут определить другие формы магнолии Суланжа, которые цветут на улицах, в парках и на приусадебных участках.

Magnolia x loebneri Kache. (Магнолия Лебнера). Макс Лебнер в Ботаническом саду Дрездена – Пиллниц проводил многочисленные скрещивания магнолии звездчатой (*Magnolia stellata*) и магнолии кобус (*Magnolia kobus*). В 1917 году он получил магнолию, в которой рано весной было много звездчатых цветков с 12 белыми лепестками. Информацию о новом гибриде магнолии кобус Пауль Кахе в 1920 году впервые опубликовал в Германии в садовой периодике "Garten-schonheit" и назвал ее магнолия Лебнера (*M. x loebneri* Kache). Магнолия Лебнера растет кустом или деревом до 9 м высотой. Побеги серые тонкие, образуют обширную крону. Листья обратнояйцевидные или удлинненно-эллиптические длиной 8-10 см. Цветки звездчатые, белые, с 9-12 лепестками, ароматные. Цветет обильно в апреле до появления листьев, на неделю позже магнолии звездчатой, плодоносит в сентябре. Морозостойкая, растет на всех типах почв. Магнолия Лебнера вобрала в себя хорошие качества цветков магнолии звездчатой и устойчивость к окружающим условиям магнолии кобус. Позже скрещивали магнолию звездчатую с *M. kobus* в Арнольд арборетуме Гарвардского университета США и в Германии и выделили несколько декоративных форм, отличающихся габитусом растения, листьями, цветками, количеством и размером лепестков, а также цветом.

В Ботаническом саду им. А.В. Фомина растет 7 растений магнолии Лебнера, выращенных из семян магнолии звездчатой (*M. stellata*), которые отличаются габитусом, формой листьев, размером цветка и количеством лепестков, а также семенами. Магнолия Лебнера и ее декоративные формы зимостойкие и декоративные ранним обильным цветением, перспективны для использования в озеленении по всей территории Украины.

Magnolia x kewensis Pearse (Магнолия кьювенская). Это гибрид магнолии кобус (*M. kobus*) и магнолии иволистной (*M. salicifolia*). В 1938 ее обнаружил в Англии в Королевском ботаническом саду Кью С.Ф. Coates вблизи магнолии кобус. В 1952 году S.A. Pearse описал ее и дал название *M. x kewensis* Pearse. S.A. Spongberg считает, что эта магнолия является *M. salicifolia* "kewensis" (Pearse) Spongberg. В Ботаническом саду им. акад. А.В. Фомина магнолию кьювенскую вырастили из семян магнолии иволистной, привитой на магнолии кобус. Сейчас – это 32-летние листопадные деревья 12-15 м высотой, с диаметром кроны 4 x 4,5 м. Десять стройных деревьев растут в "Саду магнолий" на

западном склоне. Они не требовательны к условиям выращивания. Кора ствола серая, молодые побеги – серо-зеленые с желтоватым оттенком. Листья имеют длину 10-12 см, ширина – 3-5 см, удлинненно-эллиптические или обратнояйцевидные, суженные на верхушке и клиновидные у основания, гладкие, зеленые сверху, сизо-зеленые снизу. Цветочные почки шелковистоопушенные. Цветки колокольчатые, белые, с приятным ароматом. Лепестков 6. Они шире, чем у магнолии иволистной. Три внешние серо-зеленые чашелистики образуют чашечку, затем свисают вниз и опадают. Гинецей – светло-зеленый, тычиночные нити и пыльники – кремово-желтые. По многолетним данным, цветет с 20 апреля по 5 мая. Цветки имеют приятный цитрусовый запах. Плод – многолистовка, зелено-желтая, с розовым румянцем на освещенной стороне. Плодоносит в конце сентября. Семена черные в красной оболочке; всхожесть – 80%, нуждаются в стратификации. В ботаническом саду Латвийского университета культивируют с 2001 года. Семена получены из ботанического сада им. акад. А.В. Фомина.

Выводы. Анализ коллекций представителей семейства *Magnoliaceae*, произрастающих *ex situ*, в ботанических садах Киевского национального университета имени Тараса Шевченко и Латвийского университета показал, что 9 видов, 1 разновидность и 3 гибрида идентичные для коллекций обоих ботанов, успешно интродуцированы в разных климатических зонах Европы. Все растения устойчивы к зимним и летним климатическим факторам; почти все цветут и плодоносят. Меньшее количество осадков в Украине и Латвии, чем в местах их природного произрастания, компенсируется организацией соответствующих мер ухода, в первую очередь – полив и мульчирование приствольных кругов. Соблюдение этих условий нивелирует отрицательное действие на растения дефицита влаги в почве и воздухе и значительно расширяет возможности интродукции экзотов. Отличие температурных условий Ботанического сада Латвийского университета, как крайней северной точки распространения магнолий, предполагает введение в его коллекцию новых зимостойких таксонов, интродуцированных в Ботаническом саду Киевского национального университета.

Список використаних джерел

1. <https://www.bgci.org/news-and-events/news/13181>.
2. Коршук Т.П., Палагеча Р.М. Магнолії (*Magnolia* L.). / Монографія – К. Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2007. – 207 с.
3. <https://www.cbd.int/gspc/targets.shtml>.
4. Cicuzza D., Newton A., Oldfield S. The Red List of Magnoliaceae. – Cambridge, UK, 2007. – 56 p.
5. Rivers M., Beech E., Murphy L., Oldfield S. The Red List of Magnoliaceae, revised and extended. – 2016. – P. 60 https://www.bgci.org/files/Global_Trees_Campaign/Magnolia/Magnoliaceae_RedList_2016.
6. Callaway D.J. Magnolias. – London: B. T. Batsford LTD. – 1994. – 260 p.
7. Палагеча Р.М., Таран Н.Ю., Бацманова Л.М. Фізіологія зимостійкості та інтродукції деяких видів роду магнолій (*Magnolia* L.) в умовах Київського Полісся / Монографія – К.: Фітосоціоцентр, 2009. – 167 с.

Поступила в редколлегию 18.03.16

Р. Палагеча, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
А. Галенице, керів. лабор. деревних рослин,
С. Томсоне, д-р мед. наук
Ботанічний сад Латвійського університету, Рига, Латвія,
Н. Таран, д-р біол. наук,
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

**ПРЕДСТАВНИКИ РОДИНИ MAGNOLIACEAE JUSS.,ЩО ЗРОСТАЮТЬ У РІЗНИХ КЛІМАТИЧНИХ ЗОНАХ,
В КОЛЕКЦІЯХ БОТАНІЧНИХ САДІВ КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
ТА ЛАТВІЙСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

Здійснено порівняння видового складу листопадних магнолій, що зростають в колекціях ботанічних садів ім. акад. О.В. Фомина ННЦ "Інститут біології" Київського національного університету імені Тараса Шевченка і Латвійського університету (Ри-

га). 9 видів, 1 різновид та 3 гібриди були відібрані як однакові для колекцій обох ботсадів і використані для фенологічних спостережень. Досліджені рослини стійкі до зимових і літніх кліматичних чинників; визначені параметри що характеризують їх пластичність до меншої кількості опадів в Україні та Латвії, у порівнянні з місцями їх природного зростання та розширюють можливості використання екзотів в озелененні та ландшафтному дизайні мегаполісів.

Ключові слова: магнолія, інтродукція, кліматичні умови.

R. Palagecha, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
A. Galeniece, Head of the Laboratory of woody plants,
S. Tomsone, Doctor of Medical Science,
Botanical Garden of the University of Latvia, Riga, Latvia,
N. Taran, Dr.Sci.Biol, Prof.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

REPRESENTATIVES OF THE MAGNOLIACEAE JUSS. FAMILY GROWING APON THE DIFFERENT CLIMATIC CONDITIONS, FROM THE BOTANICAL GARDENS COLLECTIONS OF NATIONAL TARAS SHEVCHENKO UNIVERSITY OF KYIV AND LATVIAN UNIVERSITY

Has been described the phenology of deciduous magnolias growing ex situ in botanical gardens of Acad. O.V. Fomin SRC "Institute of Biology" National Taras Shevchenko University of Kyiv and the University and Latvia (Riga). 9 species, 1 variety and 3 hybrids identical for both collections of botanical gardens were selected and used for phenological observations. The studied plants were resistant to winter and summer climatic factors, were marked the parameters that determine their plasticity in less precipitation in Ukraine and Latvia, as compared to the places of their natural habitat, and expanding the use of exotic species in landscaping design of the megapolises.

Key words: magnolia, introduction, hardiness.

УДК 577.3.

С. Гончаревський, асп., В. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ДИНАМІКА ТЕМПЕРАТУРИ РЕПРЕЗЕНТАТИВНИХ ЗОН ШКІРИ ЛЮДИНИ У УМОВНО ЗДОРОВИХ МОЛОДИХ ЛЮДЕЙ

Досліджено температурні варіації репрезентативних зонкраніального відділу вегетативної нервової системи шкіри людини. Показана наявність біологічних ритмів у репрезентативних зонах. Розраховані ймовірність виявлення періоду та асиметрія між правою та лівою стороною репрезентативних зон.

Ключові слова: репрезентативні зони, біоритми, вегетативна нервова система, температура шкіри.

Вступ. В останнє десятиліття отримала бурхливий розвиток хронобіологія (хрономедицина) – наука про часові закономірності функціонування організму, про біологічні ритми та часові тренди, їх залежності від стану біологічної системи, про фізіологічні механізми, що лежать в їх основі. Біоритми – це функціональна властивість всіх живих систем. У різних живих систем може бути широкий спектр біоритмів: хвилинні, годинні, добові, тижневі, річні. Циклічність змін характерна для переважної більшості біофізичних, біохімічних, фізіологічних, психічних і соціальних процесів [1,2].

Біологічні об'єкти, включаючи людський організм, являють собою складні нелінійні відкриті термодинамічні системи, стан яких залежить від динамікипараметрів навколишнього середовища (температури, тиску, вологості, освітленості, електромагнітних полів, тощо). Добре відомо, що такі геофізичні фактори, що мають сталі періоди, як фотоперіодизм, добові коливання атмосферного тиску і температури, є факторами синхронізації біологічних ритмів. На цей час аналіз хроноструктури біоритмів являє собою об'єктивний процес оцінки стану фізіологічних функцій, що є корисним в діагностиці, а також при визначенні часу лікування і перевірки його результатів [5].

Наші попередні дослідження [3,4] продемонстрували наявність змін температури протягом доби у репрезентативних зонах (РЗ) шкіри людини, які відповідають структурам краніального відділу вегетативної нервової системи (ВНС). Вони свідчать, щоодноразове вимірювання температури в окремих зонах не може бути достатнім для встановлення будь-яких системних змін в організмі людини. Більш інформативним є дослідження часової динаміки температури шкіри протягом як мінімуму доби. З іншого боку отримання великих масивів даних про температурну динаміку протягом більш три-

валих часових інтервалів в різні сезони року може дозволити оцінити сталість добових (циркадінних) періодів і виявити багатоденні (інфрадінні) ритми, пов'язані з динамикою факторів навколишнього середовища. У зв'язку з цим метою дослідження було з'ясування особливостей часових змін температури в репрезентативних зонах краніального відділу ВНС шкіри людини, температурний стан яких пов'язаний з функціональною активністю різних відділів головного мозку.

Матеріали та методи. Аналізу стану репрезентативних зон шкіри людини, які пов'язані з функціональною активністю окремих відділів головного мозку (рис. 1), проводили згідно [5-8] по температурним показникам:

– білатеральні температурні показники барабанної перетинки, що мають спільний басейн кровообігу з гіпоталамусом;

– білатеральні показники температури війкового вузла, де представлені парасимпатичні волокна окоороухового нерва (III пара), ядра яких знаходяться в середньому мозку;

– білатеральні крилепіднебінного вузла, де проходять парасимпатичні волокна лицьового нерва (VII пара), ядра яких знаходяться у варолієвому мості;

– білатеральні показники температури вушного вузла, де представлені парасимпатичні волокна язико-глоткового нерва (IX пара), ядра якого знаходяться в довгастому мозку

– білатеральні температурні показники блукаючого нерву, який розгалужується в районі нижньої щелепи (див. рис 1.) [9,10].

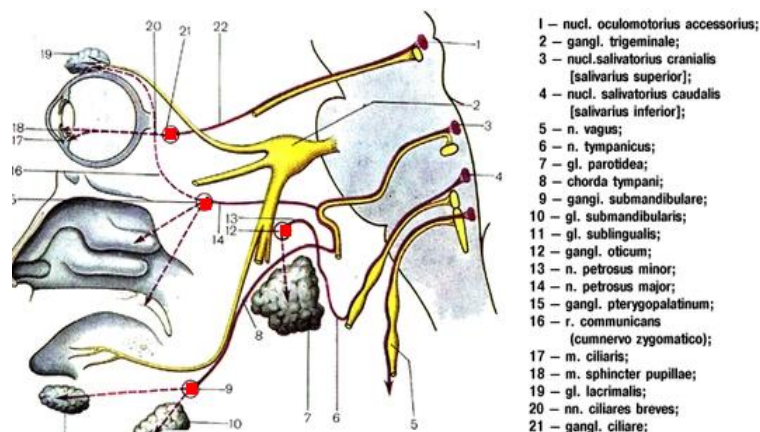


Рис. 1. Анатомічне розміщення репрезентативних зон, та їх взаємозв'язок з іншими структурами головного мозку [12]

Температуру у репрезентативних ділянках шкіри людини вимірювали інфрачервоним термометром фірми Medisana FTO D-53340, з похибкою приладу $0,1^{\circ}$ Цельсія. Прилад вимірює температуру на основі реєстрації потоку інфрачервоного випромінювання, яке генерується в шкірі людини відповідно до температури тієї частини тіла, з якої реєструються температурні показники.

Температура репрезентативних точок вимірювались з інтервалом 2-3 години протягом 3 тижнів. Загалом було обстежено 19 умовно здорових людей віком 20-22 роки, з яких 12 хлопців та 7 дівчат. Розподіл на підгрупи групи по гендерній ознаці не проводили.

Аналіз часової динаміки температури в репрезентативних зонах здійснювали за допомогою косинор-аналізу. В основі методу лежить алгоритм вписування косинусоїд за критерієм найменших квадратів [11]. Він дозволяє виявити періоди, амплітуди і фази ритмів, що формують інтегральний часовий ряд біологічних даних. Цей метод широко використовується останні десятиліття при дослідженнях ритмів людей та тварин. В даній роботі використовували алгоритм косинор-аналізу, розроблений Мартинюком В.С.

За допомогою програми косинор-аналізу для кожного часового ряду в кожній репрезентативній зоні у кожного учасника експерименту були отримані періодограми в діапазоні періодів від 4 до 500 годин з кроком 24 хв. Періоди виявляли по локальних максимумах в кожній з періодограмм. Дані про всі виявлені таким чином періодах у температурних показниках у даної групи учасників заносили в таблиці, після чого обчислювали ймовірності виявлення періодів для кожної репрезентативної зони в досліджуваній групі учасників експерименту. У підсумку отримували гістограму ймовірності виявлення кожного з періодів (у відсотках) в діапазоні періодів від 4 до 180 годин. Після цього обчислювали середньоарифметичне значення (М) близьких за значенням періодів, що утворюють єдину групу, і помилки їх середніх величин (М).

Статистичну обробку даних проводили у програмі Origin 8.1, де визначалися середні значення, похибки, максимальні та мінімальні значення, а також створювали графічне відображення даних (див. Таблиця 1, рис 2.).

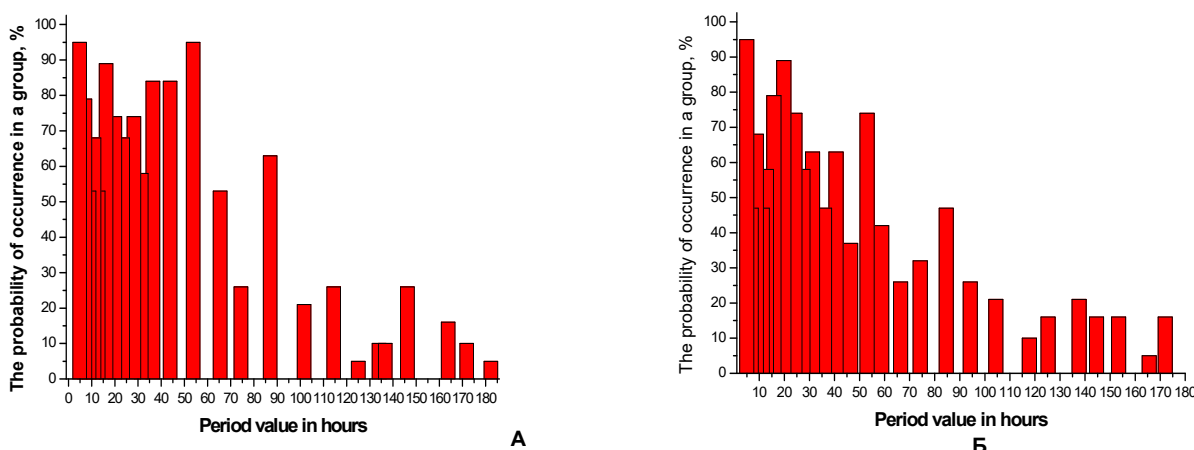


Рис. 2. Ймовірності виявлення періодів в часовій динаміці температури в репрезентативній зоні гіпоталамуса у молодих людей віком 23-25 років. Рисунок А(права сторона)-Б (ліва сторона) відповідає РЗ гіпоталамусу

Таблиця 1. Періодичні амплітуди високо ймовірних (>70%) періодів в динаміці температури в репрезентативних зонах ВНС у молодих людей віком 23-25 років

Назва точки	Права сторона			Ліва сторона		
	Середнє значення періоду (години)	Ймовірність виявлення періоду в групі %	Амплітуда	Середнє значення періоду(години)	Ймовірність виявлення періоду в групі %	Амплітуда
Гіпоталамус	53,8±2,9	95	0,25	53±1,8	74	0,25
	43,8±2,6	84	0,19			
	36,4±1,9	84	0,9			
	31,4±1,2	58	0,1			
	28,2±1,3	74	0,7			
				24,2±1,4	74	0,15
	20±1,2	74	0,25	19,8±1,3	89	0,18
	16,2±1,2	89	0,17	15,8±0,9	79	0,11
	7±0,5	79	0,03			
Середній мозок	4,8±0,6	95	0,02	5±0,5	95	0,08
	50,8±3	95	0,23	53,2±3	95	0,21
	33,4±1,8	84	0,16			
	30,6±1,2	84	0,18	29,4±1,8	79	0,19
	25,4±1,2	95	0,14	25±3,6	89	0,2
				22,8±1,2	47	0,14
	19,6±1	84	0,09			
	15,2±0,6	79	0,15			
	11,2±0,6	84	0,21	10,6±0,6	79	0,13
Блукаючий нерв	7,4±1,2	74	0,11	7,6±0,8	84	0,19
				5,6±1,6	95	0,12
	4,8±0,6	95	0,04			
	64,6±1,8	74	0,09	63,4±2,4	84	0,17
				44,2±2,2	74	0,13
	32,8±2,2	100	0,1	30,4±1,2	95	0,15
	25,4±1,2	74	0,22			
	12,8±0,6	95	0,09	13,2±0,8	95	0,08
	4,8±0,6	95	0,11	4,6±0,5	84	0,08
Довгастий мозок				104,8±2,2	84	0,24
				59,6±2,2	95	0,18
	54,8±1,6	95	0,16			
	39,6±1,2	84	0,11			
	25±0,6	74	0,12			
				13,2±1,8	74	0,14
				5,6±0,4	84	0,09
	4,4±0,6	95	0,05			
				66,2±2,2	84	0,12
Вароліїв міст				60,8±1,2	74	0,22
	29,6±1	84	0,16			
				27,4±0,8	74	0,16
	17,4±0,6	84	0,21			
	14,8±0,4	95	0,05	15,2±0,6	95	0,2
	10,8±1,2	74	0,04	12,2±0,8	79	0,08
	8,6±0,6	95	0,11	9±1,8	95	0,08
	5,2±0,6	95	0,05	5,2±0,4	95	0,05

Результати та їх обговорення

В цілому у досліджуваної групи ярко виражені ультрадіанні (годинні) та циркадіанні (добові) біоритми. Також можна спостерігати більш довгі ритми – циркасептанні (тижневі), але вони зустрічаються лише у невеликій кількості обстежуваних (5-10 %).

Максимальний період ритму РЗ гіпоталамуса (права сторона) складає – 182,2 години (7,6 доби), ліва сторона – 195,6 години (8,2 доби). Мінімальний період ритму гіпоталамуса (права сторона) складає – 4,8 години, ліва сторона – 5 годин.

Максимальний період ритму РЗ середнього мозку (права сторона) складає – 144,6 години (6 діб), ліва сторона – 150,4 години (6,1 доби). Мінімальний період ритму середнього мозку (права сторона) складає – 4,8 години, ліва сторона – 5,6 години.

Максимальний період ритму РЗ довгастого мозку (права сторона) складає – 170,4 години (7,1 доби), ліва сторона – 174,6 години (7,3 доби). Мінімальний період ритму довгастого мозку (права сторона) складає – 4,4 години, ліва сторона – 5,6 години.

Максимальний період ритму РЗ блукаючого нерва (права сторона) складає – 135,2 години (5,6 доби), ліва сторона – 130,8 години (5,5). Мінімальний період ритму

блукаючого нерва (права сторона) складає – 4,8 години, ліва сторона – 5,4 години.

Максимальний період ритму РЗ вароліїв моста (права сторона) складає – 134,8 години (5,7 доби), ліва сторона – 133,6 години (5,6 доби). Мінімальний період ритму вароліїв моста (права сторона) складає – 5,2 години, ліва сторона – 5,2 години.

Виходячи з аналізу амплітуд температур репрезентативних зон можна сказати, що добовий ритм (23-26 годин), хоча і представлений у більшості обстежуваних, але не являється домінуючим. Основними домінуючими ритмами є ультрадіанні ритми, що зустрічаються у більшості обстежуваних та мають найбільшу амплітуду (див. таблицю 1.).

Якщо розглянути увесь масив визначених ритмів репрезентативних зон то:

1) У РЗ гіпоталамусу з правої сторони всього визначено 25 ритмів, ліва – 28.

2) У РЗ середнього всього визначено 21 ритм, як з правої так і з лівої сторони

3) У РЗ вароліїв моста всього визначено 23 ритму, як з правої так і з лівої сторони.

4) У РЗ довгастого мозку з правої сторони всього визначено 22 ритмів, ліва – 24.

5) У РЗ блукаючого нерва з правої сторони всього визначено 24 ритми, ліва – 23.

Таким чином значущої асиметрії між кількістю виявлених ритмів правої та лівою стороною репрезентативних зон не виявлено. Що ж стосується асиметрії основних ритмів (що зустрічаються у більшості обстежуваних >74 %) між правою та лівою стороною, то вона наявна у всіх репрезентативних зонах (див. таблицю 1.). Найбільш яскраво вона представлена у репрезентативних зонах гіпоталамуса та довгастого мозку. У певній мірі усі репрезентативні зони знаходяться у право-ліво сторонній асиметрії між собою.

Така асиметрія може свідчити про:

- 1) індивідуальні властивості біоритмів репрезентативних зон в цілому;
- 2) індивідуальні властивості обстежуваних;
- 3) десинхронізацію "біологічного годинника" репрезентативних зон краніального відділу ВНС у всіх обстежуваних.

Висновки.

Виходячи з теоретичного і експериментального вивчення температури в репрезентативних зонах вегетативної нервової системи можна зробити наступні висновки:

1. Для всіх досліджуваних репрезентативних зон характерні наступні загальні ультра- та інфрадіанні періоди: 52, 26, 13, 5 годин, що і є найбільш часто представлені в групі обстежуваних.

2. Виявлена право-лівостороння асиметрія основних ритмів у репрезентативних зонах гіпоталамуса, середнього мозку, довгастого мозку, варолієвого міста, блукаючого нерва. Така асиметрія може свідчити про індивідуальні властивості цих репрезентативних зон у обстежуваних, або про десинхронізацію "біологічного годинника" для усієї групи.

Список використаних джерел

1. Гончаревський С. О. Температурні варіації в репрезентативних ділянках нервової системи у умовно здорових людей // Матеріали Міжнародної та ін. Гончаревський С.О., Галкін М.О., Більман С.Ю. // Міждисциплінарної наукової конференції "Адаптаційні стратегії живих систем", 12-17 травня 2014, Новий Світ, Україна. – Київ: Видавець В.С. Мартинюк. – 2014. – С. 68-69.
2. Емельянов И.П. Структура биологических ритмов человека в процес се адаптации. Статистический анализ и моделирование. / Емельянов И.П. // – Новосибирск: Наука. – 1986. – 184 с.
3. Ерохов Р.О. Влияние факторов навколишнього середовища (умови мегаполісу і канівського природного заповідника) на вегетативну нервову систему "Біологія: від молекули до біосфери". Матеріали VI Міжнародної конференції молодих науковців (22 – 25 листопада 2011 р., м. Харків, Україна). / Ерохов Р.О. // – Х.: ФОП Шаповалова Т.М. – 2011. – С. 180-181.
4. Остапченко Л.І. Факторний аналіз температури репрезентативних точок вегетативної нервової системи людини / Остапченко Л.І., М.Ю. Макачук, О.С. Мартинчук, Л.А. Криворучко // Фізика живого – 2007. Т.15, – С. 37 – 49.

5. Остапченко Л.І., Макачук М.Ю., Мартинчук О.С., Криворучко Л.А. "Спосіб діагностики стану організму людини" Деклараційний патент на корисну модель №3932 (7 А61Н39/00) від 15.12.2004 р.

6. Седокова, М. Л. Возрастная анатомия и физиология / М. Л. Седокова, Л. Ф. Казимова, Т. А. Томова; под ред. С. В. Низкодубовой. – Томск: Издательство ТГПУ. / Седокова, М. Л. // – 2009. – 331 с.

7. Чибисов С. М. Биоритмы и космос: мониторинг космобиосферных связей : монография / С. М. Чибисов, Г. С. Катинас, М. В. Рагульская. – М.: Капитал Принт. – 2013. – 441 с.

8. Gabella G. Structure of the autonomic nervous system. London. Chapman and Hall. / Gabella G. // – 2006. – 312 p.

9. Knobel R.B. Thermo regulation and thermo graphy in neonatal physiology and disease. // Biological research for nursing. / Knobel R.B., Guenther B.D., Rice H.E. // – 2011. – Vol. 13. – № 3. – P. 274–282.

10. Janig W.C. The autonomic nervous system in health and disease: neuro biology and pathophysiology. J. auton. Nerv. Syst. / Janig W.C., Brooks C.M. // – 2003. – 415 p.

11. Pishak V.P. Role of adrenoceptor antagonists in disturbances of kidney functioning. University News, / Pishak V.P., Kryvchanska M.I., Pishak O.V. // – 2009. P. 43 – 52.

12. Refinetti R. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. / R. Refinetti, G. Cornlissen, F. Halberg. // Biol Rhythm Research. – 2007. – № 38, 4. – 275–325 p.

Reference

1. Гончаревський С. О. Температурні варіації в репрезентативних ділянках нервової системи у умовно здорових людей // Матеріали Міжнародної та ін. Гончаревський С.О., Галкін М.О., Більман С.Ю. // Міждисциплінарної наукової конференції "Адаптаційні стратегії живих систем", 12-17 травня 2014, Новий Світ, Україна. Київ: Видавець В.С. Мартинюк. 2014. 68-69 с.
2. Емельянов И.П. Структура биологических ритмов человека в процес се адаптации. Статистический анализ и моделирование. Новосибирск: Наука. 1986. 184 с.
3. Ерохов Р.О. Влияние факторов навколишнього середовища (умови мегаполісу і канівського природного заповідника) на вегетативну нервову систему "Біологія: від молекули до біосфери". Матеріали VI Міжнародної конференції молодих науковців (22 – 25 листопада 2011 р., м. Харків, Україна). Х.: ФОП Шаповалова Т.М. 2011. 180-181 с.
4. Остапченко Л.І., М.Ю. Макачук, О.С. Мартинчук, Л.А. Криворучко. Факторний аналіз температури репрезентативних точок вегетативної нервової системи людини // Фізика живого 2007. Т.15, 37-49 с.
5. Остапченко Л.І., Макачук М.Ю., Мартинчук О.С., Криворучко Л.А. "Спосіб діагностики стану організму людини" Деклараційний патент на корисну модель №3932 (7 А61Н39/00) від 15.12.2004 р.
6. Седокова, М. Л. Возрастная анатомия и физиология / М. Л. Седокова, Л. Ф. Казимова, Т. А. Томова; под ред. С. В. Низкодубовой. Томск: Издательство ТГПУ. 2009. 331 с.
7. Чибисов С. М. Биоритмы и космос: мониторинг космобиосферных связей : монография / С. М. Чибисов, Г. С. Катинас, М. В. Рагульская. М.: Капитал Принт. 2013. 441 с.
8. Gabella G. Structure of the autonomic nervous system. London. Chapman and Hall. 2006. 312 p.
9. Knobel R.B., Guenther B.D., Rice H.E. Thermoregulation and thermography in neonatal physiology and disease. Biol Res Nurs. 2011 July; 13(3): 274–282. doi: 10.1177/1099800411403467.
10. Janig W.C., Brooks C.M. The autonomic nervous system in health and disease: neuro biology and pathophysiology. J. auton. Nerv. Syst. 2003. 415 p.
11. Pishak V.P., Kryvchanska M.I., Pishak O.V. Role of adrenoceptor antagonists in disturbances of kidney function // University News, 2009. 43-52 p.
12. Refinetti R. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. / R. Refinetti, G. Cornlissen, F. Halberg. // Biol Rhythm Res. 2007; 38(4): 275–325. doi: 10.1080/09291010600903692.

Надійшла до редколегії 11.04.16

С. Гончаревський, асп., В. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ДИНАМИКА ТЕМПЕРАТУРЫ РЕПРЕЗЕНТАТИВНЫХ ЗОН КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ

Исследованы температурные вариации репрезентативных зон краниального отдела вегетативной нервной системы кожи человека. Показано наличие биологических ритмов в репрезентативных зонах кожи человека. Рассчитаны вероятность обнаружения периода и асимметрия между правой и левой стороной репрезентативных зон.

Ключевые слова: репрезентативные зоны, биоритмы, вегетативная нервная система, температура кожи.

S. Goncharevskiy, PhD stud., V. Martynuk, DSc., Prof.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

DYNAMICS TEMPERATURE REPRESENTATIVE AREAS OF HUMAN SKIN IN RELATIVELY HEALTHY YOUNG PEOPLE

The subject of research: temperature variation in representative of areas cranial part of autonomic nervous system on human skin. Found biological rhythms in representative areas of human skin. Calculated probability of period detection as well as asymmetry between the right and left side in representative.

Keywords: representative areas, biorhythms, the autonomic nervous system, skin temperature.

УДК 582.282.1: 581.553(477)

О. Корольова, канд. біол. наук, доц.
Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського, Миколаїв**ГРИБИ КЛАСУ DOTHIDEOMYCETES ЛІСОВИХ РОСЛИННИХ УГРУПОВАНЬ
СТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ**

Досліджений видовий склад локулоаскомицетів лісових рослинних угруповань степової зони України, який включає 43 види із 26 родів, 20 родин, 6 порядків 2 підкласів та групи таксонів Incertae sedis класу Dothideomycetes. У таксономічній структурі дослідженої мікобіоти відмічене переважання представників підкласу Pleosporomycetidae, порядку Pleosporales, родин Leptosphaeriaceae, Lophiostomataceae та Mycosphaerellaceae, а також роду Leptosphaeria. Встановлена екологічна структура мікобіоти та консортивні зв'язки із 33 видами вищих рослин з 25 родів 18 родин. В екологічній структурі дослідженої мікобіоти переважають сапротрофи і ксилотрофи. Проаналізовані особливості екологічного поширення видів в угрупованнях 3 типів природної лісової рослинності. Проведене порівняння таксономічних спектрів локулоаскомицетів лісових і степових угруповань степової зони, в тому числі за допомогою коефіцієнта Стюггена-Радулеску.

Ключові слова: Dothideomycetes, видовий склад, таксономічна структура, екологічні особливості, лісові угруповання.

Вступ. Гриби класу Dothideomycetes, або локулоаскомицети, в числі інших мікроскопічних грибів виступають обов'язковими складовими трофічних ланцюгів, виконуючи функцію первинних деструкторів. Переважна більшість локулоаскомицетів асоційована із рослинними організмами, утворюючи із ними консортивні зв'язки різних типів.

Територія степової зони України за геоботанічним районуванням відповідає Понтичній степовій провінції Євразійської степової області, яка включає Чорноморсько-Азовську степову підпровінцію із 14 геоботанічними округами та Середньодонську степову підпровінцію із Сіверськодонецьким геоботанічним округом [3, 7]. Основним типом природної рослинності є зональна степова рослинність, представлена лучними, петрофітними, різнотравно-злаковими, злаковими, піщаними, полиново-злаковими та полиновими степами [11]. Природні ліси вкривають лише 4,2% території степової зони України і мозаїчно зростають в заплавах річок, у балках, а також на надлукових піщаних терасах річок [12]. Ліси належать до екстразональної рослинності степової зони, і, за цих умов, у лісових фітоценозах можна передбачити формування специфічних видових комплексів мікроскопічних грибів, пов'язаних із лісовою рослинністю.

Актуальні відомості про видову різноманітність локулоаскомицетів на території степової зони України містяться у ряді монографій [5, 6] та статей [4, 8]. Проте, аналіз цих літературних джерел засвідчує, що питання просторового розподілу локулоаскомицетів на території степової зони залишається недостатньо дослідженим.

Метою даної статті є встановлення видового різноманіття та еколого-біологічних особливостей грибів класу Dothideomycetes (далі – локулоаскомицетів) в природних лісових рослинних угрупованнях на території степової зони України.

Матеріали і методи. Матеріалами роботи стали оригінальні мікологічні збори, виконані протягом 2010-2015 рр. в угрупованнях природної лісової рослинності в межах степової зони України, в тому числі – на територіях степових заповідників. Збір мікологічних зразків здійснювався шляхом маршрутно-експедиційного обстеження території та на стаціонарних моніторингових ділянках. Камеральна обробка мікологічних зразків виконувалась за загальноприйнятими методиками, при з'ясуванні таксономічної належності видів використаний метод світлової мікроскопії. Для ідентифікації видів рослин та грибів використані визначники і монографії вітчизняних та іноземних авторів [2, 10, 14-16, 19], видові назви судинних рослин узгоджені з довідником "Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist" [18], видові назви грибів – з міжнародною базою даних "Index Fungorum" [17]. Для порівняння видових спектрів грибів використано коефіцієнт дискримінації Стюггена-Радулеску [13].

Результати і обговорення. В результаті наших досліджень встановлено, що видова різноманітність локулоаскомицетів в угрупованнях природної лісової рослинності степової зони України включає 43 види з 26 родів 20 родин 6 порядків та групи таксонів Incertae sedis підкласів Dothideomycetidae і Pleosporomycetidae (табл. 1).

Таблиця 1. Кількісний розподіл видів локулоаскомицетів за таксонами в лісових рослинних угрупованнях степової зони України

Підклас	Порядок	Родина	Рід	Кількість видів	% від загальної к-ті
Dothideomycetidae	Dothideales	Dothioraceae	<i>Dothiora</i>	1	2,3
	Capnodiales	Mycosphaerellaceae	<i>Mycosphaerella</i>	3	7
Pleosporomycetidae	Pleosporales	Cucurbitariaceae	<i>Sphaerulina</i>	2	4,7
			<i>Cucurbitaria</i>	2	4,7
			<i>Didymella</i>	1	2,3
			<i>Didymosphaeria</i>	2	4,7
			<i>Fenestella</i>	1	2,3
			<i>Leptosphaeria</i>	5	11,6
		Lophiostomataceae	<i>Lophiostoma</i>	3	7,0
			<i>Platystomum</i>	1	2,3
			<i>Sigarispora</i>	1	2,3
		Lophiotremataceae	<i>Lophiotrema</i>	2	4,7
		Massariaceae	<i>Massarina</i>	1	2,3
		Melanommataceae	<i>Melanomma</i>	1	2,3
		Montagnulaceae	<i>Kalmusia</i>	1	2,3
		Phaeosphaeriaceae	<i>Ophiobolus</i>	2	4,7
		Pleomassariaceae	<i>Splanchnonema</i>	3	7,0
		Pleosporaceae	<i>Pleospora</i>	1	2,3
			<i>Stemphylium</i>	1	2,3
		Trematosphaeriaceae	<i>Trematosphaeria</i>	2	4,7
	Venturiales	Venturiaceae	<i>Venturia</i>	2	4,7

Закінчення табл. 1

Підклас	Порядок	Родина	Рід	Кількість видів	% від загальної к-ті
Incertae sedis	Botryosphaerales	Botryosphaeriaceae	<i>Botryosphaeria</i>	1	2,3
			<i>Othia</i>	1	2,3
			<i>Phaeobotryon</i>	1	2,3
		Phyllostictaceae	<i>Guignardia</i>	1	2,3
	Patellariales	Patellariaceae	<i>Patellaria</i>	1	2,3
	6	20	26	43	100

У складі виявленої мікобіоти переважають представники порядку Pleosporales (Pleosporomycetidae) (30 види, 70% від загального числа видів локулоаскомицетів лісових угруповань), порядок Capnodiales представлений 5 видами, Botryosphaerales та Venturiales включають по 3 та 2 види відповідно, по одному виду – Dothideales та Patellariales.

В родинному спектрі найбільшу кількість видів нараховують родини Leptosphaeriaceae, Lophiostomataceae та Mycosphaerellaceae (по 5 видів), дещо меншу кількість видів об'єднують Pleomassariaceae та Botryosphaeriaceae (по 3), решта 15 родин включають по 1-2 види (див. табл. 1). На родовому рівні специфіку видового складу визначають роди *Leptosphaeria* (5 видів), *Lophiostoma*, *Mycosphaerella* та *Splanchnonema* (по 3 види).

Порівняння таксономічних спектрів локулоаскомицетів лісових угруповань із такими у степових угрупованнях степової зони України [8] за допомогою коефіцієнту дискримінації Стургена-Радулеску [13] показало їх достатньо високу схожість на рівні родин ($K_{sr}=-0,45$), невисоку відмінність на рівні родів ($K_{sr}=0,30$), та високу відмінність на рівні видів ($K_{sr}=0,85$).

Порівняльний аналіз спектру провідних родин показав, що, не дивлячись на певну кількість "спільних" родин, родинні спектри лісових і степових угруповань мають різну видову насиченість, а отже, відіграють різну роль у формуванні мікобіоти (рис. 1).

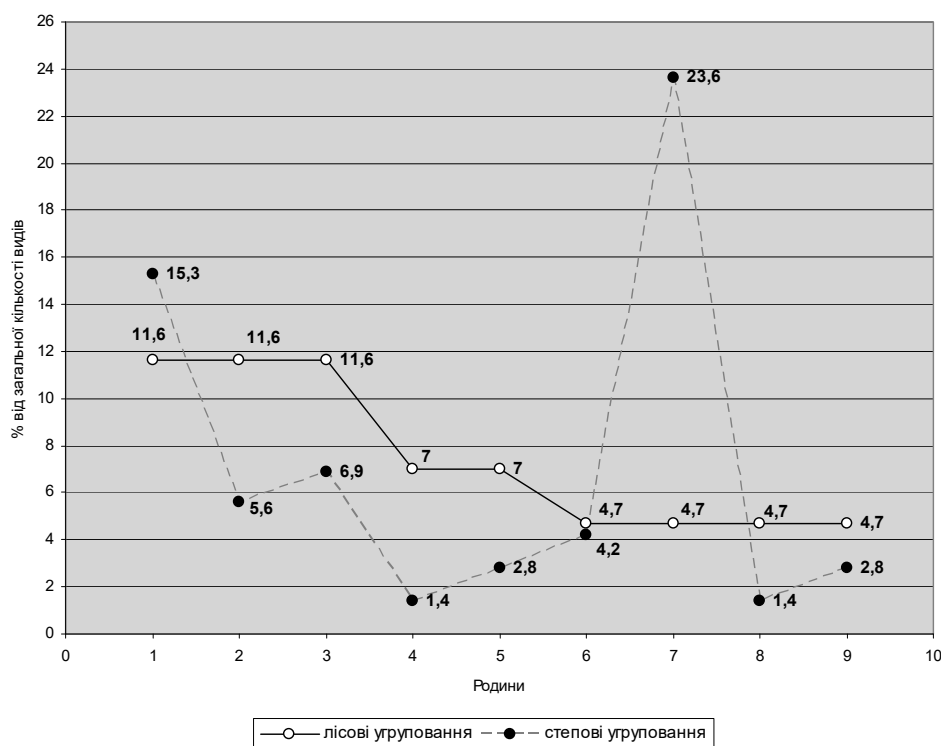


Рис. 1. Видова насиченість родин локулоаскомицетів лісової та степової рослинності

Примітка. Родини: 1 – Leptosphaeriaceae, 2 – Lophiostomataceae, 3 – Mycosphaerellaceae, 4 – Pleomassariaceae, 5 – Botryosphaeriaceae, 6 – Cucurbitariaceae, 7 – Pleosporaceae, 8 – Trematosphaeriaceae, 9 – Venturiaceae.

За ранжуванням відповідно відсотка видів, який містить певна родина у складі даної мікобіоти, перше місце у таксономічному спекті локулоаскомицетів лісових угруповань займають родини Leptosphaeriaceae, Lophiostomataceae, Mycosphaerellaceae (ранг 1-3), друге місце – Pleomassariaceae та Botryosphaeriaceae (ранг 4-5), третє місце – Cucurbitariaceae, Pleosporaceae, Trematosphaeriaceae, Venturiaceae (ранг 6-9). Показовим є факт зменшення у лісових фітоценозах відсотка видів плеоспоральних (Pleosporaceae) та лептосфері-

альних грибів (Leptosphaeriaceae) в порівнянні із степовими фітоценозами та збільшення відсотка представників решти родин – Lophiostomataceae, Pleomassariaceae, Mycosphaerellaceae, Botryosphaeriaceae, Trematosphaeriaceae, Venturiaceae (див. рис. 1).

Аналіз еколого-трофічної диференціації виявленого видового складу локулоаскомицетів показав, що за трофічними уподобаннями переважають сапротрофи (35 видів), значно меншою кількістю видів представлені гемібіотрофи (8). За субстратною приуроченістю, локу-

лоаскомицети в лісових угрупованнях знайдені тільки на рослинних субстратах та розподіляються наступним чином за субстратними групами: ксилотрофи – 25 видів, герботрофи – 10 видів, філотрофи – 8 видів. Встановле-

но, що виявлені види грибів в лісових угрупованнях утворюють консортивні зв'язки із 33 видами деревних та трав'янистих рослин з 25 родів 18 родин (табл. 2).

Таблиця 2. Кількісний розподіл видів грибів класу Dothideomycetes лісових рослинних угруповань Степової зони України за таксонами живильних рослин

Родини та роди судинних рослин	Кількість видів	
	рослин	грибів
1	2	3
Asteraceae (<i>Achillea</i> , <i>Artemisia</i> , <i>Centaurea</i>)	4	7
Ulmaceae (<i>Ulmus</i>)	4	4
Betulaceae (<i>Alnus</i> , <i>Betula</i> , <i>Corylus</i>)	3	5
Fagaceae (<i>Fagus</i> , <i>Quercus</i>)	3	7
Salicaceae (<i>Populus</i> , <i>Salix</i>)	2	10
Fabaceae (<i>Asparagus</i> , <i>Chamaecytisus</i>)	2	2
Convallariaceae (<i>Polygonatum</i>)	1	2
Rhamnaceae (<i>Rhamnus</i>)	1	2
Berberidaceae (<i>Berberis</i>)	1	1
Caprifoliaceae (<i>Lonicera</i>)	1	1
Celastraceae (<i>Euonymus</i>)	1	1
Euphorbiaceae (<i>Euphorbia</i>)	1	1
Lamiaceae (<i>Thymus</i>)	1	1
Polygonaceae (<i>Rumex</i>)	1	1
Ranunculanae (<i>Clematis</i>)	1	1
Rosaceae (<i>Crataegus</i>)	1	1
Solanaceae (<i>Lycium</i>)	1	1
Violaceae (<i>Viola</i>)	1	1

За чисельністю видів грибів-консортів перші місця посідають рослини родин Salicaceae, Asteraceae та Fagaceae (див. табл. 2). Найбільшу кількість видів грибів асоційовано з *Populus tremula* L. (8 видів), із *Quercus robur* L. – 4 види, із *Betula borysthena* Klokov, *Achillea*

submillefolium – 3 види; на решті рослин відмічено по 1-2 види грибів-консортів (табл. 3). Значну кількість мікроміцетів знайдено на деревних та трав'янистих рештках (plantae indeterminate, 9 видів).

Таблиця 3. Консортивні зв'язки видів грибів класу Dothideomycetes із судинними рослинами в різних типах лісових рослинних угруповань степової зони України

Назва виду гриба-консорта	Назва виду рослини	Угруповання		
		заплавних лісів	байрачних лісів	аренних лісів
1	2	3	4	5
<i>Botryosphaeria stevensii</i> Shoemaker	<i>Populus alba</i> L., <i>Populus nigra</i> L., <i>Quercus robur</i> L.			×
<i>Cucurbitaria confluens</i> Plowr.	<i>Q. robur</i>	×		
<i>Cucurbitaria rhamni</i> (Nees) Fuckel	<i>Rhamnus cathartica</i> L.	×		
<i>Didymella quercina</i> Petr.	<i>Q. robur</i>	×		
<i>Didymosphaeria futilis</i> (Berk. & Broome) Rehm	<i>Berberis vulgaris</i> L., <i>Populus tremula</i> L.			×
<i>Didymosphaeria massarioides</i> Sacc. & Brunaud	<i>Lycium barbarum</i> L., <i>Betula borysthena</i> Klokov			×
<i>Dothiora sphaeroides</i> (Pers.) Fr.	<i>P. tremula</i> , plantae indet. (деревина)	×		×
<i>Fenestella hoehneliana</i> Rehm	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	×		
<i>Guignardia reticulata</i> (DC.) Aa	<i>Polygonatum</i> sp.	×	×	
<i>Kalmusia rubronigra</i> Cooke	<i>Ulmus glabra</i> Huds.		×	
<i>Leptosphaeria castagnei</i> (Durieu & Mont.) Sacc.	<i>Euonymus verrucosa</i> Scop.	×		
<i>Leptosphaeria kalmusii</i> Niessl ex Sacc.	<i>Artemisia campestris</i> L., plantae indet. (стебло)			×
<i>Leptosphaeria maculans</i> (Tul. & C. Tul.) Ces. & De Not.	<i>Clematis vitalba</i> L.		×	
<i>Leptosphaeria orae-maritima</i> (Linder) Khashn. & Shearer	Plantae indet. (деревина)		×	
<i>Leptosphaeria periclymeni</i> Oudem.	<i>Lonicera tatarica</i> L.	×	×	
<i>Lophiostoma quadrinucleatum</i> P. Karst.	<i>Euphorbia</i> sp., <i>Rh. cathartica</i> , plantae indet. (деревина)		×	
<i>Lophiostoma semiliberum</i> (Desm.) Ces. & De Not.	Plantae indet. (стебло)		×	
<i>Lophiostoma spiraeae</i> Ellis	<i>Achillea submillefolium</i> Klokov & Krytzka		×	
<i>Lophiotrema duplex</i> (P. Karst.) Sacc.	<i>A. campestris</i> , plantae indet. (деревина)			×
<i>Lophiotrema spiraeae</i> (Peck) Sacc.	<i>A. submillefolium</i>		×	
<i>Massarina eburnea</i> (Tul. & C. Tul.) Sacc.	<i>P. tremula</i>			×
<i>Melanomma pulvis-pyrius</i> (Pers.) Fuckel	<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.			×
<i>Mycosphaerella asteroma</i> (Fr.) Lindau	<i>Polygonatum</i> sp.	×		
<i>Mycosphaerella fagi</i> (Auersw.) Lindau	<i>Fagus sylvatica</i> L.	×		
<i>Mycosphaerella populi</i> (Auersw.) J. Schröt.	<i>P. tremula</i>	×	×	×
<i>Ophiobolus affinis</i> Sacc.	Plantae indet. (стебло)	×		
<i>Ophiobolus ulnosporus</i> (Cooke) Sacc.	<i>A. submillefolium</i>		×	
<i>Othia corylina</i> P. Karst.	<i>Corylus avellana</i> L.		×	
<i>Patellaria atrata</i> (Hedw.) Fr.	<i>Artemisia</i> sp., plantae indet. (деревина)			×

Закінчення табл. 3

1	2	3	4	5
<i>Phaeobotryon quercicola</i> (A.J.L. Phillips) Crous & A.J.L. Phillips	<i>Quercus</i> sp., <i>Fagus</i> sp.		×	
<i>Platystomum populinae</i> Gucevič	<i>P. nigra</i> , <i>P. tremula</i>		×	×
<i>Pleospora cytisi</i> Fuckel	<i>Chamaecytisus</i> sp.			×
<i>Sigarispora caulium</i> (Fr.) Thambug., Wanasinghe, Kaz. Tanaka & K.D. Hyde	Plantae indet. (стебло), <i>P. tremula</i> , <i>Thymus</i> sp.			×
<i>Sphaerulina myriadea</i> (DC.) Sacc.	<i>Q. robur</i>		×	
<i>Sphaerulina violae</i> Garb.	<i>Viola</i> sp.		×	
<i>Splanchnonema argus</i> (Berk. & Broome) Kuntze	<i>B. borysthenica</i> , <i>Ulmus laevis</i> Pall.		×	×
<i>Splanchnonema foedans</i> (Fr.) Kuntze	<i>Ulmus</i> sp.			×
<i>Splanchnonema ulmicola</i> (Fuckel) M.E. Barr	<i>Ulmus minor</i> Mill., <i>U. glabra</i>	×	×	
<i>Stemphylium herbarum</i> E.G. Simmons	<i>Asparagus officinalis</i> L., <i>Centaurea</i> sp., <i>Rumex acetosa</i> L., plantae indet. (Poaceae gen. indet., Apiaceae gen. indet.)			×
<i>Trematosphaeria minuta</i> Berl.	<i>Salix</i> sp.		×	
<i>Trematosphaeria pertusa</i> Fuckel	<i>P. tremula</i>			×
<i>Venturia ditricha</i> (Fr.) P. Karst.	<i>B. borysthenica</i>			×
<i>Venturia macularis</i> (Fr.) E. Müll. & Arx	<i>P. tremula</i>			×

Цікаві результати отримані при порівняльному аналізі субстратної приуроченості видів локулоаскомицетів в лісових та в степових угрупованнях степової зони. Тринадцять видів локулоаскомицетів (табл. 4.) були відмічені нами як в лісових, так і в степових угрупованнях, серед них 10 видів – на різних рослинах-субстратах. З їх числа, 8 видів в степу розвиваються на

трав'янистих субстратах, а в умовах лісових угруповань – на дерев'янистих. Такі види із комбінованою субстратною приуроченістю можуть розглядатися як евритрофні, а зміна стацій цих видів – як один з механізмів адаптації і розповсюдження цих грибів. В цілому, різноманіття субстратів сприяє поширенню як герботрофних, так і ксилотрофних локулоаскомицетів.

Таблиця 4. Субстратна приуроченість видів локулоаскомицетів, що знайдені, як в лісових, так і в степових угрупованнях степової зони України

Назва виду гриба	Назва виду рослини-субстрату	
	лісові угруповання	степові угруповання (за Корольова, 2013)
<i>Didymosphaeria futilis</i>	<i>B. vulgaris</i> , <i>P. tremula</i>	<i>Astragalus albidus</i> Waldst. & Kit.
<i>D. massarioides</i>	<i>L. barbarum</i> , <i>B. borysthenica</i>	<i>Festuca beckeri</i> (Hack.) Trautv., <i>Koeleria sabuletorum</i> (Domin) Klovov
<i>Leptosphaeria kalmusii</i>	<i>A. campestris</i>	<i>A. marschalliana</i>
<i>L. maculans</i>	<i>C. vitalba</i>	<i>Erysimum diffusum</i> Ehrh., <i>A. marschalliana</i> , <i>Artemisia</i> sp., <i>Gentiana acaulis</i> L.
<i>Lophiostoma quadrinucleatum</i>	<i>Euphorbia</i> sp., <i>Rh. cathartica</i> , plantae indet. (деревина)	<i>Euphorbia seguieriana</i> Neck.
<i>L. spiraeae</i>	<i>A. submillefolium</i>	<i>A. submillefolium</i>
<i>Lophiotrema duplex</i>	<i>A. campestris</i> , plantae indet. (деревина)	<i>A. marschalliana</i>
<i>Ophiobolus ulnosporus</i>	<i>A. submillefolium</i>	<i>A. submillefolium</i>
<i>Patellaria atrata</i>	<i>Artemisia</i> sp., plantae indet. (деревина)	<i>A. marschalliana</i>
<i>Sigarispora caulium</i>	Plantae indet. (стебло), <i>P. tremula</i> , <i>Thymus</i> sp.	<i>Thymus borysthenicus</i> Klovov & Des.-Shost.
<i>Sphaerulina violae</i>	<i>Viola</i> sp.	<i>Viola</i> sp.
<i>Stemphylium herbarum</i>	<i>A. officinalis</i> , <i>Centaurea</i> sp., <i>R. acetosa</i> plantae indet.	<i>A. marschalliana</i> , <i>Astragalus</i> sp., <i>Centaurea</i> sp., <i>Chenopodium</i> sp., <i>Peganum harmala</i> L., <i>Thalictrum minus</i> L., <i>Tragopogon major</i> Jacq., <i>Verbascum phoeniceum</i> L., <i>Verbascum</i> sp.
<i>Trematosphaeria pertusa</i>	<i>P. tremula</i>	<i>A. marschalliana</i>

В наших дослідженнях ми спираємося на традиційну класифікацію природних лісів степової зони О.Л. Бельґарда, яка враховує умови зростання лісів в степу [1]. Тривалозаплавні представляють собою заплавні чисті та змішані (ясеневі, липово-ясеневі, в'язові) діброви, з переважанням дуба. Короткозаплавні ліси, що в степовій зоні України збереглися лише в Дніпровсько-Орільському заповіднику [9], представлені дубовими лісами долини Дніпра із домішками тополі чорної, тополі білої, верби білої, в'язу гладкого, ясену звичайного. В цілому в заплавних лісах степової зони переважають насадження дуба, вільхи, осики, тополі, в підліску із шипшиною, крушиною. Байрачні ліси (ліси у балках) найчастіше складаються з дуба, ясеня, клена польового, клена татарського, груші, яблуні, терену, береста, глоду та інших порід. Аренні ліси представлені березовими, осиковими гайками та вільховими сагами із домішками дуба [11].

Аналіз розповсюдження локулоаскомицетів в різних типах лісових угруповань показав наступні результати:

найбільшу кількість видів цих грибів відмічено в аренних лісах (осичники, березняки, вільшняки) – 24 види, дещо менше – в байрачних лісах (19 видів) та заплавних лісах (13 видів) (див. табл. 3).

Видові комплекси локулоаскомицетів різних типів лісових угруповань характеризуються певною своєрідністю. Так, 13 видів локулоаскомицетів відмічені тільки в байрачних лісах, 8 видів – тільки в заплавних лісах (див. табл. 3). В різних типах аренних лісів, виключно в березових гайках траплялись *D. massarioides*, *L. kalmusii*, *L. duplex*, *S. herbarum*, *V. ditricha*, в осикових гайках – *D. futilis*, *Massarina eburnea*, *P. atrata*, *T. pertusa*, *V. macularis*, у вільхових сагах – *Melanomma pulvis-pyrius* та *Botryosphaeria stevensii*. В усіх типах лісових угруповань відмічений досить поширений в Україні вид – *Mycosphaerella populi*.

Порівняння видових спектрів локулоаскомицетів різних типів природних лісів між собою за допомогою коефіцієнту дискримінації Стурґена-Радулеску (табл. 5)

показало їх відмінність (значення K_{sr} від 0,71 до 0,89): найбільш відмінними виявилися видові комплекси локулоаскомицетів заплавлених та аренних лісів ($K_{sr}=0,89$), байрачних та аренних лісів ($K_{sr}=0,85$), дещо менш відмінними – заплавлених та байрачних лісів ($K_{sr}=0,71$).

Кількісні і якісні відмінності встановлених видових спектрів локулоаскомицетів пояснюються строкатістю умов лісових угруповань різних типів, а також різним складом рослин-субстратів.

Таблиця 5. Матриця коефіцієнту дискримінації Стургена-Радулеску (K_{sr})

Тип лісових угруповань/значення K_{sr}	Заплавні ліси	Байрачні ліси	Аренні ліси
Заплавні ліси	-	0,71	0,89
Байрачні ліси	0,71	-	0,85
Аренні ліси	0,89	0,85	-

В цілому, локулоаскомицети досліджених типів угруповань вносять досить своєрідну частку у склад мікобіоти степової зони України. Так, 18 видів локулоаскомицетів (6,6%) від загальної кількості цих грибів території степової зони знайдені тільки в лісових угрупованнях. Серед їх числа – малопоширені та рідкісні види, зокрема, *Fenestella hoehneliana*, *Lophiostoma semiliberum*, *Mycosphaerella asteroma* M. fagi, *M. eburnea*. Виявлені в лісових угрупованнях види локулоаскомицетів репрезентують 16% видового складу грибів класу Dothideomycetes степової зони України.

Висновки

Видова різноманітність грибів класу Dothideomycetes в угрупованнях природної лісової рослинності степової зони України включає 43 види з 26 родів 20 родин 6 порядків підкласів Dothideomycetidae і Pleosporomycetidae. У складі дослідженої мікобіоти переважають представники порядку Pleosporales з родин Leptosphaeriaceae, Lophiostomataceae та Mycosphaerellaceae. Таксономічне ядро дослідженої мікобіоти складають представники родів *Leptosphaeria*, *Lophiostoma*, *Mycosphaerella* та *Splanchnonema*.

Локулоаскомицети лісових угруповань степової зони України асоційовані із 33 видами вищих рослин з 18 родин. Найбільшу кількість мікроміцетів консортивно пов'язані із з представниками Salicaceae. В екологічній структурі дослідженої мікобіоти за трофічними уподобаннями переважають сапротрофи, за субстратною приуроченістю – ксилотрофи.

В угрупованнях 3 типів природної лісової рослинності формуються своєрідні видові комплекси локулоаскомицетів; на їх формування мають вплив різноманітність фітоценотичних умов угруповань та склад рослин-субстратів. Перспективами подальших досліджень є встановлення і всебічний аналіз видової різноманітності грибів класу Dothideomycetes в складі угруповань азональної рослинності степової зони України.

Список використаних джерел

1. Бельгард А.Л. Лесная растительность юго-востока УССР / А.Л. Бельгард. – К.: Изд-во Киев. ун-та, 1950. – 263 с.
2. Васильева Л.Н. Пиреномицеты и локулоаскомицеты севера Дальнего Востока / Л.Н. Васильева. – Л.: Наука, 1987. – 257 с.
3. Геоботаничне районування Української РСР / Т.Л. Андриєнко, Г.І. Білик, О.М. Брадіс, М.А. Голубець, Л.В. Махаєва [та ін.]. / Відп. ред. Барбарич А.І. – К.: Наук. думка, 1977. – 304 с.
4. Голубцова Ю.І. Нові для України види копрофільних аскоміцетів. І. Пиреномицети та локулоаскомицети / Ю.І. Голубцова // Укр. ботан. журн. – 2008. – Т. 65, № 5. – С. 701-710.
5. Гриби заповідників та національних природних парків Лівобережної України / І.О. Дудка, В.П. Гелюта, Т.В. Андриянова [та ін.]. – К.: Арістей, 2009. – Т.І. – 306 с.
6. Гриби природних зон Криму / І.О. Дудка, В.П. Гелюта, Ю.А. Тищенко [та ін.]. / Під ред. Дудки І.О. – К.: Фітосоціоцентр, 2004. – 452 с.
7. Дідух Я.П. Геоботаничне районування України та суміжних територій / Я.П. Дідух, Ю.Р. Шеляга-Сосонко // Укр. ботан. журн. – 2003. – Т. 60, №1. – С. 6-17.
8. Корольова О.В. Локулоаскомицети степових рослинних угруповань / О.В. Корольова // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2013. – №1(13). – С. 194-200.

9. Манюк В.В. Структура, типологія, динаміка і відновлення дібров Дніпровсько-орільського природного заповідника: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.16 / Манюк Вадим Володимирович; Дніпропетровський національний ун-т. – Дніпропетровськ, 2005. – 21 с.

10. Определитель высших растений Украины / Д.Н. Доброчаева, М.И. Котов, Ю.Н. Прокудин [и др.]. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.

11. Природа Украинской ССР. Растительный мир / Т.Л. Андриєнко, О.Б. Блюм, С.П. Вассер [и др.]. / Под ред. Шеляга-Сосонко Ю.Р. – К.: Наук. думка, 1985. – 208 с.

12. Соломаха В.А. Синтаксономія рослинності України. Третє наближення / В.А. Соломаха. – Київ: Фітосоціоцентр, 2008. – 296 с.

13. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике: учеб. пособие / В.М. Шмидт. – Л.: Изд-во Ленингр. гос. ун-та, 1984. – 288 с.

14. Aptroot A. A key to the Dutch species of Didymosphaeria, Massarina and related genera / A. Aptroot // Coolia. – 1998. – Vol. 41, №1. – P. 1-7.

15. Dennis R.W. British Ascomycetes / R.W. Dennis. – Hirschberg: J. Cramer Verlag, 1978. – 586 p.

16. Ellis M.B. Microfungi on land plants: An identification handbook / M.B. Ellis, J.P. Ellis. – London, Sydney: Croom Helm, 1987. – 818 p.

17. Index Fungorum [Електронний ресурс] // CABI Bioscience databases. – 2016. – Режим доступу до бази даних: <http://www.indexfungorum.org>

18. Mosyakin S.L. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist / S.L. Mosyakin, M.M. Fedoronchuk; ed. S.L. Mosyakin. – Kiev: M.G. Kholodny Inst. of Botany, 1999. – 345 p.

19. Sivanesan A. The Bitunicate Ascomycetes / A. Sivanesan. – Lehre: J. Cramer, 1984. – 701 p.

References

1. Belgard A.L. Lesnaya rastitelnost yugo-vostoka USSR. Kiev: Izd-vo Kiev. Un-ta; 1950. 263 p.
2. Vasilyeva L.N. Pyrenomyces and loculoascomycetes of Northern Far East. L.: Nauka; 1987. 257 p.
3. Geobotanichne raionuvannia Ukrainskoi URSR. Kiev: Naukova Dumka; 1977. 304 p.
4. Golubtsova Yul. New records of coprophilous ascomycetes in Ukraine. I. Pyrenomyces and loculoascomycetes. Ukrainian Botanical Journal. 2008; 65(5): 701-710.
5. Fungi of the nature reserves and national nature parks of Eastern Ukraine. Kiev: Aristei; 2009. 306 p.
6. Fungi of natural areas of Crimea. Dudka IO, editor. Kiev: Phytosociocenter; 2004. 452 p.
7. Didukh YP., Shelyag-Sosonko YuR. Geobotanical zoning of Ukraine and adjoining territories. Ukrainian Botanical Journal. 2003; 60(1): 6-17.
8. Korol'ova OV. Loculoascomycetes from steppe plants communities. Problems of ecology and nature protection of technogenic region. 2013; 13(1): 194-200.
9. Manyuk VV. Structure, typology, dynamic and restoration of oak-forests of Dniipro-Orelsky nature reserve [dissertation]. – Dnipropetrovsk: Dnipropetrovsk National University; 2005. Ukrainian.
10. Handbook of the higher plants of Ukraine. Kiev: Naukova Dumka; 1987. 548 p.
11. Nature of the Ukrainian SSR: World of plants. Shelyag-Sosonko YuR, editor. Kiev: Naukova Dumka; 1985. 208 p.
12. Solomakha VA. Syntaxonomia of vegetation of Ukraine. Kiev: Phytosociocenter; 2008. 296 p.
13. Schmidt VM. Mathematical methods in botany. L.: Pub. Leningrad. St. Univ; 1984. 288 c.
14. Aptroot A. A key to the Dutch species of Didymosphaeria, Massarina and related genera. Coolia. 1998;41(1):1-7.
15. Dennis RW. British Ascomycetes. Hirschberg: J. Cramer Verlag; 1978. 586 p.
16. Ellis MB, Ellis JP. Microfungi on land plants: An identification handbook. London, Sydney: Croom Helm; 1987. 818 p.
17. Index Fungorum. 2016. CABI Bioscience databases: <http://www.indexfungorum.org>
18. Mosyakin SL, Fedoronchuk MM. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. Mosyakin SL, editor. Kiev: National Academy of Sciences of Ukraine, M.G. Kholodny Inst. of Botany; 1999. 345 p.
19. Sivanesan A. The Bitunicate Ascomycetes. Lehre: J. Cramer; 1984. 701 p.

Надійшла до редколегії 23.05.16

О.Королёва, канд. биол. наук, доц.

Николаевский национальный университет имени В.О. Сухомлинского, Николаев, Украина

ГРИБЫ КЛАССА ЛЕСНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ СТЕПНОЙ ЗОНЫ УКРАИНЫ

Исследован видовой состав локулоаскомицетов лесных растительных сообществ степной зоны Украины, включающий 43 вида из 26 родов, 20 семейств, 6 порядков 2 подклассов и группы таксонов Incertae sedis класса Dothideomycetes. В таксономической структуре исследованной микобиоты отмечено преобладание представителей подкласса Pleosporomycetidae, порядка Pleosporales, семейства Leptosphaeriaceae, Lophiostomataceae и Mycosphaerellaceae, а также рода Leptosphaeria. Установлена экологическая структура микобиоты и консортивные связи с 33 видами высших растений из 25 родов 18 семейств. В экологической структуре исследованной микобиоты преобладают сапротрофы и ксилотрофы. Проанализированы особенности экологического распространения видов в сообществах 3 типов природной лесной растительности. Проведено сравнение таксономических спектров локулоаскомицетов лесных и степных сообществ степной зоны, в том числе с помощью коэффициента Стюарта-Радулеску.

Ключевые слова: Dothideomycetes, видовой состав, таксономическая структура, экологические особенности, лесные сообщества.

O.Korolyova, PhD, associate professor

Mykolayiv V.O. Sukhomlynsky National University, Mykolayiv, Ukraine

DOTHIDEOMYCETES OF FOREST PLANTS COMMUNITIES OF THE STEPPE ZONE OF UKRAINE

The species composition of class Dothideomycetes in the forest plants communities of the steppe zone of Ukraine has been studied. It includes 43 species from 26 genera, 20 families, 6 orders from 2 subclasses and group Incertae sedis. In the taxonomic structure of the investigated species composition it was established predominance of the subclass Pleosporomycetidae, of the order Pleosporales, the families Leptosphaeriaceae, Lophiostomataceae and Mycosphaerellaceae, and also genus Leptosphaeria. We have established the ecological structure of mycobiota and consortial connections with 33 species of plants from 25 genera 11 families. In the ecological structure it was marked the dominance of saprotrophs and xylotrophs. We analyzed the characteristics of habitat distribution of species in communities 3 types of vegetation. A comparison of the taxonomic spectra of Dothideomycetes of forest and steppe communities of the steppe zone has been performed.

Key words: Dothideomycetes, species composition, taxonomic structure, ecological features, forest communities.

УДК: 581.522.4:635.932 (477.62)

И. Крохмаль, канд. биол. наук

Институт эволюционной экологии НАН Украины, Киев

КОНЦЕПЦИЯ ПРОГНОЗА УСПЕШНОСТИ ИНТРОДУКЦИИ ТРАВЯНИСТЫХ МНОГОЛЕТНИКОВ В СТЕПНУЮ ЗОНУ УКРАИНЫ

Предложена концепция прогноза успешности интродукции травянистых многолетников в степную зону Украины и новые подходы к их интродукции, что является основой повышения интродукционной и природоохранной емкости региона. Концепция служит теоретической основой обновления, пополнения и совершенствования коллекционных фондов ботанических садов степной зоны, мобилизации новых видов для расширения их ассортимента в ландшафтной архитектуре регионов.

Определены критерии успешности интродукции видов и разработана система оценки их адаптационной способности к условиям региона интродукции, предназначенная для анализа приспособленности травянистых многолетников как интродуцированных, так и аборигенной флоры, учитывающая совокупность важных адаптивных признаков растений (44 признака), в том числе морфолого-анатомические показатели вегетативных органов, их аллометрические параметры, скореллированность функциональных признаков растений, способность растений к формированию гибридных семян, аллопатическую их активность.

Ключевые слова: концепция прогноза успешности интродукции, эколого-биологические особенности травянистых многолетников, детерминанты успешности интродукции, адаптация, степная зона.

Вступление. На современном этапе интродукции растений, когда возрастает потребность в экзотических видах мировой флоры для создания естественных ландшафтов в техногенной среде, а не только на сортовое разнообразие культиваров, важное значение приобретает создание концепции прогноза успешности интродукции травянистых многолетников природной флоры в степную зону Украины.

В интродукции растений используют классические методы подбора материала: эколого-исторический и эколого-генетический М.В. Культиасова [37], флорогенетический метод, разработанный А.М. Кормилициным [31], К.А. Соболевской [64], метод филогенетических или родовых комплексов [58], эколого-географический [1], метод флорогенетического анализа [48], климатических аналогов [79]. Большой вклад в разработку агроклиматической систематизации территорий внесен Т.Г. Селяниновым [61]. И.И. Сикурой [63] выявлены климатические аналоги определенных регионов Украины и Средней Азии для успешной интродукции среднеазиатских видов. Н.А. Кохно и А.М. Кордюк [32] определены перспективные регионы умеренной зоны, откуда возможна интродукция в Украину большинства видов деревьев и кустарников. До настоящего времени не определенными остаются регионы умеренной зоны, из которых возможна успешная интродукция в Украину травянистых многолетников. В статье приведены перс-

пективные регионы, из которых возможна интродукция в степную зону Украины травянистых многолетников разных жизненных форм.

Существуют различные теории и гипотезы оценивания интродукционного процесса, которые представлены в виде методик и шкал [8, 11, 23, 29, 46]. Для различных групп растений созданы шкалы оценки успешности их интродукции по одному-нескольким лимитирующим показателям [13, 14, 22, 38, 40, 45, 47, 48, 52, 53]; учитывающие совокупность факторов [2, 27, 29, 44, 51, 53, 63, 65]; использующие коэффициент весомости признака [42]; выражающие оценочные показатели в относительных величинах и сопоставляющие их с показателями в природном ареале [49]. В качестве основного критерия успешности интродукции многолетних травянистых растений выступают также самые разнообразные биологические особенности их в новых условиях произрастания [3-6, 10, 19, 43, 60, 69]. В основе многочисленных шкал оценивания успешности интродукции травянистых растений главным показателем является плодоношение и самосев. Не является исключением и шкала В. В. Бакановой [6], разработанная в Донецком ботаническом саду НАН Украины. В настоящее время данную шкалу используют в оценке успешности интродукции травянистых многолетников [57]. С одной стороны, выбор плодоношения в качестве основного критерия успешности интродукции растений

довольно обоснован, так как этот показатель связан с климатическими и метеорологическими факторами и показывает воспроизводительную способность генотипа в определенных условиях среды. С другой стороны, отсутствие плодоношения часто объясняется не низкой степенью адаптации растений в новых условиях, а может быть вызвано малочисленностью популяций, отсутствием необходимых опылителей, генетическими причинами.

При подведении итогов интродукции растений используют либо визуальную, сравнительно-описательную оценку, либо прибегают к построению сравнительных (оценочных) шкал и таблиц. Для травянистых растений – это сравнительно-описательная оценка Г. П. Семеновой [60] и оценочная шкала В. Н. Флоры [69]. Н. В. Трулевич [67] разработана шкала интродукционной устойчивости растений, которая характеризует биологическую приспособленность интродуцентов к новым условиям существования. Она выделяет неустойчивые, слабоустойчивые, устойчивые и высокоустойчивые растения. Н. С. Даниловой с соавторами [24] модифицирована шкала Былова В. Н. и Карпионовой Р. А. [10]. Оценка проводится по 4-м показателям, один из которых "степень сохранения интродуцентами декоративности после перезимовки". На основе синтеза шкал Былова В. Н., Карпионовой Р. А. [10] и Трулевич Н. В. [67] ею предложена также шкала оценки поведения местных видов в культуре, включающая пять показателей. Т. В. Елисафенко [28] разработана система оценки успешности интродукции растений разных жизненных форм, определены критерии для оценки их акклиматизации и адаптации. Ею выделено 13 критериев, которые объединены в три группы: характеристика феноритма, размножение и жизнеспособность в культуре. Каждый критерий оценивается по 3-балльной системе. Е. А. Елисафенко [28] понимает адаптацию растений на фенотипическом уровне в течение жизни растения как их акклиматизацию к новым условиям произрастания. По ее мнению это процесс активного приспособления организма к нехарактерным для него климатическим условиям и комплекс быстрых фенотипических реакций, связанных в первую очередь с изменением показателей обмена веществ, а степень изменений определяется индивидуальной нормой реакции. По мнению же П. И. Лапина [41] акклиматизация – сложный комплекс явлений, происходящих в растениях под действием природных факторов и созданных человеком условий, изменяющих ход формообразовательных процессов, т.е. суммарная реакция растений на изменившиеся условия среды или воздействия человека при интродукции. Е. П. Булах также считает [8], что акклиматизация определяется как адаптация видов растений к новым условиям среды путем генетических изменений в составе их популяций или путем выделения новых генотипов и их последующего отбора. По мнению Н. А. Аврорина [1] при акклиматизации модификационная изменчивость растений переходит в генотипическую наследственную только после 5–6 лет жизни их в культуре. Наиболее вероятно изменение генотипа при семенном размножении. Известно, что существует также возможность мутаций при акклиматизации у вегетативно подвижных растений и у отдельных особей на соматическом уровне, без изменения репродуктивных клеток [28].

Несмотря на то, что понятие адаптации имеет достаточно широкое применение и является ключевым во многих биологических теориях, единых критериев, согласно которым изучаются отдельные адаптации, пока не существует. Основные направления исследования

приспособления видов в ботанических садах: 1) составление их систематических списков и баз данных, изучение динамики коллекционных фондов; 2) накопление разносторонних сведений по отдельным видам или родовым комплексам; 4) проведение фенологических, морфолого-онтогенетических, анатомических, палинологических исследований; 6) изучение особенностей размножения видов для поддержания их в коллекции; 7) исследование интродукционных популяций; 8) изучение последствий гибридизации видов; 9) оценка инвазионной опасности интродуцентов; 10) селекция; 11) разработка прогностических методов интродукции, шкал оценивания успешности интродукции видов к новым условиям; 12) социальные и экономические аспекты интродукции растений.

Отсутствие универсальной системы оценки и обусловило необходимость выбора критериев успешной интродукции растений и создания нами системы оценивания степени адаптации травянистых многолетников. Шкалы, разработанные в последнее время, как приведено выше, предложены для оценки поведения местных видов в культуре [67], для оценки акклиматизации и адаптации растений разных жизненных форм [28]. Разработанная нами система оценки предназначена для анализа адаптации травянистых многолетников как интродуцированных, так и местной флоры, учитывает совокупность важных адаптивных признаков, их весомость. Некоторые параметры растений в условиях региона интродукции сравниваются с таковыми в естественных местах обитания. В случае отсутствия таких данных в литературе, мы рекомендуем проводить сравнение признаков интродуцированного вида с таковыми вида аборигенной флоры этого рода. Отличие разработанного нами оценивания от других подобных состоит в анализе значительно большего количества адаптивных признаков (44 признака), в том числе морфолого-анатомических, аллометрических параметров вегетативных органов, степени скоррелированности функциональных признаков растений, способности травянистых многолетников к формированию гибридных семян, аллелопатической активности растений, за счет чего они повышают свою конкурентоспособность в новых условиях обитания.

Цель работы – на основе анализа зависимости успешности интродукции 510 видов от их эколого-биологических предикторов и выявленных детерминант их адаптации (проведенного ранее, ссылки на опубликованные материалы приведены в списке литературы к статье) разработать концепцию успешности интродукции травянистых многолетников в степную зону Украины и систему оценки адаптационной способности видов к условиям региона интродукции.

Материалы и методы исследований.

Коллекция малораспространенных травянистых многолетников была создана в Донецком ботаническом саду НАН Украины с целью научного исследования интродуцентов различного эколого-географического происхождения для развития теоретических и практических вопросов интродукции растений. Интродукционный эксперимент проводился около 50 лет. Исследованы 510 видов, относящиеся к 191 роду 50 семействам, из которых наиболее представлены Asteraceae, Caryophyllaceae, Ranunculaceae, Poaceae, Scrophulariaceae, Lamiaceae, Liliaceae, Rosaceae, Brassicaceae, Hyacinthaceae, Alliaceae, Asphodelaceae, Campanulaceae, Hemerocallidaceae, Hostaceae, Iridaceae, Primulaceae, Saxifragaceae (рис. 1). Причем девять последних не являются ведущими семействами флоры юго-востока Украины. Двадцать два семейства представлены 1 родом, 8 родов – 1 видом. Анализ адап-

тационной способности 510 видов травянистых многолетников мировой флоры в условиях степной зоны Украины от их эколого-биологических особенностей и географического распространения приведен в ранее опубликованной статье [33]. Выявленные эколого-биологические детерминанты успешности интродукции травянистых многолетников [34-35, 76-78] послужили основой разработки системы оценивания степени адаптационной способности видов к условиям степной зоны.

Результаты и обсуждение.

Прогноз успешности интродукции травянистых многолетников.

Особи видов в своем ареале характеризуются набором признаков (группами признаков), которые могут, по нашему мнению, становиться важными для адаптации к новым условиям или не играть никакой роли в адаптации к этим условиям. Предлагаем рассматривать фенотип интродуцентов как совокупность признаков, условно объединенных в четыре группы: I) признаки, важные для адаптации к новым условиям среды, закрепленные в генотипе вида, которые проявляются в природном месте произрастания и в регионе интродукции, II) признаки, неважные для адаптации к новым условиям среды, закрепленные в генотипе, III) признаки

особей, закрепленные в генотипе вида, которые проявляются в условиях региона интродукции, но не в естественных условиях обитания и IV) признаки особей, которые возникли и закрепились в генотипе в условиях региона интродукции. В новых условиях существования возможны, на наш взгляд, следующие сценарии приспособления растений: 1) сохраняются признаки группы I, не изменяется степень их проявления; 2) сохраняются признаки группы I, изменяется степень их проявления; 3) сохраняются признаки группы I, не изменяется степень их проявления, проявляются признаки группы III; 4) сохраняются признаки группы I, изменяется степень их проявления, проявляются признаки группы III; 5) сохраняются признаки группы I, не изменяется степень их проявления, появляются признаки группы IV, которые возникли и закрепились в генотипе в условиях региона интродукции; 6) сохраняются признаки группы I, изменяется степень их проявления, появляются признаки группы IV; 7) исчезают признаки группы I, проявляются признаки группы III; 8) исчезают признаки группы I, появляются признаки группы IV; 9) существование особей в новых условиях невозможно (рис. 2).

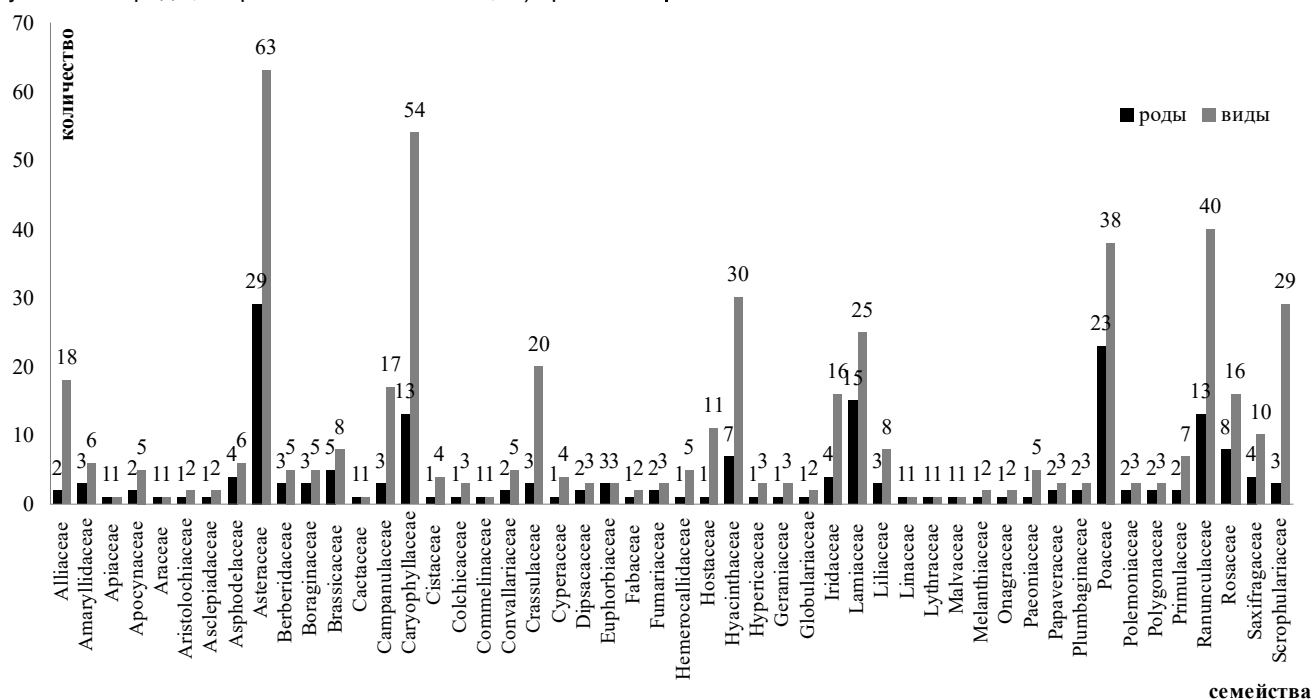


Рис. 1. Систематический состав коллекции травянистых многолетников Донецкого ботанического сада НАН Украины

Первый сценарий вероятен в случае, когда интродукция вида происходит с учетом его эколого-биологических предпосылок к успешной интродукции в тот или иной регион. Интродуцент устойчив к условиям новой среды обитания, способен сохранять высокую жизнеспособность в этих условиях. Второй сценарий связан с тем, что особи, которые попадают в новые условия, способны претерпевать количествен-

ные изменения признаков, которые ответственны за приспособление растений. Полученные благодаря этому ресурсы растения способны эффективно использовать для поддержания своей жизнеспособности. Третий и пятый сценарии предполагают сохранение и неизменность признаков группы I, но, наряду с этим, появление признаков III и IV.

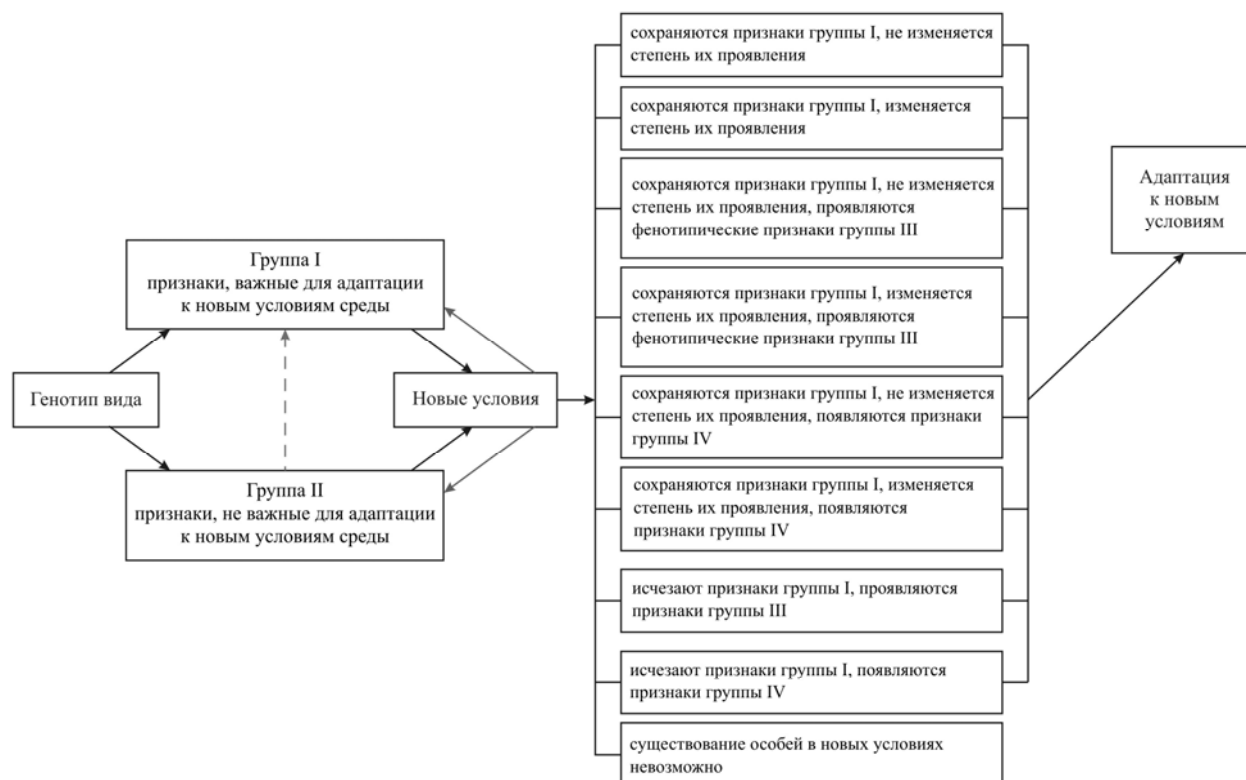


Рис. 2. Сценарии приспособления травянистых многолетников к условиям региона интродукции

Проведенные нами исследования показали, что особи видов рода *Campanula* L. в разных частях своего ареала не имеют качественных отличий в анатомо-функциональных признаках листа [35]. Можно предположить, что признаки группы III могут быть закреплены в генотипе вида, который складывался под влиянием разных геологических и климатических условий прошлого и настоящего, или не закреплены в генотипе вида. В последнем случае в условиях региона интродукции происходит микроэволюционный процесс, и у растений последующих поколений, особенно, если они гибридного происхождения, может происходить закрепление данных признаков в генотипе (IV группа). Как правило, такие растения обладают высоким репродуктивным потенциалом в новых условиях обитания. Четвертый и шестой сценарии (наличие изменений в группе I, проявление признаков группы III и появление признаков группы IV) способствует высокой приспособленности растения к новым условиям произрастания. Седьмой вариант предусматривает нивелирование признаков группы I, которые способствовали адаптации вида в естественных условиях его произрастания, и проявление фенотипических признаков группы III. По нашему мнению, это сценарий, который встречается довольно редко в практике интродукции растений. Восьмой вариант предполагает выживание растений в новых условиях только при условии возникновения новых признаков. При девятом сценарии существование особей в новых условиях невозможно. Это происходит при наличии надпороговых значений лимитирующих факторов.

Признаки группы II не важны для адаптации растений, поэтому их наличие, отсутствие или разная степень проявления в новых условиях не влияет на приспособление особей к этим условиям. В случае, когда признаки группы II начинают оказывать влияние на жизнеспособность растений, они переходят в состав группы I.

На основе проведенного анализа зависимости успешности интродукции 510 видов от их эколого-биологических предикторов [33] нами разработана прогностическая шка-

ла оценки степени адаптации видов к условиям региона интродукции, которая анализирует потенциальные приспособительные способности растений к условиям степной зоны. По этому оцениванию вид анализируется как потенциально неуспешный – 0-11 баллов, средне успешный – 12-23 балла, высоко успешный – 24-33 балла (рис. 3). Рекомендуем привлекать к интродукции виды, которые потенциально средне и высокоуспешны.

При оценке *жизненной формы* растений предлагаем оценивать не только структуру надземных осей, строение корневой системы, положение почек возобновления, но и способность этих признаков к изменению в различных местообитаниях в пределах ареала вида. По *консистенции листьев* суккуленты оцениваются 1 баллом, остальные 0 баллами. По *структуре надземных органов* 1 баллом оцениваются розеточные растения, 0 баллов – остальные. В.Н. Ворошилов [16] считает, что возникновение розеточного и прикорневого расположения листьев у древних форм было связано с аридизацией климата. С другой стороны, он отмечает, что розеточные растения являются основным приспособительным типом при продвижении их на север. Такого же мнения придерживается Д.Б. Севайл [83], полагая, что приземная розетка листьев обеспечивает успешную перезимовку в холодных районах и защиту от весенних заморозков. Зимующие почки укрыты не только плотно расположенными живыми зелеными листьями, но и остатками отмерших прошлогодних. Б.Н. Головкин [19] считает, что преимущество розеточных гемикриптофитов перед эпикотильными состоит в ритме роста и развития надземных побегов. Будучи в большинстве своем ди- и полициклическими растениями, розеточные гемикриптофиты внутри почки формируют генеративный побег в течение двух, а иногда и более лет. Безрозеточные гемикриптофиты, побеги которых развиваются по моноциклическому типу, лишены этих преимуществ, поскольку большинство формирует генеративную сферу вне почки возобновления.

По экологической принадлежности вид, являющийся ксерофитом или субксерофитом, оценивается 1 баллом, остальные – 0 баллов; с широкой экологической амплитудой – 1 баллом, узкой – 0 баллом. По ценотической приуроченности степант и/или петрофит оценивается 1 баллом, остальные – 0 баллов; эвритопные добавляют к оценке 1 балл, стенотопные – 0 баллов. По феноритмотипу весеннезеленый эфемероид с периодом летне-осенне-зимнего покоя, длительно вегетирующий осенне-зимне-весеннезеленый с периодом летнего покоя и весенне-летне-осеннезеленый с периодом зимнего покоя оцениваются 1 баллом, остальные

Прогностическая оценка степени адаптации травянистых многолетников в зависимости от их *географического распространения* в разработанной нами шкале рассматривается с учетом жизненной формы и ценотической приуроченности видов на основании проведенных ранее исследований [33] (см. рис. 3). Выявлено, что наиболее адаптированы к условиям степной зоны Украины кавказско-западноазиатские, западноазиатские, европейские, европейско-средиземноморские, североамериканские и евроазиатские травянистые виды.

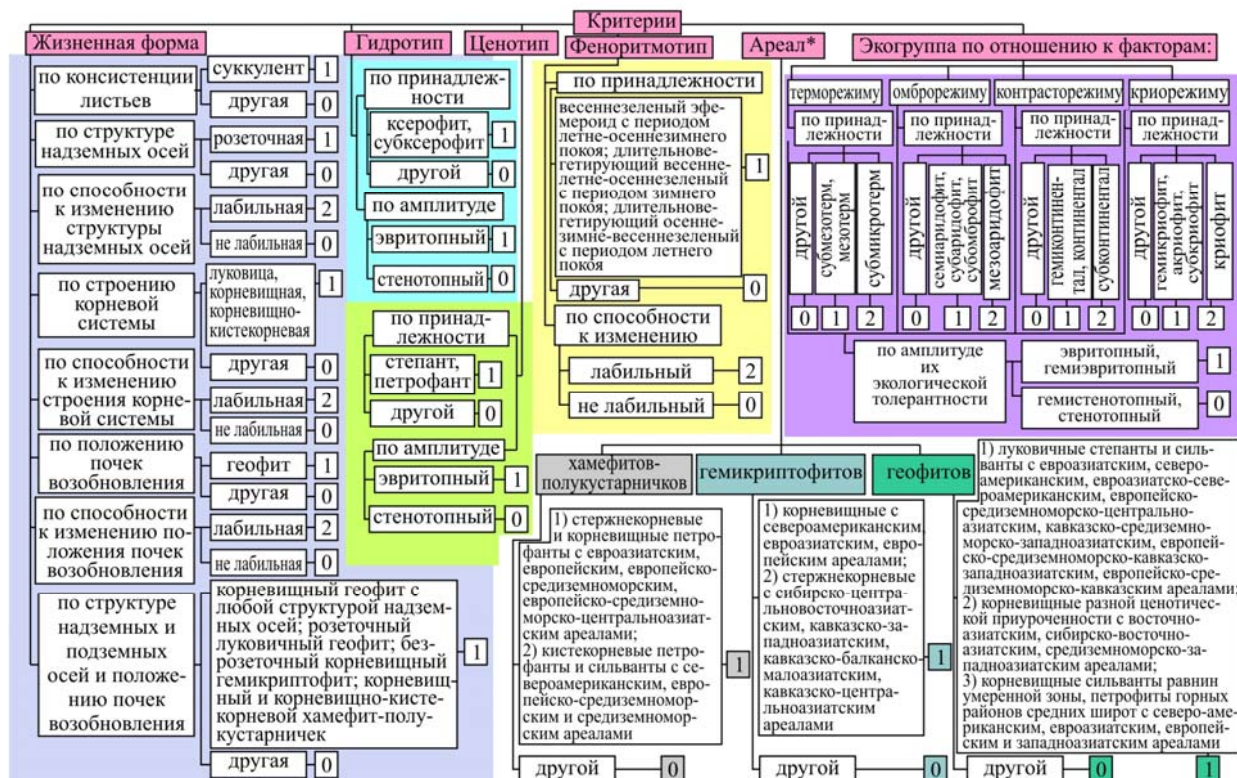


Рис. 3. Прогностическая оценка адаптационной способности видов травянистых многолетников к условиям степной зоны Украины

Среди геофитов наиболее адаптированы: 1) луковичные степанты и сильванты с евроазиатским, североамериканским, евроазиатско-североамериканским, европейско-средиземноморско-центральноазиатским, средиземноморско-кавказско-западноазиатским, европейско-средиземноморско-кавказско-западноазиатским, европейско-средиземноморско-кавказским ареалами; 2) корневищные разной ценотической приуроченности с восточноазиатским, сибирско-восточноазиатским, средиземноморско-западноазиатским ареалами и сильванты равнин умеренной зоны, петрофиты горных районов средних широт с североамериканским, евроазиатским, европейским и западноазиатским ареалами.

Среди *гемикриптофитов*: 1) корневищные с североамериканским, евроазиатским, европейским ареалами и 2) стержнекорневые с сибирско-центрально-восточноазиатским, кавказско-западноазиатским, кавказско-центральноазиатским, кавказско-балканско-малоазиатским ареалами.

Среди *хамефитов-полукустарничков*: 1) стержнекорневые и корневищные петрофиты с евроазиатским, европейским, европейско-средиземноморским, европейско-средиземноморско-центральноазиатским ареалами; 2) кистеконовые петрофиты и сильванты с североамериканским, европейско-средиземноморским и средиземноморским ареалами.

По принадлежности вида к определенной экогруппе по отношению к климатическим факторам травя-

нистый многолетник оценивается следующим образом: 1) терморегиму: субмикротермы оценены 2 баллами, субмезо- или мезотермы 1 баллом, остальные – 0 баллов; 2) омброрегиму: мезоаридофиты оцениваются 2 баллами, семиаридо-, субаридо- или субомброфиты – 1 баллом, остальные – 0 баллов; 3) контрарторегиму: субконтиненталы – 2 баллами, гемиконтиненталы или континенталы – 1 баллом, остальные – 0 баллов; 4) криорегиму: криофиты оценены 2 баллами, геми-, акрио- или субкриофиты – 1 баллом, остальные 0 баллов. Оценивается также экологическая амплитуда толерантности видов по отношению к климатическим факторам: эвритопные, гемизевритопные – 1 балл, гемистенотопные, стенофиты – 0 баллов.

С учетом климатических факторов (термо-, омбро- и криорегимов) перспективными регионами для интродукции травянистых многолетников в степную зону Украины являются север Каскадных гор (Вашингтон), некоторые территории района Великих озер (Огайо, Пенсильвания); Карпаты, Среднедунайская и Нижнедунайская низменность, Среднерусская возвышенность, запад Большого Кавказа, Западное Закавказье, Предкавказье, полуостров Корея, север острова Хонсю. С учетом четырех климатических факторов перспективными географическими регионами являются все перечисленные выше, кроме Среднерусской возвышенности.

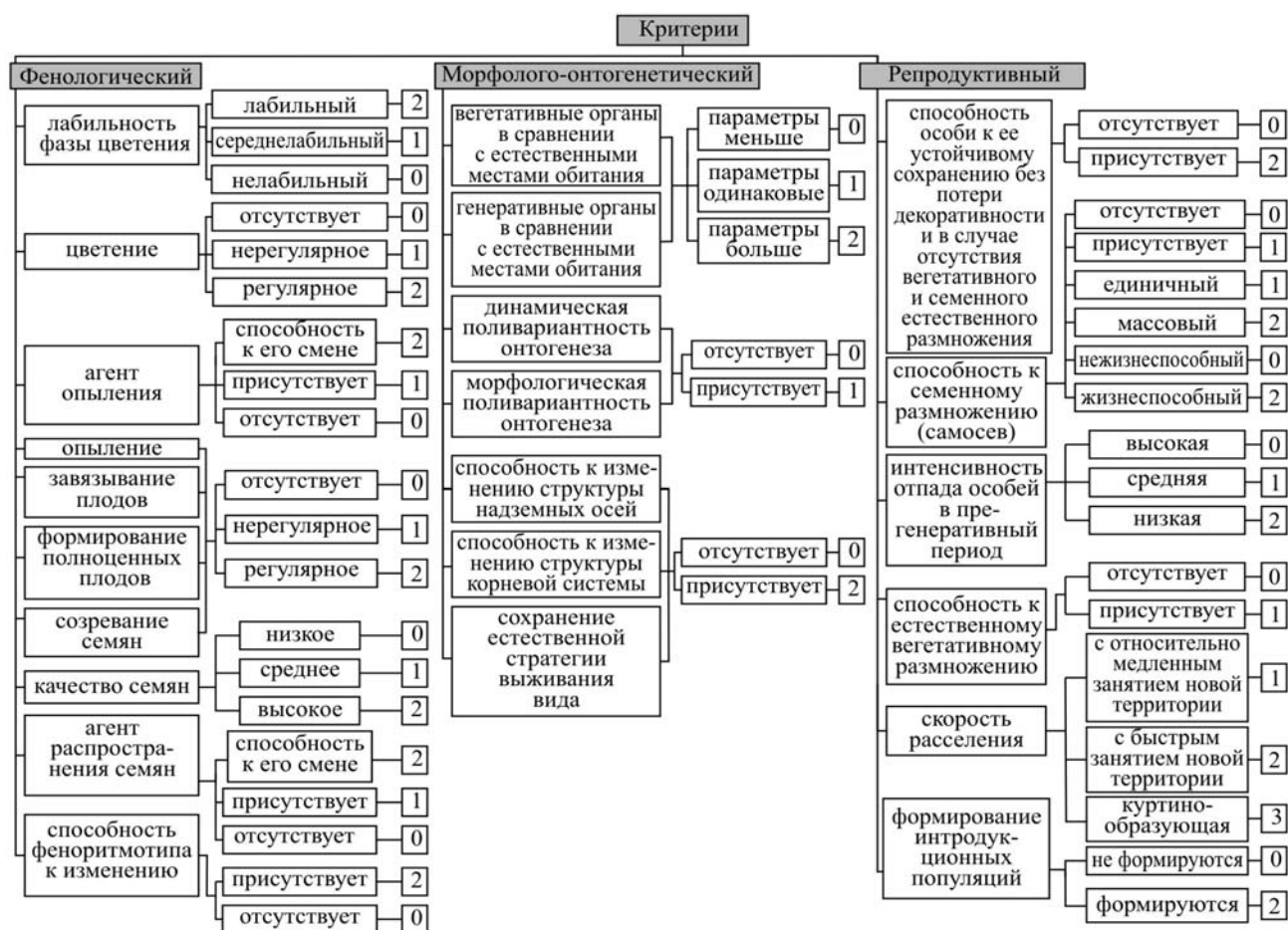


Рис. 4. Система оценки степени адаптации видов травянистых многолетников к условиям степной зоны Украины

Система оценивания адаптационной способности видов.

Проблема объективной оценки успешности роста и развития растений в условиях культуры остается не решенной до сих пор, она связана с необходимостью определения критериев адаптации растений и выбора одной из существующих систем оценок или создания ее модифицированного варианта.

Известно, что границы ареалов видов растений не всегда определяются почвенно-климатическими условиями, а зависят от целого ряда исторически сложившихся причин [12, 18, 34]. В природе растения, осваивая новые территории, не всегда поселяются в сходных условиях, а иногда в резко отличных [17, 58]. Глобальные изменения в геологии и климате Земли вызвали многочисленные адаптационные изменения, которые закреплялись отбором, а затем генетически [15, 26]. Действие естественного отбора в условиях интродукции не прекращается [51]. И.И. Шмальгаузен [71] считает, что новые приспособления возникают обычно в результате дифференцирования уже существующих.

Процесс интродукции растений завершается образованием культивируемых популяций [30]. Одной из их особенностей является формирование гибридов, которые обладают высокой толерантностью к условиям региона интродукции и могут заселять территории, примыкающие к экспозициям и коллекциям, т.е. в ботанических садах формируется источник инвазионных видов. Некоторые критерии адаптации растений, по нашему мнению, близки к критериям инвазионной успешности видов. Одна из гипотез успешной инвазии видов говорит о том, что растения достигают высокой устойчивости в новых условиях благодаря быстрым генетическим изменениям [73, 82]. К.Л. Ричардс и соавторы [81] считают, что успех инвазии видов зависит от пластичности видов и выделяют следующие стратегии: jack-of-all – растения способны сохранять высокую приспособленность в неблагоприятных условиях; master of some – способны повышать приспособленность в благоприятных условиях; jack-of-master – комбинация некоторых уровней двух способностей.

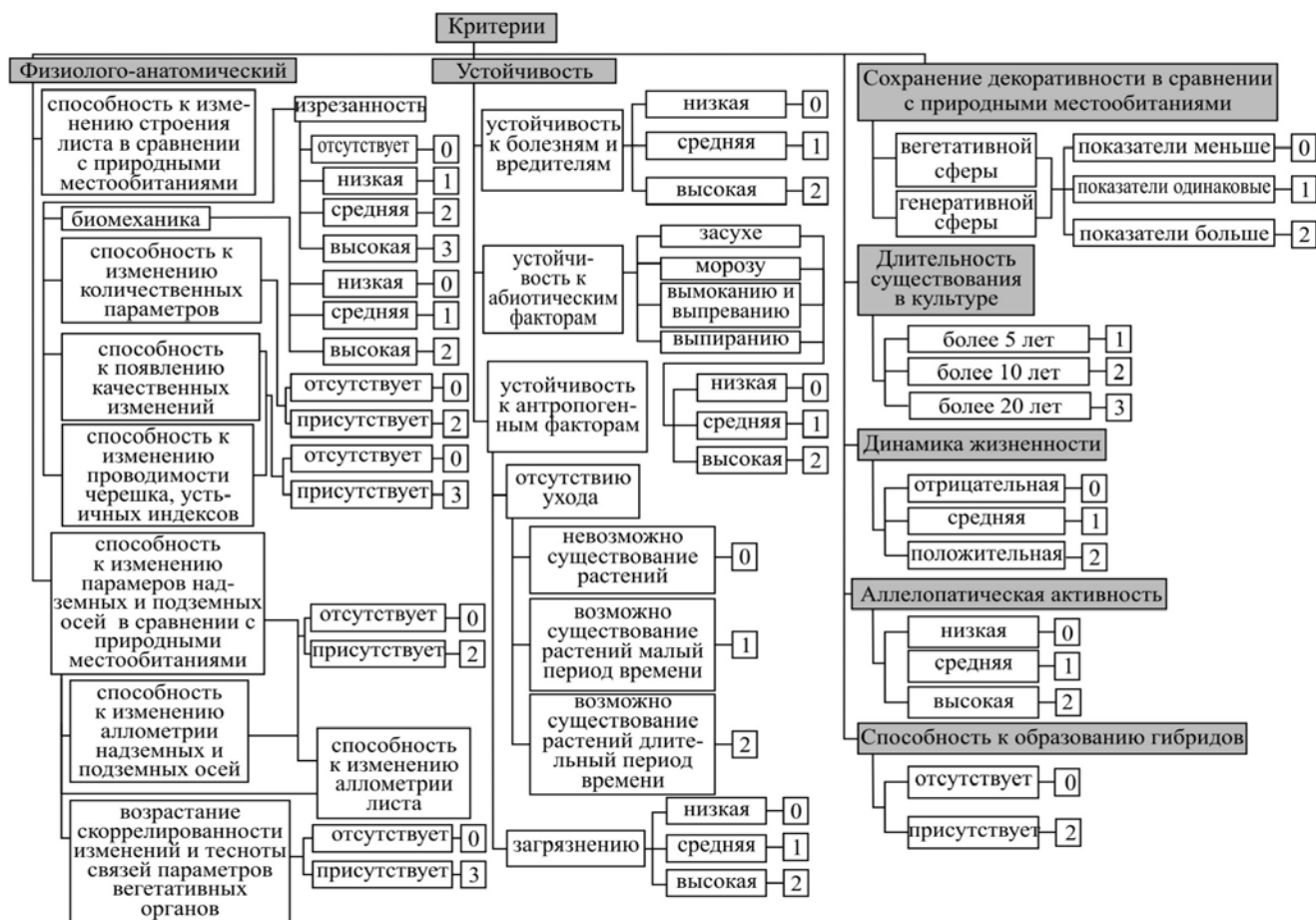


Рис. 5. Система оценки степени адаптации видов травянистых многолетников к условиям степной зоны Украины (продолжение)

Нами выделены критерии адаптации и разработана система оценивания успешности интродукции травянистых многолетников к условиям степной зоны Украины (рис. 4, 5). Известно, что для успешной адаптации растений важное значение имеют особенности прохождения фенологических фаз и их согласованность с климатическими факторами новой среды [16, 39, 41]. Н.А. Аврорин [1] предложен метод фенологических спектров для оценки успешности интродукции травяни-

стых растений. Т. В. Шулькина [72] предложила использовать в качестве критерия устойчивость фенологических фаз растений, Б.Н. Головкин [19], П. Е. Булах [7, 9] – среднее квадратическое отклонение от средних сроков наступления фенофаз растений. А. В. Кузьмин [36] разработал критерии оценки степени адаптации древесных видов на основе анализа системы межфазовых корреляций фенодат. По мнению некоторых ученых [9] стабильность даты вступления в фазу цветения (буто-

низации) является критерием адаптации вида к новым условиям. Нами в качестве критерия адаптации предложено использовать коэффициент вариации дат фенофаз видов. Наиболее адаптированы виды, отличающиеся лабильными фенофазами бутонизации и цветения. Данная закономерность обнаружена у аборигенных видов, фенофазы которых изменяются в ответ на метеорологические факторы региона произрастания [78].

В разработанной нами системе оценки адаптационной способности травянистых многолетников в рамках *фенологического критерия* учитываются: лабильность вступления в фазу бутонизации и цветения по коэффициенту вариации (лабильные, средне- и нелабильные виды, оценка 2, 1 и 0 баллов соответственно); характеристика цветения (отсутствует, нерегулярное, регулярное, оценка 0, 1 и 2 балла соответственно); наличие агентов опыления и распространения семян и их смены в новых условиях (отсутствие оценивается 0 баллом, наличие 1 баллом, способность к их смене – 2 баллами); опыление, завязывание плодов и семян, формирование полноценных плодов (отсутствует, нерегулярное, регулярное, оценивается соответственно 0, 1 и 2 баллами), качество семян; способность феноритмотипа к изменению в новых условиях (оценивается 2 баллами).

Морфолого-онтогенетический критерий. Оцениваются параметры вегетативных и генеративных органов в условиях региона интродукции в сравнении с естественными местами обитания; наличие динамической и морфологической поливариантности онтогенеза; способность к изменению структуры надземных и подземных осей; сохранение в условиях региона интродукции естественной стратегии выживания вида, характерной для него в естественных условиях обитания. Сравнительную характеристику с природными популяциями по вегетативной сфере проводят по количеству побегов на особь, размерам вегетативных побегов и листьев, количеству листьев, степени ветвления; генеративной сфере: по количеству генеративных побегов, доли генеративных побегов на особь, размерам побегов, цветков.

Одним из важнейших критериев адаптации травянистых многолетников является *репродуктивный*. В его рамках оценивается способность особи к устойчивому долговременному сохранению ее в новых условиях обитания без потери декоративности и при условии отсутствия вегетативного и семенного естественного размножения. Большинство травянистых многолетников в различных региональных ассортиментах относятся именно к этой группе растений. Размножают эти растения искусственным способом для экспозиций ботанических садов.

Оценивается способность растений к естественному размножению: семенному и вегетативному. Успешному естественному размножению способствует обильное регулярное плодоношение, устойчивое образование жизнеспособных семян, наличие опылителей, вхождение в кормовую базу птиц и зверей и/или активное вегетативное размножение. Известно, что для формирования самосева необходимо как образование полноценных семян, так и успешное прохождение ими стратификации непосредственно в месте произрастания. Самосев оценивается с учетом его важных характеристик: наличия, плотности, жизнеспособности. Отдельно анализируется интенсивность отпада особей в прегенеративном периоде, так как именно на начальных стадиях развития происходит гибель растений. Нередко вид с массовым и жизнеспособным самосевом в регионе интродукции, у которого сеянцы массово погибают на ранних стадиях развития, не обладает способностью к естественному семенному размножению. Многие травянистые много-

летники способны к естественному вегетативному размножению в регионе интродукции – оценивается не только эта способность, но и скорость расселения. Вегетативное размножение имеет преимущество в сравнении с семенным по скорости освоения и прочности удержания территории близ материнского растения. Считается, что вегетативное размножение способствует сохранению растениями определенной комбинации генов, что делает их хорошо приспособленными к условиям окружающей среды и дает возможность заселять обширные пространства [56]. Вегетативное размножение является менее затратным способом воспроизводства в сравнении с генеративным [80].

В условиях, затрудняющих генеративную репродукцию, вегетативное размножение является единственным способом для выживания вида. Виды, размножающиеся только вегетативно, обладают высокой конкурентоспособностью, пластичностью, устойчивостью и продуктивностью, благодаря чему могут существовать в широком диапазоне экологических условий и успешно захватывать большие территории в природных обществах. Способность травянистых многолетников к формированию устойчивых самоподдерживающихся интродукционных популяций оценивается 2 баллами.

Морфолого-анатомический критерий (см. рис. 5). Нами выявлены закономерности функциональной морфологии и анатомии вегетативных органов видов травянистых многолетников разного эколого-географического происхождения в условиях степной зоны Украины [77]. Определены наиболее важные для адаптации к новым условиям признаки, группы признаков, на основе которых возможно провести оценку адаптации вида по этому критерию. Оценку параметров вегетативных органов вида в регионе интродукции можно проводить как в сравнении с растениями из природных мест произрастания, так и с аборигенным видом похожей биоморфы этого рода. Выявленная связь морфолого-анатомических адаптивных признаков видов родов *Aquilegia*, *Campanula* с климатическими факторами мест их естественного произрастания позволяет провести экстраполяцию полученных закономерностей и спрогнозировать успешность интродукции других видов этих родов в степную зону Украины.

Способность к изменению параметров надземных и подземных органов растений, их аллометрии в новых условиях произрастания в сравнении с природными местообитаниями оценивается 2 баллами. Способность видов к изменению аллометрии листа оценивается также 2 баллами. Возрастание скоррелированности изменений функциональных признаков вегетативных органов и тесноты связей этих параметров оценивается 3 баллами.

Отдельно оценивается степень изрезанности листа (отсутствие ее – 0 баллов, низкая степень – 1, средняя – 2, высокая – 3 балла); его биомеханика (низкая – 0 баллов, средняя – 1, высокая – 2 балла). Известно, что увеличение изрезанности способствует возрастанию интенсивности фотосинтеза и одновременно повышению транспирации, приводит к быстрому охлаждению листа [84, 85]. Развитие механических тканей листа обеспечивает оптимальное его положение для улавливания солнечной радиации и повышения интенсивности фотосинтеза.

Способность растений к изменению количественных параметров листа (плотность устьиц, трихом, толщина тканей листа, их слойность, размер и площадь листа, удельная его площадь) в регионе интродукции в сравнении с природными местообитаниями оценивается 2 баллами. Способность растений к появлению качест-

венных изменений в листе оценивается 3 баллами. К таким изменениям относятся: изменение формы листа и характера края, появление столбчатого мезофилла, опушения, устьиц на адаксиальной поверхности листа, формирование полости в черешке листа. Способность растений в новых условиях произрастания к изменению устьичных индексов и гидравлической проводимости черешка листа оценивается 2 баллами. В случае, когда невозможно оценить эти параметры растений в природе, по литературным данным, в ходе экспедиционных исследований, вполне возможно, на наш взгляд, сравнение стратегии функционирования листа с таковой вида аборигенной флоры этого рода.

Критерии устойчивости. Низкая устойчивость к абиотическим факторам: засухе, морозу, вымоканию и выпреванию, выпиранию и биотическим факторам: болезням и вредителям оценивается 0 баллов, средняя – 1 баллом, высокая – 2 баллами. Устойчивость растений к отсутствию агротехнического ухода оценивается 0 баллов – существование особей невозможно; 1 баллом – возможно малый период времени; 2 баллами – возможно длительный период времени. Устойчивость растений к загрязнению окружающей среды: низкая (0 баллов), средняя (1 балл) и высокая (2 балла).

Критерий сохранения декоративности. Оценивается декоративность вегетативных и генеративных органов растений в сравнении с природными местообитаниями. Декоративность в регионе интродукции может быть меньше, такая же или выше, чем в природе. Декоративность растения оценивается по его габитусу, диаметру и высоте; окраске, текстуре, плотности, оригинальности листвы; количеству генеративных побегов, продуктивности и интенсивности цветения и плодоношения; плотности и оригинальности соцветия; размеру, махровости, форме, окраске, оригинальности цветка и плода; устойчивости генеративных побегов, соцветий и цветков к абиотическим и биотическим факторам; продолжительности цветения и декоративного периода. В отдельных случаях уменьшение размерных характеристик не оказывает сильного влияния на декоративность растения. Фенотипическую миниатюризацию можно использовать в селекционных работах для получения компактных форм цветочно-декоративных растений. Большее значение имеют параметры продуктивности (цветения, плодоношения) растений, устойчивость цветоносов к полеганию от ветра, дождя; цветков к выгоранию от солнца и намоканию от дождя; нормальное развитие, без аномалий, листьев, бутонов, цветков. Известны случаи, когда воздействие абиотических факторов не приводит к снижению декоративности растения. Так, лепестки двулистника Грея (*Diphylleia grayi* F. Schmidt) после дождя становятся прозрачными, что повышает его декоративность. Иногда явление тератогенеза, присущее многим растениям, также повышает их декоративность, например: увеличение количества долей околоцветника (сеянцы *Hemerocallis hybrida*, виды рода *Aquilegia*), срастание генеративных побегов и соцветий (фасциации) (*Solidago nemoralis* Aiton), срастание язычковых цветков в соцветиях (сеянцы поликроссного потомства *Leucanthemum maximum* (Ramond) DC., *Gaillardia aristata* Pursh.). Отсутствие плодоношения и/или понижение продуктивности плодоношения в случае недекоративного вида плодов, наоборот, способствует повышению декоративности растений и обуславливает уменьшение затрат на дополнительный уход (срезание недекоративных генеративных побегов с плодами). Плоды же других растений (виды рода *Helleborus*, *Pulsatilla*) высоко декоративны, и повыше-

ние процента плодоцветения значительно повышает общую оригинальность растения.

Критерий длительности существования в культуре. Длительность существования в культуре травянистых многолетников с наличием агротехнического ухода более 5 лет оценивается 1 баллом, более 10 лет – 2 баллами, более 20 лет – 3 баллами. **Динамика жизненности** травянистых многолетников оценивается за период 10 лет: отрицательная (0 баллов), средняя (1 балл), положительная (2 балла).

Аллелопатический критерий. Аллелопатия понимается как механизм, который реализуется через выделение интродуцентами химических соединений, оказывающих негативное влияние на виды природных сообществ, в которые они внедряются [75]. Наличие аллелопатических приспособлений интродуцированных растений – это, как правило, подавление роста аборигенных видов с выделением веществ, ингибирующих всхожесть и выживаемость проростков на ранних стадиях развития. Наличие высокой аллелопатической активности у интродуцированных видов оценивается 2 баллами.

Гибридизационный критерий. Известно, что генетическая вариабельность усиливается за счет перекрестного опыления между изначально изолированными популяциями после заноса или в процессе расселения или межвидовой гибридизации с близкими видами [74, 82]. Одним из классических методов подбора интродукционного материала является метод филогенетических или родовых комплексов [59]. Вероятность контактов между видами, предварительно изолированными друг от друга географически и экологически, усиливается в коллекциях ботанических садов. В Донецком ботаническом саду в рамках коллекций собраны виды разного эколого-географического происхождения родовых комплексов *Campanula*, *Aquilegia*, *Ornithogalum*, *Allysum*, *Thymus*, *Iris*, *Hemerocallis* и др. В степной зоне Украины межвидовые и межсортовые гибриды родов *Iris*, *Aquilegia*, *Hemerocallis* активно саморассеялись и самоподдерживаются в течение десятков лет. В регионе интродукции при семенном размножении *A. canadensis* и *A. skinneri* расщепления не дают, в отличие от всех других исследованных видов, что связано, по нашему мнению, с отсутствием необходимых опылителей и невозможностью их перекрестного опыления, вызванного и другими причинами. Небольшое расщепление наблюдается в семенном потомстве *A. chrysantha*. Другие виды рода *Aquilegia* способны к гибридизации, дают поликроссное потомство, которое отличается высокой семенной продуктивностью и способностью активно расселяться путем формирования массового устойчивого жизнеспособного самосева. Способность вида к образованию устойчивого потомства гибридного происхождения оценивается 2 баллами.

Выводы. Предложена концепция прогноза успешности интродукции травянистых многолетников в степную зону Украины и новые подходы к их интродукции, что является основой повышения интродукционной и природоохранной емкости региона. После проведения подбора интродукционного материала с использованием классических методов проводится анализ потенциальных адаптивных способностей травянистых многолетников с учетом их жизненной формы и ареала согласно разработанной нами оценке. Вид оценивается как потенциально неуспешный к интродукции в степную зону Украины – 0–11 баллов, средне успешный – 12–23, высоко успешный – 24–33 балла. Потенциально средние и высоко успешные виды рекомендуем привлекать к интродукции. Определены критерии (10 критериев) и разработана система оценки адаптационной спо-

собности видов к условиям региона интродукции, согласно которой выделяются травянистые многолетники с низкой степенью адаптации – менее 24 баллов, со средней – от 24 до 48, с высокой – от 49 до 72 и очень высокой – от 73 до 96 баллов.

Список использованной литературы

1. Аврорин Н. А. Переселение растений на Полярный Север. Эколого-географический анализ / Н. А. Аврорин. – М., Л.: Изд-во АН СССР, 1956. – 286 с.
2. Андреев Г. Н. Об уровнях жизнестойкости интродуцентов. Ботанические исследования в Субарктике / Г. Н. Андреев. – Апатиты: Изд-во КФ АН СССР, 1974. – С. 61–70.
3. Андреев Г. Н. Интродукция травянистых растений в Субарктику / Г. Н. Андреев. – Л.: Наука, 1975. – 166 с.
4. Андреев Г. Н. Натурализация интродуцированных растений на Кольском Севере / Г. Н. Андреев, Г. А. Зуева, Б. Н. Головкин. – Апатиты: Кольский научный центр АН СССР, 1990. – 122 с.
5. Базилевская Н. А. Методы интродукции растений / Н. А. Базилевская. – М.: Изд-во МГУ, 1964. – 130 с.
6. Баканова В. В. Цветочно-декоративные многолетники открытого грунта / В. В. Баканова. – Киев: Наукова думка, 1983. – 155 с.
7. Булах П. Е. Луки природной флоры Средней Азии и их культура в Украине / П. Е. Булах. – Киев: Наукова думка, 1994. – 124 с.
8. Булах П. Е. Методологические аспекты интродукционного прогноза / П. Е. Булах // Интродукция растений. – 1999. – № 1. – С. 30–35.
9. Булах П. Е. Фенологические критерии устойчивости в интродукции растений / П. Е. Булах // Интродукция растений. – 2005. – № 4. – С. 9–19.
10. Былов В. Н. Принципы создания и изучения коллекции малораспространенных декоративных многолетников / В. Н. Былов, Р. А. Карпишова // Бюллетень Главного ботанического сада. – 1978. – Вып. 107. – С. 77–82.
11. Вавилов Н. И. Ботанико-географические основы селекции / Н. И. Вавилов // Теоретические основы селекции растений. – М., 1935. – Т. 1. – С. 17–162.
12. Вальтер Г. Растительность земного шара / Г. Вальтер. – М.: "Прогресс", 1968. – Т. I. – 552 с.
13. Васильев А. В. Аклиматизация субтропических растений в природных условиях Западной Грузии / А. В. Васильев // Труды Ботанического института АН СССР. – Л., 1957. – Т. 57. – Сер. 6. – Вып. 5. – С. 75–88.
14. Вехов Н. К. Методы интродукции и акклиматизации древесных растений / Н. К. Вехов // Труды Ботанического института АН СССР. – Л., 1957. – Сер. 6. – Вып. 5. – С. 93–106.
15. Воронцов Н. Н. Дивергенция близких видов на стыках их ареалов / Н. Н. Воронцов // Проблема эволюции. – Новосибирск: Наука, 1968. – 1. – С. 202–207.
16. Ворошилов В. Н. Ритм развития у растений / В. Н. Ворошилов. – М.: Изд-во АН СССР, 1960. – 136 с.
17. Вульф Е. В. Введение в историческую географию растений / Е. П. Вульф. – М., Л.: Сельхозгид, 1933. – 415 с.
18. Вульф Е. В. Историческая география растений. История флор земного шара / Е. П. Вульф. – М., Л.: Изд-во АН СССР, 1944. – 546 с.
19. Головкин Б. А. Переселение травянистых многолетников на Полярный Север. Эколого-морфологический анализ / Б. А. Головкин. – Л.: Наука, 1973. – 266 с.
20. Голубев В. Н. О морфогенезе и эволюции жизненных форм травянистых растений лесостепной зоны / В. Н. Голубев // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отделение биологии. – 1957. – Т. LXII. – Вып. 6. – С. 35–57.
21. Горшкова А. А. Сезонное развитие травянистых растений Иркутско-Балаганской лесостепи / А. А. Горшкова // Вопросы рациональной фенологии и биогеографии. – Иркутск, 1960. – С. 19–35.
22. Грамматиков Д. С. Исследования разных видов древесных и кустарниковых пород в Пловдивской области / Д. С. Грамматиков // Тез. Межд. симп. по биологии древесных растений. – Нитра (ЧССР), 1967. – С. 25–28.
23. Гродзинский А. М. Некоторые методологические вопросы интродукции растений / А. М. Гродзинский // Интродукция и акклиматизация растений. – 1984. – Вып. 2. – С. 3–5.
24. Данилова Н. С. Методические аспекты подбора интродуцентов для центральной Якутии / Н. С. Данилова, А. Ю. Романова, Т. Ю. Рогожина // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова. – 2006. – № 4. – С. 14–21.
25. Данилова Н. С. Адаптации травянистых растений Центральной Якутии / Н. С. Данилова // Вестник СВФУ. – 2012. – Т. 9, № 2. – С. 31–36.
26. Дубинин Н. П. Основы генетики популяций / Н. П. Дубинин // Актуальные вопросы современной генетики. – М.: Изд-во Московского государственного университета, 1966. – С. 221–265.
27. Дюваль-Строев М. Р. Результаты акклиматизации деревьев и кустарников в Краснодаре / М. Р. Дюваль-Строев // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1963. – Вып. 49. – С. 15–22.
28. Елисафенко Т. В. Оценка результатов интродукционной работы на примере редких видов сибирской флоры // Т. В. Елисафенко // Растительный мир азиатской России. – 2009. – № 2 (4). – С. 89–95.
29. Калиниченко А. А. Оценка адаптации и целесообразности интродукции древесных растений / А. А. Калиниченко // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1978. – Вып. 108. – С. 3–8.
30. Карпун Ю. Н. Основы интродукции растений / Ю. Н. Карпун // Hortus botanicus. – 2003. – Т. 2. – С. 17–32.
31. Кормилицын А. М. Генетическое родство флор как основа подбора древесных растений для их интродукции и селекции / А. М. Кормилицын // Труды Государственного Никитского ботанического сада. – 1969. – 40. – С. 145–164.
32. Кохно Н. А. Теоретические основы и опыт интродукции древесных растений в Украине / Н. А. Кохно, А. М. Кордюк. – К.: Наукова думка, 1994. – 184 с.
33. Крохмаль И. И. Итоги интродукции декоративных видов травянистых многолетников мировой флоры в степной зоне Украины / И. И. Крохмаль // Интродукция растений. – 2013. – № 4. – С. 11–24.
34. Крохмаль И. И. Эколого-функциональная морфология листа видов рода *Aquilegia* L. / И. И. Крохмаль // Ecology and noospherology. – 2014. – Вып. 25, № 102. – С. 46–60.
35. Крохмаль И. И. Анатомо-физиологические особенности листа *Campanula glomerata* L. / И. И. Крохмаль // Черноморский ботанический журнал. – 2014. – Т. 10, № 2. – С. 167–178.
36. Кузьмин А. В. Закономерности фенологического процесса: Цикличность и прогнозирование / А. В. Кузьмин. – Апатиты: КФАН СССР, 1987. – 42 с.
37. Культиасов М. В. Экологические основы в интродукции растений / М. В. Культиасов // Труды Главного Ботанического сада АН СССР. – М., 1963. – Т. 9. – С. 3–37.
38. Лапин П. Л. Сезонный ритм развития древесных растений и его значение для интродукции / П. Л. Лапин // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1967. – Вып. 65. – С. 13–18.
39. Лапин П. И. Определение перспективности растений для интродукции по данным фенологии / П. И. Лапин, С. В. Сиднева // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1968. – Вып. 69. – С. 14–21.
40. Лапин П. И. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений / П. И. Лапин, С. В. Сиднева // Опыт интродукции древесных растений. – М.: Наука, 1973. – С. 7–67.
41. Лапин П. И. Значение исследований ритмики жизнедеятельности растений для интродукции / П. И. Лапин // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1974. – Вып. 91. – С. 3–8.
42. Лаптев А. А. Особенности интродукции газонных трав / А. А. Лаптев // Теории и методы интродукции растений и зеленого строительства: мат. республ. конф. – Киев, 1980. – С. 56–58.
43. Лозина-Лозинская А. С. Первоцветы в декоративном садоводстве. Зимостойкость видов *Primula* L. / А. С. Лозина-Лозинская // Труды Ботанического института АН СССР. – 1955. – Сер. 6. – Т. 4. – С. 252–263.
44. Лукин А. В. Интегральная оценка перспективности хвойных интродуцентов для центрально-черноземных областей / А. В. Лукин // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1977. – Вып. 104. – С. 3–7.
45. Лучник З. И. Интродукция деревьев и кустарников в Алтайском крае / З. И. Лучник. – М.: Колос, 1970. – 650 с.
46. Любавская А. Я. Лесная селекция и генетика: учебник / А. Я. Любавская. – М.: Лесная промышленность, 1982. – 288 с.
47. Мазуренко М. Т. Вегетативное размножение растений в связи с интродукцией / М. Т. Мазуренко, А. П. Хохлаков // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1971. – Вып. 79. – С. 26–33.
48. Малеев В. И. Теоретические основы акклиматизации / Малеев В. И. – Л.: Сельхозгид, 1933. – 168 с.
49. Медведев В. А. Выбор критериев для оценки степени успешности интродукции с позиций системного подхода и адаптивной стратегии растений / В. А. Медведев, А. А. Ильенко // Интродукция растений. – 2014. – № 4. – С. 3–11.
50. Михайловская И. С. Корни и корневые системы растений / И. С. Михайловская. – М.: МГПИ им. В. И. Ленина, 1981. – 136 с.
51. Некрасов В. И. Актуальные вопросы развития теории акклиматизации растений / В. И. Некрасов. – М.: Наука, 1980. – 279 с.
52. Петухова И. П. Краткий очерк истории интродукции древесных растений на Урале / И. П. Петухова // Труды Института биологии Уфимского научного центра АН СССР. – Свердловск, 1961. – Вып. 23. – С. 43–49.
53. Пироженов А. А. Интегральный метод оценки интродукционной способности растений на примере интродуцентов Дальнего Востока / А. А. Пироженов // Биологические закономерности изменчивости и физиологии приспособления интродуцированных растений. – Черновцы: Изд-во Черновецкого государственного университета, 1977. – С. 107.
54. Пленник Р. Я. Морфологическая эволюция багровых юго-восточного Алтая (на примере родовых комплексов *Astragalus* L. и *Oxytropis* DC.) / Р. Я. Пленник. – Новосибирск, 1976. – 216 с.
55. Плотникова-Вартазарова Л. С. Рост деревьев и кустарников Дальнего Востока в Москве / Л. С. Плотникова-Вартазарова // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1963. – Вып. 50. – С. 18–26.
56. Рейнв П. Современная ботаника / П. Рейнв, Р. Эверт, С. М. Айхорн. – М., 1990. – Т. 2. – С. 191–192.
57. Реут А. А. Интродукция декоративных травянистых багаторичников в Республику Башкортостан / А. А. Реут, Л. Т. Миронова // Экосистемы, их оптимизация та охорона. – Симферополь: ТНУ, 2014. – Вып. 11. – С. 267–270.

58. Розанова М. А. Вид как экологическая проблема (на примере высших растений) / М. А. Розанова // Успехи современной биологии. – 1947. – Вып. 1, № 23. – С. 69–86.
 59. Русанов Ф. Н. Метод родовых комплексов в интродукции растений / Ф. Н. Русанов // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1977. – Т. 81. – С. 15–20.
 60. Семенова Г. П. Редкие и исчезающие виды флоры Сибири: биология, охрана / Г. П. Семенова. – Новосибирск, 2007. – 408 с.
 61. Селянинов Г. Т. Агроклиматическая карта мира / Г. Т. Селянинов. – Л.: Гидрометеиздат, 1966. – 12 с.
 62. Серебряков И. Г. Структура и ритм в жизни цветочных растений / И. Г. Серебряков // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отделение биологии. – 1949. – Т. 54. – Вып. 1. – С. 47–62.
 63. Сикура И. И. Переселение растений природной флоры Средней Азии на Украину / И. И. Сикура. – Киев: Наукова думка, 1982. – 207 с.
 64. Соболевская К. А. Экспериментальное обоснование эколого-исторического метода интродукции растений природной флоры / К. А. Соболевская // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1971. – Вып. 81. – С. 54–59.
 65. Соколов С. Я. Современное состояние теории акклиматизации и интродукции растений. Интродукция растений и зеленое строительство / С. Я. Соколов // Труды ботанического института АН СССР. – 1957. – Т. 6, № 5. – С. 34–42.
 66. Тахтаджян А. Л. Основы эволюционной морфологии покрытосемянных растений / А. Л. Тахтаджян. – М.-Л.: Наука, 1964. – 236 с.
 67. Трулевич Н. В. Эколого-фитоценотические основы интродукции растений / Н. В. Трулевич. – М.: Наука, 1991. – 215 с.
 68. Тюрина Е. В. Интродукция зонтичных в Сибири / Е. В. Тюрина. – Новосибирск: Наука, 1978. – 240 с.
 69. Флора В. Н. Интродукция и акклиматизация растений в Молдавии (лекарственные, витаминосные, медоносные) / В. Н. Флора. – Кишинев, 1987. – 296 с.
 70. Хохряков А. П. Эволюция биоморф растений / А. П. Хохряков. – М., 1981. – 168 с.
 71. Шмальгаузен И. И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора / И. И. Шмальгаузен. – М.: Наука, 1968. – 452 с.
 72. Шулькина Т. В. Прогнозирование успешности интродукции по данным филогении / Т. В. Шулькина // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1971. – Вып. 79. – С. 14–19.
 73. Blossey B. Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis / B. Blossey, R. Nötzold // Journal of Ecology. – 1995. – Vol. 83. – P. 887–889.
 74. Ellstrand N. C. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? / N. C. Ellstrand, K. A. Schierenbeck // Proceedings of the Nat. Acad. Sci. USA. – 2000. – Vol. 97. – P. 7043–7050.
 75. Hierro J. L. Allelopathy and exotic plant invasions / J. L. Hierro, R. M. Callaway // Plant and Soil. – 2003. – Vol. 256. – P. 29–39.
 76. Krokmal I. Functional anatomy of leaf *Campanula alliariaefolia* Willd. / I. Krokmal // Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. – 2013. – Vol. 41, № 2. – P. 388–395.
 77. Krokmal I. I. Functional morphology of the vegetative organs of ten *Aquilegia* L. species / I. I. Krokmal // Annali di Botanica. (Roma). – 2015. – № 5. – P. 17–29.
 78. Krokmal I. I. Introduced populations of forest species of herbaceous perennials in the steppe zone of Ukraine / I. I. Krokmal, M. Netsvetov // Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis. – 2015. – 15 (1). – P. 113–127.
 79. Mayer H. Walbau auf naturgeschichtlicher Grundlage. – Berlin: Pareyd, 1909. – 568 p.
 80. Muir A. M. The cost of reproduction to the clonal herb *Asarum canadense* (wild ginger) / A. M. Muir // Canadian Journal of Botany. – 1995. – Vol. 73, № 10. – P. 1683–1686.
 81. Richards C. L. Jack of all trades, master of some & on the role of phenotypic plasticity in plant invasion / C. L. Richards, O. Bossdorf, N. Z. Muth, J. Gurevitch, M. Pigliucci // Ecology letters. – 2006. – Vol. 9. – P. 981–993.
 82. Sakai A. K. The population biology of invasive species / A. K. Sakai // Annual Review of Ecology and Systematics. – 2001. – Vol. 32. – P. 305–332.
 83. Savile D. B. O. Arctic adaptation in plants / D. B. Savile. – Ottawa, 1972. – 81 p.
 84. Vogel S. Leaves in the lowest and highest winds: temperature, force and shape / S. Vogel // New Phytologist. – 2009. – Vol. 183. – P. 13–26.
 85. Xu F. Habitat effects on leaf morphology in *Quercus acutissima* / F. Xu, W. Guo, W. Xu, R. Wang // Acta biologica Cracoviensia Series Botanica. – 2008. – Vol. 50, № 2. – P. 19–26.
- References**
1. Avrorin NA. Pereseleniye rasteniy na polyarnyy Sever. Ekologo-geograficheskyy analiz. M., L.: Izd-vo AN SSSR; 1956. Russia.
 2. Andreev GN. Ob urovnyakh zhiznennosti introdutsentov. V: Botanicheskiye issledovaniya v Subarktiches. Apatity: Izd-vo KF AN SSSR; 1974. s. 61-70. Russia.
 3. Andreev GN. Introduktsiya travyanistykh rasteniy v Subarktiku. L.: Nauka; 1975. Russia.
 4. Andreev GN, Zueva GA, Golovkin BN. Naturalizatsiya introdutsirovannykh rasteniy na Kolskom Severye. Apatity: Kolskiy nauchnyy tsentr AN SSSR; 1990. Russia.
 5. Bazilevskaya NA. Metody inroduktsii rasteniy. M.: Izd-vo MGU; 1964. Russia.
 6. Bakanova VV. Tsvetochno-dekorativnyye mnogoletniki otkrytogo grunta. Kiev: Naukova dumka; 1983. Ukrainian.
 7. Bulakh PE. Luki prirodnoy flory Sredney Azii I ikh kultura v Ukraine. Kiev: Naukova dumka; 1994. Ukrainian.
 8. Bulakh PE. Metodologicheskiye aspekty inroduktsionnogo prognoza. Introduktsiya rasteniy. 1999;(1):30-35. Ukrainian.
 9. Bulakh PE. Fenologicheskiye kriterii ustoychivosti v inroduktsii rasteniy. Introduktsiya rasteniy. 2005;(4):9-19. Ukrainian.
 10. Bylov VN, Karpisonova RA. Printsipi sozdaniya I izucheniya kollektii malorasprostranennykh dekorativnykh mnogoletnikov. Byull. GBS. 1978;107:77-82. Russia.
 11. Vavilov NI. Botaniko-geograficheskiye osnovy selektsii. V: Teoreticheskii osnovy selektsii. T. 1. M.;1935; s. 17-162. Russia.
 12. Valtier G. Rastitelnost zemnogo shara. T. I. M.: Progress; 1968. Russia.
 13. Vasilev AV. Akklimatizatsiya subtropicheskikh rasteniy v prirodnnykh usloviyakh zapadnoy Gruzii. Trudy BIN AN SSSR. T. 57. L.;1957;6(5):75-88. Russia.
 14. Vekhov NK. Metody inroduktsii i akklimatizatsii drevesnykh rasteniy. Trudy BIN AN SSSR. L.; 1957;6(5); c.93-106. Russia.
 15. Vorontsov NN. Divergentsiya blizkikh vidov na stykakh ikh arealov. V: Problema evolyutsii. T. 1. Novosibirsk: Nauka; 1968. Russia.
 16. Voroshilov VN. Ritm razvitiya u rasteniy. M.: Izd-vo AN SSSR; 1960. Russia.
 17. Vulf VE. Vvedeniye v istoricheskuyu geografiyu rasteniy. M.; L.: Selkhozgiz; 1933. Russia.
 18. Vulf VE. Istoricheskuyu geografiyu rasteniy. Istoriya flor zemnogo shara. M., L.: Izd-vo AN SSSR; 1944. Russia.
 19. Golovkin BA. Pereseleniye travyanistykh mnogoletnikov na Polyarnyy Sever. Ekologo-morfologicheskyy analiz. L.: Nauka; 1973. Russia.
 20. Golubev VN. O morfogeneze I evolyutsii zhiznennykh form travyanistykh rasteniy lesolugovoy zony. Byull. MOIP. Otd. biologii T. LXII. 1957;6:35-57. Russia.
 21. Gorshkova AA. Sezonnoye razvitiye travyanistykh rasteniy Irkutsko-Balaganskoy lesostepi. V: Voprosy ratsionalnoy fenologii I biogeografii. Irkutsk; 1960. s. 19-35. Russia.
 22. Grammatikov DC. Issledovaniye raznykh vidov drevesnykh I kustarnikovykh porod v Plovdivskoy oblasti. Tez. Mezhdun. simp. po biologii drevesnykh rasteniy. Nitra (ChSSR); 1967. Russia.
 23. Grodzinskiy AM. Nekotoryye metodologicheskiye voprosy inroduktsii rasteniy. Introduktsiya I akklimatizatsiya rasteniy. 1984;2:3-5. Ukrainian.
 24. Danilova NS, Romanova AYU, Rogozhina TYu. Metodicheskiye aspekty podbora introdutsentov dlya Tsentralnoy Yakutii. Vestnik Severo-Vostochnogo federalnogo universiteta im. M.K. Amosova. 2006;4:14-21. Russia.
 25. Danilova NS. Adaptatsii travyanistykh rasteniy Tsentralnoy Yakutii. Vestnik SVFU. 2012;9(2):31-36. Russia.
 26. Dubinin NP. Osnovy genetiki populyatsiy. V: Aktualnyye voprosy sovremennoy genetiki. M.: Izd-vo MGU; 1966. s. 221-265. Russia.
 27. Dyuvall-Stroev MR. Rezultaty akklimatizatsii derevev I kustarnikov v Krasnodare. Byull. GBS AN SSSR. 1963;49:15-22. Russia.
 28. Elisafenko TE. Otsenka rezultatov inroduktsionnoy raboty na primere redkikh vidov sibirskoy flory. Rastitelnyy mir Aziatskoy Rossii. 2009;2(4):89-95. Russia.
 29. Kalinichenko AA. Otsenka adaptatsii I tselesoobraznosti inroduktsii drevesnykh rasteniy. Byull. GBS AN SSSR. 1978;108:3-8. Russia.
 30. Karpun YuN. Osnovy inroduktsii rasteniy. Hortus botanicus. 2003;2:17-32. Russia.
 31. Kormilitsin AM. Geneticheskoe rodstvo flor kaka osnova podbora drevesnykh rasteniy dlya ikh inroduktsii I selektsii. Trudy Gos. Nikitskogo botanicheskogo sada. 1969;40:145-164. Russia.
 32. Kokhno NA., Korduk AM. Teoreticheskiye osnovy I opyt inroduktsii drevesnykh rasteniy v Ukraine. K.: Naukova dumka;1994. Ukrainian.
 33. Krokmal II. Itogi inroduktsii dekorativnykh vidov travyanistykh mnogoletnikov mirovoy flory v stepnoy zone Ukrainy. Introduktsiya rasteniy. 2013;(4):11-24. Ukrainian.
 34. Krokmal II. Ekologo-funktsionalnaya morfologiya lista vidov roda *Aquilegia* L. Ecology and noospherology. 2014;25(102):46-60. Ukrainian.
 35. Krokmal II. Anatomo-fiziologicheskiye osobennosti lista *Campanula glomerata* L. ChBZh. 2014;10(2):167-178. Ukrainian.
 36. Kuzmin AV. Zakonomernosti fenologicheskogo protsessa. V: Tsklichnost I prognozirovaniye. Apatity: KFAN SSSR;1987. Russia.
 37. Kultiasov MV. Ekologicheskiye osnovy v inroduktsii rasteniy. Trudy GBS AN SSSR. M.; 1963;9:3-37. Russia.
 38. Lapin PL. Sezonnyy ritm razvitiya drevesnykh rasteniy I ego znacheniye dlya inroduktsii. Byull. GBS AN SSSR. 1967;65:13-18. Russia.
 39. Lapin PI, Sidneva SV. Opredeleniye perspektivnosti rasteniy dlya inroduktsii po dannym fenologii. Byull. GBS AN SSSR. 1968;69:14-21. Russia.
 40. Lapin PI, Sidneva SV. Otsenka perspektivnosti inroduktsii drevesnykh rasteniy po dannym vizualnykh nablyudeniyy. V: Opyt inroduktsii drevesnykh rasteniy. M.: Nauka; 1973. s. 7-67. Russia.
 41. Lapin PI. Znacheneye issledovaniy ritmiki zhiznedeyatelnosti rasteniy dlya inroduktsii. Byull. GBS AN SSSR. 1974;91:3-8. Russia.

42. Laptev AA. Osobennosti introduktsii gazonykh trav. Mat. respubl. konf. Teorii i metody introduktsii rasteniy zelenogo stroitelstva. Kiev; 1980. Ukrainian.
43. Lozina-Lozinskaya AS. Pervotsvety v dekorativnom sadovodstve. Zimostoykost vidov *Primula* L. Trudy BIN AN SSSR. 1955;6(4):252-263. Russia.
44. Lukin AV. Integralnaya otsenka perspektivnosti khvoynykh introdutsentov dlya tsentralno-chernozemnykh oblastey. Byull. GBS AN SSSR. 1977;104:3-7. Russia.
45. Luchnik ZI. Introduktsiya derevov i kustarnikov v Altayskom kraye. M.: Kolos; 1970. Russia.
46. Lyubavskaya AY. Lesnaya selektsiya i genetika: uchebnik. M.: Lesnaya promyshlennost; 1982. Russia.
47. Mazurenko MT, Khokhryakov MT. Vegetativnoye razmnozheniye rasteniy v svyazi s introduktsiyey. Byull. GBS AN SSSR. 1971;79:26-33. Russia.
48. Maleev VI, Ilenko AA. Teoreticheskiye osnovy akklimatizatsii. L.: Selkhozgiz; 1933. Russia.
49. Medvedev VA. Vybory kriteriev dlya otsenki stepeni uspekhnosti introduktsii s pozitivnyimi sistemnymi podkhodami i adaptivnoy strategiy rasteniy. Introduktsiya roslin. 2014;(4):3-11. Ukrainian.
50. Mikhaylovskaya IS. Korn i kornevyye sistemy rasteniy. Kor. M.: MGPI im. B.I. Lenina; 1981. Russia.
51. Nekrasov VI. Aktualnyye voprosy razvitiya teorii akklimatizatsii rasteniy. M.: Nauka; 1980. Russia.
52. Petukhova IP. Kratkiy ocherk istorii introduktsii drevnykh rasteniy na Urals. Trudy Instituta biologii Ufimskogo nauchnogo tsentra AN SSSR. Sverdlovsk, 1961;23:43-49. Russia.
53. Pirozhenko AA. Integralnyy metod otsenki introduktsionnoy sposobnosti rasteniy na primerey introdutsentov Dal'nego Vostoka. Biologicheskiye zakonomernosti izmenchivosti i fiziologii prispособleniya introdutsirovannykh rasteniy. Chernovtsy: Izd-vo Chernovetskogo gosudarstvennogo universiteta; 1977. Ukrainian.
54. Plennik RYa. Morfologicheskaya evolyutsiya bobovykh yugovostochnogo Altaya (na primere rodovykh kompleksov *Astragalus* L. i *Oxytropis* DC.). Novosibirsk; 1976. Russia.
55. Plotnikova-Vartazarova LS. Rost derevov i kustarnikov Dal'nego Vostoka v Moskve. Byull. GBS AN SSSR. 1963;50:18-26. Russia.
56. Reynv P, Evert R, Aykikhorn SM. Sovremennaya botanika. M.; 1990;2:191-192. Russia.
57. Reut AA, Mironova LT. Introduktsiya dekorativnykh travyanistykh bagatorichnykh v respubliku Bashkortan. Ekosistemy, ikh optimizatsiya ta okhorona. Simferopol: TNU; 2014;11:267-270. Ukrainian.
58. Rozanova MA. Vid kak ekologicheskaya problema (na primere vysshikh rasteniy). Uspekhi sovremennoy biologii. 1947;1(23):69-86. Russia.
59. Rusanov FN. Metod rodovykh kompleksov v introduktsii rasteniy. Byull. GBS AN SSSR. 1977;81:15-20. Russia.
60. Semenova GP, Redkiye I. Ispytaniya na ischezayushchii vidy flory Sibiri: biologiya, okhrana. Novosibirsk; 2007. Russia.
61. Selyaninov GT. Agroklimaticheskaya karta mira. L.: Gidrometeoizdat; 1966. Russia.
62. Serebryakov IG. Struktura i ritm v shizni tsvetochnykh rasteniy. Byull. MOIP. Otd. biologii. 1949;54(1):47-62. Russia.
63. Sikura II. Pereseleniye rasteniy prirodnoy flory Sredney Azii na Ukrainu. Kiev: Naukova dumka; 1982. Ukrainian.
64. Sobolevskaya KA. Eksperimentalnoye obosnovaniye ekologo-istoricheskogo metoda introduktsii rasteniy prirodnoy flory. Byull. GBS AN SSSR. 1971;81:54-59. Russia.
65. Sokolov SYa. Sovremennoye sostoyaniye teorii akklimatizatsii i introduktsii rasteniy. Introduktsiya rasteniy i zelenoye stroitelstvo. Trudy BIN AN SSSR. 1957;6(5):34-42. Russia.
66. Takhtadzhyan AL. Osnovy evolyutsionnoy morfologii pokrytosemyannykh rasteniy. M.-L.: Nauka; 1964. Russia.
67. Shulkin NV. Ekologo-fitsotsenoticheskiye osnovy introduktsii rasteniy. M.: Nauka; 1991. Russia.
68. Tyurina VE. Introduktsiya zontichnykh v Sibiri. Novosibirsk: Nauka; 1978. Russia.
69. Florya VN. Introduktsiya i akklimatizatsiya rasteniy v Moldavi (lekarstvennyye, vitaminosnyye, medonosnyye). Kishinev; 1987. Moldavia.
70. Khokhryakov AP. Evolyutsiya biomorf rasteniy. M.; 1981. Russia.
71. Shmalgauzen II. Faktory evolyutsii. Teoriya stabiliziruyushchego otbora. M.: Nauka; 1968. Russia.
72. Shulkin TV. Prognozirovaniye uspekhnosti introduktsii po dannym fenologii. Byull. GBS AN SSSR. 1971;79:14-19. Russia.
73. Blossey B, Nötzold R. Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. Journal of Ecology. 1995;83:887-889.
74. Ellstrand NC, Schierenbeck KA. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? Proceedings of the Nat. Acad. Sci. USA. 2000;97:7043-7050.
75. Hierro JL, Callaway RM. Allelopathy and exotic plant invasions. Plant and Soil. 2003;256:29-39.
76. Krokmal I. Functional anatomy of leaf *Campanula alliariaefolia* Willd. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj-Napoca. 2013;41(2):388-395.
77. Krokmal II. Functional morphology of the vegetative organs of ten *Aquilegia* L. species. Annali di Botanica. (Roma). 2015;(5):17-29.
78. Krokmal II, Netsvetov M. Introduced populations of forest species of herbaceous perennials in the steppe zone of Ukraine. Acta Biologica Univer. Daugavp. 2015;15(1):113-127.
79. Mayer H. Walbau auf naturgeschichtlicher Grundlage. Berlin: Parey; 1909.
80. Muir AM. The cost of reproduction to the clonal herb *Asarum canadense* (wild ginger). Canadian Journal of Botany. 1995;73(10):1683-1686.
81. Richards CL, Bossdorf O, Muth NZ, Gurevitch J, Pigliucci M. Jack of all trades, master of some & on the role of phenotypic plasticity in plant invasion. Ecology letters. 2006;9:981-993.
82. Sakai AK. The population biology of invasive species. Annual Review of Ecology and Systematics. 2001;32:305-332.
83. Savile DBO. Arctic adaptation in plants. Ottawa; 1972.
84. Vogel S. Leaves in the lowest and highest winds: temperature, force and shape. New Phytologist. 2009;183:13-26.
85. Xu F, Guo W, Xu W, Wang R. Habitat effects on leaf morphology in *Quercus acutissima*. Acta biologica Cracoviensia Series Botanica. 2008;50(2):19-26.

Поступила в редколлегию 27.04.16

I. Krokmal, kand. biol. nauk

Інститут еволюційної екології Національної академії наук України, Київ, Україна

КОНЦЕПЦІЯ ПРОГНОЗУ УСПІШНОСТІ ІНТРОДУКЦІЇ ТРАВ'ЯНИСТИХ БАГАТОРІЧНИКІВ ДО СТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ

Запропоновано концепцію прогнозу успішності інтродукції трав'янистих багаторічників в степову зону України та нові підходи до їх інтродукції, що є основою підвищення інтродукційної і природоохоронної ємності регіону. Концепція є теоретичною основою оновлення, поповнення і вдосконалення колекційних фондів ботанічних садів степової зони, мобілізації нових видів для розширення їх асортименту в ландшафтній архітектурі регіонів.

Визначено критерії успішності інтродукції видів і розроблено систему оцінювання їх адаптаційної здатності до умов регіону інтродукції, що призначена для аналізу пристосованості трав'янистих багаторічників як інтродукованих, так і аборигенної флори, враховує сукупність важливих адаптивних ознак рослин (44 ознаки), в тому числі морфолого-анатомічні показники вегетативних органів, їх аллометричні параметри, зкорельованість функціональних ознак рослин, здатність рослин до формування гібридних сіянців, алелопатичну їх активність.

Ключові слова: концепція прогнозу успішності інтродукції, еколого-біологічні особливості трав'янистих багаторічників, детермінанти успішності інтродукції, адаптація, степова зона.

I. Krokmal, PhD

Institute for evolutionary ecology of the National academy of sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

THE CONCEPT OF FORECASTING SUCCESS INTRODUCTION HERBACEOUS PERENNIALS IN THE UKRAINE STEPPE

The concept of forecast success introduction of herbaceous perennials in the Ukraine steppe, and new approaches to their introduction, which is the basis of introduction and increase environmental capacity of the region. The concept provides a theoretical basis for updates, updating and improving the collection funds of botanical gardens of the steppe zone, the mobilization of new species to expand their range to regions of landscape architecture.

The criteria of success of the introduction of species and developed a system of evaluation of their adaptive capacity to the conditions of the introduction of the region, designed to analyze fitness herbaceous perennials both introduced and native flora, taking into account the totality of important adaptive plant signs (44 signs), including morphological and anatomical indicators of vegetative organs and their allometric parameters, correlation of functional traits of plants, the ability of plants to the formation of hybrid seedlings, their allelopathic activity.

Keywords: concept of forecasting the success of introduction, ecological and biological characteristics of herbaceous perennials, the determinants of the success introduction, adaptation, Ukraine steppe.

УДК 577.15:591.466(043.5)

О. Устянська, доц., І. Вовчук, проф., С. Петров, проф., О. Будняк, доц.
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса,
С. Гоженко, ст. наук. співроб.

Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України, Одеса

РЕГУЛЯЦІЯ ТІАМІНОМ АКТИВНОСТІ ТРИПСИНОПОДІБНИХ ФЕРМЕНТІВ В ТКАНИНАХ БІЛИХ ЩУРІВ

Досліджували вплив внутрим'язової ін'єкції тіаміну на активність трипсиноподібних ферментів в печінці, нирках, шлунку і тонкому кишківнику білих щурів.

В органах інтактних щурів максимальна активність трипсиноподібних протеїназ встановлена в тонкому кишківнику, а мінімальна в печінці.

Парентеральне введення тіаміну призводить до зниження активності трипсиноподібних протеїназ в печінці, нирках і шлунку, та підвищення активності ферменту в тонкому кишківнику, що свідчить про можливість некоферментної дії тіаміну на активність трипсиноподібних ферментів.

Ключові слова: тіамін, трипсиноподібні ферменти, органоспецифічність.

Вступ. Протеоліз – ферментативний гідроліз амідних зв'язків у білках і пептидах – один з універсальних і найважливіших хімічних процесів живої природи [3, 28]. У нормі існує динамічна рівновага між протеолітичними ферментами та їх інгібіторами. При ряді захворювань відбувається надлишкова активація протеїназ, що є важливою патогенетичною ланкою у розвитку тромботичних порушень, гіпертензії, запальних реакцій [5, 6, 8, 21, 22, 26].

Трипсин [КФ 3.4.4.4.] – найбільш вивчений і важливий серед серинових протеїназ – відноситься до підкласу пептид-гідролаз, групи пептидил-пептидгідролаз або протеїназ [4]. Він розщеплює переважно внутрішні пептидні зв'язки у білках і має також естеразну активність. Трипсин міститься в активному центрі залишки серину і гістидину та легко піддається аутолізу [11]. Трипсин має молекулярну масу – 24000 Да та ізоелектричну точку – при рН 10,8. Фермент є активним при рН 5,0-8,0 з оптимальним каталітичною активністю – при рН 7,8-8,0.

Регуляція активності трипсину здійснюється як завдяки обмеженому протеолізу попередника ферменту, так і за рахунок утворення стійких білок-білкових сполук з $\alpha 2$ -макроглобуліном та $\alpha 1$ -антитрипсином [2].

Трипсиноподібні ферменти залучені в числені біохімічні процеси, зокрема, вони беруть участь в лізисі білків позаклітинного матриксу: колагену, еластину, фібрину, міозину, тим самим сприяють інвазії і метастазуванню пухлини. Однією з функцій трипсиноподібних ферментів є активація як зимогенів, що секретуються підшлунковою залозою, так і інших проферментів [11].

Активність протеолітичних ферментів на рівні *in vivo* регулюється багатьма чинниками, одним з яких є дія вітамінів, а також їх метаболітів.

Однак, у сучасній літературі практично не існує досліджень щодо впливу водорозчинних вітамінів групи В на активність ферментів протеолізу.

Наявні одиничні роботи свідчать про існування взаємин між тіаміном і деякими протеолітичними ферментами [14, 19].

За останні три десятиліття в нашій лабораторії отримані дані відносно регуляції тіаміном та його метаболітами [12, 14, 19] активності протеолітичних ферментів зокрема, катепсина [18] і пепсину [16]. Механізми таких взаємодій різноманітні та вивчені недостатньо [1, 10, 13, 15, 20, 23, 24].

Метою роботи було дослідження впливу тіаміну на активність трипсиноподібних ферментів печінки, нирок, шлунку і тонкого кишківника щурів.

Матеріали дослідження

Експерименти проводили на статевозрілих (3-4 міс.), безпородних білих щурах масою 180-200 г., загальною кількістю 24 тварини. Тварин утримували на стандартному раціоні в умовах віварію. Всі маніпуляції з тваринами проводили згідно Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних наукових цілей.

Експериментальні дослідження були проведені з групами щурів: 1. Інтактні тварини (n=10). 2. Тварини (n=10), яким в експерименті *in vivo* проводили внутрішньом'язову ін'єкцію тіаміну (10 мг/кг маси). Тіамін розчиняли у фізіологічному розчині – 2 мг/1 мл. Через 20 хвилин після введення тіаміну тварин декапітували.

Матеріалом дослідження слугували гомогенати печінки, нирок, шлунку, тонкого кишківника.

Методи дослідження

Зразки досліджуваних тканин гомогенізували (у співвідношенні 1:10) з 0,9% NaCl і центрифугували при 9 000 g протягом 20 хвилин. Отриманий після гомогенізації супернатант тканини використовували для біохімічних досліджень.

В надосадовій рідині визначали вміст загального білка за методом Лоурі [27] та активність трипсиноподібних ферментів за методом Кунітца [25] в модифікації Веремеєнко [4].

Метод заснований на визначенні кількості продуктів гідролізу 2% розчину казеїну (по Гаммерстену на 0,1 М фосфатному буфері рН 7,6), що не осаджуються 10% розчином трихлороцтової кислоти. Активність трипсиноподібних протеїназ визначали в мкмоль тирозину на мг білка.

Результати дослідження були оброблені статистично з використанням пакета аналізу даних програми Microsoft Excel-97 та t-критерію Стюдента [7].

Статистичну значимість відмінностей між вибірками вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних тварин.

Результати досліджень активності трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних тварин свідчать про органоспецифічність досліджуваного показника (табл. 1).

Найменша активність трипсиноподібних протеїназ була встановлена в гомогенатах печінки $0,078 \pm 0,008$. По відношенню до показників активності трипсиноподібних протеїназ в печінці активність трипсиноподібних протеїназ в інших органах була значно вищою: в 3,2 раза – в нирках ($p < 0,05$), в 3,7 – в шлунку ($p < 0,05$) та в 5,5 – в тонкому кишківнику ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних щурів (мкмоль / мг білка; n=10)

Органи	Активність трипсиноподібних протеїназ (мкмоль / мг білка)
Печінка	0,078±0,008
Нирки	0,250±0,030*
Шлунок	0,290±0,030*
Тонкий кишківник	0,430±0,050*

Примітка: * вірогідна різниця ($p < 0,05$) по відношенню до показників активності трипсиноподібних протеїназ печінки.

Отримані результати свідчать, що найбільша активність трипсиноподібних ферментів притамана тонкому кишківнику. Вірогідно, висока активність трипсиноподібних протеїназ в даному органі обумовлена рН дуоденального соку, оскільки відомо, що трипсиноподібні протеїнази проявляють максимальну активність при рН 7,8 [25]. В шлунку та нирках активність трипсиноподібних протеїназ нижче, ніж у тонкому кишківнику вірогідно тому, що в шлунку рН дорівнює 1,5-2,0, а в нирках – 5,0-7,0, що не є оптимальним для прояви ферментативної активності [9]. Низька активність трипсиноподібних протеїназ в печінці (рН 7,3-8,6) [17] може бути пояснена особливими функціями цього органу, зокрема детоксикаційною і сечовиноутворення.

Вплив парентерального введення тіаміну на активність трипсиноподібних протеїназ органів щурів.

У серії експериментів, які були виконані, нами отримані наступні результати. За парентерального введення тіаміну в дозі 10 мг/кг маси було встановлено негативний вплив тіаміну або його метаболітів на активність трипсиноподібних протеїназ в печінці, нирках та шлунку і позитивний вплив на активність трипсиноподібних протеїназ тонкого кишківника.

За парентерального введення тіаміну в дозі 10 мг/кг маси була встановлена максимальна активність трипсиноподібних протеїназ в тонкому кишківнику (табл. 2). По відношенню до активності трипсиноподібних протеїназ у печінці активність трипсиноподібних протеїназ була в 2,3 раза вище в шлунку, в 5,7 раз вище в нирках та в 24 рази вище в тонкому кишківнику.

Таблиця 2. Вплив тіаміну на активність трипсиноподібних протеїназ у щурів (мкмоль / мг білка; n=10)

Органи	Активність трипсиноподібних протеїназ (мкмоль / мг білка)
Печінка	0,030±0,004
Нирки	0,170±0,020*
Шлунок	0,070±0,008*
Тонкий кишківник	0,720±0,080*

Примітка: * вірогідна різниця ($p < 0,05$) по відношенню до показників активності трипсиноподібних протеїназ печінки.

Після парентерального введення тіаміну максимальна активність трипсиноподібних протеїназ, як і у інтактних щурів, була встановлена у тонкому кишківнику (табл.1, табл. 2).

Це можна пояснити тим, що у тканинах організмів ссавців існує декілька шляхів метаболізму тіаміну та є певний взаємозв'язок між ними. Основним шляхом, за яким тіамін потрапляє в організм, є шлунково-кишковий тракт. Надходження даного вітаміну в кров і органи залежить перш за все від його всмоктування в різних відділах шлунково-кишкового тракту. При природному потрапленні вітаміну в організм початкові стадії його накопичення і перетворення відбуваються в шлунково-кишковому тракті і, в основному, в тонкому кишківнику. Відомо, що всмоктування тіаміну та його різних похідних є активним процесом і супроводжується фосфорилуванням і основними реакціями перетворення його структурних аналогів в тіамін [10, 23].

З кишківника вітамін потрапляє в кров, яка здійснює не лише транспортні функції, але і бере участь в його обміні. У пізніші терміни в кров потрапляє і тіамін, що розподіляється печінкою, яка є головним депо вітаміну В₁. У цьому органі відбуваються основні його перетворення. Фосфорильований тіамін транспортується з печінки в інші органи.

Нирки є основним екскреторним органом тварини. Крім того в цьому органі відмічений високий вміст і накопичення тіаміну [10].

З другого боку відомо, що тіамін у нейтральних і кислих водних середовищах стабільний, а в лужних утворює тіольну форму з розкритим тіазоловим циклом. При вищих значеннях рН відбувається іонізація сульфгідрильної групи у складі тіольної форми тіаміну [20].

Також відомо, що у фізіологічних умовах під впливом несприятливих чинників зовнішнього середовища

(окислювальний стрес, генерація активних форм азоту і кисню), спостерігається посилення трансформації трициклічної та тіольної форм тіаміну в дисульфід тіаміну і утворення циклічних продуктів окиснення тіаміну – тіохрому і оксодигідротіохрому. Карбонільвмістні продукти окислювальної трансформації тіаміну здатні зв'язуватися з аміногрупами і сульфгідрильними групами протеїнів і ензимів, викликаючи модуляцію активності ензимів і функції протеїнів [13].

Оскільки в тканинах тварин концентрація вільних тіолів на декілька порядків вища за концентрацію вільного тіаміну, наявність в них змішаних дисульфідів тіаміну з низькомолекулярними природними тіолами цілком імовірно [13, 20].

Проте, в дослідженнях *in vivo* в більшості випадків упевнено стверджувати про існування або відсутність тих чи інших механізмів регуляції тіаміном та його метаболітами різних ферментів важко. Відомо, що за таких умов тіамін діє неоднозначно, оскільки його вплив як на активність трипсиноподібних протеїназ, так і на всі інші метаболічні процеси здійснюється на різних рівнях. Наприклад, такі відмінності можуть визначатися перетворюванням в тканинах різних метаболітів з введення тіаміну, як було сказано вище. Проте, для підтвердження цього припущення необхідно вивчити метаболізм тіаміну після його введення в печінці, нирках, шлунку і тонкому кишківнику, що є завданням нашого подальшого дослідження.

Отримані дані свідчать про те, що тіамін здатний негативно впливати на активність трипсиноподібних ферментів в досліджуваних органах (печінці, нирках і шлунку) білих щурів (табл. 3). Цей факт може свідчити про можливість некоферментної дії тіаміну або його метаболітів на активність трипсиноподібних ферментів.

Таблиця 3. Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних щурів та після впливу тіаміну у щурів (мкмоль / мг білка; n=10)

Органи	Активність трипсиноподібних протеїназ (мкмоль / мг білка)	
	Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних щурів	Вплив тіаміну на активність трипсиноподібних протеїназ у щурів
Печінка	0,078±0,008	0,030±0,004*
Нирки	0,250±0,030	0,170±0,020*
Шлунок	0,290±0,030	0,070±0,008*
Тонкий кишківник	0,430±0,050	0,720±0,080*

Примітка: * вірогідна різниця ($p < 0,05$) між відповідними показниками після введення тіаміну у порівнянні з контролем.

Висновки

1. В органах інтактних щурів максимальна активність трипсиноподібних протеїназ встановлена в тонкому кишківнику, а мінімальна в печінці.

2. Парентеральне введення тіаміну призводить до зниження активності трипсиноподібних протеїназ в печінці, нирках і шлунку, та підвищення активності ферменту в тонкому кишківнику.

Список використаних джерел

- Будняк О.К. Вміст флавінових та нікотинамідних коферментів в органах опромінених щурів після введення суміші вітамінів / О.К. Будняк, А.В. Сорокін, Л.М. Карпов [та ін.] // Вісник ОНУ. Серія "Біологія". – 2004. – Т. 9, вип. 5. – С. 23-28.
- Веремеєнко К.Н. α_1 -інгібітор протеїназ і його дослідження в клініці / К.Н. Веремеєнко // Клініч. медицина. – 1985. Т. 63, №12. – С. 21-27.
- Веремеєнко К.Н. Протеоліз в нормі і при патології / К.Н. Веремеєнко, О.І. Голобородько, А.І. Кизим. – К.; Здоров'я, 1988. – 200 с.
- Веремеєнко К.Н. Протеолітичні ферменти і їх інгібітори. Нові області застосування в клініці / К.Н. Веремеєнко // Врч. дело. – 1994. – № 1. – С. 8-13.
- Вовчук І.Л. Прогностичне значення визначення катепсина В і його ендогенних інгібіторів при онкологічній патології / І.Л. Вовчук // Онкологія. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 165-168.
- Вовчук І.Л. Естрогени, трипсиноподібні протеїнази і карбоксипептидази А і В при новообразованиях тела матки женщин / І.Л. Вовчук, С.С. Чернадчук, С.А. Петров // Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53, вып. 2. – С. 205-211.
- Гланц С. Медико-біологічна статистика / С. Гланц // Пер. с. англ. – М.; Практика, 1998. – 495 с.
- Ефременко Ю.Р. Протеолітичні ферменти – високочувствительний критерій ефективності і безпеки лікування / Ю.Р. Ефременко // Биомедицинская химия. – 2008. – Т. 54, № 2. – С. 179-183.
- Іванов Д.Д. Острое повреждение почек / Д.Д. Иванов // Медицина неотложных состояний. – 2012. – Т. 3 (42), Киев. Электронный ресурс: <http://www.mif-ua.com/archive/article/29427>.
- Карпов Л. М. Онтогенетические особенности обмена и распределения тиамин и его фосфорных эфиров в тканях белых крыс: дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.00.04. / Карпов Леонид Михайлович; Одесск. гос. ун-т. имени И.И. Мечникова. – Одесса, 1971. – 297 с.
- Михальчук В.Н. Трипсиноподібні протеїнази в фізіології і біології людини / В.Н. Михальчук // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2008. – № 4 (14) – С. 134-139.
- Оришака О. В. Розподіл тіаміну та його фосфорильованих форм за пухлинного процесу в матці та яєчниках: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.04 // Оришака Олеся Василівна; Херсон. гос. ун-т. – Х., 2013. – 20 с.
- Пархоменко Ю.М. Окисленные производные тиамин: образование, свойства, биологическая роль / Ю.М. Пархоменко, И.И. Степура, Г.В. Донченко [и др.] // Укр. биохим. журн. – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 5-24.
- Петров С.А. Некоферментные системы / С.А. Петров // XVIII з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю 20-22 травня 2010 року: матеріали конференції. Київ: Інст-т фізіології ім. О.О. Богомольця – Фізіологічний журнал. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 193.
- Петров С.А. Некоферментные эффекты тиамин и его метаболитов / С.А. Петров // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, вып. 4. – С. 335-345.
- Розанов А.Я. Вплив тіаміну та його метаболітів на активність пепсину й трипсину / А.Я. Розанов, І.В. Гаврилюк, С.А. Петров [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 1990. – Т. 62, № 1. – С. 102-104.
- Смирнов В.М. Физиология человека / В.М. Смирнов // М.; Медицина, 2002. – 598 с.
- Устьянська О.В. Вивчення взаємодії тіаміну та його метаболітів з частково очищеним катепсином L / О.В. Устьянська, І.Л. Вовчук, Д.Б. Радіонов [та ін.] // Вчені записки Таврицького національного університету. Серія "Біологія, хімія". – 2012. – Т. 25 (64), № 4. – С. 209-214.
- Устьянська О. В. Регуляція тіаміном та його метаболітами активності катепсину: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.04 / Устьянська Ольга Володимирівна; Херсон. гос. ун-т. – Х., 2013. – 20 с.

20. Халмуратов А.Г. Мембранный транспорт коферментных витаминов и коферментов / А.Г. Халмуратов, В.Н. Тоцкий, Р.В. Чаговец. – К.; Наук. думка, 1982. – 280 с.

21. Чернадчук С.С. Активность катепсина В в опухолевой ткани репродуктивных органов женщин / С.С. Чернадчук, И.Л. Вовчук // Ученые записки Таврического национального университета. Серия "Биология". – 2003. – Т. 16 (55), № 2 – С. 202-207.

22. Чорна В.І. Роль протеолізу в гормоноподібній шитоподібній залозі за канцерогенезу / В.І. Чорна, О.Л. Ляна, М.І. Хворостенко [та ін.] // Вісник Львівського університету. Серія "Біологія". – 2008. – Вип. 47. – С. 58-62.

23. Gassman B. The role of entero-hepatic recirculation of vitamins in its transport and metabolism / B. Gassman, H. Ketz // Biochem. J. – 1991. – Vol. 236, № 5 – P. 541-543.

24. Gulyai I.E. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / I.E. Gulyai, A.F. Makarchikov, B. Lakaye [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60. – P. 1477-1484.

25. Kunitz M.I. The determination of kaseine in the blood and urine / M.I. Kunitz // Biol. Chem. – 1946. – Vol. 164. – P. 563-571.

26. Lewis E.C. Expanding the clinical indications for a(1)-antitrypsin therapy / E.C. Lewis // Mol. Med. – 2012. – Vol. 18. – P. 957-970.

27. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr [et al.] // The journal of biological chemistry. – 1951. – 193, N 1. – P. 265-275. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

28. Simon M.M. Cloned cytolytic T-effector cells and their malignant variants produce an extracellular matrix degrading trypsin-like serine proteinase / M.M. Simon, H.G. Simon, U. Fruth [et al.] // Immunology. – 1987. – Vol. 60, № 2. – P. 219-230.

Acknowledgements

1. Budnjak O.K. Vmest flavinovyh ta nikotinamidnyh kofermentiv v organah opromenyenyh shhuriv pislja vvedennja sumishi vitaminiv / O.K. Budnjak, A.V. Sorokin, L.M. Karpov [ta in.] // Visnik ONU. Serija "Biologija". – 2004. – T. 9, vip. 5. – S. 23-28.

2. Veremeenko K.N. α_1 -ingibitor proteinaz i ego issledovanie v klinike / K.N. Veremeenko // Klin. medicina. – 1985. T. 63, №12. – S. 21-27.

3. Veremeenko K.N. Proteoliz v norme i pri patologii / K.N. Veremeenko, O.J. Goloborod'ko, A.I. Kizim – K.; Zdorov'e, 1988. – 200 s.

4. Veremeenko K.N. Proteoliticheskie fermenty i ih ingibitory. Novye oblasti primeneniya v klinike / K.N. Veremeenko // Vrach. delo. – 1994. – № 1. – S. 8-13.

5. Vovchuk I.L. Prognosticheskoe znachenie opredeleniya katepsina B i ego jendogenykh ingibitorov pri opuholevoj patologii / I.L. Vovchuk // Onkologija. – 2010. – T. 12, № 2. – S. 165-168.

6. Vovchuk I.L. Jestrogeny, tripsinopodobnye proteinazy i karboksipeptidazy A i V pri novoobrazovaniyah tela matki zhenshin / I.L. Vovchuk, S.S. Chernadchuk, S.A. Petrov // Biomeditsinskaja himija. – 2007. – T. 53, vyp. 2. – S. 205-211.

7. Glanc S. Mediko-biologicheskaja statistika / S. Glanc // Per. s. angl. – M.; Praktika, 1998. – 495 s.

8. Efremenko Ju.R. Proteoliticheskie fermenty – vysokochuvstvitel'nyj kriterij jeffektivnosti i bezopasnosti lechenija / Ju.R. Efremenko // Biomeditsinskaja himija. – 2008. – T. 54, № 2. – S. 179-183.

9. Ivanov D.D. Ostroe povrezhdenie pochek / D.D. Ivanov // Medicina neotlozhnyh sostojanij. – 2012. – T. 3 (42), Kiev. Jelektronnyj resurs: <http://www.mif-ua.com/archive/article/29427>.

10. Karpov L.M. Ontogeneticheskie osobennosti obmena i raspredelenija tiamina i ego fosforynyh jefirov v tkanjah belyh krys [dissertation]. Odessa: I.I. Mechnikov State University of Odessa; 1971. Ukrainian.

11. Mihal'chuk V.N. Tripsinopodobnye proteinazy v fiziologii i biologii cheloveka / V.N. Mihal'chuk // Aktual'nye problemy transportnoj medicyny. – 2008. – № 4 (14) – S. 134-139.

12. Orishaka O.V. Rozpodil tiaminu ta jogo fosforil'ovanih form za puhlinoogo procesu v matci ta jaechnikah [dissertation]; Kherson: State University of Kherson; 2013. Ukrainian.

13. Parhomenko Ju.M. Okislennye proizvodnye tiamina: obrazovanie, svojstva, biologicheskaja rol' / Ju.M. Parhomenko, I.I. Stepuro, G.V. Donchenko [i dr.] // Ukr. biokhim. zhurn. – 2012. – T. 84, № 6. – S. 5-24.

14. Petrov S.A. Neokofermentnye sistemy / S.A. Petrov // XVIII z'їzd Ukraїnskogo fiziologichnogo tovaristva z mizhnarodnoju uchastju 20-22 travnja 2010 roku: materialy konferencij. Kiїv: Inst-t fiziologii im. O.O. Bogomol'ca – Fiziologichnij zhurnal. – 2010. – T. 56, № 2. – S. 193.

15. Petrov S.A. Neokofermentnye jeffekty tiamina i ego metabolitov / S.A. Petrov // Biomeditsinskaja himija. – 2006. – T. 52, vyp. 4. – S. 335-345.

16. Rozanov AJa. Vpliv tiaminu ta jogo metabolitiv na aktivnist' pepsinu j tripsinu / AJa. Rozanov, IV. Gavriljuk, SA. Petrov [ta in.] // Ukr. biokhim. zhurn. – 1990. – T. 62, № 1. – S. 102-104.
17. Smirnov VM. Fiziologija cheloveka / VM. Smirnov // M. ; Medicina, 2002. – 598 s.
18. Ustjans'ka OV. Vivicennja vzaemodii tiaminu ta jogo metabolitiv z chastkovo ochishhenim katepsinom L / OV. Ustjans'ka, IL. Vovchuk, DB. Radionov [ta in.] // Vcheni zapiski Tavriches'kogo nacional'nogo universitetu. Serija "Biologija, himija". 2012. – T. 25 (64), № 4. – S. 209-214.
19. Ustjans'ka OV. Reguljacija tiaminom ta jogo metabolitami aktivnosti katepsiniv [dissertation]; Kherson: State University of Kherson; 2013. Ukrainian.
20. Halmuradov AG. Membrannyj transport kofermentnyh vitaminov i kofermentov / AG. Halmuradov, VN. Tockij, RV. Chagovcev. – K. ; Nauk. dumka, 1982. – 280 s.
21. Chernadchuk SS. Aktivnost' katepsina V v opuholevoj tkani reproductivnyh organov zhenshin / SS. Chernadchuk, IL. Vovchuk // Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta. Serija "Biologija". – 2003. – T. 16 (55), № 2 – S. 202-207.

22. Chorna VI. Rol' proteolizu v gormonopoezii shhitopodibnoi zalozi za kancerogenezu / VI. Chorna, OL. Ljanna, MI. Hovorostenko [ta in.] // Visnik L'vivs'kogo universitetu. Serija "Biologija". – 2008. – Vip. 47. – S. 58-62.
23. Gassman B. The role of entero-hepatic recirculation of vitamins in its transport and metabolism / B. Gassman, H. Ketz // Biochem. J. – 1991. – Vol. 236, № 5 – P. 541-543. English.
24. Gulyai IE. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / IE. Gulyai, AF. Makarchikov, B. Lakaye [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60. – P. 1477-1488. English.
25. Kunitz MI. The determination of kaseine in the blood and urine / MI. Kunitz // Biol. Chem. – 1946. – Vol. 164. – P. 563-571. English.
26. Lewis EC. Expanding the clinical indications for a(1)-antitrypsin therapy / EC. Lewis // Mol. Med. – 2012. – Vol. 18. – P. 957-970. English.
27. Lowry OH. Protein measurement with the Folin phenol reagent / OH. Lowry, NJ. Rosebrough, AL. Farr [et al.] // The journal of biological chemistry. – 1951. – 193, N 1. – P. 265-275. English.
28. Simon MM. Cloned cytolytic T-effector cells and their malignant variants produce an extracellular matrix degrading trypsin-like serine proteinase / MM. Simon, HG. Simon, U. Fruth [et al.] // Immunology. – 1987. – Vol. 60, № 2. – P. 219-230. English.

Надійшла до редколегії 16.06.16

О. Устьянская, доц., И. Вовчук, проф., С. Петров, проф., А. Будняк, доц.
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра биохимии, Одесса, Украина,
С. Гоженко, ст. науч сотр.

Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта Министерства здравоохранения Украины, Одесса, Украина

РЕГУЛЯЦИЯ ТИАМИНОМ АКТИВНОСТИ ТРИПСИНОПОДОБНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС

Исследовали влияние внутримышечной инъекции тиамина на активность трипсиноподобных ферментов в печени, почках, желудке и тонком кишечнике белых крыс.

В органах интактных крыс максимальная активность трипсиноподобных протеиназ установлена в тонком кишечнике, а минимальная в печени.

Парентеральное введение тиамина приводит к снижению активности трипсиноподобных протеиназ в печени, почках и желудке, и повышение активности фермента в тонком кишечнике, что свидетельствует о возможности некоферментного действия тиамина на активность трипсиноподобных ферментов.

Ключевые слова: тиамин, трипсиноподобные ферменты, органоспецифичность.

O. Ustjansky, assistant prof., S. Petrov, prof, I. Vovchuk, prof, O. Budnyak, assistant prof
Odessa National Mechnikov University, Biology Faculty, Biochemistry Department, Odessa, Ukraine,
S. Gozhenk, senior researcher
Ukrainian scientific research institute of medicine of transport Ministry of Health Protection of Ukraine, Odessa, Ukraine

REGULATION OF TRYPSIN-LIKE ENZYME ACTIVITY IN THE TISSUES OF WHITE RATS WITH THIAMINE

The effect of intramuscular thiamine injection on the activity of trypsin-like enzymes in the liver, kidneys, stomach and small intestine of white rats has been researched.

In the organs of intact rats, the maximum activity of trypsin-like proteases has been established in the small intestine, and the minimum one in the liver.

Thiamine parenteral administration leads to the decrease of trypsin-like protease activity in the liver, kidney and stomach, and the increase of the enzyme activity in the small intestine that suggests the possibility of non-coenzyme thiamine effect on the trypsin-like enzyme activity.

Key words: thiamine, trypsin-like enzymes, organ-specificity.

УДК 616.379-008.64:661.846

О. Шатинська, асп., Р. Іскра, д-р біол. наук
Інститут біології тварини НААН, Львів

КОРЕКЦІЯ ЦИТРАТОМ МАГНІЮ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В КРОВІ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ДІАБЕТОМ

Досліджували вплив різних концентрацій цитрату магнію (100, 250 і 500 мг/кг маси тіла) на процеси пероксидного окиснення ліпідів та активність системи антиоксидантного захисту в крові щурів з експериментальним цукровим діабетом, який викликали одноразовим введенням 5% розчину алоксан моногідрату. Активність ферментів антиоксидантного захисту: каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та вміст відновленого глутатіону досліджували у лізатах еритроцитів, а вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів – у плазмі крові. У щурів з експериментальним цукровим діабетом спостерігалось підвищення рівнів гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів на тлі зниження активності ферментів антиоксидантного захисту. Цитрат магнію, який протягом чотирьох тижнів разом з питною водою додавався до раціону тварин, виявляв позитивний нормалізуючий ефект, зокрема, вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів знизився, а активність ензимів системи антиоксидантного захисту збільшилася. Наші дані демонструють, що добавки цитрату магнію можуть частково відновити антиоксидантні параметри і зменшити оксидативний стрес у щурів з діабетом індукованим алоксаном.

Ключові слова: цитрат магнію, цукровий діабет, антиоксидантна система.

Вступ.

Цукровий діабет є гетерогенним клінічним синдромом, що характеризується ендокринними і метаболічними змінами, і як наслідок підвищенням рівнем глюкози у крові – гіперглікемією [4]. Гіперглікемія, в свою чергу, є причиною виникнення оксидативного стресу, що сприяє порушенню основних процесів в організмі, таких як секреція інсуліну і дія інсуліну [3]. Виникнення оксидатив-

ного стресу, за діабетичних ускладнень, зумовлене надмірним виробництвом активних радикалів Оксигену і зниженням ефективності антиоксидантного захисту [4]. Крім того, цукровий діабет пов'язаний з підвищеною екскрецією Магнію з організму, який необхідний для нормального протікання багатьох біохімічних реакцій і фізіологічних процесів, що забезпечують енергетику і функції різних органів. Магній є важливим компонентом

для активності багатьох ензимів, залучений у гомеостаз глюкози [5], відіграє ключову роль в регулюванні дії інсуліну, інсулін-опосередкованому поглинанні глюкози. Внутрішньоклітинне виснаження Магнію може призвести до порушень активності тирозинової кінрази інсулінових рецепторів, і як наслідок розвивається інсулінорезистентність [1]. Тому метою наших досліджень було з'ясувати вплив різних кількостей цитрату магнію на протікання оксидативного стресу у крові щурів за експериментально-індукованого діабету.

Матеріали і методи.

Дослідження проведені на 25 самках білих лабораторних щурів лінії Вістар, масою тіла 90–110 г, із дотриманням положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Тварини перебували у віварії Інституту біології тварин НААН за відповідних умов освітлення та температурного режиму.

Всі експериментальні тварини були зважені і розділені на 5 груп: контрольна група (КГ), тварини без цукрового діабету; діабетична група (ДГ), тварини з експериментальним цукровим діабетом без будь-якого лікування захворювання і три дослідні групи (Д1, Д2, Д3), тварини з ЕЦД, яким протягом 30 днів експерименту до питної води додавали Mg^{2+} , у вигляді цитрату магнію ($C_6H_6O_7 \cdot Mg$) в дозах 100, 250 та 500 мг Mg^{2+} /кг маси тіла, при щоденному споживанні води $20 \pm 4,0$ мл на щура.

Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) викликали шляхом внутрішньоочеревинного введення 5% розчину алоксан моногідрату ("Синбіас") з розрахунку 150 мг/кг маси тіла. Гіперглікемію виявляли шляхом вимірювання глюкози крові, зібраної з хвостової вени, за допомогою портативного глюкометра ("Gamma-M").

На 30 добу тварин виводили з експерименту під легким ефірним наркозом. Матеріалом для досліджень були плазма та еритроцити крові щурів. В еритроцитах

крові визначали активність супероксиддисмутази [11], активність каталази, активність глутатіонпероксидази і активність глутатіонредуктази [8]. У плазмі крові визначали концентрацію гідропероксидів ліпідів [10] та вміст ТБК-позитивних продуктів [9].

Одержані цифрові дані обробляли статистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати та обговорення.

Алоксан – похідне сечовини, яке спричиняє селективний некроз β -клітин підшлункової залози. Його токсична дія на підшлункову залозу проявляється в окисненні важливих сульфгідрилів (SH-груп), інгібуванні глюкокінази, порушенні внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу та генеруванні вільних радикалів [6]. Ці радикали можуть спричинити посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів, за якого утворюються гідропероксида ліпідів (ГПЛ), дієнові кон'югати та ТБК-позитивні продукти.

У дослідженнях було встановлено, що за експериментального діабету в плазмі крові щурів II групи підвищувався вміст гідропероксидів ліпідів на 18% порівняно із тваринами контрольної групи. У той же час спостерігалася тенденція до зниження вмісту ГПЛ в III і IV дослідних групах і вірогідне зниження у 5 дослідній групі на 34,6% порівняно з 2-ю дослідною групою (табл.1).

У дослідженнях було виявлено, що у тварин 2 групи на 13% збільшився вміст ТБК-ПП порівняно із тваринами контрольної групи. У 3 і 5 групах тварин, які разом із водою отримували цитрат магнію, вміст ТБК-ПП вірогідно знижувався в обох групах на 13% порівняно з тваринами 2-ої групи (табл.1).

Підвищення вмісту ГПЛ і ТБК-ПП вказує на посилення процесів вільнорадикального неферментативного пероксидного окиснення ліпідів та служить маркером ступеня ендогенної інтоксикації та оксидативного стресу.

Таблиця 1. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів в плазмі крові щурів ($M \pm m$, $n = 5$)

Група	ГПЛ (ΔD_{480} /г тканини)	ТБК-позитивні продукти (нмоль/г тканини)
КГ	$1,15 \pm 0,06$	$2,06 \pm 0,07$
ДГ	$1,36 \pm 0,02$	$2,33 \pm 0,03$
Д1 (Mg^{2+} 100 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	$1,16 \pm 0,12$	$2,16 \pm 0,02^*$
Д2 (Mg^{2+} 250 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	$1,28 \pm 0,06$	$2,15 \pm 0,03$
Д3 (Mg^{2+} 500 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	$0,89 \pm 0,04^{***}$	$2,16 \pm 0,03^*$

Примітки: $^*p < 0,05$; $^{***}p < 0,01$ вірогідність показників Д1-Д3 порівняно ДГ

Антиоксидантна система (АОС) організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням ГПЛ та ТБК-ПП. Основний механізм контролю цих реакцій пов'язаний з ланцюгом оборотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу та інших речовин [7].

У крові щурів ДГ за умов експериментального діабету на фоні посилення процесів ПОЛ спостерігається зниження активності супероксиддисмутази на 11% та

каталази на 23% в еритроцитах, що може бути зумовлене пригніченням синтезу їх молекул за оксидативного стресу (табл. 2). Крім того, зниження супероксиддисмутази активності в еритроцитах тварин з ЕЦД, ймовірно, може бути зумовлено надлишковим утворенням гідропероксидів жирних кислот, які інгібують активність цього ензиму. У тварин Д1 і Д3 активність СОД достовірно зростає відносно ДГ на 35% і 33% відповідно. У той час як активність каталази в еритроцитах тварин Д1-Д3 відносно ДГ вірогідно не змінювалась.

Таблиця 2. Активність супероксиддисмутази і каталази в еритроцитах крові щурів ($M \pm m$, $n = 5$)

Група	СОД, ум. од./мг протеїну	Каталаза, нмоль/хв·мг протеїну
КГ	$47,07 \pm 3,03$	$1,94 \pm 0,13$
ДГ	$41,9 \pm 4,19$	$1,5 \pm 0,11^*$
Д1 (Mg^{2+} 100 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	$56,47 \pm 3,31^*$	$1,46 \pm 0,14^*$
Д2 (Mg^{2+} 250 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	$54,04 \pm 3,11$	$1,32 \pm 0,07^{**}$
Д3 (Mg^{2+} 500 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	$55,96 \pm 3,76^*$	$1,30 \pm 0,03^{**}$

Примітки: $^*p < 0,05$; $^{**}p < 0,01$ вірогідність показників ДГ, Д1-Д3 порівняно з КГ
 $^*p < 0,05$ вірогідність показників Д1-Д3 порівняно ДГ

Зазвичай близько 10% глюкози в еритроцитах метаболізується пентозофосфатним шляхом, проте за оксидативного стресу близько 90% її може метаболізуватись цим шляхом. Як наслідок генеруються молекули НАДФН, які залучаються і використовуються глутатіоновою ланкою АОС для знешкодження активних форм кисню.

Основним антиоксидантом глутатіонової ланки в організмі є відновлений глутатіон (ВГ). Він ферментативним шляхом інактивує гідропероксиди ліпідів, а також неферментативним шляхом інактивує H_2O_2 і інгібує активні форми кисню [7].

У ході наших досліджень було встановлено, що вміст ВГ у крові тварин з ЕЦД достовірно зростає у порівнянні із контрольною групою тварин. Це може бути пов'язано з інтенсифікацією окиснювального етапу пентозофосфатного шляху. Разом з тим спостерігається підвищення вмісту ВГ у крові тварин Д1 і Д2, відповідно на 8,7% і 43,5%, порівняно із тваринами ДГ (табл. 3), що може бути зумовлено інтенсифікацією його синтезу за дії цитрату магнію. Однак, для пояснення механізмів його дії слід провести ще ряд додаткових досліджень.

Таблиця 3. Активність ензимів глутатіонової ланки та вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові щурів ($M \pm m$, $n = 5$)

Група	Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв•мг протеїну	Глутатіонредуктаза, нмоль/хв•мг протеїну	Відновлений глутатіон, мМ
КГ	3,16±0,56	0,13±0,01	0,08±0,04
ДГ	7,28±0,78**	0,15±0,01	0,23±0,004**
Д1 (Mg^{2+} 100 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	2,94±0,25***	0,08±0,005***	0,25±0,02***
Д2 (Mg^{2+} 250 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	2,27±0,11***	0,12±0,007*	0,33±0,03***
Д3 (Mg^{2+} 500 мг Mg^{2+} /кг м.т.)	2,94±0,92***	0,18±0,004***	0,22±0,05

Примітки: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ вірогідність показників ДГ, Д1-Д3 порівняно з КГ

$p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ вірогідність показників Д1-Д3 порівняно ДГ

Відновлений глутатіон у клітинах утворюється шляхом регенерації з окисненого глутатіону. Цей ферментативний процес здійснюється глутатіонредуктазою і залежить від НАДФН, який синтезується у гексозомонофосфатному шунті. Глутатіонредуктаза відіграє важливу роль в захисті еритроцитів від активних радикалів, шляхом збільшення рівня ВГ. Тому, основна функція ГР – підтримання постійного рівня ВГ, що в свою чергу, відповідає за стабільність гемоглобіну, багатьох ензимів еритроцитів і основних структурних білків їхніх мембран [2].

Враховуючи зростання вмісту ВГ у тварин ДГ, закономірним є зростання активності глутатіонредуктази на 15% порівняно з контрольною групою. У тварин Д1 і Д2 груп активність ГР достовірно знижується відповідно на 33% і 20% відносно тварин ДГ, в той час як у Д3 – зростає (табл. 3).

Глутатіонпероксидаза каталізує перетворення органічних гідропероксидів ($R-OOH$) і гідроген пероксиду (H_2O_2) до води, використовуючи трипептид глутатіон як донор Гідрогену. Наші результати показують суттєве збільшення активності ГП у тварин ДГ з ЕЦД порівняно з тваринами контрольної групи. Це вказує на інтенсифікацію захисту організму тварин від впливу активних форм Кисню, які продукуються при перетворенні алоксану. Однак за випоювання цитрату магнію спостерігається достовірне зниження активності ГП у Д1 на 60%, Д2 на 69% і Д3 на 60% групах тварин відносно тварин з ЕЦД (табл. 3).

Отримані результати свідчать, що випоювання щуром з ЕЦД із водою цитрату магнію нормалізує активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази, що вказує на позитивний вплив Mg^{2+} на стан антиоксидантної системи, зокрема її глутатіонової ланки.

Висновки.

Таким чином, швидкість і спрямованість метаболізму еритроцитів обумовлена високим біохімічним потенціалом цих клітин і залежить від систем адаптивної регуляції. За умов додавання до раціону щурів із експериментальним діабетом цитрату магнію в кількостях 100-, 250- і 500 мг/кг маси тіла показники АОС нормалізувалися, досягли рівня у тварин контрольної групи. Це очевидно відбувалося завдяки антиоксидантним властивостям Магнію, який знищуючи окиснені радикали,

можливо, впливає на швидкість спонтанної дисмутації супероксидного йона.

У щурів з експериментальним діабетом за умови додавання до раціону цитрату магнію інтенсифікуються метаболічні процеси, знижується чутливість до оксидативного стресу, що супроводжується нормалізацією активності антиоксидантної системи, зниженням вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів, накопичення яких може сприяти ранньому "старінню" клітин крові.

Отже, дослідження метаболічних порушень прооксидантно-антиоксидантного статусу в крові щурів за умов експериментального діабету та впливу цитрату магнію забезпечить з'ясування ролі цього елемента в механізмах профілактики цього захворювання.

Список використаної літератури

1. Barbaggio M., et al. Magnesium Metabolism in Insulin Resistance, Metabolic Syndrome, and Type 2 Diabetes Mellitus. In: New perspectives in magnesium research. Springer London. 2007:213-223.
2. Chang J.C., van der Hoeven L.H., Haddox C.H. Glutathione reductase in the red blood cells. Annals of Clinical & Laboratory Science. 1978;8:1:23-29.
3. Lazo-de-la-Vega-Monroy M., Fernández-Mejía C. Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role for Antioxidants. 2013;209-231.
4. Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins III J.B. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review J Biochem molecular toxicology. 2003;17(1): 24-38.
5. Mooradian Arshag D., et al. Selected vitamins and minerals in diabetes. Diabetes care. 1994;17.5:464-479.
6. Rohilla A., Ali S. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. Int J Res Pharma Biomedical Sci. 2012;3:819-823.
7. Бєленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.І. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). Совр. пробл. токсикоз. 2002;3:24-29.
8. Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. – Львів: СПОЛОМ, 2012.
9. Коробейникова Э.Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК. Лаб. дело. 1989;7:8–10.
10. Мирончик В.В. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях. Авторское свидетельство №1084681 СССР, МКИ G № 33/48. (СССР). №3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84. Бюл. №13.
11. Чевари С., Андял Т., Штиренгер Д. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте. Лаб. дело. 1991;10:9–13.

References

1. Barbaggio M., et al. Magnesium Metabolism in Insulin Resistance, Metabolic Syndrome, and Type 2 Diabetes Mellitus. In: New perspectives in magnesium research.// Barbaggio M., et al. / Springer London. 2007:213-223.

2. Chang J.C. Glutathione reductase in the red blood cells.// *Chang J.C., van der Hoeven L.H., Haddox C.H. / Annals of Clinical & Laboratory Science. 1978;8.1:23-29.*

3. Lazo-de-la-Vega-Monroy M. Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role for Antioxidants.// Lazo-de-la-Vega-Monroy M., Fernandez-Mejia C /2013;209-231.*

4. Maritim A.C. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review J Biochem molecular toxicology. Diabetes care.// *Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins III J.B./2003;17(1): 24-38.*

5. Mooradian Arshag D., et al. Selected vitamins and minerals in diabetes. //Mooradian Arshag D., et al. / 1994;17.5:464-479.

6. Rohilla A, Ali S. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. *Int J Res Pharma Biomedical Sci. // Rohilla A, Ali S./ 2012;3:819-823.*

7. Беленічев І.Ф. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). *Совр. пробл. токсикоз.// Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.І / 2002;3:24-29.*

8. Влізло В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. – Львів.: СПОЛОМ, // *Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін / 2012.*

9. Коробейникова Э.Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК. *Лаб. дело.// Коробейникова Э.Н/1989;7:8–10.*

10. Мирончик В.В. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях. Авторское свидетельство №1084681 СССР, МКИ G № 33/48. (СССР). №3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84. *Бюл. №13.*

11. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте. *Лаб. дело.// Чевари С., Андял Т., Штирленгер Д/ 1991;10:9–13.*

Надійшла до редколегії 16.06.16

Е. Шатинская, асп., Р. Искра, д-р биол. наук
Институт биологии животных НААН, Львов, Украина

КОРРЕКЦИЯ ЦИТРАТОМ МАГНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В КРОВИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ

Исследовали влияние различных концентраций цитрата магния (100, 250 и 500 мг/кг массы тела) на процессы перекисного окисления липидов и активность системы антиоксидантной защиты в крови крыс с экспериментальным сахарным диабетом, который вызван однократным введением 5% раствора аллоксан моногидрата. Активность ферментов антиоксидантной защиты каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и содержание восстановленного глутатиона исследовали в лизатах эритроцитов, а содержание продуктов перекисного окисления липидов – в плазме крови. У крыс с экспериментальным сахарным диабетом наблюдалось повышение уровней гидроперекисей липидов и ТБК-положительных продуктов на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты. Цитрат магния, который в течение четырех недель вместе с питьевой водой добавляли в рацион животных, проявлял положительный стабилизирующий эффект, в частности, содержание гидроперекисей липидов и ТБК-положительных продуктов снизилось, а активность ферментов системы антиоксидантной защиты увеличилась. Наши данные показывают, что добавки цитрата магния могут частично восстановить антиоксидантные параметры и уменьшить окислительный стресс у крыс с диабетом индуцированным аллоксаном.

Ключевые слова: цитрат магния, сахарный диабет, антиоксидантная система.

O. Shatynska, PhD stud., R. Iskra, DSc.
Institute of Animal Biology UAAS, Lviv, Ukraine

CORRECTION MAGNESIUM CITRATE OXIDATIVE STRESS IN BLOOD OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

The investigation of the influence of different concentrations of magnesium citrate (100, 250 and 500 mg/kg body weight) on the lipid peroxidation processes and the activity of the antioxidant system in red blood cell of rats with experimental diabetes was conducted. Diabetes was caused by the single introduction of a 5% solution of alloxan monohydrate. The activity of the enzymes of antioxidant protection, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase and the content of reduced glutathione were studied in red blood cells. The increasing levels of lipid hydroperoxides and thiobarbituric acid reactive substances against the backdrop of decreased activity of enzymes of antioxidant protection was observed in rats with experimental diabetes. Magnesium citrate, which for four weeks, together with drinking water was added to the diet of the animals, showed a positive normalizing effect. Particularly, the contents of LPO and TBARS declined, and activity of antioxidant systems of protection increased significantly. Our data shows that the magnesium citrate supplements can partly restore the antioxidant parameters and reduce oxidative stress in rats with alloxan-induced diabetes.

Keywords: magnesium citrate, diabetes, antioxidant system.

УДК 616-006

О. Джус, асп., Л. Гарманчук, д-р биол. наук, О. Сторожук, студ.,
Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ,
В. Орисик, канд. хім. наук, Ю. Зборовський, канд. хім. наук, М.Вовк, д-р хім. наук
Інститут органічної хімії НАН України, Київ

ВПЛИВ N-ГІДРОКСИ-4-([[(E)-2ФЕНІЛЕТЕНИЛ]СУЛЬФОНІЛ]АМІНО)БУТАНАМІДУ НА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ТА АДГЕЗИВНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИН

Досліджено зміни показників клітинного циклу, адгезивних властивостей та морфологічних ознак на різних типах пухлинних клітин в моно шаровому, суспензійному та модельній системі сфероїдного росту за дії хімічно синтезованого похідного амінооцтової кислоти N-гідрокси-4-([[(e)-2-фенілетенил] сульфоніл]аміно) бутанаміду, оборотного інгібітору матриксних металопротеїназ, що свідчать про можливий епітеліально-мезенхімальний перехід внаслідок підвищення адгезивних властивостей, – пригнічення сфероїдоутворення та зміни відсоткового співвідношення клітин у певних фазах клітинного циклу.

Ключові слова: N-гідрокси-4-([[(e)-2-фенілетенил] сульфоніл]аміно) бутанамід, оборотні інгібітори матриксних металопротеїназ, епітеліально-мезенхімальний перехід, модельна система сфероїдного росту.

Вступ. Останніми роками у процесах метастазування все більше уваги приділяється епітеліально-мезенхімальному переходу (ЕПМ), який може генерувати механізми метастазування, у тому числі рухливість клітин, їх дедиференціювання, прогресію та резистентність пухлинних клітин до цитостатиків [1]. Міграція клітин регулюється спеціальними білками цитоскелету,

медіаторами, які виробляють клітини органа-мішені і екстрацелюлярний матрикс [2]. Для міграції клітин має значення активність матриксних металопротеїназ (ММР), що здатні сприяти ремоделюванню тканини за допомогою регуляції компонентів позаклітинного матриксу, а також сприяти, проліферації, диференціюванню клітин і ангиогенезу [3]. Варто зазначити, що при но-

рмальній регенерації тканин (наприклад, заживлення ран, ембріональний розвиток) та деяких патологічних процесах (наприклад, фіброз, канцерогенез) ЕМП та мезенхімально-епітеліальний перехід (МЕП) клітин є одними з основних процесів. ЕМП індукуються екзогенними сигналами; це фактори росту (ендотеліальний, фактор росту гепатоцитів і фібробластів, інсуліноподібні, трансформуючі), ряд молекул позаклітинного матриксу (матриксні металопротеїнази, віментин, фібронектин та ін.), прозапальні цитокіни, тощо [4]. При канцерогенезі всі вище зазначені фактори ведуть до реалізації генетичної програми ЕМП, які, в свою чергу, активують ряд транскрипційних факторів (Snail, Twist, Slug, ZEB1, ZEB2, Lef-1 та ін.), які зв'язуються з промоторами генів, відповідальних за ЕМП. З іншого боку, інгібується експресія генів, що кодують білки щільних контактів (в тому числі E-кадгерин), знижуються їх адгезивні властивості та активуються транскрипційні фактори, – EPST1 (epithelial-stromal interaction 1). В результаті епітеліальні клітини набувають здатності до інвазії та міграції [5]. При міграції клітин в органи-мішені метастазування (для карциноми Льюїса це легені), відбувається зворотний процес – МЕП (реепітеліалізація). Основну роль в МЕП відіграє SNAI2, що є безпосереднім медіатором EGFR, який відіграє важливу роль в реепітеліалізації [6]. Таким чином, клітини набувають епітеліального фенотипу з підвищеною адгезією, прикріплюються до субстрату і можуть дати початок новому метастатичному вузлу. Серед інгібіторів МЕП використовують похідні гідроксамової кислоти, оборотні інгібітори металопротеїнази, зокрема відомий GM6001 (galdardin, ilomastat). Аніонний стан групи гідроксамової кислоти утворює двозубчастий комплекс з активним цинковим сайтом), – інгібітор широкого спектра MMP, який, як відомо, інгібує MMP1, MMP2, MMP3, MMP8, MMP9 [7], MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, і MMP-26 [8]. Слід відмітити, що висока біологічна активність гідроксамових кислот обумовлена їх здатністю утворювати комплексні сполуки з іонами біометалів. Координуючись з протеїновими фрагментами металовмісних ензимів, вони здатні зв'язувати в стійкі комплекси іони металів, що знаходяться в їх активному сайті [9]. Ряд природних і синтетичних гідроксамових кислот виявились інгібіторами цинк-залежних ензимів гістондеацетилази і матричних металопротеїнази, як наслідок, ефективними антипроліферативними агентами [10; 11]. Деякі з цих сполук, зокрема субероанілідгідроксамова кислота (SAHA, Vorinostat) і Трихостатин А (Trichostatin A) знайшли практичне застосування в клінічній практиці в ролі протипухлинних препаратів [12; 13]. Слід зазначити, що модифікація гідроксамових кислот фармакофобними фрагментами призводить до синергічного ефекту їх активності. Тому в даній роботі ми використали для дослідження модифіковану гідроксамову кислоту.

Мета дослідження полягала у визначенні синтезованої нами сполуки N--гідрокси-4-(((e)-2-фенілетеніл)сульфоніл)аміно)бутанаміду – нового потенційного інгібітору матриксних металопротеїназ, на проліферативні та адгезивні показники пухлинних клітин.

Об'єкт і методи дослідження. Для дослідження було використано декілька ліній пухлинних клітин; Hela (рак шийки матки), Colo 205 (аденокарцинома товстого кишечника), MCF-7 (рак молочної залози) та первинну культуру перещеплюваної карциноми легень Льюїса (LLC). MCF-7 використовували із індукованим сфероїдним ростом за методом, описаним нами в попередній роботі [14]: для ініціації сфероїдного росту клітини лінії

MCF-7 інкубували за стандартних умов при t 37 °C, 5 % CO₂, 100% вологості в повному поживному середовищі у флаконах (25см², Nunc, Данія). Після досягнення клітинами моношарового росту їх знімали з використанням розчину Версена – 0,025 М ЕДТА з додаванням 0,25% розчину трипсину (Chemapol, Чехія), висаджували на чашки з малоадгезивними властивостями з початковою щільністю 50 тис. клітин/мл та додавали КМ-целюлозу до кінцевої концентрації 0,24%. Після цього клітини розсіювали в концентрації 2×10^5 кл/мл, після досягнення моношару додавали досліджувану речовину у концентрації 2×10^{-5} М та інкубували 72 години. Термін культивування був обраний у зв'язку з урахуванням мітотичного циклу досліджуваних клітин та їхнього переходу до стану проліферативного спокою. Після закінчення терміну інкубації клітини разом із середовищем інкубації відбирали, переосаджували центрифугуванням, визначали концентрацію живих клітин та співвідношення живих і мертвих після зафарбовування останніх трипановим синім. Морфологічний аналіз проводили за допомогою світлової мікроскопії, знімки були зроблені з використанням камери Canon та інвертованого мікроскопа Anxiovert 40.

Для визначення проліферативних показників використовували МТТ-тест [15] та цитофлуориметричний аналіз [16].

ДНК клітин для аналізу клітинного циклу та визначення рівня апоптозу фарбували флюорохромним барвником пропідієм йодидом (PI), що селективно з'єднується з інтеркалюючими сайтами в ДНК.

Фарбування клітин за допомогою флюорохромного барвника PI включало наступні етапи: клітини у кількості 106 на пробу після однократного відмивання в 5 мл забуференого фізіологічного розчину при 1000 об/хв протягом 10 хв ресуспендували в 1мл гіпотонічного лізуючого буфера (0,1 % цитрат натрія, 0,1 % Triton X-100, 5 мкг/мл PI). Всі реагенти фірми "Sigma Chemical Co", США. Після обережного струшування, клітини інкубували при t 22-25 °C протягом 30 хв у темряві. Для оцінки дольового вмісту клітин в основних фазах мітотичного циклу (G1/0, S, G2 + M) гістограми розподілу обробляли за допомогою спеціалізованої математичної програми ModFit LT 2.0 (BDIS, США) для комп'ютерів Macintosh. Всі проточно-цитофлуориметричні дослідження виконувалися на приладі FACS Calibur ("Becton Dickinson", США), що оснащений двома лазерами (з довжиною хвилі 488 та 625 нм), з використанням спеціалізованих математичних програм CellQuest та ModFit LT 2.0 (BDIS, США) для комп'ютерів Macintosh, для одержання та аналізу даних. Для виміру флуоресценції PI використовували вузькополосний фільтр 585/42 нм.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням "Origin 6,1" і t-критерія Стьюдента. Всі дані приведені у вигляді середніх арифметичних та стандартних відхилень.

Результати та їх обговорення.

N-гідрокси-4-(((e)-2-фенілетеніл) сульфоніл)аміно)бутанамід модифікує субстрат-залежний ріст та адгезивний потенціал пухлинних клітин і пригнічує їх проліферацію. До протипухлинних ефектів, які визначаються в скринінгових системах культивованих клітин відносять цитостатичну, проапоптотичну дію, контактне гальмування, а також залежність росту клітин від субстрату. Біологічну активність, згідно вищевказаних ефектів, тестували на первинній культурі перещеплюваної карциноми легень Льюїса (LLC), клітин раку шийки матки людини

Hela, клітин Colo205 та MCF-7. Показники визначали на модельній системі багатоклітинних пухлинних сфероїдів (3D-культури). Так, для клітин Hela та LLC було за-

фіксовано значне пригнічення проліферації за інкубації клітин протягом 3-х діб та зміна морфології клітин, що зображено на рисунку 1.

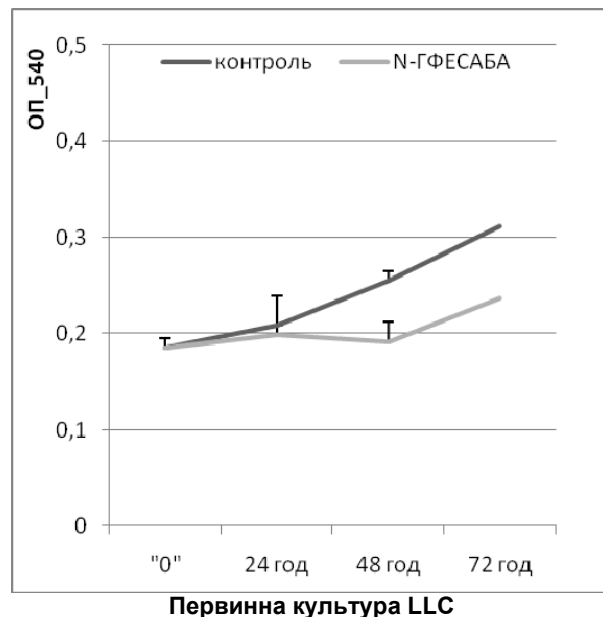
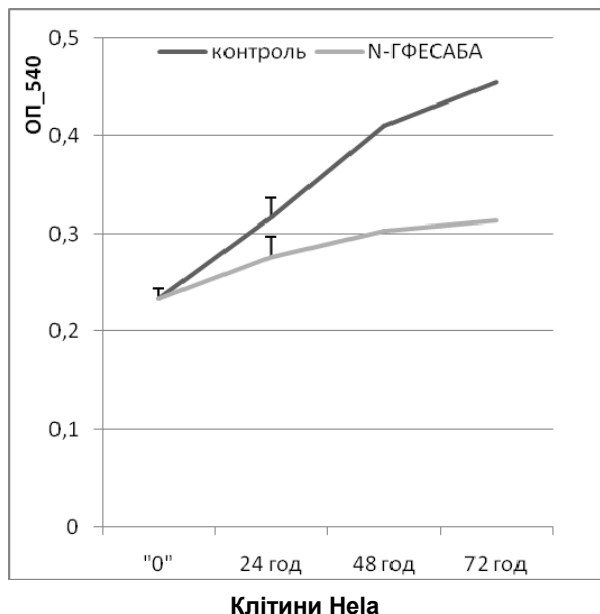
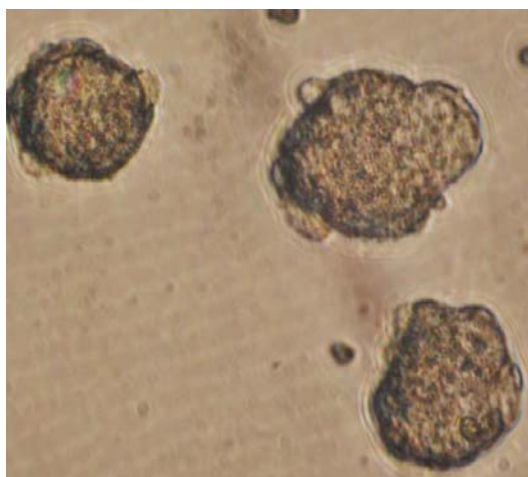


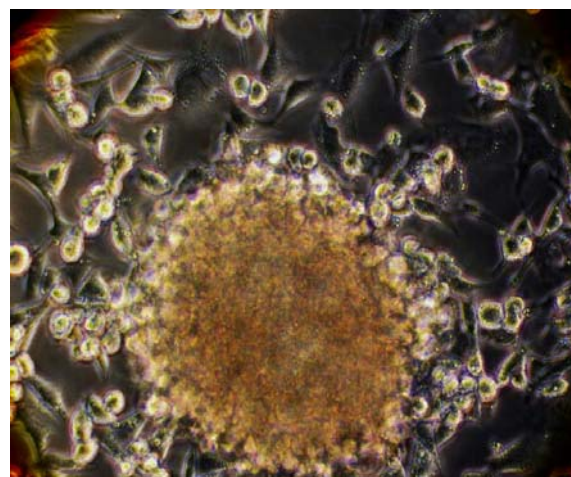
Рис.1. Криві росту клітин раку шийки матки Hela та карциноми легень Льюїс (LLC) в контролі та за впливу N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно) бутанаміду (на рис. 1,3 та 4 позначено як N-ГФЕСАБА)

Крім того, в попередніх дослідженнях ми виявили суттєвий вплив N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно) бутанаміду на клітинний цикл клітин Hela, що проявлялось в переході клітин в G0/G1 фазу та зміні їх морфології [17].

За впливу на клітини MCF-7 на модельній системі сфероїдного росту було показано зміну морфогенезу та перехід клітин в адгезивну фракцію, як видно із рисунку 2.



Контроль



Вплив N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно)бутанаміду

Рис.2. Морфогенез сфероїдів клітин MCF-7 в контролі та за дії N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно)бутанаміду. Збільшення – 320х

На даній модельній системі скринінгу згідно даних цитофлуориметричного аналізу було показано збільшення фракції клітин в фазі проліферативного спокою (2n2c) на 25% у порівнянні з контролем. При чому, за впливу N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно)бутанаміду спостерігалось достовірне зни-

ження більше ніж у 2 рази відсоткового вмісту клітин у фазі G2/M та на 18% у порівнянні з контролем у синтетичній S-фазі (2n4c), що свідчить про пригнічення проліферативної активності та збільшення адгезивного статусу внаслідок дії досліджуваної сполуки.

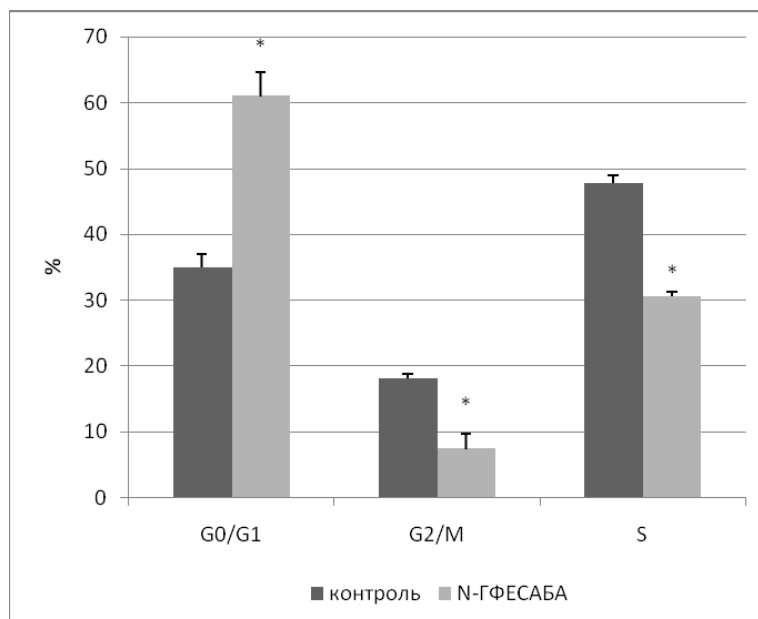


Рис.3. Відсотковий вміст клітин MCF-7 залежно від фаз клітинного циклу в контролі та за дії N-гідрокси-4-(((е)-2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанаміду після 72-годинної інкубації

*- $P \leq 0,05$; порівняно з контролем.

Клітини аденокарциноми товстого кишечника, епітеліального походження Colo-205 характеризуються поділом на дві основні субпопуляції за наявності глікопротеїну CD133, клітинного маркера дорослих стовбурових клітин та пухлинних стовбурових клітин, важливих в ініціації, розвитку пухлин та відповіді на терапію. Показано, що експресія гену CD133 у клітинній лінії Colo-205 призводить до активації генів, що беруть участь в клітинній проліферації, регуляції клітинного циклу, репа-

рації ДНК, транскрипції необхідних білків, антиапоптичній дії тощо [18]. При дослідженні впливу синтезованої нами речовини на рівень апоптозу лінії клітин Colo-205, було відмічено збільшення рівня апоптозу майже вдвічі у порівнянні з контролем, відсотковий вміст апоптичних клітин становив 37% та 19% відповідно (Рис.4). Отриманий результат може вказувати на перерозподіл субпопуляцій клітин в сторону пригнічення вмісту клітин з фенотипом CD133+.

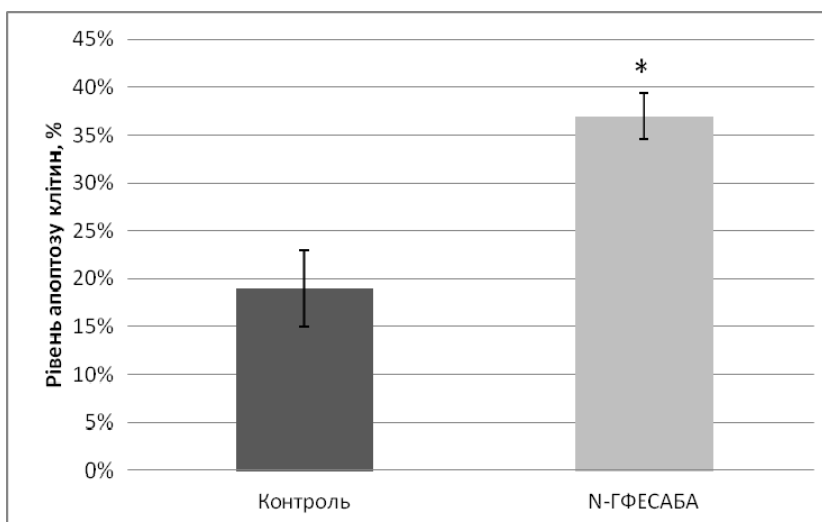


Рис.4. Рівень апоптозу клітин Colo-205 в контролі та за дії N-гідрокси-4-(((е)-2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанаміду

*- $P \leq 0,05$; порівняно з контролем

Отже, визначені ефекти N-гідрокси-4-(((е)-2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанаміду, оборотного інгібітора матриксних металопротеїназ вказують на перспективність даної сполуки як антипроліферативного засобу та індуктора апоптозу з модифікуючим впливом на адгезію пухлинних клітин.

Висновки. Отримані експериментальні дані виявляють, що досліджувана сполука N-гідрокси-4-(((е)-

2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанамід модифікує субстрат-залежний ріст та адгезивний потенціал пухлинних клітин і пригнічує їх проліферацію. Вищезазначені дані дають змогу припускати, що досліджувана сполука повинна пригнічувати пухлиноутворення та метастазування, однак отримані результати потребують детального вивчення на моделях in vivo.

Список використаних джерел

1. Zimmerer R.M. Putative CD133+ melanoma cancer stem cells induce initial angiogenesis in vivo / R.M. Zimmerer, P. Matthiesen, F. Kreher [et al.]. // *Microvasc Res.* – 2016. – Vol. 104. – P. 46-54.
2. Gao T. The mechanism between epithelial mesenchymal transition in breast cancer and hypoxia microenvironment / T. Gao, J.Z. Li, Y. Lu, C.Y. Zhang, Q. Li, J. Mao, L.H. Li // *Biomed Pharmacother.* – 2016. Vol. 80. – P. 393-405.
3. Bellayr I. Matrix metalloproteinase inhibition negatively affects muscle stem cell behavior / I. Bellayr, K. Holden, X. Mu, H. Pan, Y. Li // *Int J ClinExpPathol.* – 2013. Vol.6, №2. – P.124-141.
4. Безденежних Н.О. Модифікація епітеліально-мезенхімального переходу в клітинах раку молочної залози внаслідок їх кокультивування з фібробластами та клітинами кісткового мозку // Н.О. Безденежних, Н.І. Семесюк, О.О. Лихова, В.Є. Жильчук, Ю.І. Кудрявець // *Онкологія.* – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 191-196.
5. Steinestel K. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition / K. Steinestel, S. Eder, A.J. Schrader, J. Steinestel // *Clin Transl Med.* – 2014.- Vol.2. – P.3-17.
6. Savagner P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon / P. Savagner // *AnnOncol.* – 2010. – Vol. 21. P.89-92.
7. Волоков К.С. Роль епітеліально-мезенхімального переходу в патогенезі заживлення кожних ран // К.С. Волоков, С.Б. Крамар. / *Morphologia.* – 2015. – Т. 9, №2. – С. 7-10.
8. Breschi L. Use of a specific MMP inhibitor (Galardin) for preservation of hybrid layer // L. Breschi, P. Martin, A. Mazzoni, [et. al.]. / *Dent Mater.* – 2010.
9. Almholt K. Metastasis is strongly reduced by the matrix metalloproteinase inhibitor Galardin in the MMTV-PyMT transgenic breast cancer model // K. Almholt, A. Juncker-Jensen, O. DidrikLærum, [et. al.]. / *Mol Cancer Ther.* – 2008. – Vol.7. – P. 2758.
10. Codd R. Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids // R. Codd. / *Coord.Chem. Rev.* – 2008. – Vol. 252, N 12-14. – P. 1387-1408.
11. Gupta S.P. QSAR studies on hydroxamic acids: A fascinating family of chemicals with a wide spectrum of activities. // S.P. Gupta. / *Chem. Rev.* – 2015. – Vol. 115, N 13. – P. 6427-6490.
12. Pal D., Saha S. Hydroxamic acid – A novel molecule for anticancer therapy // D. Pal, S. Saha. / *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* – 2012. – Vol. 3, N 2. – P. 92-99.
13. Mottamal M. Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new medicine // M. Mottamal, S. Zheng, T.L. Huang, G. Wang. / *Molecules.* – 2015. – Vol. 20, N 3. – P. 3898-3941.
14. Zhao L. Effects of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) combined with paclitaxel (PTX) on paclitaxel-resistant ovarian cancer cells and insights into the underlying mechanisms // L. Zhao, Y. Tong, L. Yuanlin, L. Huaping, L. Chundong, Y. Zhao, Y. Zhang // *Cancer Cell Int.* – 2014.
15. L.V. Garmanchuk. In vitro 3D growth system – alternative to in vivo tumor growth model // L.V. Garmanchuk, L.B. Ostrovska, V.V. Nikulina [et al.]. / *Биофармацевтический журнал.* – 2014. – Т. 2, №6. – С.4-6
16. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays / T.Mosmann // *Journal of Immunological Methods.*-1983.- Vol. 65. – P. 55-63.
17. Nicoletti I. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry / I. Nicoletti, G. Migliorati, M.C. Pagliacci // *J. Immunol. Methods.* – 1991.- Vol.139, N 2. – P. 271-280.
18. Nikulina V. Cytostatic and pro-apoptotic effect of N-hydroxy-4-(((e)-2-phenylethenyl)sulfonyl)amino)butanamide on tumor cells / V.Nikulina, L. Garmanchuk, Y. Zborovski, V. Orisik, M. Vovk, S. Orisik, T. Nikolaenko, I. Babichuk, V. Pekhno // *European Journal of Cancer.* – 2016. – Vol.57. – P. 1-9.
19. Gao W. Isolation and phenotypic characterization of colorectal cancer stem cells with organ-specific metastatic potential. W. Gao, L. Chen, Z. Ma, Z. Du, Z. Zhao, Z. Hu, Q. Li // *Gastroenterology.* – 2013. – Vol. 145, N 3. – P. 636-646

Reference

1. Zimmerer RM, Matthiesen P, Kreher F, Kampmann A, Spalthoff S, Jehn P, et al. Putative CD133+ melanoma cancer stem cells induce initial angiogenesis in vivo. *Microvasc Res.* 2016;104:46-54
2. Gao T, Li JZ, Lu Y, Zhang CY, Li Q, Mao J, Li LH. The mechanism between epithelial mesenchymal transition in breast cancer and hypoxia microenvironment. *Biomed Pharmacother.* 2016;80:393-405.
3. Bellayr I, Holden K, Mu X, Pan H, Li Y. Matrix metalloproteinase inhibition negatively affects muscle stem cell behavior. *Int J ClinExpPathol.* 2013; 6(2): 124-41.
4. Безденежних Н.О., Семесюк Н.І., Лихова О.О., Жильчук В.Є., Кудрявець Ю.І. Модифікація епітеліально-мезенхімального переходу в клітинах раку молочної залози внаслідок їх кокультивування з фібробластами та клітинами кісткового мозку. *Онкологія.* 2013;15(3): 191-6.
5. Steinestel K, Eder S, Schrader AJ, Steinestel J. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition. *Clin Transl Med.* 2014;2:3-17.
6. Savagner P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon. *AnnOncol.* 2010;21:89-92.
7. К.С. Волоков, С.Б. Крамар. Роль епітеліально-мезенхімального переходу в патогенезі заживлення кожних ран. *Morphologia.* 2015;9(2):7-10.
8. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, et al. Use of a specific MMP inhibitor (Galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater.* 2010;26(6)
9. Almholt K, Juncker-Jensen A, DidrikLærum O, et al. Metastasis is strongly reduced by the matrix metalloproteinase inhibitor Galardin in the MMTV-PyMT transgenic breast cancer model. *Mol Cancer Ther.* 2008;7:27-58.
10. Codd R. Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids. *Coord.Chem.* 2008;252(12):1387-408.
11. Gupta SP. QSAR studies on hydroxamic acids: A fascinating family of chemicals with a wide spectrum of activities. *Chem. Rev.* 2015;115(13):6427-6490.
12. Pal D, Saha S. Hydroxamic acid – A novel molecule for anticancer therapy. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2012;3(2):92-99.
13. Mottamal M, Zheng S, Huang TL, Wang G. Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new. *Molecules.* 2015;20(3):3898-3941.
14. Zhao L, Ying Tong, Yuanlin Liu, Huaping Liu, Chundong Li, Yue Zhao, Yi Zhang. Effects of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) combined with paclitaxel (PTX) on paclitaxel-resistant ovarian cancer cells and insights into the underlying mechanisms. *Cancer Cell Int.* 2014;14:112.
15. Garmanchuk LV, Ostrovska LB, Nikulina VV, et al. In vitro 3D growth system – alternative to in vivo tumor growth model. *Биофармацевтический журнал.* 2014;6(2):4-6.
16. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *Journal of Immunological Methods.* 1983; 65:55-63.
17. Nicoletti I, Migliorati G, Pagliacci MC. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *J. Immunol. Methods.* 1991; 139(2): 271-280.
18. Nikulina V, Garmanchuk L, Zborovski Y, Orisik V, Vovk M, Orisik S, Nikolaenko T, Babichuk I, Pekhno V. Cytostatic and pro-apoptotic effect of N-hydroxy-4-(((e)-2-phenylethenyl)sulfonyl)amino)butanamide on tumor cells. *European Journal of Cancer.* 2016;57(1):9.
19. Gao W, Chen L, Ma Z, Du Z, Zhao Z, Hu Z, Li Q. Isolation and phenotypic characterization of colorectal cancer stem cells with organ-specific metastatic potential. *Gastroenterology.* 2013;145(3):636-46.

Надійшла до редколегії 20.04.16

Е. Джус, асп., Л. Гарманчук, д-р биол. наук, О. Сторожук, студ.
 Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ, Україна,
 В. Орыськ, канд. хим. наук, Ю. Зборовский, канд. хим. наук, М.Вовк, д-р. хим. наук
 Институт органической химии НАН Украины, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ N-ГИДРОКСИ-4-(((E)-2-ФЕНИЛЭТЕНИЛ)СУЛЬФОНИЛ)АМИНО)БУТАНАМИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И АДГЕЗИВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЛЕТОК

Исследованы изменения показателей клеточного цикла, адгезивных свойств и морфологических признаков на модельной системе сфероидного роста трансформированных клеток при воздействии химически синтезированного производного гидроксамовой кислоты N-гидрокси-4-(((e)-2-фенилэтенил)сульфонил)амино)бутанамида, обратного ингибитора матричных металлопротеиназ, свидетельствующие о возможном эпителиально-мезенхимальном переходе вследствие повышения адгезивных свойств, ингибирования образования сфероидов и изменения процентного соотношения клеток в определенных фазах клеточного цикла.

Ключевые слова: N – гидрокси-4 – (((e) -2-фенилэтенил)сульфонил)амино)бутанамид, обратные ингибиторы матричных металлопротеиназ, эпителиально-мезенхимальный переход, модельная система сфероидного роста.

O. Dzhush, PhD stud., L. Garmanchuk, DSc, O. Storozhuk, stud.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, Kyiv, Ukraine,
V. Orysyk, PhD, Y. Zborovsky, PhD, M. Vovk, DSc.
Institute of organic chemistry NAS of Ukraine, Ukraine, Kyiv, Ukraine

EFFECTS OF N-HYDROXY-4-({(E)-2-PHENYLETHENYL} SULFONYL)AMINO)BUTANAMIDE ON CELL CYCLE AND ADHESIVE PROPERTIES IN TUMOR CELLS

Using the model system of tumor spheroidal growth, we explored the main changes of the cell cycle parameters, adhesion properties and morphological features caused by action of a new chemically synthesized derivative of hydroxamic acid N-hydroxy-4-({(E)-2-phenylethenyl} sulfonyl)amino)butanamide, a reversible inhibitor of matrix metalloproteinases. The results of our studies, indicates that it is a possible epithelial-mesenchymal transition due to increased adhesive properties, inhibition of spheroid formation and changes in cells proportion in specific phases of the cell cycle.

Keywords: N – hydroxy-4 – ({{(e) -2-fenileteny}} sulfonyl} amino) butanamid, reversible inhibitors of matrix metalloproteinases, epithelial-mesenchymal transition, model system of spheroidal growth.

УДК 504.73.03:630*18:630*425:630*561.24 (477.60)

Н. Мірошник, канд. біол. наук
Інститут еволюційної екології НАН України, Київ

СТРУКТУРА ДЕНДРОФЛОРИ ТА ІНВАЗИВНА АКТИВНІСТЬ ВИДІВ-ІНТРОДУЦЕНТІВ ПРАВОБЕРЕЖЖА СЕРЕДНЬОГО ПРИДНІПРОВ'Я

Досліджено співвідношення типів стратегій Раменського – Грайма деревних рослин, що відображають ставлення їх до двох факторів – забезпеченості ресурсами і порушеності місцезростань. Переважають види зі вторинною стратегією віоленти-патієнти (47–65%), особливо у захисних лісах та узлісних паркових насадженнях. Це стійкі до стресу, нестачі ресурсів та конкурентно сильні види *Quercus rubra* L., *Carpinus betulus* L., *Corylus avellana* L., *Acer campestre* L., *A. platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L. На другому місці за кількістю види з первинною стратегією стрес-толеранти *Acer tataricum* L., *Sambucus racemosa* L., *Genista tinctoria* L., *Aesculus hippocastanum* L.

Ключові слова: дендрофлора, лісові екосистеми, біоморфи, екоморфи, стратегії видів, антропогенний вплив.

Вступ. В умовах антропоцентричної парадигми раціонального природокористування істотно зростає тривалий негативний вплив людської діяльності на навколишнє природне середовище (НПС), спричиняючи критичний стан екосистем, низку екологічних катаклізмів на місцевому, регіональному та глобальному рівнях [13]. Інтенсивне використання природних ресурсів з недостатніми оцінками, обліком та збереженням спричинило деградацію лісових екосистем, зниження їх екологічної ролі, зменшення біотичного та ландшафтного різноманіття. Основну загрозу біорізноманіттю становлять діяльність людини, знищення нею оселищ існування флори і фауни, інвазії неаборигенних організмів. Особливо значні втрати біорізноманіття і самих екосистем у лісових насадженнях, зокрема в зелених зонах навколо населених пунктів, що за останні 2 століття, є одним з вирішальних чинників швидких темпів опустелювання, деградації ландшафтів, глобальних змін клімату [8, 16]. Тому важливим є дослідження, збереження і відновлення лісових екосистем.

В умовах Правобережжя середнього Придніпров'я досліджено стан лісових екосистем [13, 18, 31], фітозабруднення [9, 22], наведено деякі аспекти таксономічної структури дендрофлори [27, 28], оцінено стан та видовий склад паркових насаджень та об'єктів природно-заповідного фонду [32].

Водночас нами вивчено біоморфологічну, екологічну структуру дендрофлори регіону, розповсюдження, активності, стратегії адвентивних видів. Доповнено дані досліджень 2010 р. [17, 18] щодо складу та структури дендрофлори регіону, що і було **метою роботи**.

Матеріали і методи. Згідно з геоботанічним районуванням території України [5], Черкаська область, у межах якої здійснювали дослідження, входить до Європейсько-Сибірської лісостепової області, Східноєвропейської провінції, Середньо-придніпровської та Лівобережно-придніпровської підпровінцій, Черкасько-Чигиринського та Єлизаветградсько-Онуфріївського районів. Регіон входить до одного з основних екокоридорів Національної екомережі України (меридіональний

Дніпровський і широтний Галицько-Слобожанський). Тривале господарське освоєння території та розвиток сільського господарства спричинили суттєву антропогенну трансформацію флори та рослинності. До значної порушеності екосистем призвели утворення Кременчуцького водосховища, осушення боліт, велику частку в антропогенному впливі складає також рекреаційне навантаження на лісові екосистеми (пошкодження рослин, витогування, ущільнення ґрунтів, несанкціоновані вирубки насаджень, пожежі, стихійні сміттєзвалища) та аеротехногенні викиди підприємств промислової зони м. Черкаси, які ослаблюють лісові екосистеми, призводять до їх ушкодження, розповсюдження шкідників, хвороб, перебудови усередині екосистем, фітоінвазій [13]. Як наслідок, тут тривають процеси синантропізації та адвентизації рослинного покриву, а також посилення інвазійного потенціалу видів, які виступають як едифікатори. Сприяють поширенню фітоінвазій також великі міста, які розташовані поблизу (Київ, Черкаси, Кременчук, Світловодськ, Комсомольськ), наявна мережа транспортних шляхів, зокрема водних (р. Дніпро та її притоки, Кременчуцьке водосховище) [22].

Промислове навантаження, не зважаючи на кризу економіки, у Черкаській області є значним: 2014 р. до її повітряного басейну від усіх антропогенних джерел надійшло 136,6 тис. т шкідливих речовин, що становить близько 20,6% від загальнодержавних обсягів викидів. Щорічна щільність шкідливих викидів на природні екосистеми Черкаської області досягає 3,2 т/км² [25]. Особливо значні викиди фітотоксикантів – SO₂, NO_x, які пригнічують розвиток дерев, спричиняють хлорози, некрози, дефоліацію крон та сприяють розповсюдженню шкідників та хвороб [12, 15].

Досліджували вплив комплексного антропогенного навантаження на дендрофлору лісових екосистем методами лісівництва, порівняльної екології [3], геоботаніки [1, 3, 21]. Стан деревостанів визначали за [3, 26]. Біоморфологічна структура наведена за І.Г. Серебряковим (Серебряков, 1962). Екоморфічний аналіз здійснювали за методиками [1, 29] з доповненнями за [10]. Типи екологічних стратегій описували за схемою Ра-

менського–Грайма [7, 10, 24]. Екологічні особливості видів та приналежність рослин до адвентивних визначено за літературними даними [10, 23], за способом заносу адвентивні види відносяться до ергазіофітів (здичавілі інтродуценти) [6]. Біорізноманіття оцінювали за індексами Шеннона-Уівера (H'), вирівняності за Пієлу та біотичної дисперсії Коха [21]. Індекс адвентизації встановлювали як частку у відсотках заносних видів від загальної чисельності деревних видів на певній тестовій ділянці [2]. Загальну частоту трапляння видів (у %) визначали як відношення кількості ділянок, де вид виявлений, до загальної кількості досліджених ділянок. Латинські назви таксонів рослинності наведені за [20]. Назви родин вказані за системою А. Тахтаджяна (2009) [30].

Протягом 2009–2013 рр. нами проведені польові дослідження маршрутним методом, методами екологічного профілювання, у межах лісових масивів Черкаський бір (ЧБ), Чигиринський сосновий масив (ЧСМ) (чисті насадження з *Pinus sylvestris* L. з підростом подекуди (*Quercus robur* L.), захисних лісових насаджень (ЗЛН) різного цільового призначення (уздовж автодорогі, водоохисні) та породного складу (11 лінійних ЗЛН загальною протяжністю до 15 км) та узлісних паркових насаджень зеленої зони м. Черкас – 5 тимчасових пробних площ в урочищі "Сосновка" на відстані 0,5–9 км від узлісся, що межує з територією міста (чисті насадження з *Pinus sylvestris* L. з підростом *Quercus robur* L. та підліском з *Crataegus monogyna* Jacq., *Acer tataricum* L., *Sambucus nigra* L., *Prunus spinosa* L.). Для порівняння екологічної, таксономічної структури, індексів біорізноманіття дендрофлори ми об'єднали досліджувані лісові екосистеми у 3 групи: масивні ліси (ЧБ та ЧСМ), ЗЛН та паркові узлісні насадження.

Результати та обговорення. Досліджена дендрофлора Правобережжя середнього Придніпров'я налічує 60 видів з 37 родів та 23 родин. Відділ *Pinophyta* складає 5% видів, Відділ *Magnoliophyta* – 95%. Загалом дерев 68,3%, чагарників 28,3%, ліан 3,3%. Найповніше систематичну структуру рослинності відображає відсоткове співвідношення видів з різних родин. Це співвідношення чітко вказує регіональні особливості флористичних комплексів як невеликих, так і доволі значних територій. Спектр десяти провідних родин деревних рослин формують *Rosaceae* (17% видів) (табл. 1), у цій родині найбільше представлені чагарники та напівчагарники порівняно з іншими родинами, це види родів *Prunus* L. (1 вид), *Rubus* L. (3 види), *Rosa* L. (1 вид), *Sorbus* L. і *Malus* Mill. (по 2 види); *Aceraceae*, яка містить 7% від усіх видів, найбільша кількість видів у ЗЛН, у цій родині більшість видів – ергазіофіти, лише 2 види – аборигенні (*Acer platanoides* L., *A. tataricum* L.). Родини *Ulmaceae*, *Celastraceae*, *Rhamnaceae*, *Corylaceae*, *Caprifoliaceae* представлені кожна 2 видами, всі інші родини містять по 1 виду. Родина *Pinaceae* (3 види, з них 2 – інтродуценти), найчисельніша у ЗЛН. Родина *Tiliaceae* представлена 1 видом *Tilia cordata* Mill., що росте одинично тільки в масивних лісах та ЗЛН і має ослаблений стан (дефоліація, всихання гілок до 15% від крони дерева). Майже не ушкоджений шкідниками, благонадійний підріст формує тільки на відстані 19 км від м. Черкаси (середньозважена висота 2,5 м, густина 5,3 шт./га, середньозважений індекс стану 2,0 – ослаблені). Таким чином співвідношення таксонів не характерне для цього регіону [4], що вказує на значне втручання людини, особливо у ЗЛН, де найбільше представництво адвентивних видів та видів з високою інвазивною спроможністю (табл. 2).

Таблиця 1. Систематична структура та розподіл за життєвими формами дендрофлори Правобережжя середнього Придніпров'я

Родина	Масивні ліси					ЗЛН					Паркові насадження				
	рід	вид	Д	Ч	Л	рід	вид	Д	Ч	Л	рід	вид	Д	Ч	Л
Відділ <i>Pinophyta</i>															
<i>Pinaceae</i>	1	1	1	–	–	2	3	3	–	–	1	1	1	–	–
Відділ <i>Magnoliophyta</i>															
<i>Aceraceae</i>	1	3	2	1	–	1	6	5	1	–	1	1	1	–	–
<i>Berberidaceae</i>	1	1	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Betulaceae</i>	1	1	1	–	–	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Bignoniaceae</i>	–	–	–	–	–	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Cannabaceae</i>	1	1	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Caprifoliaceae</i>	2	2	–	2	–	2	2	–	2	–	2	2	–	2	–
<i>Celastraceae</i>	2	2	–	2	–	1	1	–	1	–	–	–	–	–	–
<i>Corylaceae</i>	2	2	1	1	–	1	1	–	1	–	–	–	–	–	–
<i>Elaeagnaceae</i>	–	–	–	–	–	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Fabaceae</i>	1	1	–	1	–	1	2	1	–	–	1	1	–	1	–
<i>Fagaceae</i>	1	1	1	–	–	1	2	2	–	–	1	1	1	–	–
<i>Hippocastanaceae</i>	–	–	–	–	–	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Juglandaceae</i>	–	–	–	–	–	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Moraceae</i>	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–	1	1	1	–	–
<i>Oleaceae</i>	1	1	1	–	–	1	2	2	–	–	1	1	1	–	–
<i>Rhamnaceae</i>	2	2	–	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Rosaceae</i>	9	11	7	4	–	10	12	8	4	–	6	8	4	4	–
<i>Salicaceae</i>	–	–	–	–	–	2	9	8	1	–	–	–	–	–	–
<i>Tiliaceae</i>	1	1	1	–	–	1	1	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Ulmaceae</i>	1	2	2	–	–	1	2	2	–	–	–	–	–	–	–
<i>Vitaceae</i>	1	1	–	–	1	–	–	–	–	–	–	1	–	–	1
Разом	30	34	18	14	2	29	48	38	10	0	14	17	9	7	1

Примітки: Д – дерево, Ч – чагарник, Л – ліана.

Індекс адвентизації тут становить 54,2% – найбільший серед порівнюваних фітоценозів, що зумовлено прямим втручанням людини (висаджуванням інтродуцентів), меншою мірою – саморозселенням видів-трансформерів *Robinia pseudoacacia* L., *Acer negundo* L. [22]. Найбільша кількість чагарників та напівчагарників у

ЗЛН та масивних лісах, що вказує на значне освітлення та достатні умови зволоження (особливо у ЗЛН та ЧБ) для формування підліску під основним наметом. Ліана *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch. відмічена у масивних лісах та у паркових насадженнях (на узліссях), а *Humulus lupulus* L. – наявний у невеликій кількості (5%

трапляння) лише на найвіддаленіших ділянках масивних лісів (15, 19 км від міста).

Найменший видовий склад, таксономічне різноманіття у паркових насадженнях, там представництво видів збіднене за рахунок впливу рекреації, несанкціонованих рубок, пожеж, ослаблення насаджень внаслідок впливу аеротехногенного забруднення (ці насадження першими піддаються впливу шкідливих емісій від промзони міста). Індекс Шеннона-Уівера (табл. 2) найменший (7,2) у захисних лінійних насадженнях, у паркових екосистемах та масивних лісах приблизно однаковий (11,6; 11,8). Індекс біотичної дисперсії (IBD) для

досліджених лісових екосистем становить 32,5% і вказує на незначну схожість дендрофлори, що зумовлено різним складом видів у ЗЛН (велика кількість інтродуцентів, адвентів), монокультурами лісових масивів та порушеністю складу у паркових насадженнях.

За частотою трапляння 28,3% видів визначені у всіх досліджених лісових насадженнях, це *Pinus sylvestris* L., *Quercus robur* L., *Fraxinus excelsior* L., *Acer tataricum* L., *Sambucus nigra* L., *Sambucus racemosa* L., *Sorbus aucuparia* L., *Ulmus laevis* Pall. та ін. 21,7% видів трапляються у двох екосистемах з виділених груп (*Acer campestre* L., *Betula pendula* L., *Corylus avellana* L. та ін.).

Таблиця 2. Кількісні показники таксонів дослідженої дендрофлори

Кількісні показники, шт.	Масивні ліси	ЗЛН	Паркові насадження
Кількість родин	17	18	7
Кількість родів	27	29	12
Кількість видів	34	48	15
Відділ <i>Pinophyta</i> , видів	1	3	1
Відділ <i>Magnoliophyta</i> , видів	33	45	14
Представництво адвентивних видів / з високою інвазивною спроможністю, за [13], шт.	10/1	26/2	5/0
Наявність видів-нітрофілів, шт./%	8/23,5	6/12,5	5/33,3
Індекс Шеннона-Уівера (H')	11,6	7,2	11,8
Вирівняність за Пієлу	7,6	4,3	9,6
Індекс адвентизації, %	29,4	54,2	33,3
Стан насаджень, за [17, 26]	ослаблені, сильно ослаблені	ослаблені, сильно ослаблені	ослаблені, сильно ослаблені

Оцінено тип вегетативної рухливості рослин (за Раменським, 1971) [29], як інтегральний показник ступеню стійкості виду у фітоценозі та як передумова його спроможності до захвату та утримання життєвого простору (табл. 3). Вегетативно рухливі (тобто з високою здатністю до захоплення простору) рослини переважають у масивних та паркових насадженнях. Хоча вегетативно не рухливих теж найбільше у паркових узлісних екосистемах (не зважаючи на високий ступінь вигоптаності ґрунтового покриву). У ЗЛН найбільша кількість вегетативно малорухливих видів.

За геліоморфами абсолютно переважають світлолюбні у всіх лісах, тіньовитривалих приблизно однакова кількість всюди – 17–26%, тіньолісних же найбільше (6%) у масивних лісах, а на узліссі їх взагалі немає, внаслідок зрідження основного намету, вигоптування тут значна освітленість та знижене зволоження. Розподіл гідроморф вказує на мезофітність умов зволоження, яка знижується в паркових насадженнях у бік ксерофітизації. За вимогами до трофності ґрунту переважають мегатрофи, потім мезотрофи, нітрофілів найбільше (33%) у паркових екосистемах внаслідок аерозабруднення техногенним нітрогеном [13], невелика кількість кальцієфілів (2%) знайдена у масивних лісах та ЗЛН.

Таблиця 3. Структура біо- та екоморф дендрофлори Правобережжя середнього Придніпров'я, %

Фактори	Життєва форма	Масивні ліси	ЗЛН	Паркові насадження
Біоморфи за І.Г. Серебряковим (1964)	Дерева	50,0	75,0	53,3
	Чагарники	38,2	18,8	13,3
	Напівчагарники	8,8	6,3	26,7
	Ліани	2,9	–	6,7
Тип вегетативної рухливості	Вегетативно рухливі	50,0	41,7	46,7
	Вегетативно малорухливі	17,6	29,2	13,3
	Вегетативно не рухливі	32,4	29,2	40,0
Геліоморфи	Геліофіти	67,6	81,3	80,0
	Сціогеліофіти	26,5	16,7	20,0
	Геліосціофіти	5,9	2,1	–
Гідроморфи	Ксерофіти	2,9	2,1	–
	Мезофіти	55,9	54,2	33,3
	Мезогігрофіти	14,7	22,9	26,7
	Ксеромезофіти	26,5	20,8	40,0
Трофоморфи	Оліготрофи	2,9	4,2	6,7
	Олігомезотрофи	–	4,2	–
	Мезотрофи	32,4	47,9	33,3
	Мегатрофи	64,7	43,8	60,0
	З них кальцієфіли	2,9	2,1	–
	З них нітрофіли	23,5	12,5	33,3
Стратегії за Раменським – Граймом [7, 10, 24]	C	11,8	8,3	13,3
	S	20,6	18,8	20,0
	SR	14,7	6,3	6,7
	CS	47,1	64,6	60,0
	CR	5,9	2,1	–
за літературними [12] та нашими даними [17]	стійкі до техногенного забруднення	23,5	18,8	13,3
	не стійкі до техногенного забруднення	76,5	81,3	86,7

Серед ценоморф за походженням переважають аборигенні види (рис. 1), але інтродуценти (адвентивні види – ергазіофіти) становлять майже 30%. Кількість інтродукованих видів перевищує кількість аборигенів у ЗЛН, з них найбільше північноамериканських видів (майже 17%) – *Picea pungens* Engelm., *Acer negundo* L., *A. saccharinum* L., *Catalpa bignonioides* Walter, *Robinia*

pseudoacacia L., *Quercus rubra* L., *Fraxinus lanceolata* Borkh., *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch та гібрид *Populus berolinensis* (C.Koch) Dipp., створений у Берлінському ботанічному саду і невідомий у природі [10]. Також лише у ЗЛН зустрічаються ергазіофіти, емігранти з Китаю (6,3%) – *Morus alba* L., *M. nigra* L., *Armeniaca vulgaris* Lam., *Populus simonii* Carriere, *Salix babylonica* L.

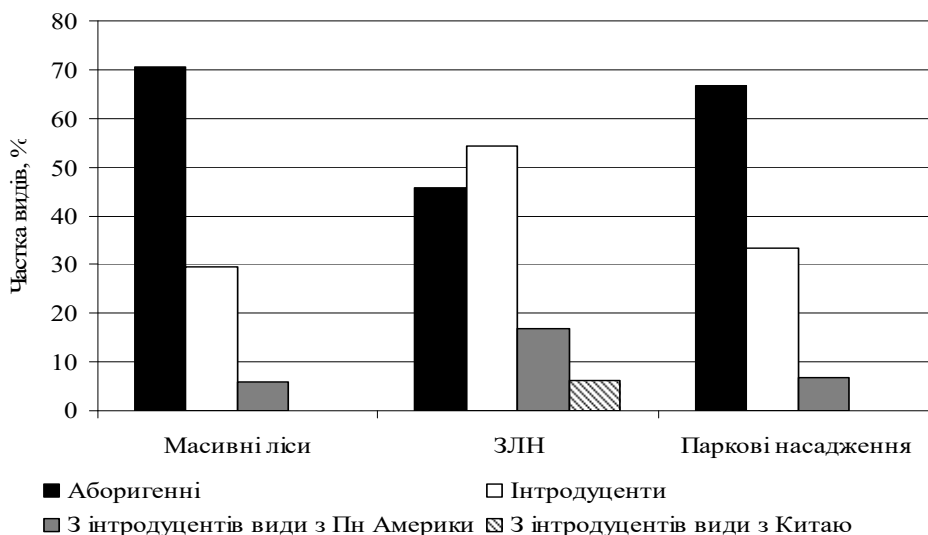


Рис. 1. Розподіл видів дендрофлори Правобережжя середнього Придніпров'я за походженням

Біологічні та екологічні особливості видів інтегруються у стратегії їх поведінки. Життєва стратегія (тип поведінки) рослини – це найголовніша характеристика виду, що відображає його ставлення до абіотичних і біотичних умов середовища. Типи стратегій Раменського – Грайма [7, 24] відображають ставлення рослин до двох факторів – забезпеченості ресурсами і порушеності місцезростань (табл. 3) [19]. Переважають види зі вторинною стратегією віоленти-патієнти (CS – 47–65%), особливо у ЗЛН та узлісних паркових насадженнях. Це стійкі до стресу, нестачі ресурсів та конкурентно сильні види *Quercus rubra* L., *Carpinus betulus* L., *Corylus avellana* L., *Acer campestre* L., *A. platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L. На другому місці за кількістю (майже однакова кількість у всіх лісових екосистемах 18–20%) S – стрес-толеранти (*Acer tataricum* L., *Sambucus racemosa* L., *Genista tinctoria* L., *Aesculus hippocastanum* L.). Невелика представленість вторинної стратегії SR (7–15%), характерним представником якої є інтродуцент *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch. Адвентивні види зі стратегією CR (поєднання ознак віолентності і експлерентності) становлять 2–6%, зустрічаються тільки у масивних лісах і ЗЛН – це дуже сильні конкуренти, які є експансивними трансформерами, види з тривалим онтогенезом, ценопопуляції яких охоплюють кілька стадій сукцесій [22], що пригнічують інші види – *Acer negundo* L., *Robinia pseudoacacia* L.

Визначена за літературними [12] та нашими даними [17] стійкість до аеротехногенного забруднення свідчить, що найбільше стійких видів росте у масивних лісах, стійкість видів зменшується у паркових та масивних лісах. У ЗЛН теж більшість становлять не стійкі до забруднення види за рахунок великої кількості інтродуцентів, які внаслідок своєї непристосованості до чужих їм умов існування мають низьку стійкість і до промислового забруднення.

Висновки. Порівняно 3 типи місцезростань деревних видів Правобережжя середнього Придніпров'я – масивні лісові насадження, лінійні захисні лісові наса-

дження та паркові узлісні лісові екосистеми. Досліджена дендрофлора налічує 60 видів з 37 родів та 23 родин. Відділ *Pinophyta* складає 5% видів, Відділ *Magnoliophyta* – 95%. Виявлено, що у порівняних лісових екосистемах найбільша кількість адвентивних видів, як індикатор порушеності екосистем, характерна для захисних лісових насаджень; збіднений видовий склад дендрофлори, значна кількість інтродуцентів зі вторинною стратегією віоленти-патієнти (47–65%) та велика представленість видів – трансформерів *Acer negundo* L., *Robinia pseudoacacia* L. з широким фітоценотичним діапазоном характерні для узлісних паркових насаджень та найбільш негативно впливають на довкілля, пригнічуючи розвиток аборигенних видів, змінюючи структуру лісових екосистем, призводячи до їх порушення. Загалом видів зі змішаною життєвою стратегією 67,7%, що вказує на пристосування до екстремальних для деревних рослин умов виживання внаслідок комплексного антропогенного навантаження (викидів промисловості та автотранспорту, рекреаційного впливу, змін умов зволоження та трофності ґрунту). Порушення співвідношень геліофітів (невелика кількість тіньолюбних рослин у масивних лісах та ЗЛН, відсутність їх у паркових насадженнях), ксерофітизація умов зволоження та значне представництво нітрофілів у паркових екосистемах вказує на інтенсивний антропогенний вплив за різнонаправленими векторами (насадження великої кількості інтродуцентів, зокрема трансформерів *Acer negundo* L., *Robinia pseudoacacia* L., повне занедбання насаджених ЗЛН, знищення існуючих масивних лісів).

Список використаних джерел

1. Бельгард А.Л. Лесная растительность юго-востока УССР / А.Л. Бельгард – К.: КГУ, 1950. – 263 с.
2. Бурда Р.І. Тенденції змін різноманітності фітобіоти в сільськогосподарських ландшафтах рівнинної України // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2006. – Вип. 93. – С. 1–15.
3. Воробьев Д.В. Методика лесотипологических исследований / Д.В. Воробьев. – К.: Урожай, 1967. – 388 с.

4. Гайова Ю.Ю. Аналіз систематичної структури флори вищих судинних рослин Черкасько-Чигиринського геоботанічного району / Ю.Ю. Гайова // Науковий вісник НЛТУ України. – 2015. – Вип. 25.1. – С. 115–122.
5. Геоботанічне районування Української РСР / Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного АН УРСР; Відп. ред. А.І. Барбарич; сост.: Т.Л. Андриєнко, Г.І. Білик, Є.М. Бродіс [та ін.]. – К.: Наук. думка, 1977. – 303 с.
6. Григорьевская А.Я. Адвентивная флора Воронежской области: исторический, биогеографический, экологический аспекты / А.Я. Григорьевская, Е.А. Стародубцева, Н.Ю. Хызова [та ін.]. – Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2004. – 320 с.
7. Grime J.P. Comparative plant ecology: a functional approach to common British / J.P. Grime, J.G. Hodson, R. Hunt. – London: Unwin Hyman, 1988. – 742 p.
8. Дідух Я.П. Екологічні аспекти глобальних змін клімату: причини, наслідки, дії / Я.П. Дідух // Вісник НАН України. – 2009. – № 2. – С. 34–44.
9. Джуран В.М. Фітозабруднення рослинного покриву Середнього Придніпров'я. Анотований конспект синантропної флори / В.М. Джуран, Н.І. Крецул, В.В. Протопопова [та ін.]. – К.: Переяслав-Хмельницький, 2007. – 48 с.
10. Екофлора України / [відпов. ред. Я.П. Дідух]. – К.: Фітосоціоцентр, 2000. – Т. 1. – 480 с.; Т. 2. – 2004. – 480 с.; Т. 3. – 2002. – 496 с.; Т. 5. – 2007. – 584 с.
11. Кохно М. А. Історія інтродукції деревних рослин в Україні / М.А. Кохно. – К.: Фітосоціоцентр, 2007. – 67 с.
12. Кулагин Ю.З. Древесные растения и промышленная среда / Ю.З. Кулагин. – М.: Наука, 1974. – 125 с.
13. Лавров В.В. Антропогенний вплив на соснові насадження Черкаського бору / В.В.Лавров, Н.В.Мірошник // Вісник Київського нац. ун-ту ім. Т.Шевченка: Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. – 2009. – Вип. 22–24. – С. 142–144.
14. Лавров В.В. Системний підхід як методологічна основа для оцінки і зменшення загроз біорізноманіттю (лісові екосистеми) // Оцінка і напрямки зменшення загроз біорізноманіттю України / [О.В. Дудкін, А.В. Єна, М.М. Коржнев та ін.]; відп. ред. О.В. Дудкін. – К.: Хімджест, 2003. – С. 156–272.
15. Ліси зеленої зони м. Рівне та їх еколого-захисні функції / В.П. Ворон, С.В. Івашинюта, І.М. Коваль [та ін.]. – Х.: Нове слово, 2008. – 224 с.
16. Locatelli B. Forests and Adaptation to Climate Change: Challenges and Opportunities. In: Forest and Society: Responding to Global Drivers of Change / B. Locatelli, M. Brockhaus, A. Buck [et al.] // IUFRO World Series. – Vienna, 2010. – Vol. 25. – P. 21–42.
17. Методичні рекомендації щодо підвищення стійкості до аеротехногенного забруднення лісових насаджень Правобережжя середнього Придніпров'я / В.В.Лавров, Н.В. Мірошник, О.Ф. Гончар. – К.: ДІА, 2010. – 22 с.
18. Мірошник Н. В. Біологічні особливості лісових екосистем Правобережжя середнього Дніпра в умовах антропогенного впливу: автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.16 / Мірошник Наталія Володимирівна; Ін-т агроекології УААН. – К., 2010. – 20 с.
19. Миркин Б.М. Современная наука о растительности // Б.М. Миркин, Л.Г. Наумова, А.И. Соломещ. Учебник. – М.: Логос, 2001. – 264 с.
20. Mosyakin S.L. Vascular Plants of Ukraine: A nomenclatural Checklist / S.L. Mosyakin, M.M. Fedoronchuk. – K., 1999. – 345 p.
21. Нешатаев Ю.Н. Методы анализа геоботанических материалов. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1987. – 192 с.
22. Протопопова В.В. Види – трансформери у флорі середнього Придніпров'я / В.В. Протопопова, М.В. Шевера, М.М. Федорончук [та ін.] // Укр. ботан. журн. – 2014, т. 71. – № 5. – С. 563–572.
23. Протопопова В. В. Синантропная флора Украины и пути ее развития / В.В. Протопопова. – К.: Наук. думка, 1991. – 204 с.
24. Раменский Л.Г. Избранные работы / Л.Г. Раменский. – Л., 1971. – 334 с.
25. Регіональна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Черкаській області у 2014 р. – К., 2015. – 271 с.
26. Санітарні правила в лісах України / Постанова Кабінету Міністрів України від 27.07.1995 р. № 555. – К.: Урожай, 1995. – 16 с.
27. Спрягайло О.В. Ботаніко-географічний аналіз культивованої дендрофлори середнього Подніпров'я / О.В. Спрягайло // Наук. вісник НЛТУ України. – 2015. – Вип. 25.8. – С. 75–81.
28. Спрягайло О.В. Таксономічне різноманіття найважливіших об'єктів озеленення середнього Подніпров'я / О.В. Спрягайло // Наук. вісник НЛТУ України. – 2015. – Вип. 25.6. – С. 96–102.
29. Тарасов В.В. Флора Дніпропетровської і Запорізької областей. Судинні рослини. Біолого-екологічна характеристика видів: моногр. / В.В. Тарасов. – Д.: ДНУ, 2005. – 276 с.
30. Takhtajan A. Flowering plants. 2nd edition / A. Takhtajan. – Springer, 2009. – 752 p.
31. Чемерис І.А. Формування екологічного стану лісових біогеоценозів в зоні впливу хімічних підприємств м. Черкаси: автореф. дис. ... к.б.н.: 03.00.16 / Чемерис Інгрида Альгімантівна; Дніпропетровський нац. унів. Міністерства освіти і науки України. – Дніпропетровськ, 2007. – 18 с.
32. Чопик В.І. Конспект флори Середнього Придніпров'я. Судинні рослини / В.І. Чопик, М.М. Бортняк, Ю.О. Войтюк [та ін.]. – К.: Фітосоціоцентр, 1998. – 140 с.

Reference

1. Bel'gard A.L. Lesnaya rastitel'nost' yugo-vostoka USSR. K.: KGU, 1950. 263 s.
2. Burda R.I. Tendentsii zmin riznomanitnosti fitobioti v sil'skogospodars'kikh landshaftakh rivninnoi Ukraini // Naukoviy visnik Natsional'nogo agrarnogo universitetu. 2006. Vol.93. P. 1–15.
3. Vorob'ev D.V. Metodika lesotipologicheskikh issledovaniy. 1967. 388 s.
4. Gajova Ju.Ju. Analiz sistemachnoi strukturi flori vishhih sudinnih roslin Cherkas'ko-Chigirins'kogo geobotanichnogo rajonu / Ju.Ju. Gajova // Naukoviy visnik NLTU Ukraini. – 2015. – Vip. 25.1. – S. 115–122.
5. Geobotanichne rayonuvannya Ukrain's'koi RSR / Institut botaniki im. M.G. Kholodnogo AN URSR ; Vidp. red. A.I. Barbarich ; sost.: T.L. Andrienko, G.I. Bilik, E.M. Bradis [ta in.]. K.: Nauk. dumka, 1977. 303 s.
6. Grigor'evskaya A.Ya., Starodubtseva E.A., Khyzova N.Yu. [ta in.] Adventivnaya flora Voronezhskoy oblasti: istoricheskiy, biogeograficheskii, ekologicheskii aspekty. Voronezh: Izd-vo Voronezh. gos. un-ta, 2004. 320 s.
7. Grime J.P., Hodson J.G., Hunt R. Comparative plant ecology: a functional approach to common British. London: Unwin Hyman, 1988. 742 p.
8. Didukh Ya.P. Ekologichni aspekti global'nikh zmin klimatu: prichini, naslidki, dii // Visnik NAN Ukraini. 2009. № 2. P. 34–44.
9. Dzhruran V.M., Kretsul N.I., Protopopova V.V. [ta in.] Fitozabrudnennya roslinnogo pokrivu Seredn'ogo Pridniprov'ya. Anotovaniy konsept sinantropnoi flori. K.; Pereyaslav-Khmel'nits'kiy, 2007. 48 s.
10. Ekoflora Ukraini / [vidpov. red. Ya.P. Didukh]. – K.: Fitosotsiotsentr, 2000. – T. 1. – 480 s.; T. 2. – 2004. – 480 s.; T. 3. – 2002. – 496 s.; T. 5. – 2007. – 584 s.
11. Kohhno M. A. Istoriya introduktsii derevnik roslin v Ukraini. K.: Fitosotsiotsentr, 2007. 67 s.
12. Kulagin Yu.Z. Drevesnye rasteniya i promyshlennaya sreda. M.: Nauka, 1974. 125 s.
13. Lavrov V.V., Miroshnik N.V. Antropogenniy vpliv na osnovi nasadzhennya Cherkas'kogo boru // Visnik Kiivs'kogo nats. un-tu im. T.Shevchenka: Introduktsiya ta zberezheniya roslinnogo riznomanitya. 2009. Vol. 22–24. P. 142–144.
14. Lavrov V.V. Sistemniy pidkhid yak metodologichna osnova dlya otsinki i zmeshennya zagroz bioriznomanitytu (lisovi ekosistemi) // Otsinka i napryamki zmeshennya zagroz bioriznomanitytu Ukraini / [O.V. Dudkin, A.V. Ena, M.M. Korzhnev ta in.]; vidp. red. O.V. Dudkin. – K.: Khimdzhest, 2003. P. 156–272.
15. Lisi zelenoi zoni m. Rivne ta ikh ekologo-zakhisni funktsii / V.P. Voron, S.V. Ivashinyuta, I.M. Koval' [ta in.]. Kh.: Nove slovo, 2008. 224 s.
16. Locatelli B. Forests and Adaptation to Climate Change: Challenges and Opportunities. In: Forest and Society: Responding to Global Drivers of Change / B. Locatelli, M. Brockhaus, A. Buck [et al.] // IUFRO World Series. Vienna, 2010. Vol. 25. P. 21–42.
17. Metodichni rekomendatsii shchodo pidvishchennya stiykosti do aerotekhnogennogo zabrudnennya lisovikh nasadzen' Pravoberezhzhyia seredn'ogo Pridniprov'ya / V.V.Lavrov, N.V. Miroshnik, O.F. Gonchar. K.: DIA, 2010. 22 s.
18. Miroshnik N. V. Biologichni osoblivosti lisovikh ekosistem Pravoberezhzhyia seredn'ogo Dnipra v umovakh antropogennogo vplivu [dissertation]. Kyiv: In-t agroekologii UAAAN, 2010. Ukrainian
19. Mirkin B.M., Naumova L.G., Solomeshch A.I.. Sovremennaya nauka o rastitel'nosti. M.: Logos, 2001. 264 p.
20. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular Plants of Ukraine: A nomenclatural Checklist. K., 1999. 345 p.
21. Neshataev Yu.N. Metody analiza geobotanicheskikh materialov. L.: Izd-vo Leningr.un-ta, 1987. 192 s.
22. Protopopova V.V., Shevera M.V., Fedoronchuk M.M. [ta in.] Vidi – transformeri u flori seredn'ogo Pridniprov'ya // Ukr. botan. zhurn. 2014, T. 71. № 5. P. 563–572.
23. Protopopova V. V. Sinantropnaya flora Ukrainy i puti ee razvitiya. K.: Nauk. dumka, 1991. 204 p.
24. Ramenskiy L.G. Izbrannye raboty. L., 1971. 334 p.
25. Regional'na dopovid' pro stan navkolishn'ogo prirodnogo seredovishcha v Cherkas'kiy oblasti u 2014 r. K., 2015. 271 p.
26. Sanitarni pravila v lisakh Ukraini / Postanova Kabinetu Ministriv Ukraini vid 27.07.1995 r. № 555. K.: Urozhay, 1995. 16 s.
27. Spryagaylo O.V. Botaniko-geografichniy analiz kul'tivovanoi dendroflori seredn'ogo Podniprov'ya // Nauk. visnik NLTU Ukraini. 2015. Vol. 25.8. P. 75–81.
28. Spryagaylo O.V. Taksonomichne riznomanityta nayvazhlivishikh ob'ektiv ozelenennya seredn'ogo Podniprov'ya // Nauk. visnik NLTU Ukraini. 2015. Vol. 25.6. P. 96–102.
29. Tarasov V.V. Flora Dnipropetrovs'koi i Zaporiz'koi oblastey. Sudinni roslini. Biologo-ekologichna kharakteristika vidiv: monogr. D.: DNU, 2005. 276 s.
30. Takhtajan A. Flowering plants. 2nd edition / A. Takhtajan. – Springer, 2009. – 752 r.
31. Cheremis I.A. Formuvannya ekologichnogo stanu lisovikh biogeotsenoziv v zoni vplivu khimichnikh pidpriemstv m. Cherkasi [dissertation] Dnipropetrovs'k, Dnipropetrovs'kiy nats. univ. Ministerstva osviti i nauki Ukraini, 2007. Ukrainian
32. Chopik V.I., Bortnyak M.M., Voytyuk Yu.O. [ta in.]. Konspekt flori Seredn'ogo Pridniprov'ya. Sudinni roslini. K.: Fitosotsiotsentr, 1998. 140 p.

Н. Мирошник, канд. биол. наук
Институт эволюционной экологии НАН Украины, Киев, Украина

СТРУКТУРА ДЕНДРОФЛОРЫ И ИНВАЗИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ВИДОВ-ИНТРОДУЦЕНТОВ ПРАВОБЕРЕЖЬЯ СРЕДНЕГО ПРИДНЕПРОВЬЯ

Исследовано соотношение типов стратегий древесных растений по Раменскому – Грайму, отражающее отношение их к двум факторам – обеспеченности ресурсами и нарушенности местообитаний. Преобладают виды с вторичной стратегией виоленты-патенты (47–65%), особенно в защитных лесах и опушечных парковых насаждениях. Это устойчивые к стрессу, нехватке ресурсов и конкурентно сильные виды *Quercus rubra* L., *Carpinus betulus* L., *Corylus avellana* L., *Acer campestre* L., *A. platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L. На втором месте по количеству виды с первичной стратегией стресс-толеранты – *Acer tataricum* L., *Sambucus racemosa* L., *Genista tinctoria* L., *Aesculus hippocastanum* L.

Ключевые слова: дендрофлора, лесные экосистемы, биоморфы, экоморфы, стратегии видов, антропогенное воздействие.

N. Miroshnik, PhD
Institute for Evolutionary Ecology NAS Ukraine, Kyiv, Ukraine

STRUCTURE OF DENDROFLORA AND INVASIVE ACTIVITY OF INTRODUCED SPECIES ON THE RIGHT BANK OF DNIPRO

It was studied the ratio of strategy types of woody plants according to Ramensky – Grime, reflecting the ratio of two factors – availability of resources and disturbance of habitats. Species with a secondary strategy violent – stress-tolerants samples (47–65%) were predominant especially in protected forests and park forest ecosystems. Among them there are resistant to stress, lack of resources and competitively strong species: *Quercus rubra* L., *Carpinus betulus* L., *Corylus avellana* L., *Acer campestre* L., *A. platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L. The second highest number of species with primary strategy there are stress-tolerant species – *Acer tataricum* L., *Sambucus racemosa* L., *Genista tinctoria* L., *Aesculus hippocastanum* L.

Key words: dendroflora, forest ecosystems, biomorphs, ecomorphs, types of strategies, anthropogenic influence.

Наукове видання



ВІСНИК
КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
БІОЛОГІЯ
Випуск 1(71)

Друкується за авторською редакцією

Оригінал-макет виготовлено ВПЦ "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, статистичних даних, відповідної галузевої термінології, імен власних та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали. Рукописи та матеріали на електронних носіях не повертаються.



Формат 60x84^{1/8}. Ум. друк. арк. 11,0. Наклад 300. Зам. № 216-7862.
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № Б 1.
Підписано до друку 08.07.16

Видавець і виготовлювач
ВПЦ "Київський університет"
01601, Київ, б-р Т. Шевченка, 14, кімн. 43
☎ (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; тел./факс (38044) 239 31 28
e-mail: vpc@univ.kiev.ua
<http://vpc.univ.kiev.ua>
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02