

Наведено 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 та медицини" у 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.

Приведены экспериментальные данные об особенностях строения, развития и функционирования растительных и животных организмов, флору и фауну Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными УНЦ "Институт биологии и медицины" в области физиологии растений и животных, генетики, ботаники, зоологии, микробиологии, вирусологии. Изложены также новые данные о биохимических и биофизических основах 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 and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР	Л. І. Остапченко, д-р біол. наук, проф.
РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ	Є. О. Торгалло, канд. біол. наук (відп. секр.); С. Є. Вакал, канд. біол. наук (техн. секр.); Шандор Макай, д-р біол. наук, проф. (м. Сомбатхей, Угорщина); Іван Бубриак, канд. мед. наук (Оксфорд, Велика Британія); В. Г. Хоперія, д-р мед. наук, проф.; Д. М. Говорун, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. НАН України (м. Київ, Україна); В. С. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.; М. Ю. Макачук, д-р біол. наук, проф.; Н. Ю. Таран, д-р біол. наук, проф.; А. В. Сиволоб, д-р біол. наук, проф.; В. В. Джаган, канд. біол. наук, доц.; А. Г. Мойсєєнок, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. (м. Гродно, Білорусь), О. В. Жолос, д-р біол. наук, проф.; Брайон Каленгхем, д-р мед. наук, проф. (м. Кембридж, Великобританія); Т. В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; С. В. Пилипенко, д-р біол. наук, проф. (м. Полтава, Україна); М. Є. Дзержинський, д-р біол. наук, проф.; О. Я. Склярів, д-р мед. наук, проф. (м. Львів, Україна); Абенаволі Людовіко, д-р мед. наук (м. Катандзаро, Італія)
Адреса редколегії	ННЦ "Інститут біології та медицини"; просп. акад. Глушкова, 2а, Київ, Україна, 03127 ☎ (38044) 521-35-98; www.biovestnik.com ; bulletin.vestnik@gmail.com
Затверджено	Вченою радою ННЦ "Інститут біології та медицини" 11.11.19 (протокол № 4)
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, Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет" Свідоцтво внесено до Державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02
Адреса видавця	ВПЦ "Київський університет" (кімн. 43), 6-р Т. Шевченка, 14, Київ, Україна, 01030 ☎ (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 = 5,93), 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.).

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" 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.

Наведено 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 та медицини" у 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.

Приведены экспериментальные данные об особенностях строения, развития и функционирования растительных и животных организмов, флору и фауну Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными УНЦ "Институт биологии и медицины" в области физиологии растений и животных, генетики, ботаники, зоологии, микробиологии, вирусологии. Изложены также новые данные о биохимических и биофизических основах 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.

EDITOR-IN-CHIEF	Ostapchenko Lyudmila, Dr. Sci., Prof.
EDITORIAL BOARD	Torgalo Elizabeth, Ph. D.; Sergii Vakal, Ph. D. (Tech. Editor); Sandor Makai, Prof. Dr. habil. Dr. h. c. (Szombathely, Hungary); Ivan Boubriak, Ph. D. (Oxford, United Kingdom); Khoperiay Viktiriay, Dr. Sci.; Dmytro Hovorun, Dr. Sci., Prof., Corresponding Member of the NASU, Deputy Director (Kyiv, Ukraine); Viktor Martynyuk, Dr. Sci., Prof.; Mykola Makarchuk, Dr. Sci., Prof. Head of the Chair; Nataliia Taran, Dr. Sci., Prof., Head of the Chair of Plant Biology; Andrii Sivolob, Dr. Sci., Prof.; Veronika Dzhang, Ph. D., Assoc. Prof.; Andrei Moisieenok, Dr. Sci., Prof., Corresponding Member of the NASB (Grodno, Belarus), Alexander Zholos, Dr. Sci., Prof.; Brian Callingham, Dr. Sci., M. D., Prof. (Cambridge, United Kingdom); Tetiana Berehova, Dr. Sci., Prof.; Sergey Pilipenko, Dr. Sci., Prof. (Poltava, Ukraine); Mykola Dzerzhynskyi, Dr. Sci., Prof.; Olexandr Sklyarov, Dr. Sci., M. D., Prof. (Lviv, Ukraine); Ludovico Abenavoli, Ph. D., M. D., Assoc. Prof. (Catanzaro, Italy)
Editorial address	ESC "Institute of Biology and Medicine", 2a, acad. Glushkov av., Kyiv, 03127, Ukrainian ☎ (38044) 521 35 98; www.biovestnik.com ; bulletin.vestnik@gmail.com
Approved by	The Academic Council of the ESC "Institute of Biology and Medicine" 11.11.19 (Protokol № 4)
Attested by	Higher Attestation Commission of Ukraine HAC Presidio decree № 1-05/3 (April 14th, 2010)
Registered by	Ministry of Justice of Ukraine. Registration certificate KV № 16053-4525 ПП (November 9th, 2009)
Founded and Published	Taras Shevchenko National University of Kyiv, Publishing house "Kyiv University". Certificate included in the State Register ДК № 1103 від 31.10.02
Publisher's Address	Publishing and Printing Centre "Kyiv University" (off. 43), 14 Taras Shevchenko av., Kyiv, 01030, Ukraine ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; Fax: 239 31 28
Abstracted and Indexed:	Academic Keys, CiteFactor, Directory of Open Access Journals (DOAJ), E-Library.ru, Hinari, Geneva Foundation for Medical Education and Research, DRJI, Open Academic Journal Index (OAJI), Quality Open Access Market (QOAM), ResearchBib, Ulrich's Periodicals, WorldCat, Ukrainian scientific journals

ЗМІСТ

Сухомлин М., Джаган В. Мікроскопічні гриби як об'єкт багатовекторних досліджень (до 60-річчя Кондратюк Тетяни Олексіївни).....	6
Мусієнко М., Остапченко Л., Таран Н., Бацманова Л. Минуле в сьогоденні заради майбутнього: Імператорський університет Св. Володимира – Київський національний університет імені Тараса Шевченка: генезис аграрної науки і освіти (1834–2019 рр.)	7
Дмитрик В., Вишевська А., Прошкіна І., Савчук О., Яковлев П., Андрійчук Т. Вміст IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-α та IFNγ у пухлинах раку сечового міхура залежно від ступеня гістологічної диференціації злоякісних пухлин	23
Варенюк І., Шевчук Н., Рослова Н., Держинський М. Структурні зміни в товстій кишці при ожирінні та при його корекції ранковими та вечірніми введеннями мелатоніну.....	27
Веденичова Н., Аль-Маалі Г., Бісько Н., Косаківська І., Гарманчук Л., Остапченко Л. Вплив біологічно-активних екстрактів з високим вмістом цитокінінів з міцеліальної біомаси <i>Hericium coralloides</i> та <i>Fomitopsis officinalis</i> на пухлинні клітини <i>in vitro</i>	31
Коломійчук В., Шевера М., Воробйов Є., Орлов О., Прядко О. <i>Erechtites hieracifolia</i> (L.) Raf. ex DC. (<i>Asteraceae</i> Bercht. & J. Presl) – новий вид адвентивних рослин для флори Київського Полісся	37
Котик О., Котлярова А., Ісаєва О., Марченко С. Вплив деяких анестетиків та природних отрут на функціонування LCC – каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів та нейронів Пуркінє мозочка	43
Мацап'як Л. Аналіз флори судинних рослин національного природного парку "Верховинський"	48
Беляєва А. Гарманчук Л. Зміна вмісту CD117 + стовбурових клітин, цитогенетичних та цитокінетичних параметрів при використанні кандесартану, кандесартану циклосетилу та ресвератрола <i>in vitro</i>	54
Молчанюк Н. Ультроструктурні зміни в судинах і капілярах хоріоїдеї та в сітківці очей щурів, які викликані сумішшю спиртів (40 % етанолу і 100 % метанолу)	58
Подпалова О. Динаміка скорочення скелетних м'язів при хронічній алкоголізації.....	63
Рудницька М., Палладіна Т. Вплив препаратів Метіуру та Івіну на вакуолярний Ca ²⁺ /H ⁺ антипортер клітин кореня <i>Zea mays L.</i> за умов сольового стресу.....	68
Семенова Я.-М., Нікольський І., Остапченко Л. Пригнічення формування шлункових виразок при іммобілізаційному водоімерсійному стресі попередньою трансплантацією мультипотентних стромальних клітин	72
Хома Ю., Куцоконь Н. Фенологія розкривання бруньок у різних клонів тополь та верб	79
Гайдаржи М. Репродуктивна біологія рослин родини <i>Aloaceae</i> в умовах оранжерейної культури.....	85
Сенчило Н., Горбач О., Дубовцева Л., Скачкова О., Яковлев П., Скатерна Т., Дробот Л., Гарманчук Л. Тейхоева кислота модулює експресію Толл-подібних рецепторів 4 у чутливих та резистентних до дії цисплатину лініях клітин дрібноклітинного раку легені	90

СОДЕРЖАНИЕ

Сухомлин М., Джаган В. Микроскопические грибы как объект многовекторных исследований (к 60-летию Кондратюк Татьяны Алексеевны)	6
Мусяненко Н., Остапченко Л., Таран Н., Бацманова Л. Прошлое в настоящем ради будущего: Императорский университет Св. Владимира – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко: генезис аграрной науки и образования (1834–2019 гг.)	7
Дмитрик В., Вишевская А., Прошкина И., Савчук А., Яковлев П., Андрийчук Т. Содержание IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-α и IFNγ в опухолях рака мочевого пузыря в зависимости от степени гистологической дифференциации злокачественных опухолей	23
Варенюк И., Шевчук Н., Рослова Н., Держинский Н. Структурные изменения в толстом кишечнике крыс при ожирении и при его коррекции утренними и вечерними введениями мелатонина	27
Веденичова Н., Аль-Маали Г., Бисько Н., Косаковская И., Гарманчук Л., Остапченко Л. Влияние биологически-активных экстрактов с высоким содержанием цитокининов с мицелиальной биомассы <i>Hericium coralloides</i> и <i>Fomitopsis officinalis</i> на опухолевые клетки <i>in vitro</i>	31
Коломийчук В., Шевера М., Воробьев Е., Орлов А., Прядко Е. <i>Erechtites hieracifolia</i> (L.) Raf. ex DC. (<i>Asteraceae</i> Bercht. & J. Presl) новый вид адвентивных растений для флоры Киевского Полесья	37
Котик Е., Котлярова А., Исаева Е., Марченко С. Влияние некоторых анестетиков и природных ядов на функционирование LCC-каналов ядерной мембраны кардиомиоцитов и нейронов Пуркинье мозжечка	43
Мацапьяк Л. Анализ флоры сосудистых растений национального природного парка "Верховинский"	48
Беляева А. Гарманчук Л. Изменение содержания CD117 + стволовых клеток, цитогенетических и цитокинетических параметров при использовании кандесартана, канцезартану, циклосетилу и ресвератролу <i>in vitro</i>	54
Молчанюк Н. Ультраструктурные изменения в сосудах и капиллярах хориоидеи и в сетчатке глаз крыс, вызванные смесью спиртов (40 % этанола и 100 % метанола)	58
Подпалова О. Динамика сокращения скелетных мышц при хронической алкоголизации	63
Рудницкая М., Палладина Т. Влияние препаратов Метиуру и Ивина на вакуолярной Ca ²⁺ /H ⁺ антипортер клеток корня <i>Zea mays L.</i> в условиях солевого стресса	68
Семенова Я.-М., Никольский И., Остапченко Л. Угнетение формирования язв желудка при иммобилизационном водоиммерсионном стрессе предварительной трансплантации мультипотентных стромальных клеток	72
Хома Ю., Куцоконь Н. Фенология раскрытия почек у различных клонов тополей и ив	79
Гайдаржи М. Репродуктивная биология растений семейства <i>Alseae</i> в условиях оранжерейной культуры	85
Сенчило Н., Горбач А., Дубовцева Л., Скачкова О., Яковлев П., СкатернаТ., Дробот Л., Гарманчук Л. Тейхоевая кислота модулирует экспрессию Толл-подобных рецепторов 4 чувствительных и резистентных к действию цисплатина линий клеток мелкоклеточного рака легкого	90

CONTENTS

Sukhomlin M., Dzagan V. Microscopic mushrooms as an object of multi-vector research (on the 60-th anniversary of Tatiana A. Kondratyuk)	6
Musienko N., Ostapchenko L., Taran N., Batsmanova L. Past in the present for the future: Saint Vladimir Emperor's University – Taras Shevchenko National University of Kyiv: the genesis of agrarian science and education (1834–2019)	7
Dmytryk V., Vyshenska A., Proshkina I., Savchuk O., Yakovlev P., Andriichuk T. The content of IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α and IFN γ in bladder cancer depend by a tumor grade	23
Vareniuk I., Shevchuk N., Roslova N., Dzerzhynsky M. Structural changes in rats colon under obesity conditions and its correction by morning and evening injection of melatonin	27
Vedenicheva N., Al-Maali G., Bisko N., Kosakivska I., Garmanchuk L., Ostapchenko L. Effect of bioactive extracts with high cytokinins content from <i>Hericium coralloides</i> and <i>Fomitopsis officinalis</i> on tumor cells <i>in vitro</i>	31
Kolomiychuk V., Shevera M., Vorobyov E., Orlov O., Pryadko O. <i>Erechtites hieracifolia</i> (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) new for the Kyiv Polissia alien species	37
Kotyk O., Kotliarova A., Isaeva O., Marchenko S. The effect of some anesthetics and natural venoms on the LCC-channels functioning of the nuclear membrane of cardiomyocytes and cerebellum Purninje neurons	43
Matsapiak L. Analysis of flora of water plants of the national nature park "Verkhovinskiy"	48
Beliaeva A., Garmanchuk L. Changing in the number of CD117+ stem cells, cytogenetic and cytokinetic parameters under the using of candesartan, candesartan cilexetil and resveratrol <i>in vitro</i>	54
Molchaniuk N. Ultrastructural changes in the vessels and capillaries of the choroid and in the retina of rats caused by a mixture of alcohols (40 % ethanol and 100 % methanol)	58
Podpalova O. Muscle constrictions dynamics during chronic alcolgolization	63
Rudnytska M., Palladina T. Influence of Methyure and Ivin preparation on vacuolar Ca ²⁺ /H ⁺ antiporter of <i>Zea mays</i> L. root cells under salt stress	68
Semenova Y.-M., Nikolsky I., Ostapchenko L. Accession of formation of gastric ulcers under immobilization of water-immersion stress of preliminary transplantation multipotent stromal cell	72
Khoma Y., Kutsokon N. Bud burst phenology in different poplar and willow clones	79
Gaidarzhy M. Reproductive biology of the plants of the <i>Aloaceae</i> family in the greenhouse	85
Senchylo N., Gorbach O., Dubovtseva L., Skachkova O., Yakovlev P., Skaterna T., Drobot L., Garmanchuk L. Teichoic Acid differentially modulates TLR4 expression in sensitive and resistant to cisplatin small cell lung carcinoma H69 cells	90

МІКРОСКОПІЧНІ ГРИБИ ЯК ОБ'ЄКТ БАГАТОВЕКТОРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ (ДО 60-РІЧЧЯ КОНДРАТЮК ТЕТЯНИ ОЛЕКСІЇВНИ)



На науковому життєвому шляху Кондратюк Тетяни Олексіївни, старшого наукового співробітника НДЛ "Фармакології і експериментальної патології" ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка була велика кількість об'єктів досліджень: мікроорганізми і якість питної води, мікроорганізми-пошкоджувачів авіаційного палива, паливної системи літаків; мікроскопічні гриби-пошкоджувачів музейних колекцій тощо. Основна частина її наукового доробку була присвячена дослідженням, спрямованим на з'ясування причин біопшкодження пам'яток історії та культури, визначення шляхів їхнього подальшого збереження та захисту від пошкоджень, яких завдають мікроскопічні гриби.

Після закінчення кафедри мікробіології Київського державного університету ім. Т. Г. Шевченка в 1982 р. Тетяна Олексіївна була направлена на роботу в Державну науково-дослідну реставраційну майстерню (після 1992 р. – Національний науково-дослідний реставраційний центр України Міністерства культури України), де працювала на посадах наукового співробітника та завідувача відділу. У тісній співпраці з колегами Інституту мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України Тетяною Олексіївною було детально вивчено видове різноманіття та морфолого-фізіологічні особливості мікроскопічних грибів-пошкоджувачів музейних творів темперного та олійного живопису, зокрема українських ікон XVII–XIX ст. Маючи можливість працювати з різноманітними пам'ятками XVI–XIX ст., Тетяна Олексіївна сприймала ці дослідження як можливість дотику до минулих епох і виконувала їх з душевним трепетом, дуже відповідально та з високим емоційним піднесенням. Під її керівництвом було підготовлено збірник статей "Мікроорганізми як чинники пошкодження пам'яток історії і культури" (1998). Вивчення мікроскопічних грибів з метою захисту історичних монументальних та музейних пам'яток України від біологічних пошкоджень проводилось у складі декількох міжнародних проєктів за підтримки Міжнародної фундації INTAS (1994–1997), в яких Тетяна Олексіївна була керівником групи виконавців від України. У 2002 р. в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України вона захистила дисертацію на тему "Мікроорганізми як чинники пошкодження творів станкового живопису музейного фонду України" на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (наук. керівник – д-р біол. наук, проф. Н. М. Жданова).

У відділі систематики та фізіології Інституту мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного (2001–2004), а також на біологічному факультеті – у подальшому Навчально-науковому центрі "Інститут біології та медицини" – обіймала посади наукового співробітника, завідувача НДЛ, старшого наукового співробітника. Під керівництвом Тетяни Олексіївни було здійснено ряд ґрунтовних досліджень із наданням відповідних практичних рекомендацій, пов'язаних із розв'язанням проблем біопшкодження багатьох об'єктів, зокрема різних музейних колекцій, книг та приміщень Національної наукової бібліотеки імені В. І. Вернадського НАН України, фонди якої постраждали від аварії в 2002 р.; фондосховища зі збереження архівних, кіно- та фотодокументів (2004–2005); приміщень та цінних паперів Національного банку України (2007); приміщень і книг, зокрема стародруків, Національної бібліотеки ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка (2016). Для працівників архівних установ та бібліотек за безпосередньої участі Тетяни Олексіївни було підготовлено методичні рекомендації "Ураження документів плісеньовими грибами та заходи з охорони праці під час роботи з ушкодженими документами", "Дослідження впливу біоцидних препаратів на старіння реставраційних паперів". У 2017 р. Т. О. Кондратюк була науковим керівником та відповідальним виконавцем теми з проведення мікологічного обстеження стін із живописом у Софійському соборі (XI ст.) – пам'ятки архітектури і монументального живопису, об'єкта Світової спадщини ЮНЕСКО № 527. Тетяна Олексіївна визначила основні причини, які сприяли виникненню та розвитку біопшкодження настінного живопису в Софійському соборі, охарактеризований комплекс мікроорганізмів-деструкторів, терміново розроблені та надані відповідні рекомендації, здійснення яких дозволило значно поліпшити ситуацію в музеї.

За ініціативи та безпосередньої участі Т. О. Кондратюк було започатковано та створено "Колекцію культур мікроміцетів-пошкоджувачів", яку в березні 2012 р. зареєстровано як частину мікологічної колекції в Міжнародній базі колекцій мікроорганізмів (WDCM 1000, акронім колекції – FCKU). Наявність в Колекції мікроскопічних грибів – актив-

них деструкторів – дозволяє здійснювати дослідження виробів і матеріалів на грибостійкість та стійкість до впливу різних чинників. Тісна співпраця (з 2014 р.) із ДУ "Національний антарктичний науковий центр" дозволила поповнити Колекцію ізолятами міцеліальних грибів, дріжджів та бактерій, вилучених зі зразків мохів, лишайників, ґрунтів, скельної породи, що отримані в українських антарктичних експедиціях. Із антарктичних зразків ізолювано та включено до Колекції мікроскопічні гриби – продуценти ліпідів, каротиноїдів, меланіну, а також мікроорганізми з яскраво вираженими антагоністичними властивостями та стійкі до впливу токсичних металів. Із 2013 р. окремим напрямом досліджень Тетяни Олексіївни під керівництвом д-ра біол. наук, проф. Т. В. Берегової є чорні дріжджоподібні гриби нового роду *Pseudonadsoniella* та нового виду *Pseudonadsoniella brunnea*. Принципова відмінність *Ps. brunnea* від інших відомих продуцентів меланіну – *екскреція пігменту в культуральне середовище*, що полегшує процес його виділення та дозволяє отримувати меланін високої якості.

Т. О. Кондратюк опубліковано близько 150 наукових публікацій, з яких 7 монографій та монографічних видань, і близько 70 статей в періодичних виданнях. Тетяна Олексіївна є співавтором навчального посібника "Геохімічна діяльність мікроорганізмів та її прикладні аспекти" (2008), в якому є автором окремого розділу "Біопшкодження виробів та матеріалів, спричинені мікроскопічними грибами".

Висока вимогливість до себе, постійне прагнення до самовдосконалення та саморозвитку, відповідальність та уміння приймати необхідні безкомпромісні рішення у відповідних ситуаціях притаманні Т. О. Кондратюк завдяки її життєвій позиції, яка формувалась ще з дитинства у дружніх та теплих відносинах з її батьком Олексієм Івановичем, кадровим військовим офіцером. Тетяна Олексіївна завжди тепло та зі щирою повагою згадує своїх вчителів – д-ра біол. наук Е. З. Коваль, канд. біол. наук Н. Л. Ребрікову, д-ра біол. наук, проф. Н. М. Жданову. Вона також була рада співпраці з такими студентами та аспірантами, як Рибчинська О. М., Крупська Ю. А., Скребовська С. В., Мирошник О. В., Мартиненко С. В., Калініченко А. І., які виконували під її керівництвом курсові та дипломні роботи.

Різноманітність інтересів Т. О. Кондратюк вміщує захопленість її художньою літературою, поезією, музикою.

З нагоди ювілею бажаємо Тетяні Олексіївні міцного здоров'я, притаманного їй оптимізму і натхнення для оформлення великого наукового доробку до друку, а також передавати набутий досвід роботи наступним поколінням молодих мікологів та здійснення інших мрій.

Підписано до друку 01.11.19

УДК 94(477)(03)+(092)

М. Мусієнко, д-р біол. наук, проф., акад. НААН України,
Л. Остапченко, д-р біол. наук, проф.,
Н. Таран, д-р біол. наук, проф.,
Л. Бацманова, канд. біол. наук, ст. наук, співроб.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

МИНУЛЕ В СЬОГОДЕННІ ЗАРАДИ МАЙБУТНЬОГО: ІМПЕРАТОРСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ СВ. ВОЛОДИМИРА – КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА: ГЕНЕЗИС АГРАРНОЇ НАУКИ І ОСВІТИ (1834–2019)

Наведено історичний нарис розвитку аграрної науки та освіти в Київському національному університеті імені Тараса Шевченка за період 1834–2019 рр.

Ключові слова: аграрна наука, освіта, історія.

Починаючи з 50-х років XIX ст., назвичайно актуальними стали науково-теоретичні проблеми сільськогосподарської науки, освіти та практики, розв'язання яких забезпечувало викладання різних аграрних дисциплін при багатьох європейських університетах, у яких функціонували різнофахові сільськогосподарські кафедри. На теренах сучасної України вища сільськогосподарська наука і освіта була започаткована на фахових кафедрах університетів, уперше в Імператорському університеті Св. Володимира, пізніше – в Харківському, Новоросійському та Київському політехнічному інституті [1]. Отже, в Києві існувало два вищих освітніх заклади: Університет Св. Володимира і Київський політехнічний інститут, які успішно надавали вищу агрономічну освіту. У різні періоди розвитку назва кафедр і зміст сільськогосподарських предметів в них змінювалися залежно від вимог часу. Як відомо, персональний статут для Університету Св. Володимира був затверджений 25 грудня 1833 р. у складі двох факультетів – філософського і юридичного. Філософський факультет мав два відділи: історико-філологічний та фізико-математичний [2–4]. Предмети сільськогосподарського профілю викладалися разом з іншими природничими науками фізико-математичного відділення. Уже з першого року заснування серед 13-ти кафедр філософського факультету була кафедра технології, сільського господарства, лісівництва та архітектури [5]. Вагому роль у її відкритті

відіграв перший ректор університету М. О. Максимович, який надавав великого значення розвитку сільськогосподарської освіти серед українського населення. Проте він уже мав власний досвід у викладанні ботанічних дисциплін із основами сільського господарства у Московській землеробській школі, будучи професором Московського університету.

Першим завідувачем кафедри став німець – Едуард Осипович (Карл-Вільгельм) Мерц [6]. На жаль, роки його керівництва кафедрою (1834–1849), де він читав три дисципліни – технологію, сільське господарство та лісівництво – для розвитку сільськогосподарської науки та освіти були майже безрезультатними (причини – незнання мови, відсутність професійних навичок тощо). Та вже з 1849 по 1851 рр. під керівництвом професора Г. Якубовського стан справ на кафедрі дещо поліпшився [7].

Упродовж 1851–1878 рр. кафедрою керував професор С. М. Ходецький [8]. Після закінчення Санкт-Петербурзького університету (1842) він вдосконалював знання за кордоном (Англія, Німеччина, Голландія, Швейцарія, 1842–1844) Із 1852 р. С. М. Ходецький екстраординарий, а з 1854 р. – ординарний професор по кафедрі сільського господарства та лісівництва Університету Св. Володимира. Нарешті, згідно з новим університетським статутом, у 1883 р. на фізико-математичному факультеті створюється кафедра аг-

рономії, яка успішно функціонувала аж до 1919 р. [9]. До 1878 р. вже заслужений професор Університету Св. Володимира (1870) С. М. Ходецький керує новоствореною кафедрою. Саме він організував перший агрономічний кабінет, який успішно розвивався в майбутньому. Його різнобічні наукові інтереси охоплювали не лише питання сільського господарства (землеробство, тваринництво, садівництво), а й ботаніки, зоології, лісознавства. С. М. Ходецький був прибічником агротехнічних методів у сільському господарстві, вивчав методи селекції сільськогосподарських тварин, рекомендував введення в сівозміну кормових трав. Досліджував роль лісів у зміні гідрокліматичних та ґрунтових умов, обґрунтував необхідність посадки польових лісосмуг для боротьби із засухою. Він науково обґрунтував умови ведення екологічно збалансованого сільськогосподарського виробництва на Лівобережжі, у районах південного лісостепу та степу. Результати досліджень опубліковані майже в 40 наукових працях. Він автор перших підручників із зоології (1859) та ботаніки (1863) для юнацтва. Упродовж 1863–1873 рр. – головний редактор газети "Университетские известия" [10].

Як відомо [8], майже водночас із відкриттям університету, а саме в 1835 р., на базі колекційних фондів Кременецького ботанічного саду Волинського ліцею був заснований і ботанічний сад університету. Закладка постійного ботсаду здійснювалась із жовтня 1841 р. під керівництвом Р. Е. Трауфеттера за планом архітектора В. І. Беретті. У вересні 1849 р. було закінчено спорудження оранжерей, а в 1853 р. навколо території саду побудували огорожу. За перші 10 років існування за чисельністю своїх колекцій Ботанічний сад посів перше місце в країні. На базі Ботанічного саду університету для містян функціонувала школа із садівництва. Проф. С. М. Ходецький водночас тривалий час працює і його директором, також обирався деканом фізикоматематичного відділення (1874–1877). Після його відставки за вислугою років із 31 травня 1878 р. кафедрою та агрономічним кабінетом за сумісництвом завідує керівник кафедри зоології, ординарний професор М. В. Бобрецький. Він автор першого підручника для університетів "Основи зоологии" (1884), в якому детально описав всі групи тварин [11].



М. В. Бобрецький
(1843–1907)

Саме на цій кафедрі після закінчення Університету Св. Володимира (1883) розпочав роботу Сергій Михайлович Богданов (1859–1920) – визначний укра-

їнський вчений в галузі сільськогосподарської науки, з 1885 р. – викладач, а з 1890 р. – професор кафедри агрономії [12].



С. М. Богданов
(1859–1920)

Ще навчаючись на природничому відділенні фізикоматематичного факультету Університету Св. Володимира (1878–1882), він публікує першу наукову роботу "Химическое исследование синей и пестрой глин, находящихся в обнажениях г. Киева", за яку Рада університету на-

городжує його золотою медаллю. На його формування як вченого значний вплив мали відомі вчені-викладачі університету М. В. Бобрецький, О. В. Баранецький, М. А. Бунге та ін. [6, 8]. По закінченню університету за вагомі успіхи С. М. Богданова затверджують у ступені

кандидата фізико-математичного факультету розряду природничих наук без подання дисертації [9, 10], а декан фізико-математичного факультету М. А. Бунге рекомендує його для підготовки до професорського звання на кафедрі агрономії. Та спочатку було прийнято рішення відрядити С. М. Богданова для стажування в кращих навчальних закладах Росії (Петровська землеробська та лісова академія), а потім і за кордон (Німеччина – Сільськогосподарський інститут в м. Галле, потім кращі навчальні заклади та сільськогосподарські підприємства в містах Берлін, Лейпціг, Мюнхен, Геттінген та Австрія – Відень) [11, 12]. Його звіти про стажування за кордоном були визнані Міністерством народної освіти такими, що становлять для країни науковий та практичний інтерес. Після повернення із закордонного відрядження С. М. Богданов прочитав дві пробні лекції і згідно з представленням факультету від 3 жовтня 1885 р. був затверджений у званні приват-доцента з дисципліни "Сільське господарство" і почав читати курс агрономії в Університеті Св. Володимира [13, 14].

Із 10 січня 1886 р. С. М. Богданов – керівник агрономічного кабінету кафедри. Водночас він при ботанічному саді університету організував перший у Європі дослідний сільськогосподарський сад та лабораторію для агрохімічних і фізіологічних досліджень (1889). Їхнім завданням було проведення необхідних для сільського господарства досліджень шляхом різноманітних фізіологічних та фізико-хімічних аналізів. Уже 12 лютого 1888 р. він захищає магістерську роботу "Потребность прорастающих семян в воде" й отримує ступінь магістра агрономії, а дещо пізніше (19 квітня 1890) Харківський університет за докторську роботу "Отношение прорастающих семян к почвенной влаге" присуджує С. М. Богданову науковий ступінь доктора агрономії. Ці роботи ввійшли в скарбницю світової науки і стали підґрунтям для розробок вчення про водний режим рослин та про недоступну для них воду. Унаслідок цього з 20 червня 1890 р. його призначають екстраординарним, а з травня 1891 р. до 1919 р. – ординарним професором та згодом – завідувачем кафедри агрономії Університету Св. Володимира. Найбільшого значення розвиток агрономічної науки набув впродовж 1890–1917 рр., коли поряд із С. М. Богдановим на кафедрі агрономії працювали професор В. В. Колкунов та доценти А. В. Країнський, І. В. Бельговський, М. І. Васильєв, В. П. Поспелов [15, 16]. Ними проведено численні сільськогосподарські досліді, що дозволило розробити рекомендації про підвищення врожайності різних сільськогосподарських рослин, їх насінництво, вивчалися питання агротехніки та підвищення родючості ґрунтів за участі сидератів та ґрунтових азотфіксаторів. Саме С. М. Богданов уперше на основі власних досліджень рекомендував посіви люпину і соєвими на піщаних ґрунтах. С. М. Богданов – один із основоположників вітчизняної школи ґрунтознавства в її еволюційному етапі розвитку [15–17].

Він в 1889 р. першим у світі дав класифікацію ґрунтової води, сформулював поняття "мертвого" запасу води в ґрунті, що стало надбанням світової агрономічної практики. На 25 років пізніше американський ботанік Л. Бріггс і фізик Х. Шанц виявили, що кількість води за вологості стійкого в'янення рослин здебільшого визначається водно-фізичними властивостями ґрунту. С. М. Богданов – ініціатор створення на Поділлі Дербинського дослідного поля (1888). Досліджував потребу проростаючого насіння у воді і його відношення до ґрунтової вологості (60 видів), розробив класифікацію ґрунтових вод, запропонував оригінальний спосіб визначення так званого мертвого запасу води в ґрунті, використання зелених добрив-сидератів (кореневі бульбочкові бактерії продовжував вивчати його учень – Країнський А. В.). Окрім педагогічної роботи, він актив-

но працює над багатьма як фундаментальними, так і прикладними проблемами не лише агрономії, але і фізіології рослин. Ідейними творцями обласної організації сільськогосподарської дослідної справи в країні були В. В. Вінер (1872–1930) та С. М. Богданов (1859–1920). Останній навіть ввів поняття "агрономія" у вітчизняний дослідний процес. Професор В. В. Колкунов з 1910 по 1919 р. вивчав проблеми селекції посухостійких сільськогосподарських рослин і є одним із засновників екологічного напрямку в анатомії рослин. В. В. Колкунов у результаті власних дослідів на злакових культурах і цукровому буряку обґрунтував заходи підвищення їхньої посухостійкості. А. В. Країнський основну увагу звертав на експериментальні дослідження ґрунтових мікроорганізмів-азотфіксаторів та вивчення життєдіяльності актиноміцетів у ґрунті. Він першим відкрив антибіотичні властивості *Actinomyces griseus* [15, 16].

Професор С. М. Богданов вів широку громадську та педагогічну діяльність. Він редагував журнал "Земледелие" (з 1887 р. – орган Київського товариства сільського господарства), написав "Підручник агрономії" (т. 1–3, 1909–1911), "Енциклопедію сільського господарства" (1895) і багато інших праць. 30 січня 1916 р. С. М. Богданов затверджений у званні заслуженого професора Університету Св. Володимира за вислугою ним 25 років на викладацьких посадах. Отже, в кінці XIX – на початку XX ст. професор Університету Св. Володимира С. М. Богданов був знаним та відомим фахівцем аграрної справи не тільки в межах Російської імперії, а й за кордоном. Тому не випадково його обирають депутатом створеної урядовим указом від 20 лютого 1906 р. Державної Думи від Київської губернії, у зв'язку з чим височайшим указом № 50 від 14 липня 1908 р. С. М. Богданов був звільнений зі служби в Університеті Св. Володимира [18, 20, 21].

Як депутат Державної Думи 3-го і 4-го скликань С. М. Богданов брав участь у підготовці низки законопроектів, зокрема про необхідність створення при всіх університетах агрономічних відділень та науково-навчальних установ. Після Жовтневого перевороту С. М. Богданов повертається до Києва і продовжує з лютого 1918 р. працювати на фізико-математичному відділенні університету. У жовтні 1918 р. він був обраний його деканом, а 20 червня 1919 р. С. М. Богданов очолив президію ради фізико-математичного факультету університету. Саме він запропонував науково-навчальній раді університету відкрити нові кафедри – ґрунтознавства, агрономічної хімії та другої агрономії (зоотехнії). На запрошення В. Вернадського в 1919 р. С. М. Богданов очолив секцію сільськогосподарської біології фізико-математичного відділення новоствореної Української академії наук. Та вже 16 грудня 1919 р. Київ захопили більшовицькі війська Муравйова. Разом з родиною професор С. М. Богданов виїхав до Криму, де разом з В. Вернадським організовує відкриття Таврійського університету (м. Ялта). Пізніше він виїхав до Одеси, де захворів на висипний тиф і пішов у вічність 13 січня 1920 р. [21, 22].

У 1855 р. в Університеті було відкрито метеорологічну обсерваторію, набули швидкого розвитку метеорологія та кліматологія. Це було зумовлено необхідністю використання метеорологічних даних, передусім для сільськогосподарського виробництва (М. П. Авенаріус, О. В. Кловський, С. М. Жук, П. І. Броунов, Й. Й. Косонгов та ін.). Саме П. І. Броунов сформулював основні положення нової наукової дисципліни – сільськогосподарської метеорології, а К. М. Жук організував сільськогосподарське науково-дослідне поле для проведення агрометеорологічних спостережень [23].

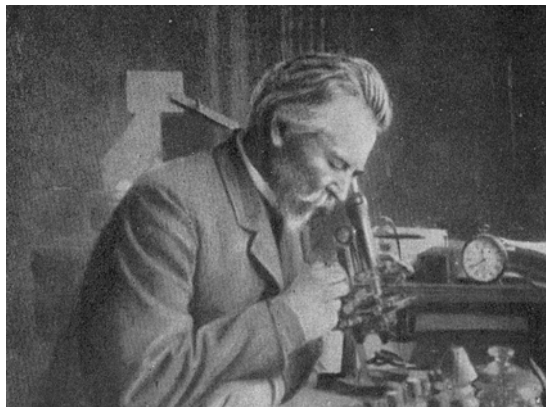
Слід зазначити, що на природничому відділенні фізико-математичного факультету Університету Св. Во-

лодимира сільське господарство викладалося як самостійна дисципліна впродовж усього періоду його існування. Та фундаментальні і прикладні аспекти агробіологічної освіти і науки плідно розвивалися також в інших підрозділах упродовж усіх років 185-річного функціонування Київського університету, насамперед на кафедрі ботаніки, очолюваної В. Бессером [24–26].

Як відомо, курс ботаніки також охоплював фізіологію рослин. Водночас із В. Г. Бессером на кафедрі ботаніки органологію та фізіологію рослин викладав доктор філософії П. Я. Корноух-Троїцький. В основі їхніх лекцій були праця "О системах растительного царства" (1823) та підручники першого ректора Університету Св. Володимира М. О. Максимовича "Основания ботаники. Ор-

ганология" (1828), "Систематика растений" (1831), в яких розглядались фізіологічна роль клітин та поняття обміну речовин. У 1866–1873 рр. курс анатомії і фізіології рослин вів І. Г. Борщов, який досліджував фізико-хімічні властивості клітин. Із 1873 р. анатомію та фізіологію рослин розпочав читати Й. В. Баранецький, який заснував першу фізіологічну лабораторію і по праву вважається основоположником фізіології рослин в Україні. Він виконав ряд оригінальних досліджень із фізіології проростання насіння, дихання та фотосинтезу.

У 1894 р. кафедра ботаніки була розділена на кафедру морфології та систематики рослин (С. Г. Навашин) і кафедру анатомії та фізіології рослин (Й. В. Баранецький), яку згодом очолив К. А. Пурієвич [30].



С. Г. Навашин
(1857–1930)

Водночас С. Г. Навашин за сумісництвом став директором Ботанічного саду університету. С. Г. Навашин за час роботи на кафедрі ботаніки (1894–1914) сформував широковідому цитолого-ембріологічну школу, а відкриття подвійного запліднення у покритонасінних рослин на прикладі *Lilium martagon* та *Fritilaria tenella* влітку 1898 р. принесло світову славу Київському університету. Його учнями були М. Цінгер, Г. Левитський, В. Фінни, Л. Делоне, М. Холодний.

Упродовж 1900–1916 рр. кафедру анатомії та фізіології рослин очолював К. А. Пурієвич, який закінчив Університет Св. Володимира (1889) і працював у ньому до кінця життя. Він обладнав найкращу в колишній Росії фітофізіологічну лабораторію, виконав ряд оригінальних досліджень із фізіології проростання насіння, ди-

хання та фотосинтезу. Він вивчав проблему фіксації молекулярного азоту мікроорганізмами та зробив висновок, що цей процес можуть здійснювати плісняві гриби *Aspergillus niger* і *Penicillium glaucum* [31].

Упродовж 1906–1933 рр. на кафедрі анатомії та фізіології рослин працював вчений зі світовим ім'ям М. Г. Холодний, який провів блискучі дослідження з фітогормонології, екології рослин, ґрунтової мікробіології [32]. Уперше на цій кафедрі з 1912 р. М. Г. Холодний вів курс мікробіології. В осінній семестр 1912 р., продовжуючи виконувати обов'язки асистента кафедри фізіології та анатомії рослин, М. Холодний розпочав читати курс мікробіології з практичними заняттями для студентів ботаніків та агрономів [33].



М. Г. Холодний
(1882–1953)

У 1933 р. на базі кафедри відкрито кафедру мікробіології на чолі з М. Г. Холодним, тоді як кафедру фізіології та біохімії рослин очолив О. М. Льовшин. Саме він

запропонував оригінальну гіпотезу процесу фотосинтезу, розширив уявлення про водний режим рослин [34].

Таким чином, у різний час із перших років його заснування в Університеті працювали талановиті видатні вчені, які своїми важливими відкриттями принесли йому світову славу. Навіть цей короткий огляд є свідченням того, що вчені Університету Св. Володимира впродовж 1833–1917 рр. зробили вагомий внесок у дослідження флори і фауни України, вивчення окремих груп рослин і тварин, формування наукових шкіл, розвиток нових галузей агробіологічної науки та підготовку кадрів високого фаху.

Надзвичайно складні часи пережив Університет Св. Володимира в часи Першої світової війни та революційних подій 1917 р. Особливо гостра класова боротьба розгорнулася після подій 1917 р., у часи Української Народної Республіки (УНР), Гетьманату, Директорії (1917–1919) і в період німецької, денікінської, більшовицької окупації. Весна 1920 р. була останньою в історії Університету Св. Володимира. Більшовики ліквідували всі університети на теренах України. За розпорядженням Наркомосвіти УРСР № 38 від 23 липня 1920 р. на базі університету, ліквідованого цим самим розпорядженням, було створено Вищий інститут народної освіти ім. Драгоманова (ВІНО), який з 1926 р. також називався Київський інститут народної освіти (КІНО). У ньому функціонував шкільний факультет, що мав відділ природничих наук. Слід зазначити, що майже щороку змінювалася структура ВІНО. Коли ЗВО змушені були включитися за рішенням партії в боротьбу за колективізацію сільського господарства, у 1929 р. було сформовано агробіологічний факультет. Проте, незважаючи на багаторазові реорганізаційні зміни, завжди серед основних дисциплін у навчальних планах були курси ботаніки, анатомії та фізіології рослин. Весь цей нелегкий час продовжував працювати М. Г. Холодний [35, 36].

У 1933 р. радянська влада змушена була відновити Київський державний університет у складі 6 факультетів, серед яких був і біологічний, пізніше – біолого-ґрунтознавчий. У 1934 р. Київський державний університет відзначив свій 100-річний ювілей і став носити ім'я Тараса Григоровича Шевченка. На той момент було відновлено його структуру, розпочато активну наукову та педагогічну діяльність.

Ботанічний сад, який знову був переданий Університету (його очолив відомий дендролог М. В. Дубовик), став виробничою базою біолого-ґрунтознавчого факультету. Зусиллями кількох поколінь ботаніків у ньому зібрана унікальна колекція рослин різного географічного походження, яка тепер налічує понад 8000 видів, різновидностей, форм та сортів, у тому числі близько 4000 тропічних і субтропічних рослин [37, 38].

Напередодні Другої світової війни Київський університет був одним із кращих серед провідних вищих навчальних закладів СРСР і посідав третє місце серед радянських університетів. За роки війни та під час боїв за Київ у жовтні–листопаді 1943 р. Університет зазнав значних руйнувань і непоправних втрат кращих своїх викладачів та студентів. Було значно пошкоджено головний навчальний корпус, розграбовано бібліотеку, музейні колекції, лабораторії. Одразу ж після визволення Києва розпочалося відродження Університету, і вже 15 січня 1944 р. відновилися заняття на старших курсах, а з 1 лютого – і на першому. Розпочався новий етап в розвитку новітніх напрямів агробіологічної науки і освіти [39].

У 1946 р. поряд із існуючою кафедрою генетики С. М. Гершензона було відкрито кафедру генетики і селекції рослин (1946–1948), яку очолив акад. АН УРСР М. М. Гришко – автор першого підручника з генетики українською мовою [40].



М. М. Гришко
(1901–1964)

Після горезвісної сесії ВАСГНІЛ (1948) професора С. М. Гершензона, академіка АН УРСР М. М. Гришка звинуватили в підтримці вейсманізму-морганізму, звільнили з посад, а кафедри ліквідували. Обидві кафедри з'єднали в одну, яку назвали кафедрою творчого дарвінізму. Завідувачкою кафедри призначили цитолога, проф. К. Ю. Кострюкову (1948–1949), а потім – проф. М. А. Кравченка (1950–1953), фахівця із селекції сільськогосподарських тварин. Із 1953 по 1956 р. кафедру очолював проф. С. М. Бугай, фахівець у галузі сільськогосподарських рослин. Нарешті, у 1956 р. її об'єднали з кафедрою експериментальної біології, очолюваною Б. Г. Новиковим. Колектив кафедри бага-

то уваги приділяв вивченню закономірностей росту і розвитку риб (О. Б. Чернишов), шовкопрядів (М. М. Савицький, Г. К. Кравець). Доц. П. А. Храновський проводить дослідження з питань селекції гусей на скоростиглість і плодючість методом обліку ступеня розвитку статевих залоз.

Після реабілітації генетики як науки на жовтневому пленумі ЦК КПРС (1964) відновлену кафедру селекції і генетики очолив акад. П. К. Шварников (1967–1970, за сумісництвом). Він обґрунтував і розробив методи експериментального мутагенезу в селекції рослин, що використовуються і досі.

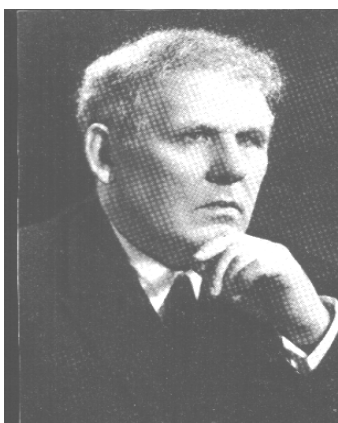


П. К. Шкварников
(1906–2004)

У 1959 р. проф. Б. Г. Новиков організував на базі Інституту фізіології Київського університету відділ фізіології розвитку, який став визначним осередком експериментальної роботи як у складі інституту, так і біологічного факультету, сприяв організації дослідної бази на Жуковому хуторі. Наукові інтереси проф. Новикова пов'язані з вивченням ролі гормональних факторів в ембріональному та постембріональному розвитку, досліджуються процеси розмноження та росту птахів, прово-

диться пошук засобів підвищення продуктивності птахів, розробляється обґрунтування принципів цілорічного розмноження і підвищення яйценосності птахів. Результати наукових здобутків кафедра неодноразово представляла на ВДНГ СРСР і УРСР, міжнародних і всесоюзних конгресах, з'їздах, конференціях [39].

Кафедру зоології безхребетних ще з 1936 р. очолював академік О. П. Маркевич [41].

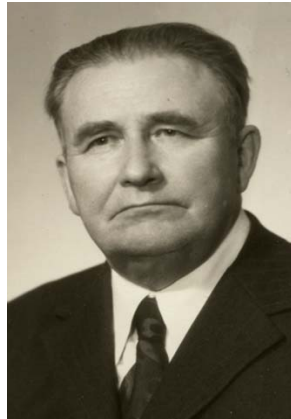


О. П. Маркевич
(1905–1996)

Професором О. П. Маркевичем і його учнями та послідовниками детально вивчена фауна паразитів риб Української РСР, розроблені заходи щодо боротьби із хворобами риб. Багато уваги О. П. Маркевич і його учні (В. П. Коваль, Б. М. Мазурмович, Л. О. Смогоржевська) приділили дослідженню систематики, морфології та екології паразитів риб, їхньому поширенню, залежності від умов зовнішнього середовища і фізіологічного стану їхніх хазяїв. Більшість описаних видів паразитів виявилися новими для науки, а деякі були відмічені вперше як для України, так і всього Радянського Союзу. Друга половина XX ст. – вирішальний період у формуванні паразитоценології як самостійної галузі знання. Участь О. П. Маркевича у цьому процесі мала чотириаспектний характер: теоретико-методологічний, інституалізований, науково-організаційний та практичний. Йому вдалося

обґрунтувати специфіку предмета вивчення, окреслити коло завдань і основну проблематику. Паралельно з цим він сформував широковідому у світі наукову школу паразитоценологів. Саме його постановка паразитоценологічних проблем стала одним з найхарактерніших виразів еколого-системного підходу в біології [42].

Центром розвитку ґрунтової та сільськогосподарської ентомології стала лабораторія ентомології цієї кафедри під керівництвом О. П. Кришталь. Було вивчено видовий склад та екологію шкідливої ентомофауни ґрунту. Упродовж 1961–1981 рр. кафедру зоології безхребетних, Канівський природний заповідник очолював О. П. Кришталь – засновник кафедральної лабораторії арахноентомології, лабораторії екології та токсикології, науково-дослідної лабораторії зоології та екології, відомий ентомолог та еколог України.



О. П. Кришталь
(1908–1985)

Результати його досліджень – тритомне видання "Шкідники сільськогосподарських культур і лісових насаджень" (1973–1975), за що він отримав Державну премію УРСР за 1977 р. Він у співавторстві з Н. М. Міхновською, Л. П. Бучацьким, О. В. Вікторовим-Набоком, Н. Г. Дашкіною, В. П. Шереметом, І. П. Костюченком створили ефективний бактеріальний препарат для боротьби з личинками кровосисних комарів – бактокуліцид. За цю роботу колектив удостоєний Державної премії в галузі науки і техніки УРСР за 1987 р. Три-валий час на кафедрі працювала проф. З. Ф. Ключко.

Наукові напрями: видовий склад та чисельність совок в умовах антропогенних біоценозів і заповідників України і Росії; екологічні особливості совок та інших метеликів, які шкодять сільськогосподарським та лісовим культурам; дослідження рідкісних та зникаючих видів метеликів [43, 44].

У післявоєнні роки (1945–1950) на факультеті функціонувала кафедра іхтіології (В. А. Мовчан), співробітники якої зробили вагомий внесок у розвиток рибиництва в Україні.



В. А. Мовчан
(1903–1964)

Основна проблематика досліджень пов'язана із дослідженнями рибопродуктивності природних і штучних водойм з метою забезпечення потреб економіки у високоцінних харчових продуктах. Досліджувалась кормова база риб, розвивалось ставкове господарство, були здійснені заходи зі вселення кормових організмів (понтотаспійців) у дніпровські водосховища з метою підвищення їхньої рибопродуктивності. Водночас продовжувались флористичні та фауністичні дослідження континентальних водойм, було проведено широке гідрохімічне обстеження різноманітних водних об'єктів України,

започатковані санітарно-гідробіологічні дослідження, пов'язані із забрудненням органічними речовинами і біогенами та підвищенням сапробності водних об'єктів. За роботу "Экологические основы интенсификации роста карпа" (1948) В. А. Мовчан був відзначений найвищою нагородою – Сталінською премією [45].

Упродовж 1944–1950 рр. на факультеті діяла кафедра мікології та фітопатології, яку очолював С. Ф. Морочковський, один із засновників української школи мікологів і фітопатологів [46].



С. Ф. Морочковський
(1897–1960)

На основі зібраного під його керівництвом мікологічного гербарію пізніше, у 1960-70-ті рр., було видано багатотомні серії "Визначник грибів України" та "Флора грибів України", які не втратили актуальності дотепер.

У 1947 р. при біолого-ґрунтознавчому факультеті створюється кафедра ґрунтознавства, яку очолював до моменту передачі її в 1956 р. Українській академії сільськогосподарських наук академік П. А. Власюк і де працювала визначний ґрунтознавець проф. Н. Б. Вернадер. Наукові дослідження колективу кафедри були при-

свячені проблемам ґрунтознавства, агрохімії, фізіології рослин та спрямовані на вивчення нових добрив, процесів живлення рослин за допомогою мічених атомів, радіоактивних ізотопів, впливу передпосівної обробки насіння мікроелементами. Було досліджено роль марганцю в життєдіяльності рослин, розкрито механізми дії мікроелементів та обґрунтовано їхнє використання з метою підвищення врожайності сільськогосподарських культур [47].



П. А. Власюк
(1905–1980)

На цій кафедрі було розроблено науково обґрунтовані заходи щодо підвищення родючості ґрунтів УРСР, досліджено особливості живлення й удобрення найголовніших сільськогосподарських культур.

У перші повоєнні роки (1946–1951) кафедру мікробіології очолював професор Лев Йосипович Рубенчик. Було продовжено наукові дослідження з ґрунтової мікробіології, які започаткував М. Г. Холодний. З 1953 р. кафедрою впродовж наступних 16-ти років завідував проф. М. М. Ротмістров, основні роботи якого присвячені створенню і вивченню антимікробних препаратів. Продовжувалися також дослідження в галузі ґрунтової мікробіології, розпочаті його попередниками [48].

У 1962 р. в Київському університеті імені Тараса Шевченка, вперше в тодішньому СРСР, відкрито кафедру вірусології, яка розпочала підготовку спеціалістів-вірусологів [49]. Організатором і завідувачем кафедри вірусології була відомий вірусолог та епідеміолог д-р мед. наук, проф. Ніна Петрівна Корнюшенко, яка керувала кафедрою протягом 1962–1978 рр.

З 1978 р. кафедрою завідує академік НААН, АН ВШ України, д-р біол. наук, проф. Бойко А. Л. У роботах колективу впродовж 1970–1980 рр. показана чутливість вірусів рослин до геліокосмічних факторів, вивчено зміни структури і функції вірусів під впливом іонізуючої радіації та постійного магнітного поля.

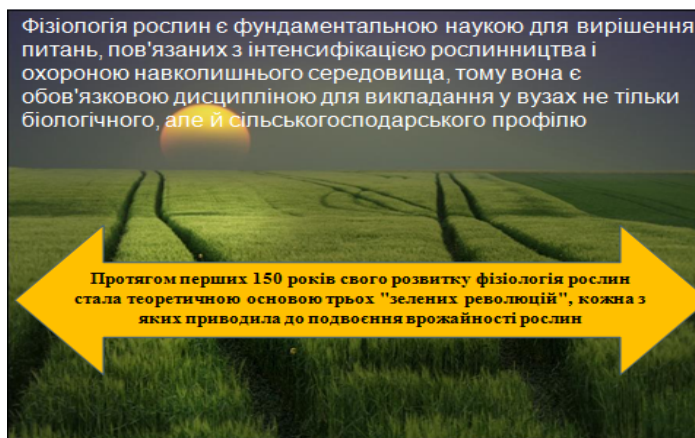


Колектив кафедри вірусології 80-х років ХХ ст.

З 1979 р. розпочато проведення досліджень закономірностей патогенезу фітовірусних інфекцій та розробка заходів боротьби з ними з метою раціонального використання природних біоресурсів. Виявлені загальні закономірності інфекційного процесу нових, раніше не ідентифікованих в Україні, фітовірусних патогенів, що уражують хміль, соняшник, цукровий буряк, пшеницю (проф. А. Л. Бойко, ст. наук. співроб. Н. А. Князева, доц. О. А. Кондратюк, пров. наук. співроб. Л. Т. Міщенко та ін. Вірусологи Університету здобули чимало цінних відомостей про властивості ряду нових вірусів соняшнику, хмелю, ефіроолійної троянди та інших культур (А. Л. Бойко, В. П. Поліщук, О. А. Кондратюк, Н. А. Князева, Г. С. Литвинов та ін., 1989). Вивчаються віруси фітопатогенних бактерій (Л. В. Токарчук, Л. І. Семчук), пшениці (Л. Т. Міщенко), віруси комах, риб (А. Л. Бойко, Г. С. Литвинов, Л. П. Бучацький). Співробітниками кафедри видано посібник "Віруси и вирусные заболевания хмеля и розы эфиромасличной" (А. Л. Бойко, 1976), "Екология вирусных растений" (А. Л. Бойко, 1990). Про значний внесок у розвиток вірусологічної науки свідчать міжнародні конференції, що проводяться на базі кафедри. Зокрема, було проведено декілька науково-практичних конференцій: "Вірусологія – народному гос-

подарству" (1987); "Біоресурси та віруси" (Шацьк, 1988; Ялта, 1994; Київ, 1998, 2001, 2004, 2007). У 2005 р. кафедра вірусології сумісно з Інститутом захисту рослин та діагностики патогенів (Ашерслебен, Німеччина) отримала грант від НАТО та виступила головним організатором міжнародної робочої школи "Significance of virus diseases for crop biosecurity in a developing european community". Цикл наукових праць (акад. НААН А. Л. Бойко, проф. В. П. Поліщук, ст. наук. співроб. Н. А. Князева) з діагностики та прогнозу розвитку фітовірусних інфекцій у різних регіонах України відмічено премією ім. Д. К. Заболотного НАН України (1997). У 2004 р. колектив авторів, очолюваний акад. А. Л. Бойко та В. П. Поліщуком, був відмічений Державною премією у галузі науки і техніки за цикл робіт з екології та епідеміології вірусних інфекцій [50].

Фізіологія рослин цілком обґрунтовано вважається теоретичною основою рослинництва та біотехнології рослин, тому впродовж всього часу функціонування в Університеті кафедри фізіології рослин тут постійно поєднувались фундаментальні дослідження та прикладні, причому їхнє співвідношення змінювалося залежно від вимог часу.



З вересня 1944 р. завідувачем кафедри фізіології та біохімії рослин і директором університетського Ботанічного саду працює Д. П. Проценко [51]. Водночас у 1944–1952 рр. він завідує відділом фізіології та біохімії рослин

Українського інституту землеробства, кафедрою мікробіології та біохімії Київського хіміко-технологічного інституту (1944–1955), а з 1957 р. – завідувач відділу стійкості рослин Українського інституту фізіології рослин.

Професор Проценко Д.П. – видатний український фізіолог рослин

Проценко Д.П. – чл.-кор.
Української академії
сільськогосподарських
наук, Почесний доктор
Братиславського
університету,
Заслужений діяч наук
УРСР.



Під його керівництвом
здійснена відбудова,
зруйнованих під час
війни оранжерей,
відроджено колекції
рослин ботсаду ім.
акад. О.В.Фоміна

**З вересня 1944 до
березня 1980 – завідувач
кафедри фізіології та
біохімії рослин
Київського державного
університету імені
Т.Г.Шевченка**

**Основні напрямки
наукових досліджень-
фізіологія морозо-, зимо-,
посухо- та жаростійкості
основних
сільськогосподарських
культур.**



Дмитро Пилипович Проценко (1899–1980)
Один із фундаторів наукової школи світового рівня
"Фізіолого-біохімічні основи формування стійкості
рослин у стресових умовах".



В усіх цих закладах він провів надзвичайно важливу роботу з організації фізіолого-біохімічних лабораторій і наукових агробіологічних досліджень. Разом з викладачами кафедри (С. Я. Мінінберг, Л. К. Поліщук, І. П. Білокінь, Л. А. Сіренко) було організовано системні дослідження з екологічної фізіології, зокрема проблеми стійкості плодових та основних сільськогосподарських культур, а також анатомії та біохімії рослин. Дослідження морозостійкості і продуктивності винограду під впливом мікроелементів очолила С. Я. Мінінберг (наукowieц О. О. Русько, С. А. Шумик). Проф. Л. Я. Сіренко вперше започаткувала дослідження надзвичайно актуальної і дотепер проблеми еколого-фізіологічних основ масового розвитку синьозелених водоростей. Було запропоновано техніко-біологічні шляхи оздоровлення водою, розроблено нові технології використання біомаси мікродоростей для одержання кормових, технічних продуктів, лікарських речовин (монографія "Фізіологічні основи розмноження синьозелених водоростей у водосховищах", 1972). Проведено дослідження природи стійкості до несприятливих умов довкілля зернових і плодових культур, грецького горіха. Їхні результати опубліковані в монографіях "О физиологических и биохимических особенностях морозостойких плодовых культур" (1948), "Порівняльна характеристика солестійкості плодових дерев" (1956), "Морозостойкость плодовых культур СССР" (1958), "Зимостойкость районированных сортов озимой пшеницы УССР" (1959). Д. П. Проценко обґрунтував районування плодових культур на території Радянського Союзу, виділивши 20 зон з відповідним набором порід і сортів, які в умовах цих зон є найстійкішими до морозів та найпродуктивнішими за врожаєм. За виняткові наукові здобутки в 1959 р. Д. П. Проценко був обраний член-кореспондентом Української академії сільськогосподарських наук. Держава і світова наука, громадськість високо оцінили творчу працю Д. П. Проценка. У 1967 р. його обрано Почесним доктором Братиславського університету, а в 1969 р. йому присвоєно звання "Заслужений діяч науки УРСР" [51].

У наступні роки кафедрою завідували професори А. А. Капля, М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, Н. Ю. Таран,

проте всі вони продовжували актуальний донині напрямок досліджень, започаткований проф. Д. П. Проценком [52].

З 1980 по 1990 рр. кафедрою завідував А. В. Капля, який провів дослідження фізіологічного ефекту синтетичних сполук ретардантної дії на плоді насадження, вивчав фізіологічні механізми морозостійкості рослин, механізми дії на рослинний організм регуляторів росту. У виробничих умовах проведено масштабні дослідження фізіологічного ефекту дії на плоді насадження синтетичних сполук ретардантної дії (Мороз Т. А., Двойнос А. М., Панталієнко А. І., Тарнавський А. І., Косян А. М.). Вони виявили, що за допомогою синтетичних регуляторів росту ретардантної дії можна цілеспрямовано керувати процесами росту і плодоношення дерев з обмеженням застосуванням обрізки та можливістю формування архітеконики крони. Основні результати відображено в монографії "Фізіологія дії ретардантів на плоді культури", які актуальні для садівництва і дотепер. Плідно працювали над впровадженням можливостей флуоресцентної та електронної мікроскопії для цитофізіологічної характеристики рослинного організму О. В. Брайон та М. Ф. Білановський. У ці роки при кафедрі було відкрито філіал Інституту ботаніки АН України з метою підготовки спеціалістів в напрямках клітинної біології та генетичної інженерії рослин на чолі з акад. АН України Ю. Ю. Глебою.

У 70-80-х роках ХХст. на кафедрі сформовано новий науковий напрямок – вивчення природи посухо- та жаростійкості зернових культур (Мусієнко М. М., Славний П. С., Таран Н. Ю., Даскалюк Т. М., Оканенко О. А., Бацманова Л. М. та ін.). Упродовж багатьох років вчені кафедри плідно працювали над цією проблемою спільно з всесвітньовідомими селекціонерами-академіками Ф. Г. Кириченко і В. М. Ремесло. За розпорядженням декана Мусієнко М. М. у 1983 р. на базі наукової групи біохімії та фотосинтезу кафедри було створено науково-дослідну лабораторію "Фізіологічні основи стійкості та продуктивності рослин". Її колективом було обґрунтовано методи комплексної оцінки стійкості генотипів зернових культур ("Методические рекомендации по ранней диагностике жаростойкости сортов озимой

пшениці", 1985). Ці дослідження здійснено у рамках виконання координаційних планів Держкомітету СРСР по науці і техніці (Постанова ДКНТ і Держплану СРСР № 527 261). Наукові розробки було представлено на ВДНГ СРСР (Москва), за які М.М. Мусієнко був нагороджений золотою (1985) та срібною (1987) медалями ВДНГ СРСР. Було розроблено математичну модель, яка дозволяє кількісно оцінювати близькість між певними сортами на основі аналізу компонентного складу

запасних білків пшениці, що дає можливість вести оцінку спорідненості сортів зернових культур. Певний підсумок з цієї піонерної для екологічної фізіології проблеми підведено в монографіях "Засухоустойчивость озимой пшеницы", 1975; "Жаростойкость и продуктивность озимой пшеницы", 1985; "Биология – Продовольственной Программе", 1989 і є вагомим внеском колективу кафедри у вирішенні проблем посухостійкості рослин, яка надзвичайно актуальна для України і досі [53].



А.В. Капля
(1981-1989)



М.М. Мусієнко
(1990-2004)



Т.В. Паршикова
(2005-2010)



Н.Ю. Таран
(2010- по д.ч.)



Колектив кафедри в новому корпусі



**Професор Мусієнко М.М. – відомий вчений і педагог,
один із фундаторів біології рослин**

Член Федерації товариств біологів рослин Європи (FESPE), Європейської асоціації департаментів екології (AUDES), Міжнародної асоціації з фотосинтезу, радник міжнародного біографічного центру (Жембридж), віце-президент Всеукраїнської асоціації біологів рослин, консультант Науково-експертної ради при Комітеті Верховної Ради України з питань європейської інтеграції та комісії з фундаментальних проблем біології при Президії НАН України

На початку 90-х при кафедрі створено науково-дослідну лабораторію "Фізіологічних основ продуктивності і стійкості рослин".



Фундатор й керівник наукової школи "Фізіолого-біохімічні основи формування стійкості та продуктивності рослин у стресових умовах"

Веде пошук шляхів оптимізації рослинництва до трансформованих умов довкілля для вдосконалення наявних агротехнологій та напрямів селекційного процесу



Микола Миколайович Мусієнко
Академік національної академії аграрних наук,
Заслужений професор Київського
національного університету імені Тараса
Шевченка





У 80-роки колектив біологічного факультету успішно виконував Постанови Ради Міністрів СРСР щодо виконання Продовольчої програми СРСР (1984), розвитку фізико-хімічної біології та біотехнології. До святкування

150-річчя біологічний факультет підготував виставку своїх досягнень, яку відвідали перші керівники держави на чолі з членом Політбюро ЦК КПРС, Першим секретарем ЦК КП України В.В. Щербицьким.



Декан біологічного факультету Київського державного університету ім. Т.Г. Шевченка, професор М.М. Мусієнко розповідає Першому секретарю ЦК КПУ В.В. Щербицькому та його колегам про внесок біологів навчального закладу у виконання Продовольчої програми СРСР. Київ, 1984

Під час зустрічі з керівниками держави було зауважено на необхідності поліпшення матеріально-технічної бази кафедр, лабораторій шляхом будівництва окремого корпусу біологічного факультету. Як результат, держава цілеспрямовано виділила кошти на його планування та будівництво і в травні 1988 р. факультет переїхав з головного червоного корпусу, де працював впродовж попередніх 154 років, до новозбудованого.

Наступний період розвитку агробіологічних досліджень колективу кафедри фізіології та біохімії рослин (1990–2004 рр – завідувач – акад. НААН України Мусієнко М. М.) пов'язаний з розв'язанням найактуальніших проблем фізіології рослин на межі тисячоліть – з'ясування адаптаційного синдрому за структурно-функціональними маркерами стресового стану рос-

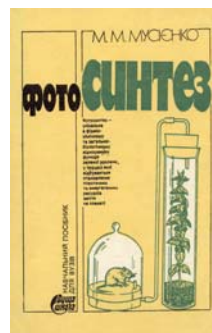
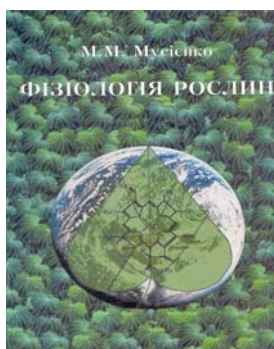
линного організму, фіто- та агроценозів. Сформовано теорію перманентної адаптації та концепцію збалансованої продуктивності рослинного організму за умов глобальних змін клімату. Результати досліджень кафедри з екології рослин у цей період довели, що фізіологія рослин може стати провідником досягнень фізико-хімічної біології в екологію. За вагомі успіхи в дослідженні актуальних проблем екології рослин Вчена рада університету в 1993 р. затверджує нову назву кафедри – "Фізіологія та екологія рослин". У цей час плідно працює очолювана М.М. Мусієнком наукова школа світового рівня "Фізіолого-біохімічні основи формування стійкості і продуктивності рослин у стресових умовах", затверджена МОН в 1996 р.



Наукова школа професора М.М.Мусієнка

Він є автором підручників з біології рослин для загальноосвітньої ("Біологія6"; "Біологія7") та вищої школи ("Фізіологія рослин", "Загальна екологія",

"Екологія рослин") для навчальних закладів біологічного та аграрного профілю України.



Фізіологія рослин як мультидисциплінарна наука перетворилася на актуальну науку, що з'єднала біологію й екологію та фізико-хімічну і молекулярну біологію. Розв'язання таких глобальних проблем, як захист навколишнього середовища і розробка теоретичних основ збереження біоресурсів планети, пошук альтернативних джерел енергії, сертифікація якості продуктів харчування залежить від розвитку досліджень у галузі біології рослин, насамперед, фітофізіології. Фізіологія рослин є фундаментом сучасного рослинництва, вона досліджує і забезпечує теоретичну базу для всієї системи агрозаходів та фітобіотехнологій. Протягом перших 150 років свого розвитку фізіологія рослин разом з іншими біологічними дисциплінами стала теоретичною основою трьох "зелених революцій", кожна з яких приводила до подвоєння врожаю. Ключовим завданням фізіології рослин минулого століття залишалася

розробка теорії підвищення продуктивності найважливіших сільськогосподарських культур. В останні десятиліття на лідируючі позиції в фізіології рослин все більш явно виходять проблеми глобальної і регіональної екології, що є відповіддю вчених на несприятливі зміни клімату, а також на природні та техногенні катастрофи. Протягом останніх 25 років значно зріс інтерес до проблем стрес-фізіології рослин. Дослідження у цій галузі вкрай необхідні саме тепер, у пост-геномний період, коли функція окремих генів (геноміка) має бути перекладена на мову функціонування конкретних білків (протеоміка), метаболізму окремих клітин, тканин, органів (метаболоміка). Перші експериментальні результати нового наукового напрямку – метаболоміки кардинально змінили наші уявлення про таке поняття, як фізіологічна функція, яка змінюється у часі і просторі, формуючи функціональні модулі. Функціональні

модулі, у свою чергу, взаємодіючи між собою, формують у рослинному організмі так звану "Network" – регуляторну мережу (контур). Для розвитку цього ключового напрямку фізіології рослин потрібний міждисциплінарний підхід до пізнання механізмів інтеграції і регуляції фізіологічних функцій у складі цілої рослини на рівні таких фізіологічних процесів, як фотосинтез, ріст, диференціювання, адаптація, онтогенез.

Розвиток фізіології рослин, як і будь-якої іншої науки, залежить не лише від нових ідей, а й нових методологій. Фенотайпінг – методологія нового напрямку рослинної феноміки, оригінально доповнюючи класичну фізіологію рослин, дозволяє поєднати різноманітні фізіологічні, морфометричні та біохімічні процеси для розуміння молекулярно-генетичних основ багатифункціонального процесу загального адаптаційного синдрому рослин. Ця методологія являє собою мультіваріантне дослідження комплексу рослинних ознак, які пов'язані з процесами росту і розвитку рослин, структурними перебудовами, фізіологічними реакціями, резистентності, екологічної пластичності та продуктивності.

Отже, сутнісна особливість фітофізіології як постнекласичної науки – її міждисциплінарний, комплексний і проблемно-орієнтований характер, єдність теоретичних і експериментальних досліджень, фундаментальних і прикладних знань демонструє свою життєздатність і в епоху сучасної глобалізації. Наші наукові розробки відомі широкому колу науковців світу. З 2004 по 2010 рр. кафедру очолювала Паршикова Т. В., яка поряд з існуючим напрямком досліджень, розпочала розробку експрес-методів контролю функціонального стану міководоростей при забрудненні води, відпрацювала біотехнологію оптимізації мінерального живлення при індустріальному культивуванні господарсько цінних видів міководоростей, започаткувала напрямком сільськогосподарського використання міководоростей у складі композицій азотфіксуючих діазотрофів.

У період з 2010 року кафедру очолила Таран Н.Ю. Нею була експериментально обґрунтована оригінальна концепція індукції пристосувальних реакцій адаптаційного синдрому рослинного організму за участю компонентів ліпід-пігментного комплексу – гліколіпідів, каротиноїдів та інтермедіатів перекисного окиснення ліпідів фотосинтетичних мембран [53]. У зв'язку з реорганізацією в 2016 р. кафедра фізіології та екології рослин об'єдналася з кафедрою ботаніки і створили кафедру біології рослин, яка продовжує плідно працювати під керівництвом доктора біологічних наук, проф. Таран Наталії Юріївни. За роки функціонування кафедри біології рослин було відроджене викладання ландшафтного архітектури, як продовження традицій кафедри архітектури, яка була створена ще у 1842 р. в Університеті Св. Володимира та відкрито нові спеціальності "Садово-паркове господарство" за програмами підготовки "Садово-паркове господарство" та "Ландшафтний дизайн". Пріоритети у напрямках роботи кафедри біології рослин – це модернізація та розробка інноваційних методів у вивченні сучасної біології рослин як інтегративної науки, з використанням класичних та найсучасніших науково-методичних підходів до пізнання основ життєдіяльності рослинного організму, зокрема:

- фундаментальні та прикладні дослідження генетики, протеоміки, метаболоміки та фенотайпінгу рослин за несприятливих умов довкілля та глобальних змін клімату;
- фотосинтез і альтернативна біоенергетика;
- розробка інноваційних ресурсощадних та екологічно безпечних технологій раціонального природокористування (програмування продукційних процесів агро- та

біоценозів, нанотехнології у рослинництві, органічне рослинництво) шляхом розкриття ендегенних механізмів регуляторних систем організму (сигналінг адаптом) та використання фізіологічно активних речовин;

- розробка принципово нових методів індукції генетичного різноманіття культурних рослин і методів відбору їх за фізіолого-біохімічними ознаками;

- систематичні і флористичні дослідження рослинності України та розробка її синтаксономії, як складового елемента загальної класифікації рослинності Європи; вивчення динаміки рослинного покриву різних регіонів території України; флористичні та екологічні дослідження рідкісних і зникаючих рослин та рослинних угруповань;

- лікарські рослини, дослідження нових біологічно-активних речовин рослинної сировини та їхнє застосування в медицині, прикладні дослідження в галузі фармацевтичної ботаніки;

- прикладні дослідження в галузі фікотехнології та мікотехнології;

- дослідження в галузі фіто- та мікотоксикології.

- фізіологія та біохімія хворої рослини, прикладні дослідження в галузі мікології, лісової фітопатології, маркерних технологій молекулярної діагностики фітопатогенів, фітоімунітет

- фітоекоекологія, фітомоніторинг, фітомінінг, фіторемедіація;

- ландшафтний дизайн, садово-паркова архітектура зеленого будівництва, інтродукція рослин, декоративні рослини, топіарне мистецтво, фітодизайн;

Згідно зі статистичними даними, оприлюдненими журналом "The Scientist" (№ 10, 2014), упродовж останніх 30-ти років спостерігається стагнація підготовки фахівців-фітобіологів. Зокрема, аналіз статистичних даних, наведених Аланом Джонсом (American Society of Plant Biologists) свідчить про стрімке зростання кількості кандидатів наук за спеціальностями "науки про життя" на прикладі кількості захищених в США дисертаційних робіт на здобуття ступеня кандидата наук з 1982 по 2012 роки. Більшість з них – за спеціальностями: загальна біологія, біомедицина та науки про здоров'я. При цьому кількість кандидатів наук з прикладної фітофізіології та сільськогосподарських спеціальностей залишається сталою протягом останніх 30-ти років. Такі дані викликають значне занепокоєння у зв'язку з постійним приростом населення та проблемами забезпечення продуктами харчування, продовольчої безпеки при глобальних змінах кліматичних умов. Саме ці глобальні проблеми та пошуки їхнього розв'язання стануть головними викликами для майбутньої генерації освіти вчених-фітобіологів та аграрного сектору. Таким чином, навіть короткий огляд генезису аграрної та агробіологічної науки і освіти за період від заснування Імператорського Університету Св. Володимира дотепер дають можливість стверджувати, що науково-освітня діяльність професорсько-викладацького складу і науковців Київського університету мала і має вагомий вплив на становлення і розвиток вітчизняної аграрної науки та освіти не лише в Україні, але й у світі.

Список використаних джерел:

1. История Императорского университета Св. Владимира / сост. проф. М. Ф. Владимирский-Буданов. – Т. 1: Университет Св. Владимира в царствование императора Николая Павловича. – К., 1884. – 674 с.
2. Университетский Устав 1863 г. – СПб.: типография Иосафата Огризко, 1863. – 128 с.
3. Высочайше утвержденный Устав Университета Святого Владимира. ПСЗРИ. 2-е собрание. Е.У111(1833). Ч. 1. – СПб, тип. 11 Отделения. Собст. Е. И. В. Канцелярии, 1934. – с. 790–798.
4. ЦДІАЛ. – ф. 744. – "Височайші" укази, рескрипти і "найпідданіші" доповіді по міністерству народної освіти (колекція). – оп. 1. – 1833.

5. Историко-статистические записки об ученых и учебно-вспомогательных учреждениях Императорского университета Св. Владимира (1834–1884) / под ред. В. С. Иконникова. – К., 1884. – 417, 68, 20 с.
6. Биографический словарь профессоров и преподавателей Императорского университета Св. Владимира / Сост. под ред. проф. В. С. Иконникова. – К., 1884. – 36. – 816 с.
7. Стебут И. А. Сельскохозяйственное знание и сельскохозяйственное образование. / И. А. Стебут – М., 1870. – 81 с.
8. Чайка Н. Наукова та організаційна діяльність професора С.М. Ходещького в Київському товаристві сільського господарства та сільськогосподарської промисловості // Історія української науки на межі тисячоліть : зб. наук. праць / відп. ред. О.Я. Пилипчук. – К., 2002. – Вип. 8. – С. 232–237.
9. Власюк П. А. Розвиток агрономії та ґрунтознавства в Київському університеті // праці КДУ (Природничі науки), 1954. – с. 37–57.
10. Владимирский-Буданов М.Ф. Пятидесятилетие университета Св. Владимира / М.Ф. Владимирский-Буданов // Университетские известия, 1884. – № 8. – С. 1–60.
11. Университет Святого Володимира – Київський державний університет: генезис біологічної науки Київського національного університету імені Тараса Шевченка (1834–1933) / М. Мусієнко, Л. Остапченко, Н. Таран та ін. // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія, 2014. – № 66. – С. 5–14.
12. Вергунов В. А. Професор Богданов Сергій Михайлович (1859–1920) / В. А. Вергунов. – К., 2006. – 138 с.
13. Сіряченко С. М. Створення професором С. М. Богдановим сільськогосподарського дослідного поля в ботанічному саду Університету Св. Володимира // Історія української науки на межі тисячоліть : зб. наук. пр. / відп. ред. О. Я. Пилипчук. – К., 2002. – Вип. 9. – С. 202–205.
14. Пшеничний Н. І. Вчений-агроном (До 40-річчя з дня смерті С. М. Богданова) / Н. І. Пшеничний, О. С. Лучко // Наука і життя, 1960. – № 3. – С. 29.
15. Карышева К. А. Андрей Васильевич Краинский (130 лет со дня рождения) / К. А. Карышева // Врачебное дело, 1958. – № 7. – С. 766.
16. Оканенко А. С. Видатні вчені. До сторіччя з дня народження професора В. В. Колкунова / А. С. Оканенко // Вісн. с.-г. науки, 1966. – № 4. – С. 123–124.
17. Власюк П. А. Ґрунтознавство і агрохімія в Київському університеті // Сільськогосподарська наука до 40-річчя Великого Жовтня / Українська академія с.-г. наук ; редкол.: П. А. Власюк, П. М. Василенко, І. Н. Романенко та ін. – К.: Держ. вид. – во с.-г. літ. УРСР, 1957. – С. 34–36.
18. Костенко О. Перші викладачі "сільського господарства" Київського університету // Історія української науки на межі тисячоліть : зб. наук. пр. / відп. ред. О. Я. Пилипчук. – К., 2004. – Вип. 17. – С. 91–96.
19. Державний архів м. Києва (ДАК) фонд 16.
20. Извлечение из протоколов заседания Совета Университета Св. Владимира // Университетские известия, 1882. – № 9. – С. 131.
21. Мещерский И. И. Высшее сельскохозяйственное образование в России и за границей / И. И. Мещерский. – СПб., 1893. – 24. – 403. – 37 с.
22. ЦДІАЛ. – ф. 733. – оп. 69. – 1833 р. – спр. 111. – арк. 64.
23. ЦДАРЖ УРСР. – ф. 166. – оп. 3. – 1920. – спр. 324. – арк. 82.
24. Костенко О. Науково-освітня сільськогосподарська діяльність в Університеті Св. Володимира у Києві // Історія української науки на межі тисячоліть : зб. наук. пр. / відп. ред. О. Я. Пилипчук. – К., 2005. – Вип. 17. – С. 96–102.
25. Костенко О. О. Передумови введення та розвиток сільськогосподарської освіти при вітчизняних університетах // Історія української науки на межі тисячоліть : зб. наук. пр. / Відп. ред. О. Я. Пилипчук. – Вип. 23. – К., 2006. – С. 118–126.
26. Костенко О. О. До історії становлення вітчизняної агрономічної науки (огляд наукового доробку вчених університету святого Володимира) // Часопис української історії : зб. наук. ст. / голов. ред. А. П. Коцур. – Вип. 4. – К., 2006. – С. 20–24.
27. Київський університет: документи і матеріали. 1834–1884 / сост. В. А. Замлинский ; ред. кол.: М. У. Белый, Л. В. Губерский, И. И. Ляшко и др. – К., 1984. – 191 с.
28. Навашин С. Г. Автобиография. / С. Г. Навашин // журн. рус. Бот. об-ва, 1928. – Т. 18. – № 1-2. – С. 7–14.
29. Романець О. В. Наукова школа С. Г. Навашина в галузі цитогенетики / О. В. Романець // Наука і наукознавство, 2013. – № 3. – С. 112–121.
30. Сіряченко С. Вклад вчених університету Св. Володимира в розвиток вітчизняної ботаніки та фізіології рослин // Історія української науки на межі тисячоліть : зб. наук. пр. / відп. ред. О. Я. Пилипчук. – К., 2003. – Вип. 13. – С. 150–156.
31. Биологи: Биографический. справочник / Т. П. Бабий, Л. Л. Коханова, Г. Г. Костюк и др. – К.: Наук. думка, 1984. – 816 с.
32. Холодный М. Г. До історії мікробіології в Київському університеті / М. Г. Холодный // Розвиток науки в Київському університеті за сто років. – К.: Вид-во Київ. держ. ун-ту, 1935. – С. 93–104.
33. Мусієнко М. М. Золоті імена України, народжені університетом імені Святого Володимира: Микола Григорович Холодный / М. М. Мусієнко // Укр. ботан. журн., 2003. – Т. 60, № 3. – С. 326–347.
34. Народжені Україною. Меморіальний альманах. У 2-х т. – К.: Євроімідж, 2002. – Т. 2. – С. 210–211.
35. Розвиток науки в Київському університеті за 100 років. – К.: Вид-во КДУ, 1935. – 325 с.
36. Історія Київського університету. – К.: Вид-во КДУ, 1959. – 617 с.
37. Мазурмович Б. М. Вклад учених Київського університету у розвиток зоології у XIX і на початку XX ст. // Тр. біолого-ґрунтознавчого ф-ту КДУ ім. Т. Г. Шевченка, 1954. – № 11. – С. 24–43.
38. Київський університет: документи і матеріали (1834–1884) / Киев. ун-т ім. Т. Г. Шевченко. – К.: Вища шк., 1984.
39. Київський державний університет імені Т. Г. Шевченка: становлення і розвиток біологічної освіти і науки (1933–1945 рр.) / М. Мусієнко, Л. Остапченко, Н. Таран та ін. // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія, 2015. – № 69. – С. 5–14.
40. Нариси історії біологічного факультету / В. І. Чопик, Б. О. Цудзевич, М. Є. Кучеренко та ін. – К.: Фітосоціоцентр, 2004. – 276 с.
41. Маркевич О. П. Наука і наукові працівники в КДУ за 112 років його існування (1834–1946) / О. П. Маркевич // Наук. записки КДУ ім. Т. Г. Шевченка, 1946. – 5, № 1. – С. 21–42.
42. Академік Олександр Прокопович Маркевич: життя і діяльність / відп. ред. О. Я. Пилипчук. – К.: Наук. думка, 1999. – 192 с.
43. Корнєєв В. О. Олександр Пилипович Кришталь (1908–1985): до сторіччя від дня народження / В. О. Корнєєв // Вест. зоології, 2008. – 42(6). – С. 567–568.
44. Кришталь О. П. Канівський біогеографічний заповідник / О. П. Кришталь // 36. пр. Канів. біогеограф. заповідника. – К.: вид-во КДУ, 1947. – 1(1). – 154 с.
45. Капля А. В. Розвиток біологічної науки в Київському університеті за 60 років радянської влади / А. В. Капля, Б. М. Мазурмович // Вісн. КНУ : сер. Біологія, 1978. – С. 5–14.
46. Гамалія В. М. Розвиток мікології та фітопатології в Київському університеті у другій половині XIX століття / В. М. Гамалія // Вісн. Нац. техн. ун-ту "ХПІ" : зб. наук. пр. Темат. вип.: Історія науки і техніки. – Харків: НТУ "ХПІ", 2013. – 10 (984). – С. 13–21.
47. Власюк П. А. Розвиток агрономії та ґрунтознавства в Київському університеті / П. А. Власюк // Пр. КДУ (Природознавчі науки), 1954. – С. 37–57.
48. Власюк П. А. Ґрунтознавство і агрохімія в Київському університеті // П. А. Власюк // Сільськогосподарська наука до 40-річчя Великого Жовтня / Українська академія с.-г. наук. К.: Держ. вид-во с.-г. літ. УРСР, 1957. – С. 34–36.
49. Київський університет за п'ятдесят років радянської влади. – К.: вид-во Київ. ун-ту, 1967. – 191 с.
50. Мусієнко М. М. Минуле і сучасне біологічної науки Київського національного університету імені Тараса Шевченка (1834–2014 рр.) / М. М. Мусієнко, Л. М. Бацманова // Фактори експериментальної еволюції організмів, 2014. – Т. 14. – С. 9–13.
51. Нариси історії Київського національного університету імені Тараса Шевченка. – К.: Наша наука і культура, 2004. – 440 с.
52. Мусієнко М. М. Д. П. Проценко – відомий вчений і педагог (до 100-річчя від дня народження) / М. М. Мусієнко // Физиол. и биохим. культ. раст., 1999. – 31, № 4. – С. 313–316.
53. Академік УААН Мусієнко Микола Миколайович, діяльність / відп. ред. В. А. Вергунов. – К.: Аграрна наука, 2008. – 187 с.
54. Мусієнко М. Київський державний університет – Київський орденна Леніна державний університет імені Т. Г. Шевченка: становлення і розвиток біологічної освіти і науки (1959–1988 рр.) / М. Мусієнко, Л. Остапченко, Н. Таран та ін. // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія, 2017. – № 74. – С. 7–32.

References (Scopus):

1. Istorija Imperatorskogo universiteta Sv. Vladimira / Sost. prof. M. F. Vladimirskij-Budanov. – T. 1: Universitet Sv. Vladimira v carstvovanie imperatora Nikolaja Pavlovicha – K., 1884. – 674s.
2. Universitetskij Ustav 1863 g., SPb, tipografija Isafata Ogrizko, 1863. – 128s.
3. Vysochajshe utverzhdenyj Ustav Universiteta Svjatogo Vladimira. PSZR. 2-e sobranie. E. U. 111(1833). Ch. 1. Spb, tip. 11 Otdelenija. Sobst. E. I. V. Kanceljarii, 1934. – s. 790-798.
4. CDIAL. – f. 744. – "Visochajshi" ukazi, reskripti i "najpiddanishi" dopovidi po ministerstvu narodnoji osviti (kolekcija). – op. 1. – 1833.
5. Istoriko-statisticheskie zapiski ob uchenyh i uchebno-vspomogatel'nyh uchrezhdenijah Imperatorskogo universiteta Sv. Vladimira (1834-1884) / Pod red. V. S. Ikonnikova. – K., 1884. – 417, 68, 20 s.
6. Biograficheskij slovar' professorov i prepodavatelej Imperatorskogo universiteta sv. Vladimira / Sost. pod red. prof. V. S. Ikonnikova. – K., 1884. – 36. – 816 s.
7. Stebut I. A. Sel'skhozozajstvennoe znanie i sel'skhozozajstvennoe obrazovanie. / Stebut I. A. – M., 1870. – 81 s.
8. Chajka N. Naukova ta organizacijna dijal'nist' profesora S. M. Hodec'kogo v Kiivs'komu tovaristvi sil'skogo gospodarstva ta sil'skogospodars'koj promislovosti // Istorija ukrains'koj nauki na mezhi tisjacholit'. Zb. nauk. prac' / Vidp. red. O. Ja. Pilipchuk. – K., 2002. – Vip. 8. – S. 232-237.
9. Vlasjuk P. A. Rozvitok agronomii ta rruntoznavstva v Kiivs'komu universiteti. Praci KDU (Prirodnichi nauki). – 1954. – s. 37-57.
10. Vladimirskij-Budanov M. F. Pjatisjatiletie universiteta Sv. Vladimira / Vladimirskij-Budanov M. F. // Universitetskie izvestija. – 1884. – № 8. – S. 1-60.
11. Musienko M. Universitet Svjatogo Volodimira – Kiivs'kij derzhavnij universitet: genezis biologichnoji nauki Kiivs'kogo nacional'nogo universitetu imeni Tarasa Shevchenka (1834-1933) / Musienko M., Ostapchenko L., Taran N., Bacmanova L., Storozhenko V. // Visnik Kiivs'kogo nacional'nogo universitetu imeni Tarasa Shevchenka. Biologija. – 2014. – № 66. – S. 5-14.

12. Vergunov V.A. Profesor Bogdanov Sergij Mihajlovich (1859-1920) / Vergunov V. A. – K., 2006. – 138 s.
13. Sirjachenko S. M. Stvorennja profesorom S. M. Bogdanovim sil'skogospodars'kogo doslidnogo polja v botanichnomu sadu Universitetu Sv. Volodimira // Istorija ukrains'koj nauki na mezhi tisjacholit': Zb. nauk. pr. / Vidp. red. O. Ja. Pilipchuk. – K., 2002. – Vip.9. – S.202–205.
14. Pshenichnij N. I. Vchenij-agronom (Do 40-richchja z dnja smerti S.M.Bogdanova) / Pshenichnij N. I., Luchko O.S. // Nauka i zhittja. – 1960. – № 3. – S. 29.
15. Karysheva K. A. Andrej Vasil'evich Krainskij (130 let so dnja rozhdenija) / Karysheva K. A. // Vrachebnoe delo. – 1958. – № 7. – S. 766.
16. Okanenko A.S. Vidatni vcheni. Do storichchja z dnja narodzhennja profesora V.V. Kolkunova / Okanenko A.S. // Visnik sil'skogospodars'koj nauki. – 1966. – № 4. – S. 123-124.
17. Vlasjuk P.A. Runtznavstvo i agrohimiya v Kiivs'komu universiteti // Sil'skogospodars'ka nauka do 40-richchja Velikogo Zhovtnja / Ukrains'ka akademija s.-g.nauk; Redkol.: Vlasjuk P.A., Vasilenko P.M., Romanenko I.N. ta in. – K.: Derzh.vid – vo s.-g. lit. URSR, 1957. – S. 34-36.
18. Kostenko O. Pershi vikladachi "sil'skogo gospodarstva" Kiivs'kogo universitetu // Istorija ukrains'koj nauki na mezhi tisjacholit': Zb. nauk prac' / Vidp. red. O.Ja. Pilipchuk. – Vip. 17. – K., 2004. – S. 91-96.
19. Derzhavnij arhiv m. Kiev (DAK) fond 16.
20. Izvlechenie iz protokolov zasedanija Soveta Universiteta Sv.Vladimira // Universitetskije izvestija, 1882. -№ 9. – S. 131.
21. Meshhskij I. I. Vysshee sel'skohozjajstvennoe obrazovanie v Rossii i za granicej. / Meshhskij I. I. – S.-Pb., 1893. – 24. – 403. – 37 s.
22. CDIAL. – f.733. – op. 69. – 1833 r. – spr. 111. – ark. 64.
23. CDARZh URSR. – f. 166. – op. 3. – 1920. – spr. 324. – ark.82.
24. Kostenko O. Naukovo-osvitnja sil'skogospodars'ka dijal'nist' v Universiteti Sv. Volodimira u Kiev // Istorija ukrains'koj nauki na mezhi tisjacholit': Zb. nauk prac' / Vidp. red. O.Ja. Pilipchuk. – Vip. 17. – K., 2005. – S. 96-102.
25. Kostenko O. O. Peredumovi vvedennja ta rozvitok sil'skogospodars'koj osviti pri vitchiznjanih universitetah // Istorija ukrains'koj nauki na mezhi tisjacholit': Zb. nauk. prac' / Vidp. red. O.Ja. Pilipchuk. – Vip. 23. – K., 2006. – S. 118-126.
26. Kostenko O. O. Do istorij stanovlennja vitchiznjanoj agronomichnoj nauki (ogljad naukovogo dorobku vchenih universitetu svjatogo Volodimira) // Chasopis ukrains'koj istorij: Zb. nauk. statej / Golov. red. A.P. Kocur. – Vip. 4. – K., 2006. – S. 20-24.
27. Kievskij universitet: dokumenty i materialy. 1834-1984 / cost. V. A. Zamlinskij; red. kol.: M. U. Belyj, L. V. Guberskij, I. I. Ljashko i dr. – Kiev, 1984. – 191 s.
28. Navashin S.G. Avtobiografija. / Navashin S.G. // Zhurn. Rus. Bot.ob.-va, 1928. – T. 18. – № 1-2. – C. 7-14.
29. Romanec' O. V. Naukova shkola S. G.Navashina v galuzi citogenetiki. / Romanec' O. V. // Nauka i naukoznastvo. – 2013. – № 3. – s.112-121.
30. Sirjachenko S. Vklad vchenih universitetu sv. Volodimira v rozvitok vitchiznjanoj botaniki ta fiziologii roslin // Istorija ukrains'koj nauki na mezhi tisjacholit': Zb. nauk. prac' / Vidp. red. O.Ja. Pilipchuk. – K., 2003. – Vip. 13. – S. 150-156.
31. Biologi: Biograficheskij. spravocnik / T. P. Babij, L. L. Kohanova, G. G. Kostjuk i dr. – K.: Naukova dumka, 1984. – 816 s.
32. Holodnij M. G. Do istorij mikrobiologii v Kiivs'komu universiteti. / Holodnij M.G. // Rozvitok nauki v Kiivs'komu universiteti za sto rokiv – K.: Vid-vo Kiiv. derzh. un-tu, 1935. – S. 93-104.
33. Musienko M.M. Zolotiimena Ukraïni, narodzhenni universitetomimeni Svjatogo Volodimira:Mikola Grigorovich Holodnij. / Musienko M.M. // Ukr.Botan. zhurn., 2003. – T. 60, № 3. – S. 326-347.
34. Narodzhenni Ukraïnoju. Memorial'nij al'manah. U 2-h t. – K.: Evroimidzh, 2002. – T.2. – S. 210–211.
35. Rozvitok nauki v Kiivs'komu universiteti za 100 rokiv. – K.: Vid. KDU, 1935. – 325s.
36. Istorija Kiivs'kogo universitetu. – K.: Vid. KDU, 1959. – 617 c.
37. Mazumovich B.M. Vklad uchenih Kiivs'kogo universitetu u rozvitok zoologii u HH i na pochatku HH st.// Tr. biologo-gruntovnavchogo f-tu KDU im.T.G.Shevchenko. – 1954. – № 11. – S.24-43.
38. Kievskij universitet: Dokumenty i materialy (1834-1984) / Kievskij universitet im. T.G. Shevchenko. – Kiiv: Vishha shkola, 1984.
39. M.Musienko. Kiivs'kij derzhavnij universitet imeni T.G.Shevchenka: stanovlennja i rozvitok biologichnoj osviti i nauki (1933-1945 rr.) / M.Musienko, L.Ostapchenko, N.Taran, L.Bacmanova, V.Storozhenko // Visnik Kiivs'kogo Nacional'nogo Universitetu Imeni Tarasa Shevchenka. Biologija. – 2015. – № 69. – S.5–14. № 69. – C.5–14.
40. Narisi istorij biologichnogo fakultetu. / Chopik V. I., Cudzevich B. O., Kucherenko M. E., Ostapchenko L. I., Miroshnichenko M. S. ta in. – K. – Fitosociocentr, 2004. – 276 s.
41. Markevich O.P. Nauka i naukovij pracivniki v KDU za 112 rokiv jogo isnuvannja (1834–1946) / Markevich O.P.// Naukovij zapiski KDU im. T.G.Shevchenka. – 1946. – 5, № 1. – S. 21–42.
42. Akademik Oleksandr Prokopovich Markevich: Zhittja i dijal'nist' / Vidp. red O.Ja. Pilipchuk. – K.: Nauk.dumka, 1999. – 192 s.
43. Korneev V.O. Oleksandr Pilipovich Krishtal' (1908–1985): do storichchja vid dnja narodzhennja. / Korneev V.O. //Vestnik zoologii. – 2008. – 42(6). – S. 567–568.
44. Krishtal' O.P. Kanivs'kij biogeografichnij zapovidnik // Zbirnik prac' Kanivs'kogo biogeografichnogo zapovidnika. – Kiiv: Vid-vo KDU, 1947. – 1(1). – 154 s.
45. Kaplja A. V. Rozvitok biologichnoj nauki v Kiivs'komu universiteti za 60 rokiv radjans'koj vladi. / Kaplja A. V., Mazumovich B. M. // Visnik KNU: Serija "Biologija". – 1978. – S. 5–14.
46. Gamalija V. M. Rozvitok mikologii ta fitopatologii v Kiivs'komu universiteti u drugij polovini XIX stolittja / V. M. Gamalija // Visnik Nac. tehn. un-tu "HPI": zb. nauk. pr. Temat. vip.: Istorija nauki i tehniki. – Harkiv: NTU "HPI". – 2013. – 10 (984). – S. 13–21.
47. Vlasjuk P.A. Rozvitok agronomij ta rruntoznastva v Kiivs'komu universiteti // Praci KDU (Prirodovnavchi nauki). – 1954. – S.37-57.
48. Kiivs'kij universitet za p'jattedesjat rokiv radjans'koj vladi. K.: Vid-vo Kiivs'kogo un-tu.-1967. – 191s.
49. Musienko M. M. Minule i suchasne biologichnoj nauki Kiivs'kogo nacional'nogo universitetu imeni Tarasa Shevchenka (1834–2014 rr.) / MusienkoM.M., BacmanovaL.M. // Faktori eksperimental'noj evolucij organizmiv. – 2014. – T. 14. – S. 9-13.
50. Narisi istorij Kiivs'kogo nacional'nogo universitetu imeni Tarasa Shevchenka. K.:Nasha nauka i kul'tura.-2004. – 440 s.
51. Musienko M.M. D.P. Procenko – vidomij vchenij i pedagog (do 100-richchja vid dnja narodzhennja) / Musienko M.M. // Fiziol. i bioh. kul't. rast. – 1999. – 31, № 4. – S.313–316.
52. Akademik UAAN Musienko Mikola Mikolajovich, dijal'nist' / Vidp. red V.A.Vergunov – K.: Agrarna nauka, 2008. – 187 s.
53. M.Musienko. Kiivs'kij derzhavnij universitet – Kiivs'kij ordena Lenina derzhavnij universitet imeni T.G.Shevchenka: stanovlennja i rozvitok biologichnoj osviti i nauki (1959-1988 rr.) / M.Musienko, L.Ostapchenko, N.Taran, L.Bacmanova, V.Storozhenko // Visnik Kiivs'kogo Nacional'nogo Universitetu Imeni Tarasa Shevchenka. Biologija. – 2017. – № 74. – S.7–32.

Надійшла до редколегії 01.10.19

Отримано виправлений варіант 01.11.19

Підписано до друку 01.11.19

Received in the editorial 01.10.19

Received a revised version on 01.11.19

Signed in the press on 01.11.19

Н. Мусиенко, д-р биол. наук, проф., акад. НААН України, Л. Остапченко д-р биол. наук, проф.,
Н. Таран, д-р биол. наук, проф., Л.Бацманова, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ПРОШЛОЕ В НАСТОЯЩЕМ РАДИ БУДУЩЕГО:

ИМПЕРАТОРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ СВЯТОГО ВЛАДИМИРА – КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО: ГЕНЕЗИС АГРАРНОЙ НАУКИ И ОБРАЗОВАНИЯ (1834–2019 гг.)

Приведен исторический очерк развития аграрной науки и образования в Киевском национальном университете имени Тараса Шевченко за период 1834–2019 гг.

Ключевые слова: аграрная наука, образование, история науки.

N. Musienko, Dr.Sci, Prof., acad. National Academy of Agrarian Science of Ukraine,
L. Ostapchenko, Dr.of Biol. Sci, Prof., N. Taran, Dr.of Biol. Sci, Prof., L. Batsmanova Ph. D.
Taras Shevchenko National university of Kyiv, Kyiv, Ukraine

PAST IN THE PRESENT FOR THE FUTURE:

SAINT VLADIMIR EMPEROR'S UNIVERSITY – TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV: THE GENESIS OF AGRARIAN SCIENCE AND EDUCATION (1834–2019)

The historical sketch of agrarian science and education development at the Taras Shevchenko National University of Kyiv for the period 1834–2019 is given.

Keywords: agrarian science, education, history of science

УДК: 616.62-006.6-073

В. Дмитрик, асп., А. Вишевська, студ., І. Прошкіна, студ.,
О. Савчук, д-р біол. наук, П. Яковлев, канд. біол. наук, Т. Андрійчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВМІСТ IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α ТА IFN γ В ПУХЛИНАХ РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА ЗАЛЕЖНО ВІД СТУПЕНЯ ГІСТОЛОГІЧНОЇ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН

Рак сечового міхура (PCM) є дев'ятим за частотою діагностування раком у всьому світі, з найбільшими показниками в розвинених країнах. Близько $\frac{3}{4}$ хворих – чоловіки. Ризик виникнення і розвитку злоякісних захворювань зростає за умов хронічного запалення. Хронічне запалення може бути спричинене інфекціями, автоімунними захворюваннями та іншими чинниками. За умов хронічного запалення цитокіни залучені до набору лейкоцитів за рахунок підсиленої експресії молекул клітинної адгезії та хемоатракції. Цитокіни є головними детермінантами утворення клітинного інфільтрату, клітинної активації та системної відповіді до запалення. Наразі чітко встановлено, що завданням цитокінів є участь у багатьох аспектах біології, включаючи злоякісні новоутворення. Цитокіни можуть бути секретовані не тільки прозапальними клітинами, але й стромальними клітинами та клітинами злоякісних новоутворень, таким чином, налагоджувати мережу з різними факторами, які можуть брати участь у розвитку PCM. Прогресування PCM викликає дисбаланс між локальним і загальним імунітетом. Взаємозв'язок між неопластичними клітинами та їхнім мікрооточенням має важливе значення в проліферації та інвазії злоякісних клітин. Метою даної роботи було визначити вміст цитокінів IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α та IFN γ у тканинах пухлин залежно від ступеня диференціації злоякісних клітин. У нашому дослідженні вміст IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10 був вищий у зразках стінок тканин з раком сечового міхура у пацієнтів з PCM G3-4 ступеня, що може пояснювати високу здатність до інвазії при PCM. Вміст TNF- α , IFN γ достовірно не змінювався залежно від ступеня гістологічної диференціації. Дані нашого дослідження узгоджуються з даними попередніх досліджень, проведених при вивченні інших новоутворень, які вказують про взаємозв'язок досліджуваних показників з розвитком онкологічних захворювань.

Ключові слова: рак сечового міхура, цитокіни, запалення, ELISA

Вступ. Рак сечового міхура (PCM) є дев'ятим за частотою діагностування раком у всьому світі, з найбільшими показниками в розвинених країнах. Близько $\frac{3}{4}$ хворих – чоловіки.

Ризик виникнення та розвитку злоякісних захворювань зростає за умов хронічного запалення [2]. Хронічне запалення може бути спричинене інфекціями, автоімунними захворюваннями та іншими чинниками [13]. За умов хронічного запалення цитокіни залучені до набору лейкоцитів за рахунок підсиленої експресії молекул клітинної адгезії та хемоатракції [16]. Цитокіни беруть участь в запальній відповіді, до прикладу, вони головні детермінанти утворення клітинного інфільтрату, клітинної активації та системної відповіді до запалення.

Прозапальні клітини та цитокіни відіграють ключову роль при PCM. Вперше цитокіни були описані як протеїни, які виділяються задля регулювання різноманітних імунних функцій [7]. Наразі чітко встановлено, що цитокіни відіграють значну роль у розвитку багатьох патологій, включаючи злоякісні новоутворення. Цитокіни можуть бути секретовані не тільки прозапальними клітинами, але й стромальними клітинами та клітинами злоякісних новоутворень, таким чином, налагоджувати мережу з різними факторами, котрі можуть брати участь в розвитку PCM. Прогресування PCM викликає дисбаланс між локальним та загальним імунітетом. Взаємозв'язок між неопластичними клітинами та їх мікрооточенням має важливе значення в проліферації та інвазії злоякісних клітин [20].

Метою даної роботи було визначити вміст цитокінів IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α та IFN γ в тканинах пухлин залежно від ступеня диференціації злоякісних пухлин.

Матеріали та методи. Зразки здорових та патологічних тканин отримані у хворих на PCM. Заключний діагноз ставився після рентгенологічних, ендоскопічних, клінічних методів дослідження з обов'язковою морфологічною верифікацією. У дослідженні брали участь 25 пацієнтів, які були розподілені на 3 групи: група G1-2 становила 14 пацієнтів, група G3-4 складала 11 пацієнтів, в якості контролю використовували здорові стінки сечового міхура.

Гомогенати пухлин сечового міхура були отримані під час операційного втручання. Здорові тканини стінок сечового міхура були отримані за допомогою біопсії, та

були використані в якості контролю. Всі зразки гомогенатів здорових стінок та пухлин були нормалізовані за концентрацією білка 10 мкг/мл, використовуючи метод за Бредфорд [4].

Вміст IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α та IFN γ в гомогенатах тканин пухлин визначали з використанням методу імуноферментного аналізу в модифікації ELISA [8]. Використовували набір первинних та вторинних антитіл виробника SantaCruzBiotechnology, CA, USA. В плашки для імуноферментного аналізу наносили попередньо нормалізовані за концентрацією білка гомогенати тканин здорових стінок та пухлин та залишали на ніч при температурі 4°C. Після промивки, на плашки наносили 5% обезжирене сухе молоко та інкубували протягом 1 год при температурі 37°C, після чого знову промивали. Після інкубації протягом 1 год при 37°C з відповідними первинними антитілами проти відповідних БТШ плашки промивали та інкубувалися протягом 1 год при 37°C з відповідними вторинними антитілами конюгованими з пероксидазою хрому. Після чергової промивки були додані субстрати до пероксидази хрому. Реакцію зупиняли додаванням 2.5 N H₂SO₄. Показники оптичної щільності отримували за допомогою відповідного рідера для мікроплашок (μ QuantTM, BioTekInstruments, Inc) при довжині хвилі – 492 нм.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми SPSS.

Результати та обговорення. Запалення розглядається як основний фактор в утворенні та прогресуванні злоякісних захворювань. Загальноприйнятим є твердження, що взаємодія між раковими клітинами та їхнім мікрооточенням впливає на ріст та метастазування злоякісних пухлин. Мікрооточення злоякісних новоутворень є складною системою, яка включає в себе багато факторів та типів клітин, може різнитися між різними видами, ступенем диференціації та стадією ракових захворювань [19]. Пухлинне мікрооточення разом з окремими імунними клітинами відіграють ключову роль в прогресуванні PCM [15].

Хронічне прозапальне мікрооточення злоякісних новоутворень характеризується присутністю прозапальних клітин (макрофагів, мієлоїдно-похідних супресорних

клітин, регуляторних Т-клітин, дендритних клітин, тучних клітин, нейтрофілів та лімфоцитів) та цитокінів.

Цитокин IL-1 відіграє центральну роль при гострому та хронічному запаленні, при чому як локально так і системно. Первинно IL-1 продукується моноцитами та макрофагами, але астроцити, ендотеліальні клітини, Т-клітини та фібробласти також здатні продукувати IL-1. Інфільтровані Т-клітини секретиють IL-1 який залучає

ще більше Т-клітин в мікрооточення пухлини та посилює сигнали андрогенного рецептора (AR), що призводить до посилення інвазії клітин РСМ шляхом регуляції експресії HIF1A (фактор, який індукується гіпоксією) / VEGF (ендотеліальний фактор росту судин). У дослідженнях Тао та ін. [15] показано, що переривання сигналів IL-1 → AR → HIF1A → VEGF інгібіторами HIF1A або VEGF частково обмежує інвазію клітин РСМ [15].

Таблиця 1. Вміст IL-1 у тканинах пухлин РСМ відповідно до ступеня гістопатологічної диференціації порівняно з тканинами здорових стінок сечового міхура

Група	Вміст IL-1 (у.о./мл)
Контроль	0.156±0.011
G1-2	0.254±0.047*
G3-4	0.459±0.131*

Для контролю M±m, n=10; для G1-2 M±m, n=14; для G3-4 M±m, n=11; * – p < 0.05 достовірно відносно значень контролю.

У ході нашого дослідження вміст IL-1 був достовірно збільшений у тканинах РСМ порівняно з зразками гомогенатів здорових стінок сечового міхура (табл. 1). Відмічене збільшення в 1,63 рази у групі G1-2 та майже в 3 рази у групі G3-4 порівняно до показників в здорових стінках сечового міхура.

IL-4 є плейотропним цитокином, який найчастіше продукується Th2-поляризованим Т-клітинами, тучними клітинами та базофілами. IL-4 впливає на широке коло мішеней, включаючи гематопоетичні, ендотеліальні та злоякісні клітини [6]. Ракові клітини можуть синтезувати IL-4 та його рецептори для забезпечення прогресування злоякісних новоутворень, включаючи РСМ.

Таблиця 2. Вміст IL-4 у тканинах пухлин РСМ відповідно до ступеня гістопатологічної диференціації порівняно з тканинами здорових стінок сечового міхура

Група	Вміст IL-4 (у.о./мл)
Контроль	0.136±0.005
G1-2	0.134±0.019
G3-4	0.289±0.080*

Для контролю M±m, n=10; для G1-2 M±m, n=14; для G3-4 M±m, n=11; * – p < 0.05 достовірно відносно значень контролю.

Нами досліджено достовірне збільшення вмісту IL-4 в 2,12 рази в тканинах РСМ з ступенем диференціації клітин G3-4 порівняно з значеннями в здорових стінках сечового міхура, тоді як значення в групі G1-2 не відрізнялися від контрольних (Таблиця 2).

IL-6 один з цитокінів які відіграють важливу роль у клітинній фізіології [1]. IL-6 характеризується значним впливом на В-клітини, тим самим стимулює диференціацію та секрецію антитіл. Регуляція імунної системи також піддається значному впливу IL-6 через проліфе-

рацію та активацію цитотоксичних Т-клітин та продукування протеїнів гострої фази. Значною мірою IL-6 продукують макрофаги та моноцити, але IL-6 може бути секретовано фібробластами, ендотеліальними клітинами Т-, В-лімфоцитами та хондроцитами [9]. Підвищена секреція IL-6 може забезпечувати селективний ріст епітеліальних клітин РСМ у дослідях в тваринній моделі з введенням канцерогену N-Нітрозо-N-метилсечовиною [14, 21]. Зміна вмісту IL-6 може бути пов'язана з метастазуванням [11].

Таблиця 3. Вміст IL-6 у тканинах пухлин РСМ відповідно до ступеня гістопатологічної диференціації порівняно з тканинами здорових стінок сечового міхура

Група	Вміст IL-6 (у.о./мл)
Контроль	0.280±0.013
G1-2	0.331±0.063
G3-4	0.540±0.130*

Для контролю M±m, n=10; для G1-2 M±m, n=14; для G3-4 M±m, n=11; * – p < 0.05 достовірно відносно значень контролю.

Нами було відмічене достовірне збільшення вмісту IL-6 в гомогенатах клітин РСМ зі ступенем диференціації G3-4 порівняно з контролем. Вміст IL-6 у гомогенатах стінок РСМ був вищим у 1,18 разів для групи G1-2 та достовірно вищим в 1,93 рази для групи G3-4 в порівняно з показниками у гомогенатах здорових стінок сечового міхура[5].

IL-10 може бути секретовано багатьма типами клітин, включаючи макрофаги та Th2 клітини. IL-10 є

плейотропним цитокином який функціонує як позитивний або негативний медіатор вродженого та набутого імунітету [12].

В ході нашого дослідження було відмічене достовірне підвищення вмісту IL-10 в гомогенатах тканин РСМ з ступенем диференціації G3-4 в 1.55 рази порівняно з показниками в здорових тканинах стінки сечового міхура (Таблиця 4).

Таблиця 4. Вміст IL-10 у тканинах пухлин РСМ відповідно до ступеня гістопатологічної диференціації порівняно з тканинами здорових стінок сечового міхура

Група	Вміст IL-10 (у.о./мл)
Контроль	0.263±0.035
G1-2	0.277±0.059
G3-4	0.407±0.064*

Для контролю M±m, n=10; для G1-2 M±m, n=14; для G3-4 M±m, n=11; * – p < 0.05 достовірно відносно значень контролю.

Фактор некрозу пухлин TNF- α є багатфункціональним цитокином який відіграє важливу роль в багатьох клітинних процесах залучених у виживанні, проліферації, диференціації та клітинній гибелі. Оскільки TNF- α є прозапальним цитокином, то його секретують прозапальні клітини, котрі можуть бути залучені до канцерогенезу асоційованого з запаленням. Свої біологічні функції TNF- α виконує шляхом активації різних сигнальних шляхів, до прикладу, через ядерний фактор NF- κ B та c-

JunN – кінцеву кіназу (JNK). NF- κ B є анти-апоптозним, в той час коли стала активація JNK призводить до клітинної гибелі. У випадку злویкісних новоутворень TNF- α може бути подвійним гравцем. З одного боку, TNF- α може бути ендogenous промотором пухлин, так як стимулює ріст, проліферацію, інвазію та метастазування, ангіогенез при злویкісних новоутвореннях. З іншого боку, TNF- α може брати участь у боротьбі з новоутвореннями індукуючи гибель трансформованих клітин [19].

Таблиця 5. Вміст TNF- α у тканинах пухлин РСМ відповідно до ступеня гістопатологічної диференціації порівняно з тканинами здорових стінок сечового міхура

Група	Вміст TNF- α (y.o./мл)
Контроль	0.338 $\pm$ 0.025
G1-2	0.328 $\pm$ 0.070
G3-4	0.414 $\pm$ 0.125

Для контролю M $\pm$ m, n=10; для G1-2 M $\pm$ m, n=14; для G3-4 M $\pm$ m, n=11; * – p < 0.05 достовірно відносно значень контролю.

У нашому дослідженні вміст TNF- α був недостовірно підвищений у групі G3-G4 в 1,23 раза порівняно до значень у здорових стінках сечового міхура.

IFN- γ володіє протираковими властивостями, зниження вмісту IFN- γ пов'язують з поганим подальшим прогнозом при інших злویкісних захворюваннях [3, 10, 17].

Таблиця 6. Вміст IFN γ у тканинах пухлин РСМ відповідно до ступеня гістопатологічної диференціації порівняно з тканинами здорових стінок сечового міхура

Група	Вміст IFN γ (y.o./мл)
Контроль	0.417 $\pm$ 0.037
G1-2	0.409 $\pm$ 0.130
G3-4	0.354 $\pm$ 0.080

Для контролю M $\pm$ m, n=10; для G1-2 M $\pm$ m, n=14; для G3-4 M $\pm$ m, n=11; * – p < 0.05 достовірно відносно значень контролю.

Вміст IFN γ у тканинах пухлин РСМ був недостовірно нижчим у 1,18 раза в групі G3-4 порівняно зі значеннями в здорових стінках сечового міхура. Достовірних змін залежності вмісту IFN γ в тканинах пухлин не виявлено.

Висновки. Вміст IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10 був вищий у зразках стінок тканин з раком сечового міхура у пацієнтів з РСМ G3-4 ступеня, що є характеристикою запалення та може пояснювати високу здатність до розвитку та інвазії РСМ. Вміст TNF- α , IFN γ достовірно не змінювався залежно від ступеня гістологічної диференціації. Дані нашого дослідження узгоджуються з даними попередніх досліджень, проведених при вивченні інших новоутворень, які вказують про взаємозв'язок досліджуваних показників з розвитком онкологічних захворювань.

Список використаних джерел:

1. Serum Th1 and Th2 cytokine balance in patients of superficial transitional cell carcinoma of bladder pre- and post-intravesical combination immunotherapy / A. Agarwal, U. Agrawal, S. Verma et al. // Immunopharmacol Immunotoxicol, 2010. – 32. – С. 348–56.
2. Biswas S. K. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm / S. K. Biswas, A. Mantovani // Nat. Immunol., 2010. – № 11. – С. 889–896.
3. Molecular characterisation of breast cancer patients at high and low recurrence risk / S. Bonin, D. Brunetti, E. Benedetti et al. // Virchows Arch., 2008. – № 452. – С. 241–250.
4. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // 1. – 1976. – № 72. – С. 248–254.
5. IL-6 expression regulates tumorigenicity and correlates with prognosis in bladder cancer / M. F. Chen, P. Y. Lin, C. F. Wu et al. // PLoS One, 2016. – № 11. – С. e0155774.
6. Clinical investigation of the role of interleukin-4 and interleukin-13 in the evolution of prostate cancer / R. Goldstein, C. Hanley, J. Morris et al. // Cancers (Basel), 2011. – № 3. – С. 4281–4293.
7. Grivennikov S. I. Inflammatory cytokines in cancer: Tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage / S. I. Grivennikov, M. Karin // Ann Rheum Dis., 2011. – № 70. – С. 104–108.
8. Plasma levels of MMPs and TIMP-1 in urinary bladder cancer patients / T.V. Ishchuk, D. Glavachek, O.M. Savchuk et al. // Biomedical Research and Therapy, 2018. – № 5. – С. 1931–1940.
9. Kishimoto T. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine / T. Kishimoto // Arthritis Res Ther., 2006. – № 8. – С. S2.

10. Association of decreased NK cell activity and IFN γ expression with pSTAT dysregulation in breast cancer patients / G. Konjevic, S. Radenkovic, T. Srdic et al. // J BUON., 2011. – № 16. – С. 219–226.

11. Preliminary Analysis of the Expression of Selected Proangiogenic and Antioxidant Genes and MicroRNAs in Patients with Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer / M. Kozakowska, B. Dobrowolska-Glazar, K. Okoń et al. // J. Clin Med., 2016. – № 5. – С. 29.

12. Regulation of adaptive immunity: the role of interleukin-10 / T.H. Ng, G.J. Britton, E.V. Hill et al. // Front Immunol., 2013. – № 4. – С. 129.

13. Okada F. Inflammation-related carcinogenesis: current findings in epidemiological trends, causes and mechanisms / Okada // Yonago Acta Med., 2014. – № 57. – С. 65–72.

14. Okamoto M. Interleukin-6 as a paracrine and autocrine growth factor in human prostatic carcinoma cells *in vitro* / M. Okamoto, C. Lee, R. Oyasu // Cancer Res., 1997. – № 57. – С. 141–146.

15. Cells Promote Bladder Cancer Progression via Increasing IL1 $\rightarrow$ Androgen Receptor $\rightarrow$ HIF1 α $\rightarrow$ VEGF α Signals / L. Tao, J. Qiu, M. Jiang et al. // Mol. Cancer Ther., 2016. – № 15. – С. 1943–1951.

16. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease / M. Turner, B. Nedjai, T. Hurst et al. // Biochim. Biophys. Acta., 2014. – № 1843. – С. 2563–2582.

17. Immune cell dysfunctions in breast cancer patients detected through whole blood multi-parametric flow cytometry assay. / E. Verronèse, A. Delgado, J. Valladeau-Guilemond et al. // Oncoimmunology, 2016. – № 5. – С. e1100791.

18. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis / M. Wang, J. Zhao, L. Zhang et al. // J. Cancer., 2017. – № 8. – С. 761–773.

19. Wang X. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes? / X. Wang, Y. Lin // Acta Pharmacol. Sin., 2008. – № 29. – С. 1275–1288.

20. Role of the tumor microenvironment in regulating apoptosis and cancer progression / K. Yaacoub, R. Pedoux, K. Tarte et al. // Cancer. Lett., 2016. – № 378. – С. 150–159.

21. *Ex vivo* culture of tumor cells from N-methyl-N-nitrosourea-induced bladder cancer in rats: Development of organoids and an immortalized cell line / T. Yoshida, M. Kates, N. A. Sopko et al. // Urol. Oncol., 2017. – С. S1078–143930618–X.

Reference (Scopus):

1. Agarwal A, Agrawal U, Verma S. et al. Serum Th1 and Th2 cytokine balance in patients of superficial transitional cell carcinoma of bladder pre- and post-intravesical combination immunotherapy. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2010; 32:348–56
2. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. NatImmunol. 2010; 11:889–896. [PubMed: 2085622]
3. Bonin S, Brunetti D, Benedetti E, Dotti I, Gorji N, Stanta G. Molecular characterisation of breast cancer patients at high and low recurrence risk. Virchows Arch. 2008;452(3):241–250.

4. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. // 1. Bradford. // 1. – 1976. – № 72. – С. 248–254.
5. Chen MF, Lin PY, Wu CF, Chen WC, Wu CT. IL-6 expression regulates tumorigenicity and correlates with prognosis in bladder cancer [published correction appear in PLoSOne. 2016;11(5):e0155774]. PLoSOne. 2013;8(4):e61901. Published 2013 Apr 30. doi:10.1371/journal.pone.0061901
6. Goldstein R, Hanley C, Morris J, et al. Clinical investigation of the role of interleukin-4 and interleukin-13 in the evolution of prostate cancer. Cancers (Basel). 2011; 3:4281–4293.
7. Grivennikov SI, Karin M. Inflammatory cytokines in cancer: Tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. Ann Rheum Dis. 2011;70(Suppl 1):i104–i108. doi: 10.1136/ard.2010.140145.
8. Ishchuk T.V. Plasma levels of MMPs and TIMP-1 in urinary bladder cancer patients. / [T. V. Ishchuk, D. Glavachek, O. M. Savchuk та ін.]. // Biomedical Research and Therapy. – 2018. – № 5. – С. 1931–1940.
9. Kishimoto T. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. Arthritis Res Ther. 2006;8 Suppl 2: S2.
10. Konjevic G, Radenkovic S, Srdic T, Jurisic V, Stamatovic LJ, Milovic M. Association of decreased NK cell activity and IFN γ expression with pSTAT dysregulation in breast cancer patients. J BUON. 2011;16(2):219-226
11. Kozakowska M, Dobrowolska-Glazar B, Okoń K, et al. Preliminary Analysis of the Expression of Selected Proangiogenic and Antioxidant Genes and MicroRNAs in Patients with Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer. J Clin Med. 2016;5(3):29. Published 2016 Feb 25. doi:10.3390/jcm5030029
12. Ng TH, Britton GJ, Hill EV, et al. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10. Front Immunol. 2013; 4:129. Published 2013 May 31. doi:10.3389/fimmu.2013.00129
13. Okada F. Inflammation-related carcinogenesis: current findings in epidemiological trends, causes and mechanisms. YonagoActa Med. 2014;57(2):65-72.
14. Okamoto M, Lee C, Oyasu R. Interleukin-6 as a paracrine and autocrine growth factor in human prostatic carcinoma cells in vitro. Cancer Res. 1997;57(1):141–146.
15. Tao L, Qiu J, Jiang M, et al. Infiltrating T Cells Promote Bladder Cancer Progression via Increasing IL1 $\rightarrow$ Androgen Receptor $\rightarrow$ HIF1 α $\rightarrow$ VEGF α Signals. MolCancerTher. 2016;15(8):1943–1951. doi:10.1158/1535-7163.MCT-15-0306
16. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. Biochim Biophys Acta. 2014; 1843: 2563–2582
17. Verronè E, Delgado A, Valladeau-Guilemond J, Garin G, Guillemaut S, Tredan O. Immune cell dysfunctions in breast cancer patients detected through whole blood multi-parametric flow cytometry assay. Oncoimmunology. 2016;5(3):e1100791. doi:10.1080/2162402X.2015.1100791.
18. Wang M, Zhao J, Zhang L, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. J Cancer. 2017;8(5):761-773. Published 2017 Feb 25. doi:10.7150/jca.17648
19. Wang X, Lin Y. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes?. Acta Pharmacol Sin. 2008;29(11):1275–1288. doi:10.1111/j.1745-7254.2008.00889.x
20. Yaacoub K, Pedoux R, Tarte K, Guillaudeux T. Role of the tumor microenvironment in regulating apoptosis and cancer progression. Cancer Lett. 2016;378(2):150-159. doi:10.1016/j.canlet.2016.05.012.
21. Yoshida, Takahiro&Kates, Max&Sopko, Nikolai&Liu, Xiaopu&Singh, Alok& R. Bishai, William&Joice, Gregory& J. McConkey, David& J. Bivalacqua, Trinity. (2017). Ex vivo culture of tumor cells from N-methyl-N-nitrosourea-induced bladder cancerin rats: Development of organoids and immortalized cellline. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations. 36. 10.1016/j.urolonc.2017.11.024.

Надійшла до редколегії 01.10.19
Отримано виправлений варіант 01.11.19
Підписано до друку 01.11.19

Received in the editorial 01.10.19
Received a revised version on 01.11.19
Signed in the press on 01.11.19

В. Дмитрик, асп., А. Вишевская, студ., И. Прошкина, студ., А. Савчук, д-р биол. наук,
П. Яковлев, канд. мед. наук, Т. Андрийчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

СОДЕРЖАНИЕ IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α И IFN γ В ОПУХОЛЯХ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Рак мочевого пузыря (РМП) является девятым по частоте диагностирования раком во всем мире, с наибольшими показателями в развитых странах. Около ¾ больных – мужчины. Риск возникновения и развития злокачественных заболеваний возрастает в условиях хронического воспаления. Хроническое воспаление может быть вызвано инфекциями, аутоиммунными заболеваниями и другими факторами. В условиях хронического воспаления цитокины вовлечены к набору лейкоцитов за счет усиленной экспрессии молекул клеточной адгезии и хемоаттракции. Цитокины участвуют в воспалительном ответе, к примеру, они главные детерминанты образования клеточного инфильтрата, клеточной активации и системного ответа к воспалению. На сегодня четко установлено, что задачей цитокинов является участие во многих аспектах биологии, включая злокачественные новообразования. Цитокины могут быть секретируемы не только провоспалительными клетками, но и стромальными клетками и клетками злокачественных новообразований, таким образом, налаживая сеть с различными факторами, которые могут участвовать в развитии РМП. Прогрессирование РМП вызывает дисбаланс между локальным и общим иммунитетом. Взаимосвязь между неопластическими клетками и их микроокружением имеет важное значение в пролиферации и инвазии злокачественных клеток. Целью данной работы было определить содержание цитокинов IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α и IFN γ в тканях опухолей в зависимости от степени дифференциации злокачественных клеток. В нашем исследовании содержание IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10 было выше в образцах стенок тканей с раком мочевого пузыря у пациентов с РМП G3-4 степени, что может быть важной характеристикой злокачественных клеток при РСМ, и объяснять высокую способность к инвазии при РМП. Содержание TNF- α , IFN γ достоверно не менялся в зависимости от степени гистологической дифференциации. Данные нашего исследования соотносятся с данными предыдущих исследований, проведенных при изучении других новообразований, которые указывают о взаимосвязи исследуемых показателей с развитием онкологических заболеваний.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, цитокины, воспаление, ELISA.

V. Dmytryk, Ph. D. stud., A. Vyshenska, stud., I. Proshkina, stud., O. Savchuk, Dr. Sci.,
P. Yakovlev, Ph. D., T. Andriichuk, Dr. Sci.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE CONTENT OF IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α AND IFN γ IN BLADDER CANCER DEPEND BY A TUMOR GRADE

Bladder cancer (BC) is the 9th most commonly diagnosed cancer worldwide, with the highest rates in developed countries. About ¾ of the patients are men. The risk of developing of malignancies increases with chronic inflammation. Chronic inflammation can be caused by infections, autoimmune diseases and other factors. In conditions of chronic inflammation, cytokines are involved in leukocyte recruitment due to enhanced expression of cell adhesion molecules and chemoattraction. Cytokines are involved in the inflammatory response, for example, they are the main determinants of cellular infiltration, cellular activation and systemic response to inflammation. It is now well established that the role of cytokines is to participate in many aspects of biology, including malignancies. Cytokines can be secreted not only by proinflammatory cells but also by stromal cells and malignant cells, thus establishing a network with various factors that may be involved in the development of BC. The progression of BC causes an imbalance between local and general immunity. The relationship between neoplastic cells and their microenvironment is essential in the proliferation and invasion of malignant cells. The purpose of this work was to determine the content of cytokines IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α and IFN γ in tumor tissues, depending on the grade of cell differentiation. In our study the content of IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10 was higher in the wall samples of bladder cancer tissues in patients with G3-4 grade BC, which may be an important characteristic of malignant cells in BC, and explain the high invasiveness of BC. The content of TNF- α , IFN γ did not significantly change depending on grade. The data of our study are consistent with the data of previous studies conducted in the study of other neoplasms, which indicate the relationship of the studied indicators with the development of cancer.

Key words: bladder cancer, cytokines, inflammation, ELISA.

УДК 57.084:615.357

І. Варенюк, канд. біол. наук, доц.,
Н. Шевчук, студ., Н. Рослова, інж.,
М. Дзержинський, д-р біол. наук, проф.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ У ТОВСТІЙ КИШЦІ ЩУРІВ ПРИ ОЖИРІННІ ТА ПРИ ЙОГО КОРЕКЦІЇ РАНКОВИМИ ТА ВЕЧІРНІМИ ВВЕДЕННЯМИ МЕЛАТОНІНУ

Вивчено вплив ранкового та вечірнього введення мелатоніну на структурно-функціональні зміни у товстій кишці щурів з ожирінням за умов весняно-осіннього фотоперіоду (12L:12D). Для цього у частини тварин викликали ожиріння висококалорійною дієтою впродовж шести тижнів, після чого нормальним тваринам і тваринам з ожирінням вранці або ввечері давали мелатонін у дозі 30 мг/кг протягом семи тижнів. Через 13 тижнів брали два зразки товстої кишки по 1 см кожен на відстані 3 см від анального отвору; фіксували їх у 10 % формаліні та у фіксаторі Карнуа; виготовляли парафінові зрізи товстої кишки; забарвлювали їх гематоксиліном-еозином, альціановим синім-карміном або толуюдиновим синім; проводили їхній мікроскопічний і морфометричний аналіз. Показано, що при ожирінні спостерігається гіперактивація слизової оболонки товстої кишки, редукція і зменшення активності колоноцитів, гіпертрофія слизових келихоподібних клітин та надмірна акумуляція гранул у тучних клітинах. Ранкове введення мелатоніну жирним щурам нормалізує стан слизової оболонки, послаблює редукцію колоноцитів, проте викликає гіпотрофію келихоподібних клітин. Вечірнє введення мелатоніну значно послаблює редукцію колоноцитів, проте не усуває інших змін, викликаних ожирінням. При цьому введення мелатоніну (і ранкове, і вечірнє) тваринам без ожиріння викликає активацію слизової оболонки товстої кишки, гіпертрофію келихоподібних клітин, зменшення активності колоноцитів і не змінює стан тучних клітин. Отже, не можна зробити однозначного висновку про можливість корекції мелатоніном всіх структурно-функціональних змін у товстій кишці, викликаних ожирінням. Хоча ранкове введення мелатоніну мало певний нормалізуючий вплив на товсту кишку і було більш ефективним, ніж вечірнє введення.

Ключові слова: мелатонін, ожиріння, товста кишка.

Вступ. За даними ВООЗ на 2017 рік у світі нараховується близько 2 млрд людей з надлишковою масою тіла і 1 млрд з ожирінням [17]. Це серйозно погіршує стан здоров'я таких людей і є великою біомедичною проблемою практично для кожної країни.

Однією з систем організму, яка зазнає відчутного впливу при розвитку ожиріння, є травна система. При ожирінні часто виникає запальна реакція в кишківнику, порушується склад мікробіоти [15, 7] і послаблюється моторика. Зміна концентрації коротколанцюгових жирних кислот, у продукції яких приймають участь мікроорганізми, впливає на процеси ожиріння [9]. На кількісний та якісний склад мікробіоти може впливати мелатонін [19]. Також показано, що посилення моторики у кишківнику після вживання їжі є коротшим в темну фазу доби, ніж у світлу фазу, і цей час подовжується у тварин, попередньо оброблених антагоністами мелатоніну. Ендогенний мелатонін може модулювати моторику кишківника для координації кишкових функцій, таких як травлення і транзит їжі, і в такий спосіб контролювати метаболізм тварини [4].

У людей з ожирінням було виявлено низький рівень мелатоніну та порушення добової динаміки його синтезу [6]. Наприклад, дієта з високим вмістом жирів викликає зміну часу експресії генів в передньому гіпофізі щурів і зменшення концентрації нічного мелатоніну [1]. Саме тому в ряді робіт шляхом введення мелатоніну або його агоністів намагалися нормалізувати різні структурні та функціональні показники, що порушуються при розвитку ожиріння [1, 2, 8, 10, 11, 12, 13]. Було показано, що мелатонін може за рахунок різних механізмів мобілізувати жирові запаси та знижувати вагу тіла [1, 2, 16]. Дослідження на тваринах продемонстрували, що мелатонін регулює внутрішній біологічний годинник і енергетичний обмін, особливо в жировій тканині [16]. Так, в жировій тканині мелатонін безпосередньо активує рецептори в адипоцитах [4, 16], регулює синтез адипонектину і лептину, а також змінює чутливість адипоцитів до інсуліну [16]. Відсутність мелатоніну скасовує щоденний шаблон експресії часових генів (Clock, Crg1 і Per2), що призводить до зниження рівнів лептину [3]. Дефіцит мелатоніну зменшує циркадну динаміку виділення ліпогенних ферментів. Високі дози мелатоніну викликають перетворення білої жирової тканини в

бежеву [18]. Згідно з даними останніх досліджень, регулярне введення мелатоніну не тільки сприяє появі бежевого жиру у діабетичних щурів з ожирінням, але і збільшує його кількість у худих тварин з контрольної групи [5]. На сьогодні відновлення нормального рівня мелатоніну та нормалізація сну стають невід'ємною частиною комплексної патогенетичної терапії таких широко поширених метаболічних порушень, як ожиріння, інсулінорезистентність, цукровий діабет 2-го типу та метаболічний синдром [1, 2, 10, 12, 13].

Проте мелатонін у вищенаведених дослідженнях вводився переважно ввечері або давався перорально протягом деякого періоду доби. Разом з тим, зважаючи на існування добового біоритму синтезу мелатоніну можна очікувати, що його ефекти при введенні в різний час доби будуть відрізнятися. Крім того, варто враховувати тривалість фотоперіоду, адже середньодобова концентрація мелатоніну відрізняється залежно від тривалості дня і ночі. Вплив фотоперіоду на процеси ожиріння був, наприклад, показаний для сибірських хом'ячків [14]. Саме тому виникає необхідність проведення досліджень для визначення характеру впливу мелатоніну на товсту кишку при ожирінні та оцінки ефективності його впливу при різних термінах введення цього гормону та при різній тривалості фотоперіоду.

Матеріали та методи: Дослідження були проведені на самцях білих нелінійних щурів вагою 100-120 г на початок експерименту. Тварин утримували в стандартних умовах. Їжа та вода ad libitum. Фотоперіод становив 12L:12D (світловий період з 7:00 до 19:00). Контрольній групі протягом 13 тижнів давали стандартний комбікорм для щурів (калорійність – 3,81 ккал/г). Другій групі викликали ожиріння висококалорійною дієтою (склад: стандартний комбікорм для щурів – 60%, свинячий жир – 10%, курячі яйця – 10%, цукор – 9%, арахіс – 5%, сухе молоко – 5%, соняшникова олія – 1%; калорійність – 5,35 ккал/г) впродовж 6 тижнів та продовжували давати цю ж дієту впродовж ще 7 тижнів. Третій групі, яка споживала стандартну їжу, починаючи з 7 тижня протягом 7 тижнів вранці о 8:00 (через 1 год. після початку світлового періоду доби) вводили перорально мелатонін у дозі 30 мг/кг. Четвертій групі викликали ожиріння висококалорійною дієтою впродовж 6 тижнів; після цього протягом 7 тижнів вранці о 8:00 вводили перорально

мелатонін у дозі 30 мг/кг, продовжучи годування висококалорійною дієтою. П'ятій групі, яка споживала стандартну їжу, починаючи з 7 тижня протягом 7 тижнів ввечері о 18:00 (за 1 год. до закінчення світлового періоду доби) вводили перорально мелатонін у дозі 30 мг/кг. Шостій групі викликали ожиріння висококалорійною дієтою впродовж 6 тижнів; після цього протягом 7 тижнів ввечері вводили перорально мелатонін у дозі 30 мг/кг, при цьому продовжучи годування висококалорійною дієтою.

Через 13 тижнів від початку експерименту була проведена аутопсія. Для гістологічних досліджень було взято два зразки товстої кишки по 1 см кожен на відстані 3 см від анального отвору. Зразки фіксували у 10 % формаліні та у фіксаторі Карнуа (по 1 зразку в кожен фіксатор). Далі матеріал заливали у парафін за загальноприйнятою методикою. Потім виготовляли поперечні зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи, отримані з матеріалу, фіксованого у формаліні, забарвлювали гематоксиліном Бемера та еозином. Ці зрізи аналізували під мікроскопом з метою виявлення загальних морфологічних змін. Також на цих зрізах вимірювали такі морфометричні параметри: товщина слизової оболонки, глибина крипт, висота колоноцитів крипт, площа перерізу ядер колоноцитів крипт. Зрізи, отримані з матеріалу, фіксованого у фіксаторі Карнуа, забарвлювали альціановим синім з дофарбуванням карміном. На цих зрізах вимірювали площу поперечного перерізу келихоподібних клітин у криптах. Також зрізи, отримані з матеріалу, фіксованого у фіксаторі Карнуа, забарвлювали толуїдиновим синім. На цих зрізах підраховували кількість гранул у тучних клітинах слизової оболонки та підслизової основи.

Статистичну обробку морфометричних результатів проводили методами варіаційної статистики. Підраховували середнє арифметичне та похибку середнього арифметичного. Визначали достовірність різниці між контрольною групою та кожною дослідною групою. Крім того, порівнювали групу тварин з ожирінням, що отримували курс мелатоніну; з групою щурів з ожирінням, які не отримували мелатонін; а також, – з групою щурів без ожиріння, що отримувала курс мелатоніну в той самий час доби. Достовірність різниці між порівнюваними групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення: У щурів контрольної групи товста кишка має нормальну гістологічну будову, типову для даного органу (рис. 1, табл. 1). Стовбчасті епітеліоцити (колоноцити), слизові келихоподібні клітини, тучні клітини мають нормальну цитологічну структуру (рис. 2, рис. 3). Жодних патологічних відхилень від норми не виявлено.

Ожиріння викликає гіперактивацію слизової оболонки товстої кишки, яка супроводжується зростанням товщини слизової оболонки та зростанням глибини крипт (рис. 1, табл. 1). При цьому зменшується висота колоноцитів та площа перерізів їхніх ядер, що є свідченням редукції та зменшення активності цих клітин. Також спостерігається гіпертрофія слизових келихоподібних клітин, що говорить про сильне зростання активності цих клітин, а значить і збільшення продукції ними слизу (рис. 2, табл. 1). Кількість гранул у тучних клітинах є значно вищою, ніж у контрольних тварин (тобто, спостерігається гіперакумуляція гранул) (рис. 3, табл. 1). Отже, ожиріння викликає відчутні структурно-функціональні зміни в товстому кишечнику.

Таблиця 1. Морфометричні показники товстої кишки щурів при ожирінні та після введення мелатоніну в різний час доби

Експериментальні групи	Товщина слизової оболонки, мкм	Глибина крипт, мкм	Висота колоноцитів, мкм	Площа перетину ядер колоноцитів, мкм ²	Площа перетину келихоподібних клітин, мкм ²	Кількість гранул у тучних клітинах, шт. на 1 клітину
контроль	260±5	245±5	21,9±0,3	29,0±0,8	55,6±1,4	23,2±1,2
ожиріння	297±4*	268±4*	16,8±0,2*	27,3±0,5	68,4±2,7*	38,9±2,2*
мелатонін – вранці	326±4*	298±3*	15,7±0,3*	25,4±0,6*	61,9±1,5*	21,7±1,7
мелатонін – вранці + ожиріння	270±6^#	238±4^#	14,5±0,2*^#	27,9±0,6#	40,8±1,3*^#	36,8±2,3*#
мелатонін – ввечері	305±4*	271±4*	16,4±0,2*	26,0±0,5*	62,8±1,5*	26,8±2,3
мелатонін – ввечері + ожиріння	301±5*	220±3*^#	19,0±0,3*^#	28,2±0,5#	42,0±1,4*^#	34,0±2,3*#

* – P<0,05 (порівняно з контрольною групою тварин);

^ – P<0,05 (порівняно з тваринами з ожирінням);

– P<0,05 (порівняно з тваринами, яким вводився мелатонін у той самий час доби).

Як ранкове, так і вечірнє введення мелатоніну веде до зростання товщини слизової оболонки та глибини крипт, зменшення висоти колоноцитів та площі їх ядер, зростання площі перерізу келихоподібних клітин (табл. 1). Кількість гранул у тучних клітинах достовірних відмінностей від контрольної групи не має (рис. 3, табл. 1). Отже, введення мелатоніну (і ранкове, і вечірнє) викликає активацію слизової оболонки товстої кишки та гіпертрофію келихоподібних клітин з одночасним зменшенням активності колоноцитів (рис. 1, рис. 2).

Ранкове введення мелатоніну тваринам з ожирінням запобігає зростанню товщини слизової оболонки та

глибини крипт товстої кишки, тобто, нормалізує її стан. У колоноцитів висота клітин залишається зменшеною. Проте площа перетину їхніх ядер не є зменшеною, як у жирних тварин, а достовірно від контрольних значень не відрізняється (рис. 1, табл. 1). Тобто, можна говорити про деяке послаблення атрофічних змін цих клітин, викликаних ожирінням. Але при цьому спостерігається гіпертрофія келихоподібних клітин (рис. 2). Окрім того, подібно до тварин з ожирінням спостерігається гіперакумуляція гранул у тучних клітинах (рис. 3).

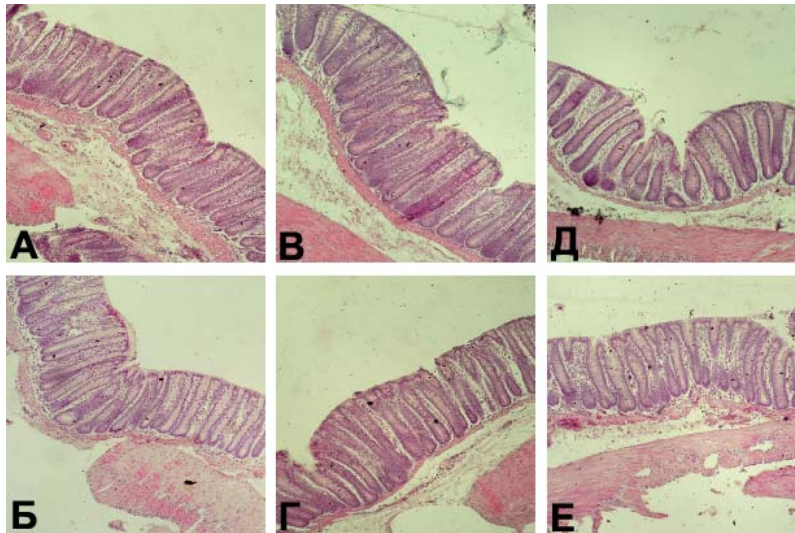


Рис. 1. Стан слизової оболонки товстої кишки в різних експериментальних групах:
 А – контроль; Б – ожиріння; В – мелатонін вранці; Г – мелатонін ввечері; Д – мелатонін вранці + ожиріння;
 Е – мелатонін ввечері + ожиріння. Забарвлення гематоксилином Бейера та еозином. Збільшення: об. $\times 10$, ок. $\times 10$

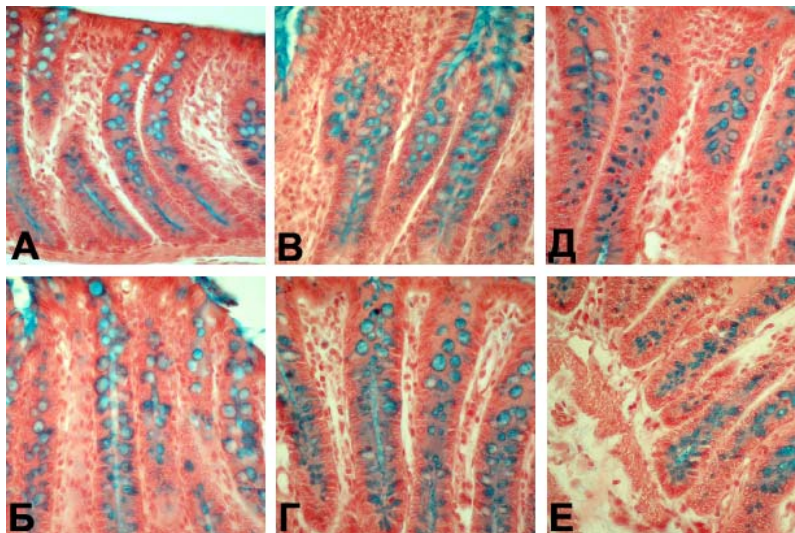


Рис. 2. Келихоподібні клітини товстої кишки в різних експериментальних групах:
 А – контроль; Б – ожиріння; В – мелатонін вранці; Г – мелатонін ввечері; Д – мелатонін вранці + ожиріння;
 Е – мелатонін ввечері + ожиріння. Забарвлення альціановим синім та карміном. Збільшення: об. $\times 40$, ок. $\times 10$

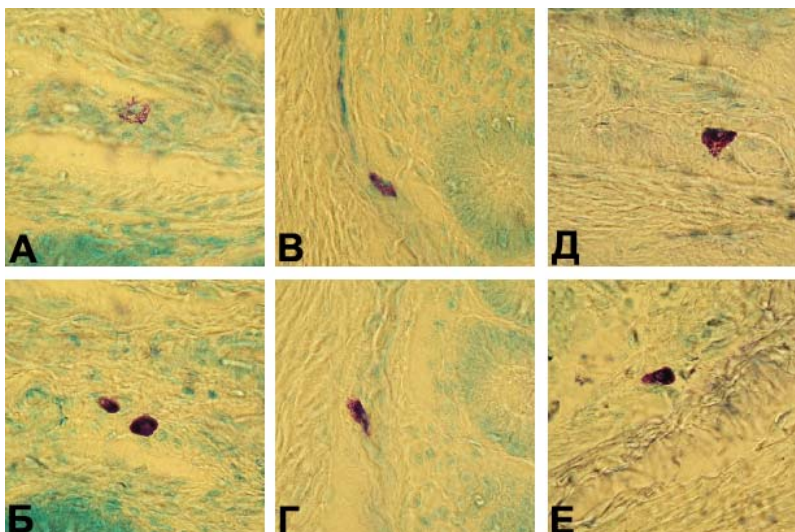


Рис. 3. Тучні клітини товстої кишки в різних експериментальних групах:
 А – контроль; Б – ожиріння; В – мелатонін вранці; Г – мелатонін ввечері; Д – мелатонін вранці + ожиріння;
 Е – мелатонін ввечері + ожиріння. Забарвлення толуїдиновим синім. Збільшення: об. $\times 90$, ок. $\times 10$

Вечірнє введення мелатоніну тваринам з ожирінням нормалізує в значній мірі стан колоноцитів: площа перерізів ядер цих клітин на рівні контрольних значень, а висота хоча і є нижчою, ніж у контрольних тварин, проте достовірно вищою, ніж у тварин з ожирінням (рис. 1, табл. 1). При цьому келихоподібні клітини гіпотрофовані (рис. 2, табл. 1). А у тучних клітинах спостерігається гіперакумуляція гранул, хоча і дещо менша, ніж у жирних тварин, яким не вводився мелатонін (рис. 3, табл. 1). Товщина слизової оболонки збільшена порівняно з контрольними тваринами і не відрізняється достовірно від тварин з ожирінням та тварин, яким вводився лише мелатонін. При цьому глибина крипт достовірно нижча порівняно з усіма групами (табл. 1).

Висновки. Таким чином, не можна зробити однозначного висновку про можливість корекції мелатоніном структурно-функціональних змін у товстій кишці, викликаних ожирінням. Разом з тим, ранкове введення мелатоніну мало певний нормалізуючий вплив на товсту кишку і було більш ефективним, ніж вечірнє введення.

Список використаних джерел:

1. Neuroendocrinol melatonin and the metabolic syndrome: physiopathologic and therapeutical implications / D. Cardinali, P. Cano, V. Jimenez-Ortega, A. Esquifino // *Neuroendocrinology*, 2011. – Vol. 93, N 3. – P. 131–142.
2. Cardinali D.P. Inflammation, metabolic syndrome and melatonin: a call for treatment studies. / D.P. Cardinali, R. Hardeland // *Neuroendocrinology*, 2017. – Vol. 104, N 4. – P. 382–397.
3. Pinelectomy interferes with the circadian clock genes expression in white adipose tissue / S. Tda. de Farias, A.C. de Oliveira, S. Andreotti et al. // *J. Pineal. Res.*, 2015. – Vol. 58, N 3. – P. 251–261.
4. Therapeutic perspectives for melatonin agonists and antagonists / P. Delagrange, J. Atkinson, J.A. Boutin et al. // *J. of neuroendocrinology*, 2003. – Vol. 15, N 4. – P. 442–448.
5. Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats / A. Jimenez-Aranda, G. Fernandez-Vazquez, D. Campos et al. // *J. Pineal. Res.*, 2013. – Vol. 55, N 4. – P. 416–423.
6. Konturek P.C. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. / P.C. Konturek, T. Brzozowski, S.J. Konturek // *J. Physiol. Pharmacol.*, 2011. – Vol. 62, N 2. – P. 139–150.
7. Lee C.J. Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance / C.J. Lee, C.L. Sears, N. Maruthur // *Ann NY Acad. Sci.*, 2019. – May 14. [Epub ahead of print].
8. MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective / L. Liu, S.J. Clough, A.J. Hutchinson et al. // *Annual review of pharmacology and toxicology*, 2016. – Vol. 56. – P. 361–383.
9. McNabney S.M. Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: a focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance / S.M. McNabney, T.M. Henagan // *Nutrients*, 2017. – Vol. 9, N 12. – E1348.
10. Nduhirabandi F. Melatonin and the metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities / F. Nduhirabandi, E. Toit, A. Lochner // *Acta Physiol. (Oxf)*, 2012. – Vol. 205, N 2. – P. 209–223.
11. Prado N. Anti-inflammatory effects of melatonin in obesity and hypertension / N. Prado, L. Ferd, W. Manucha // *Curr. Hypertens Rep.*, 2018. – Vol. 20, N 3. – P. 1–15.
12. Cardiac hypertrophy and remodeling: pathophysiological consequences and protective effects of melatonin. / R. Reiter, L. Manchester, L. Fuentes-Broto, D. Tan // *J. Hypertens*, 2010. – Vol. 28, N 2. – P. 7–12.
13. Obesity and metabolic syndrome: association with chronodisruption, sleep deprivation, and melatonin suppression / R. Reiter, D. Tan, A. Korkmaz, S. Mac // *Ann Med.*, 2012. – Vol. 44, N 1. – P. 564–577.
14. Short photoperiod reverses obesity in Siberian hamsters via sympathetically induced lipolysis and Browning in adipose tissue / V. Ryu, E. Zarebidaki, H.E. Albers et al. // *Physiol. Behav.*, 2018. – Vol. 190. – P. 11–20.
15. Saad M.J. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. / M.J. Saad, A. Santos, P.O. Prada // *Physiology (Bethesda)*, 2016. – Vol. 31, N 4. – P. 283–293.
16. Szewczyk-Golec K. Inter-relationships of the chronobiotic, melatonin, with leptin and adiponectin: implications for obesity / K. Szewczyk-Golec, A. Wozniak, R.J. Reiter // *J. of Pineal. Res.*, 2015. – Vol. 59, N 3. – P. 277–291.
17. The official data of the WHO Bulletin published in May 2017. Available from: <http://www.who.int>
18. Torres-Farfan C. Evidence of a role for melatonin in fetal sheep physiology: direct actions of melatonin on fetal cerebral artery, brown adipose tissue and adrenal gland / C. Torres-Farfan, F. Valenzuela, M. Mondaca // *J. Physiol.*, 2008. – Vol. 586, N 2. – P. 4017–4027.
19. Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice / P. Xu, J. Wang, F. Hong et al. // *J. Pineal. Res.*, 2017. – Vol. 62, N 4. – E12399.

References (Scopus):

1. Cardinali D, Cano P, Jimenez-Ortega V, Esquifino A. Neuroendocrinol melatonin and the metabolic syndrome: physiopathologic and therapeutical implications. *Neuroendocrinology*. 2011;93(3):131-142.
2. Cardinali DP, Hardeland R. Inflammation, metabolic syndrome and melatonin: a call for treatment studies. *Neuroendocrinology*. 2017;104(4):382-397.
3. de Farias Tda S, de Oliveira AC, Andreotti S, do Amaral FG, Chimin P, de Proenca AR, Leal FL, Sertie RA, Campana AB, Lopes AB, de Souza AH, Cipolla-Neto J, Lima FB. Pinelectomy interferes with the circadian clock genes expression in white adipose tissue. *J Pineal Res*. 2015;58(3):251-61.
4. Delagrange P, Atkinson J, Boutin JA, Casteilla L, Lesieur D, Misslin R, Pellissier S, Penicaud L, Renard P. Therapeutic perspectives for melatonin agonists and antagonists. *Journal of neuroendocrinology*. 2003;15(4):442-448.
5. Jimenez-Aranda A, Fernandez-Vazquez G, Campos D, Tassi M, Velasco-Perez L, Tan DX, Reiter RJ, Agil A. Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats. *J Pineal Res*. 2013;55(4):416-423.
6. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. *J Physiol Pharmacol*. 2011;62(2):139-150.
7. Lee CJ, Sears CL, Maruthur N. Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci*. 2019; May 14. [Epub ahead of print]
8. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovska-Gorevski M, Dubocovich M L. MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2016;56:361-383.
9. McNabney SM, Henagan TM. Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: a focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance. *Nutrients*. 2017;9(12):E1348.
10. Nduhirabandi F, Toit E, Lochner A. Melatonin and the metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities. *Acta Physiol (Oxf)*. 2012;205(2):209-223.
11. Prado N, Ferd L, Manucha W. Anti-inflammatory effects of melatonin in obesity and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20(3):1-15.
12. Reiter R, Manchester L, Fuentes-Broto L, Tan D. Cardiac hypertrophy and remodeling: pathophysiological consequences and protective effects of melatonin. *J Hypertens*. 2010;28(2):7-12.
13. Reiter R, Tan D, Korkmaz A, Mac S. Obesity and metabolic syndrome: association with chronodisruption, sleep deprivation, and melatonin suppression. *Ann Med*. 2012;44(1):564-577.
14. Ryu V, Zarebidaki E, Albers HE, Xue B, Bartness TJ. Short photoperiod reverses obesity in Siberian hamsters via sympathetically induced lipolysis and Browning in adipose tissue. *Physiol Behav*. 2018;190:11-20.
15. Saad MJ, Santos A, Prada PO. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. *Physiology (Bethesda)*. 2016;31(4):283-293.
16. Szewczyk-Golec K, Wozniak A, Reiter RJ. Inter-relationships of the chronobiotic, melatonin, with leptin and adiponectin: implications for obesity. *Journal of pineal research*. 2015;59(3):277-291.
17. The official data of the WHO Bulletin published in May 2017. Available from: <http://www.who.int>
18. Torres-Farfan C, Valenzuela F, Mondaca M. Evidence of a role for melatonin in fetal sheep physiology: direct actions of melatonin on fetal cerebral artery, brown adipose tissue and adrenal gland. *J Physiol*. 2008;586(2):4017-4027.
19. Xu P, Wang J, Hong F, Wang S, Jin X, Xue T, Jia L, Zhai Y. Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice. *J Pineal Res*. 2017;62(4):E12399.

Надійшла до редколегії 01.10.19

Отримано виправлений варіант 01.11.19

Підписано до друку 01.11.19

Received in the editorial 01.10.19

Received a revised version on 01.11.19

Signed in the press on 01.11.19

И. Вареник, канд. биол. наук, Н. Шевчук, студ., Н. Рослова, инж., Н. Держинский, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТОЛСТОМ КИШЕЧНИКЕ КРЫС ПРИ ОЖИРЕНИИ И ПРИ ЕГО КОРРЕКЦИИ УТРЕННИМИ И ВЕЧЕРНИМИ ВВЕДЕНИЯМИ МЕЛАТОНИНА

Изучено влияние утреннего и вечернего введения мелатонина на структурно-функциональные изменения в толстой кишке крыс с ожирением в условиях весенне-осеннего фотопериода (12L:12D). Для этого у части животных вызвали ожирение высококалорийной диетой в течение шести недель, после чего нормальным животным и животным с ожирением утром или вечером давали мелатонин в дозе 30 мг/кг в течение семи недель. Через 13 недель брали два образца толстой кишки по 1 см каждый на расстоянии 3 см от анального отверстия; фиксировали их в 10 % формалине и в фиксаторе Карнуа; изготавливали парафиновые срезы толстой кишки; окрашивали их гематоксилин-эозином, альциановым синим-кармином или толуидиновым синим; проводили их микроскопический и морфометрический анализ. Показано, что при ожирении наблюдается гиперактивация слизистой оболочки толстой кишки, редукция и уменьшение активности колоноцитов, гипертрофия слизистых бокаловидных клеток и аккумуляция гранул в тучных клетках. Утреннее введение мелатонина жирным крысам нормализует состояние слизистой оболочки, ослабляет редукцию колоноцитов, однако вызывает гипотрофию бокаловидных клеток. Вечернее введение мелатонина значительно ослабляет редукцию колоноцитов, однако не устраняет других изменений, вызванных ожирением. При этом введение мелатонина (и утреннее, и вечернее) животным без ожирения вызывает активацию слизистой оболочки толстой кишки, гипертрофию бокаловидных клеток, уменьшение активности колоноцитов и не изменяет состояние тучных клеток. Следовательно, нельзя сделать однозначного вывода о возможности коррекции мелатонином всех структурно-функциональных изменений в толстой кишке, вызванных ожирением. Хотя утреннее введение мелатонина имело определенное нормализующее влияние на толстую кишку и было более эффективным, чем вечернее введение.

Ключевые слова: мелатонин, ожирение, толстый кишечник.

I. Varenuk, Ph. D., N. Shevchuk, stud., N. Roslova, ingeneer, M. Dzerzhynsky, Dr. Sci.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

STRUCTURAL CHANGES IN RATS' COLON UNDER OBESITY CONDITIONS AND ITS CORRECTION BY MORNING AND EVENING INJECTION OF MELATONIN

The effect of morning and evening administrations of melatonin on structural and functional changes in the large intestine of rats with obesity under conditions of the spring-autumn photoperiod (12L:12D) was studied in this work. The obesity was caused with a high-calorie diet for 6 weeks. After that, the morning or evening melatonin administrations were given to normal and obese animals at a dose of 30 mg/kg for 7 weeks. After 13 weeks, two specimens of the colon 1 cm each were taken at a distance of 3 cm from the anus; fixed in 10% formalin and in Carnua solution; paraffin sections of the large intestine were made; stained them with hematoxylin-eosin, alcian blue-carmine, or toluidine blue. Microscopic and morphometric analysis of these sections was performed. It has been shown, that obesity cause hyperactivation of the colonic mucosa, reduction of colonocytes, hypertrophy of goblet cells and overaccumulation of granules in mast cells. Morning administration of melatonin to obese animals normalizes the colonic mucosa, decreases the reduction of colonocytes, but causes the hypotrophy of goblet cells. Evening administration of melatonin significantly decreases the reduction of colonocytes, but does not eliminate other changes caused by obesity. The administration of melatonin (both morning and evening) to animals without obesity causes an activation of the mucosa, hypertrophy of goblet cells, reduction of colonocytes, and does not change the state of mast cells. Consequently, it cannot make a clear conclusion about the possibility of correction of all structural-functional changes in the large intestine during obesity by melatonin. Although, the morning administration of melatonin had some normalizing effects on the colon and it was more effective than evening administration.

Key words: melatonin, obesity, large intestine.

UDC 576.3.616

N. Vedenicheva, Dr. Sci., G. Al-Maali, Ph. D., N. Bisko, Dr. Sci., I. Kosakivska, Prof.
M. G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
L. Garmanchuk, Dr. Sci., L. Ostapchenko, Prof.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

EFFECT OF BIOACTIVE EXTRACTS WITH HIGH CYTOKININS CONTENT FROM MICELIAL BIOMASS OF HERICUM CORALLOIDES AND FOMITOPSIS OFFICINALIS ON TUMOR CELLS IN VITRO

Phytohormones cytokinins are known to promote cell division in plants. Contrary, in animal's and human's tissues they induce apoptosis and block the cell cycle of a wide spectrum of tumour cells. Therapeutic effects of cytokinins, specifically their anticancer and immunomodulatory actions are similar to those of medicinal mushrooms. We detected cytokinins in mycelial biomass of two species of medicinal mushrooms growing in vitro (*Fomitopsis officinalis* strain 5004 and *Herichium coralloides* strain 2332) using HPLC-MS. Trans-zeatin, zeatin riboside, zeatin-O-glucoside and isopentenyladenine were found. Crude extracts and purified cytokinin fractions from mycelial biomass were tested on the growth and development of cultures of tumor cells lines: Hela (MTT-assay), T24/83 (viability and level apoptotic cells) and HepG2 (consumption of glucose). The effect of cytokinin fraction from mycelial biomass of *Fomitopsis officinalis* on pathogenic cells was higher compared to *Herichium coralloides* one. The data obtained revealed a higher cytotoxic/cytostatic effect of the purified cytokinin fractions in comparison with crude methanolic extracts; also higher apoptotic index was found. Under the influence of the test agents the intensification of glucose uptake into cells was observed. This indicator was higher for crude mushroom mycelium extracts, whereas under the action of purified fractions the glucose uptake rate was lower, thus decreased glycolysis level was recorded. Also, the effect of both crude extract and purified fraction from *H. coralloides* mycelial biomass on glucose uptake in the conditioned medium was lower against *F. officinalis*. These results confirm the assumption that biologically active substances of medicinal mushrooms with high pharmacological potential include cytokinins.

Key words: medicinal mushrooms, mycelial biomass, cytokinins, HepG2, T-24/83 and Hela cells.

Introduction. Deadly side effects of artificially synthesized drugs can be avoided only by means of natural preparations or those that are as close as possible to them in composition and structure of substances. Therefore, the urgent task of today is to find alternative therapies using natural biological raw materials. Macromycetes have enormous potential in this regard. Medicinal mushrooms have a wide range of medicinal properties. They exhibit

more than 130 therapeutic effects due to the content of biologically active substances in fruiting bodies and cultured mycelium that enhance innate and acquired immune responses and demonstrate antitumor activity in animals and humans [1, 2]. Polysaccharides and terpenoids are the most studied among them. However, since the systematic study of the biochemical composition of mushrooms, the physiological and medical action of its components has

begun recently, the list of such compounds is not comprehensive. Most likely, the medicinal properties of mushrooms are determined by the presence of a complex of compounds that act jointly, enhancing the effect of each other [3]. The active substances of medicinal mushrooms probably include phytohormones, in particular, cytokinins, whose therapeutic effect has been detected in the last decade [4]. Cytokinins are polyfunctional hormones of plants that are involved in regulating of their growth and development in many aspects, in particular, positively regulating cell division [5]. At the same time, in animal cell culture the addition of cytokinins is known to have an opposite effect. Thus, cytokinin analogues have been found to block cell cycle pattern and inhibit the growth of many types of human cancers [6, 7]. The therapeutic properties of cytokinins were similar to those shown by medicinal mushrooms. The ability to produce cytokinins is inherent in both fruiting bodies [8] and mycelial culture [9] of many medicinal mushroom species. Therefore, it can be assumed that the medicinal properties of mushrooms depend on the cytokinins synthesized in their cells in combination with fungal specific metabolites. However, medical cytokinins testing has only recently begun, and detailed information is lacking today.

Species of basidiomycetes, which have been used in traditional Chinese and European medicine for many centuries, include the honeysuckle coral-like *Hericium coralloides* and the larch sponge *Fomitopsis officinalis* [10]. These are tree-destructive species with a large fruiting body that cause wood rot. In *H. coralloides*, they contain a complex of substances that are used as antidepressants, antioxidants, in the treatment of Alzheimer's and Parkinson's diseases and a number of cancers, to fight insomnia and impotence, to reduce blood cholesterol, etc. [11]. Extracts from *F. officinalis* fruiting body have a wide range of antimicrobial and antiviral activity due to the content of

coumarins and triterpenoids, but the crude extract exhibits the highest activity, in particular against *Mycobacterium tuberculosis* and *Yersinia pseudotuberculosis* [12].

A necessary step to determine the nature of the biologically active substances of medicinal mushrooms is to investigate the effect of cytokinins produced by them on the growth and development of pathogenic cells.

Materials and Methods.

1. Micelial biomass cultivation

Hericium coralloides (Scop.) Pers., strain 2332, and *Fomitopsis officinalis* (Vill.) Bondartsev & Singer, strain 5004, from the IBK Mushroom Culture Collection were studied (Fig. 1). Fungi strains were cultivated in 250 ml Erlenmeyer flasks with 50 ml liquid medium in stationary conditions ($26 \pm 1^\circ \text{C}$) during 20 days in darkness. Inoculation with physiologically active mycelium in proportion of 10 % to the total volume was carried out in accordance with the method developed for Basidiomycetes [13]. Microbiological control of nutrient medium and inoculum material purity was fulfilled before inoculation. For cultivation of *F. officinales* 5004 the following liquid nutrient medium was used: glucose – 30.0 g/l; NH_4NO_3 – 3.5 g/l; KCl – 0.5 g/l; K_2HPO_4 – 1.0 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5 g/l; beer wort (15° in accordance with Baling method) – 115 ml; pH 5.0. For cultivation of *H. coralloides* 2332 such liquid nutrient medium was used: glucose – 25.0 g/l; peptone – 3.0 g/l; yeast extract – 3.0 g/l; KH_2PO_4 – 1.0 g/l; K_2HPO_4 – 1.0 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.25 g/l; pH 6.5. Media acidity was maintained at necessary pH levels by 1 N KOH and 1 N HCl solutions addition.

Mycelial biomass was separated from the culture medium through filtration under vacuum followed by a double rinsing with 50 ml of potassium-phosphate buffered saline, pH 6.5.



Fig. 1. Fruiting bodies of *Hericium coralloides* (left) and *Fomitopsis officinalis* (right) in nature

2. Cytokinins purification

The sample (10 g of mycelial biomass) was homogenized during 3 min using an electrical homogenizer (Mechanika Precyzyjna, Poland) in 80 % methanol solution. Cytokinins were extracted with 80 % methanol (10 ml per 1 g) thrice during 24 h at $+4^\circ\text{C}$. The obtained extract was evaporated under vacuum using the rotor evaporator (Unipan, Poland) at $+50^\circ\text{C}$ to a water phase state. Water residue was kept for 24 h in a freezer at -20°C . After a fast defrosting, it was centrifuged (pH 2.5, 15000 g, $+4^\circ\text{C}$) for 30 min in the K 24 centrifuge (Janetzky, Germany). Supernatant was fractionated with n-butanol (1:1 by volume) at pH 8 and purified using the ion-exchange chromatography on column 20x2 cm (Bio-Rad, USA) with Dowex 50Wx8 (Serva, Germany) in H^+ form, elution with 0.1 N ammonia. Eluate was evaporated under vacuum to a dry residue, which was dissolved in 1 ml of 96 % ethanol and applied

on thin layer chromatography plates Silicagel 60 F₂₅₄ (Merk, Germany), run in solvent system isopropanol:ammonia:water (10:1:1 by volume).

3. HPLC/MS analysis

Detection and quantification of cytokinins were performed using the HPLC-MS system (Agilent 1200, USA). Solid samples were dissolved in 200 μl of mobile phase and 5 μl aliquot was injected into Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 column (4.6x250 mm, 5 μm). The column was eluted with an isocratic solvents system methanol:water:acetic acid (37:62.9:0.1 by volume) at a flow rate of 0.5 ml/min and column temperature of $+30^\circ\text{C}$. The fractions eluted were directly passed through the mass spectrometer (Agilent 6120 Quadrupole LC/MS) in a combined regime "multi mode" (electrospray and chemical ionization at atmosphere pressure) of positive ionization. Data were analysed and processed using the software Agilent Chem-

Station, version B.03.01 online. Concentrations were calculated based on the peak areas for the endogenous compounds relative to those determined for the internal standards. All experiments were carried out in three biological replicates. HPLC-MS analysis was done in five analytical replications. The data was processed by standard methods of variation statistics using Microsoft Excel 2007 program. Values of $P < 0.05$ were considered to be significant.

4. MTT-assay.

For *in vitro* screening of the epithelial line of Hela cells (human cervical carcinoma) has been employed. Cell lines were maintained in a RPMI medium (Sigma, USA) supplemented with 10% FBS, 2 mM L-glutamine and Penicillin-Streptomycin solution at a final concentration of 50-100 I.U./ml penicillin and 50-100 µg/ml streptomycin. After cell inoculation into 96 well microtiter plates (Falcon, USA), the cells were incubated at 37 °C, 5% of CO₂, 95% air and 100% relative humidity for 24 h prior to addition of test compounds. For a typical screening experiment, cells were cultured in medium containing *H. coralloides* and *F. officinalis* extracts with the growing concentration from 0.0156 to 500 mkg in 100 µL within 24 hrs. The initial plating density of cells was about 5×10^4 cells/mL in 100 µL plate volume. The test agents were added to cells in 100 µL of medium, and cells were cultured for 24 hrs. It was used cells at the about 70-80 % confluent growth. Proliferative parameters of the cultivated cells were defined as it was described elsewhere [14] with the MTT-colorimetric method. The biochemical essence of this method is based on the fact that mitochondrial dehydrogenases of living cells are capable to cleave tetrazolium rings with formation of insoluble purple crystals (formazan). MTT (20 µl) was added to

the culture medium 4 h before the termination of the cells incubation in order to achieve the final concentration of 0.6 mM. Formazan crystals formed after the incubation with MTT were dissolved in 100 µl of dimethylsulfoxide. The plate was analyzed on the spectrophotometer at 540 nm.

5. *Apoptotic and necrotic cells* was determined in wells counts were performed using a trypan blue (necrotic cells) and by cytofluorimetry assay (apoptotic cells) dye after incubation with agents in concentration 0,08 mg/ml as described previously [15]. For them used cells line T24/83 (human bladder tumor).

6. Determination of glucose by glucose-oxidase method.

Determining the level of glucose in the incubation medium of HepG2 cells (human hepatocellular carcinoma) was performed using a standard set based on glucose-oxidase reaction which we modified for culture medium of cells. Initial cell concentration was about 1×10^5 cells/ml in the sample volume of 200 µl. Determination was performed according to the protocol of the manufacturer "Felic-it-Diagnostics" (Ukraine) [16].

Results and Discussion.

Analysis of mycelial biomass of two species of medicinal macromycetes resulted in finding the main cytokinins, the presence of which is characteristic of most plants – *trans*-zeatin zeatinriboside, zeatin-O-glucoside and isopentenyladenine (Table 1). In *H. coralloides* 2332, the content of free cytokinin – *trans*-zeatin – was the highest. In *F. officinalis* 5004, mycelial biomass was characterized by a high concentration of the bound form, zeatin-O-glucoside. The total cytokinin hormone content in *H. coralloides* was almost four times higher than that of *F. officinalis*.

Table 1. Cytokinin content in mycelial biomass of medicinal mushrooms, ng/g FW

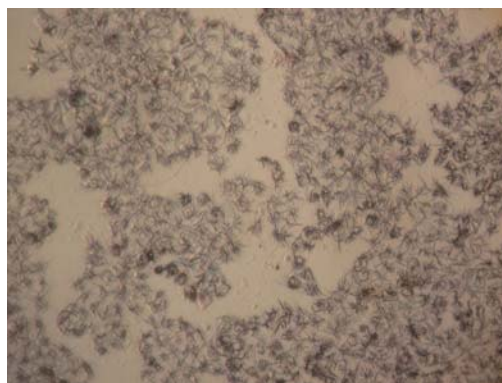
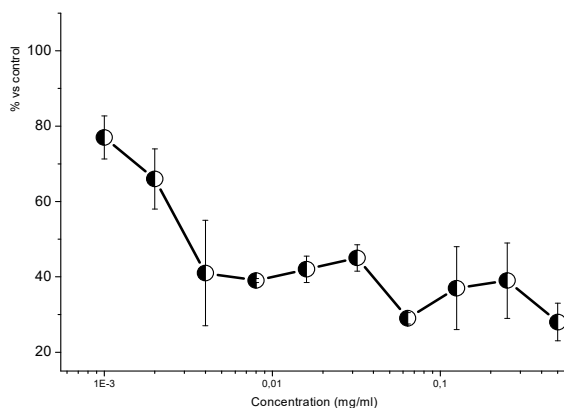
Mushrooms species	t-Z *	ZR*	iPa*	iP*	ZOG*	Σ
<i>Hericium coralloides</i> , strain 2332	941,12±46,8	531,99±26,1	0	348,60±17,3	0	2044,47
<i>Fomitopsis officinalis</i> , strain 5004	81,41±3,7	146,21±6,7	0	0	167,34±7,5	525,41

Notes. *t-Z – *trans*-zeatin, ZR – zeatin riboside; iPa – isopentenyladenosine, iP – isopentenyladenine, ZOG – zeatin-O-glucoside

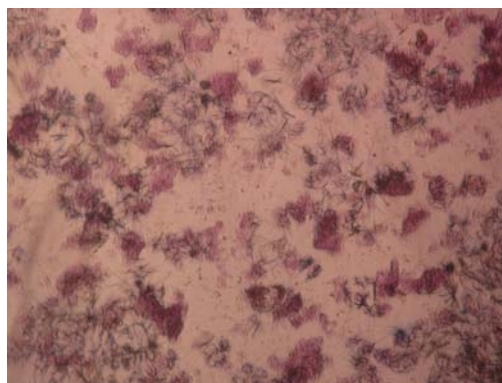
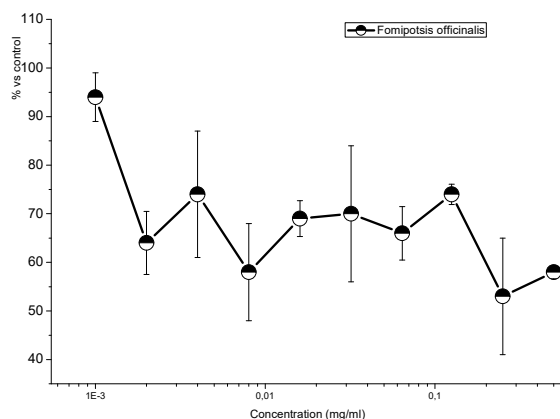
Modern science considers mushrooms as producers of a wide range of compounds that can affect multiple processes in the human body synergistically, so it is important to study the combinations of molecules in fungal extracts [17]. We have established the ability of mycelial biomass of two species of fungi with a high pharmacological potential to produce cytokinins in large quantities. Comparison of the spectra of the pharmacological properties of medicinal mushrooms and cytokinins suggests that cytokinins are one of the components providing the therapeutic effect of macromycetes. In this regard, cytokinin-containing mycelial biomass fractions of *H. coralloides* and *F. officinalis* were tested on cultures tumor cells lines: Hela (MTT-assay), T24/83 (viability and level apoptotic cells) and HepG2 (consumption of glucose) The crude methanol extracts and

cytokinin fractions, purified to the stage of ion exchange chromatography inclusive, were investigated.

The cytotoxic/cytostatic or proliferative effect (cell viability) was estimated as a percent of live cells in comparison against control and expressed in term of median growth inhibition (GI₅₀, the compound's concentration that causes 50 % decrease in the net cell growth or mitogenic stimulation vs control). Higher activity was found for purified cytokinin fractions than for crude methanol extracts. The inhibitory effect for both mushroom species after cytokinin fractions treatment was in the range of 0,04-0,08 mg/ml, whereas IC₅₀ was not determined for crude methanol extract due to large deviations in parallel measurements (Fig. 2 and Fig. 3).

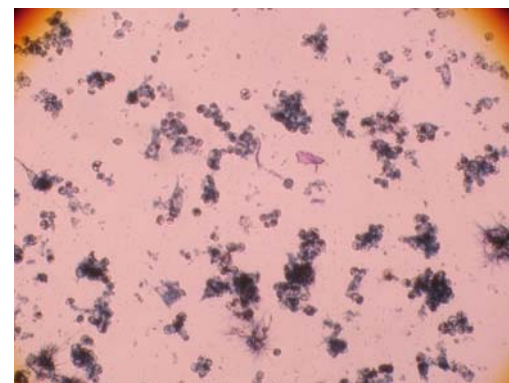
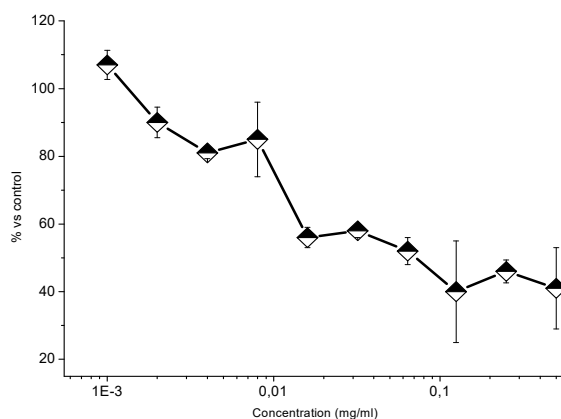


1

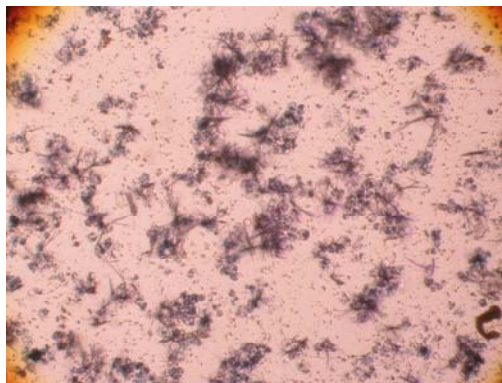
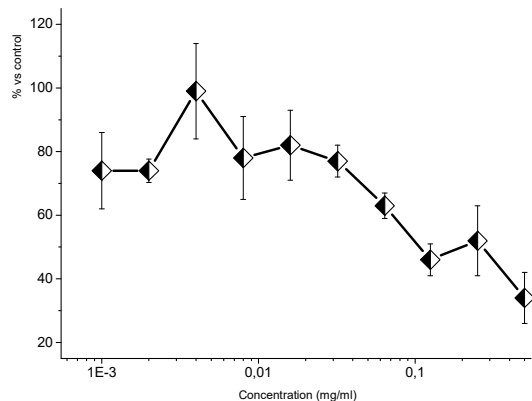


2

Fig. 2. Cytotoxic/cytostatic influence of *F. officinalis* cytokinin fractions (1) and crude methanol extract (2). Typical photo MTT-test



1



2

Fig. 3. Cytotoxic/cytostatic influence of *H. coralloides* cytokinin fractions (1) and crude methanol extract (2). Typical photo MTT-test

To evaluate the level of apoptotic cells and percent viability the cells line of bladder tumor T24/83 was used. The content of dead cells under the effect of the crude extracts was $18,7 \pm 4,3\%$ for *H. coralloides* and $24,3 \pm 3,3\%$ for *F. officinalis*, respectively; while it was $7,6 \pm 1,4\%$ and $10,2 \pm 3,4\%$ for the purified fractions for *H. coralloides* for *F. officinalis*, respectively. However, the percentage of apoptotic cells was higher for the purified fractions with the addition of equimolar concentrations of the substances: $32,8 \pm 5,6$ for *H. coralloides* and $34,4 \pm 1,3$ for *F. officinalis*, respectively, while for crude extracts of *H. coral-*

loides and *F. officinalis* these values were $27,0 \pm 1,6$ and $23,4 \pm 2,8$ respectively.

For metabolic pathways studies we used usually Hep G2 cells. As can be seen from the data under the influence of the test agents the intensification of glucose uptake into cells was observed. This indicator was higher for crude mushroom mycelium extracts, whereas under the action of purified fractions the glucose uptake rate was lower (Table 2). The effect of both crude extract and purified fraction from *H. coralloides* mycelial biomass on glucose uptake in the conditioned medium was lower against *F. officinalis*.

Table. 2. The effect of extracts from *Hericium coralloides* and *Fomitopsis officinalis* mycelial biomass on consumption of glucose by HepG2 cells; ($M \pm m$, $n = 5$, * – $p < 0.05$ relative to control ^-relative crude extract)

Test agent	Glucose level (mkM) in conditional medium
Control	$5,9 \pm 0,3$
<i>Hericium coralloides</i> crude extract	$1,9 \pm 0,1^*$
<i>Hericium coralloides</i> purified fractions	$2,4 \pm 0,2^{*^A}$
<i>Fomitopsis officinalis</i> crude extract	$3,2 \pm 1,0^{*^A}$
<i>Hericium coralloides</i> purified fractions	$4,3 \pm 0,3^*$

Cytokinins are known to change morphology and disorganize actin cytoskeleton of bladder carcinoma T24 cells, block DNA synthesis and increase the level of cycline-dependent kinase inhibitor and induce genes involved in a negative regulation of the cell cycle in tumour cells of epithelium [18–20]. Cytokinins also inhibit the human enterovirus replication, show immunostimulating effects promoting proliferation of natural killer cells, provoke apoptosis in myeloid leukemia HL-60 cells [21–23]. Thus, comparing the data obtained with the literature, we can reasonably assume that the inhibitory effect of fungal extracts on tumor cells is associated with the presence of cytokinins in them. Moreover, the cytokinin fraction from the *F. officinalis* mycelial biomass exhibited greater activity compared to *H. coralloides* one despite the higher cytokinin concentration in it. It has previously been found that aqueous and ethanol fungal extracts from *F. officinalis* exhibit growth-inhibition effect on different cancer cell lines (mouse sarcoma, human hepatoma, lung cancer, colon cancer and breast cancer) [24], whereas *H. coralloides* has another medicinal properties. Perhaps, cytokinins act in complex with different compounds in these mushrooms species.

Conclusion. In the present study the influence of extracts from two species of medicinal Basidiomycetes mycelial biomass on tumor cells of different origin was examined. The data obtained revealed a higher cytotoxic/cytostatic effect of the purified cytokinin fractions in comparison with crude methanolic extracts; also higher apoptotic index and decreased glycolysis were recorded. These results confirm the assumption that biologically active substances of medicinal mushrooms with high pharmacological potential include cytokinins.

Список використаних джерел:

1. Wasser S.P. Medicinal mushrooms in human clinical studies. / S.P. Wasser // Part I. Anticancer, oncoimmunological and immunomodulatory activities : A Review. Int. J. Med. Mushrooms, 2017. – 19 (4). – P. 279–317.
2. Cancer without pharmacological illusions and a niche for mycotherapy (review) / I.V. Zmitrovich, N.V. Belova, M.E. Balandaykin et al. // Int. J. Med. Mushrooms, 2019. – 21 (2) / – P. 105–119.
3. Chang S.T. Current and future research trends in agricultural and biomedical applications of medicinal mushrooms and mushroom products / S.T. Chang, S.P. Wasser // Int. J. Med. Mushrooms, 2018. – 20(12). – P. 1121–1133.
4. Anticancer activity of natural cytokinins: A structure-activity relationship study / J. Voller, M. Zatloukal, R. Lenobel et al. // Phytochemistry, 2010. – 71. – P. 1350–1359.
5. Schaller G.E. Cytokinin and the cell cycle. Curr. Opin / G.E. Schaller, I.H. Street, J.J. Kieber // Plant Biol., 2014. – 21. – P. 7–15.

6. Antiproliferative effect of plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases / K. Vermeulen, M. Strnad, V. Krystof et al. // Leukemia, 2002. – 16. – P. 299–305.
7. Orto-topolin riboside induces apoptosis in acute myeloid leukemia HL-60 cells / L. Wang, D.L. Yu, H.W. Zhang et al. // Mol. Cell. Toxicol., 2016. – 12 (2) / – P. 159–166.
8. Detection of phytohormones in temperate forest fungi predicts consistent abscisic acid production and a common pathway for cytokinin biosynthesis / E.N. Morrison, S. Knowles, A. Hayward et al. // Mycologia, 2015. – 107. – P. 245–257.
9. Comparative analysis of cytokinins in mycelial biomass of medicinal mushrooms / N.P. Vedenicheva, G.A. Al-Maali, N.A. Bisko et al. // Int. J. Med. Mushrooms, 2018. – 20(9). – P. 837–847.
10. Hao Y.F. Origin and evolution of China Pharmacopoeia and its implication for traditional medicines / Y.F. Hao, J.G. Jiang // Mini Rev. Med. Chem., 2015. – 15. – P. 595–603.
11. Antioxidant and anti-aging activities of ethyl acetate extract of the coral tooth mushroom, *Hericium coralloides* (Agaricomycetes) / J. Zhang, J. Zhang, L. Zhao et al. // Int. J. Med. Mushrooms, 2019. – 21(6). – P. 561–570.
12. Girometta C. Antimicrobial properties of *Fomitopsis officinalis* in the light of its bioactive metabolites : a review / C. Girometta // Mycology, 2018. – 10(1). – P. 32–39.
13. The IBK Mushroom Culture Collection / N.A. Bisko, M.L. Lomberg, N.Yu. Mytropolska, O.B. Mykchaylova. – Kyiv : M.G. Kholodny Institute of Botany, Nat. Acad. of Sci. of Ukraine. Kyiv : Alterpres, 2016.
14. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays / T. Mosmann // J. of Immunological Methods, 1983. – 65. – P. 55–63.
15. A Cytostatic effect of polyphenol compound melanin in combination with Cisplatin on bladder cancer cell line T24/83 / P. Yakovlev, L. Garmanchuk, T. Falalyeyeva et al. // European Urology Supplements, 2018. – 17(10). – e2553–e2554.
16. Influence of VEGF, EGF and their antagonists on proliferative activity and glucose consumption by endothelial cells / T. Nikolaenko, N. Petruk, D. Shelest, L. Garmanchuk // Bull. of T. Shevchenko Nat. Univ. of Kyiv, 2015. – 1(69). – P. 36–38.
17. Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy / A. Blagodatski, M. Yatsunskaya, V. Mikhailova et al. // Oncotarget., 2018. – 9(49). – P. 29259–29274.
18. N6-isopentenyladenosine and its analogue N6-benzyladenosine induce cell cycle arrest and apoptosis in bladder carcinoma T24 cells / S. Castiglioni, S. Casati, R. Ottria et al. // Anti-Cancer Agents in Medicinal Chem., 2013. – 13. – P. 672–678.
19. Pharmacogenomics and analogues of the antitumor agent N 6 – isopentenyladenosine / F. Colombo, F.S. Falvella, L. de Cecco et al. // Int. J. Cancer, 2009. – 124. – P. 2179–2185.
20. N6-Isopentenyladenosine: A potential therapeutic agent for a variety of epithelial cancers / M. Spinola, F. Colombo, F.S. Falvella, T.A. Dragani // Int. J. Cancer, 2007. – 120. – P. 2744–2748.
21. Chemical modification of the plant isoprenoid cytokinin N⁶-isopentenyladenosine yields a selective inhibitor of human enterovirus 71 replication / V.I. Tararov, A. Tijssma, S.V. Kolyachkina et al. // European J. Medicinal Chem., 2015. – 90. – P. 406–413.
22. N6-isopentenyladenosine, an endogenous isoprenoid end product, directly affects cytotoxic and regulatory functions of human NK cells through FDPS modulation / E. Ciaglia, S. Pisanti, P. Picardi et al. // J. Leukocyte Biology, 2013. – 94. – P. 1207–1219.

23. Orto-topolin riboside induces apoptosis in acute myeloid leukemia HL-60 cells / L. Wang, D.L. Yu, H.W. Zhang et al. // *Mol. Cell. Toxicol.* 2016. – 12(2). – P. 159–166.

24. *In vivo* and *in vitro* anti-tumor effects of fungal extracts / H.T. Wu, F.H. Lu, Y.C. Su et al. // *Molecules*. 2014. – 19(2). – P. 2546–2556.

Reference (Scopus):

1. Wasser S.P. Medicinal mushrooms in human clinical studies. Part I. Anticancer, oncoimmunological and immunomodulatory activities: A Review. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2017; 19 (4): 279-317.

2. Zmitrovich I.V., Belova N.V., Balandaykin M.E., Bondartseva M.A., Wasser S.P. Cancer without pharmacological illusions and a niche for mycotherapy (review). *Int. J. Med. Mushrooms*. 2019; 21 (2): 105-119.

3. Chang S.T., Wasser S.P. Current and future research trends in agricultural and biomedical applications of medicinal mushrooms and mushroom products. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2018; 20 (12): 1121-1133.

4. Voller J., Zatloukal M., Lenobel R. et al. Anticancer activity of natural cytokinins: A structure–activity relationship study. *Phytochemistry*. 2010; 71: 1350-1359.

5. Schaller G.E., Street I.H., Kieber J.J. Cytokinin and the cell cycle. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2014; 21: 7-15.

6. Vermeulen K., Strnad M., Krystof V. et al. Antiproliferative effect of plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases. *Leukemia*. 2002; 16: 299-305.

7. Wang L, Yu DL, Zhang HW, He LY, Wu L. Orto-topolin riboside induces apoptosis in acute myeloid leukemia HL-60 cells. *Mol. Cell. Toxicol.* 2016; 12 (2): 159-166.

8. Morrison E.N., Knowles S., Hayward A. et al. Detection of phytohormones in temperate forest fungi predicts consistent abscisic acid production and a common pathway for cytokinin biosynthesis. *Mycologia*. 2015; 107: 245-257.

9. Vedenicheva N.P., Al-Maali G.A., Bisko N.A., Shcherbatiuk M.M., Lomberg M.M., Mytropolska N.Yu., Mykchaylova O.B., Kosakivska I.V. Comparative analysis of cytokinins in mycelial biomass of medicinal mushrooms. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2018; 20 (9): 837-847.

10. Hao Y.F., Jiang J.G. Origin and evolution of China Pharmacopoeia and its implication for traditional medicines // *Mini Rev. Med. Chem.* 2015; 15: 595-603.

11. Zhang J., Zhang J., Zhao L., Shui X., Wang L., Wu Y. Antioxidant and anti-aging activities of ethyl acetate extract of the coral tooth mushroom, *Hericium coralloides* (Agaricomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms*, 2019; 21 (6): 561-570.

12. Girometta C. Antimicrobial properties of *Fomitopsis officinalis* in the light of its bioactive metabolites: a review. *Mycology*. 2018; 10(1): 32-39.

13. Bisko N.A., Lomberg M.L., Mytropolska N.Yu., Mykchaylova O.B. The IBK Mushroom Culture Collection. Kyiv: M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine. Kyiv: Alterpres, 2016.

14. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983; 65:55-63.

15. Yakovlev P., Garmanchuk L., Falalyeyeva T., Beregova T., Ostapchenko L., Nehelia A. A Cytostatic effect of polyphenol compound melanin in combination with Cisplatin on bladder cancer cell line T24/83. *European Urology Supplements*. 2018; 17 (10): e2553–e2554.

16. Nikolaienko T., Petruk N., Shelest D., Garmanchuk L. Influence of VEGF, EGF and their antagonists on proliferative activity and glucose consumption by endothelial cells. *Bull. of T. Shevchenko Nat. Univ. of Kyiv*. 2015; 1(69): 36-38.

17. Blagodatski A., Yatsunskaya M., Mikhailova V., Tiasto V., Kagansky A., Katanaev V.L. Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy. *Oncotarget*. 2018; 9 (49): 29259-29274.

18. Castiglioni S., Casati S, Ottria R, Ciuffreda P, Maier JAM. N6-isopentenyladenosine and its analogue N6-benzyladenosine induce cell cycle arrest and apoptosis in bladder carcinoma T24 cells. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2013; 13: 672-678.

19. Colombo F., Falvella F.S., De Cecco L., Tortoreto M., Pratesi G., Ciuffreda P., Ottria R., Santaniello E., Cicatiello L., Weisz A., Dragani T.A. Pharmacogenomics and analogues of the antitumour agent N 6 – isopentenyladenosine. *Int. J. Cancer*. 2009; 124: 2179-2185.

20. Spinola M., Colombo F., Falvella F.S., Dragani T.A. N6-isopentenyladenosine: A potential therapeutic agent for a variety of epithelial cancers. *Int. J. Cancer*. 2007; 120: 2744-2748.

21. Tararov V.I., Tijsma A., Kolyachkina S.V., Oslovsky V.E., Nevts J., Drenichev M.S., Leyssen P., Mikhailov S.N. Chemical modification of the plant isoprenoid cytokinin N⁶-isopentenyladenosine yields a selective inhibitor of human enterovirus 71 replication. *European J. Medicinal Chemistry*. 2015; 90: 406-413.

22. Ciaglia E., Pisanti S., Picardi P., Laezza C., Malfitano A.M., D'Alessandro A., Gazzero P., Vitale M., Carbone E., Bifulco M. N6-isopentenyladenosine, an endogenous isoprenoid end product, directly affects cytotoxic and regulatory functions of human NK cells through FDPS modulation. *J. Leukocyte Biology*. 2013; 94: 1207-1219.

23. Wang L., Yu D.L., Zhang H.W., He L.Y., Wu L. Orto-topolin riboside induces apoptosis in acute myeloid leukemia HL-60 cells. *Mol. Cell. Toxicol.* 2016; 12 (2): 159-166.

24. Wu H.T., Lu F.H., Su Y.C., et al. *In vivo* and *in vitro* anti-tumor effects of fungal extracts. *Molecules*. 2014;19(2):2546–2556.

Investigations were supported by grant 8B "Research of anti-tumor properties of biologically active substances of the cytokinin nature from mycelial biomass of medicinal basidial mushrooms".

Надійшла до редколегії 02.10.19

Отримано виправлений варіант 04.11.19

Підписано до друку 04.11.19

Received in the editorial 02.10.19

Received a revised version on 04.11.19

Signed in the press on 04.11.19

Н. Веденичова, д-р біол. наук, Г. Аль-Маалі, канд. біол. наук,
Н. Бісько, д-р біол. наук, І. Косаківська, д-р біол. наук
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ, Україна,
Л. Гарманчук, д-р біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ЕКСТРАКТІВ З ВИСОКИМ ВМІСТОМ ЦИТОКІНІНІВ З МІЦЕЛІАЛЬНОЇ БІОМАСИ *HERICIAM CORALLOIDES* ТА *FOMITOPSIS OFFICINALIS* НА ПУХЛИННІ КЛІТИНИ *IN VITRO*

Відомо, що фітогормони цитокініни стимулюють поділ клітин у рослин. У тканинах тварин і людини навпаки, вони індукують апоптоз і блокують клітинний цикл широкого спектра пухлинних клітин. Терапевтична дія цитокінінів, зокрема їхня протипухлинна та імуномодуюча дія, аналогічна дії лікарських грибів. Ми виявили цитокініни в міцеліальній біомасі двох видів лікарських грибів, вирощеної *in vitro* (*Fomitopsis officinalis* штам 5004 та *Hericium coralloides* штам 2332). Виявлено транс-зеатин, зеатинрибозид, зеатин-О-глюкозид та ізопентеніладенін. Досліджено вплив неочищених екстрактів та очищених фракцій цитокінінів з міцеліальної біомаси на ріст і розшток культур ліній пухлинних клітин: Hela (МТТ-аналіз), T24/83 (життєздатність і рівень апоптотичних клітин) та HepG2 (засвоєння глюкози). Виявлено більш високу цитотоксичну/цитостатичну дію очищених фракцій цитокінінів порівняно з неочищеними метанольними екстрактами; також було зафіксовано вищий апоптотичний індекс. Під впливом досліджуваних агентів спостерігалася посилення поглинання глюкози в клітини. Цей показник був вищим для неочищених екстрактів міцелію грибів, тоді як під дією очищених фракцій швидкість поглинання глюкози була нижчою, реєструвався знижений гліколіз. Також вплив як сирого екстракту, так і очищеної фракції міцеліальної біомаси *H. coralloides* на поглинання глюкози в кондиціонованому середовищі був меншим відносно *F. officinalis*. Вплив цитокінінових фракцій з міцеліальної біомаси *Fomitopsis officinalis* на патогенні клітини був вищим порівняно з *Hericium coralloides*. Ці результати підтримують припущення, що до складу біологічно активних речовин лікарських грибів з високим фармакологічним потенціалом входять цитокініни.

Ключові слова: лікарські гриби, міцеліальна біомаса, цитокініни, HepG2, T-24/83 та Hela клітини.

Н. Веденичова, д-р биол. наук, Г. Аль-Маали, канд. биол. наук,
Н. Бисько, д-р биол. наук, И. Косаковская, д-р биол. наук
Институт ботаники им. М. Холодного НАН Украины, Киев, Украина,
Л. Гарманчук, д-р биол. наук, Л. Остапченко, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЭКСТРАКТОВ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЦИТОКИНИНОВ С МИЦЕЛИАЛЬНОЙ БИОМАССЫ *HERICUM CORALLOIDES* И *FOMITOPSIS OFFICINALIS* НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ *IN VITRO*

Известно, что фитогормоны цитокинины стимулируют деление клеток у растений. И напротив, в тканях животных и человека они индуцируют апоптоз и блокируют клеточный цикл широкого спектра опухолевых клеток. Терапевтическое действие цитокининов, в частности их противоопухолевое и иммуномодулирующее действие, аналогично действию лекарственных грибов. Мы обнаружили цитокинины в мицелиальной биомассе двух видов лекарственных грибов, выращенной *in vitro* (*Fomitopsis officinalis* штамм 5004 и *Hericum coralloides* штамм 2332). Выявлено транс-зеатин, зеатинрибозид, зеатин-О-глюкозид и изопентениладенин. Исследовали влияние неочищенных экстрактов и очищенных фракций цитокининов из мицелиальной биомассы на рост и развитие культур линий опухолевых клеток: *HeLa* (МТТ-анализ), *T24* / 83 (жизнеспособность и уровень апоптотических клеток) и *HerG2* (усвоение глюкозы). Выявлено более высокое цитотоксическое / цитостатическое действие очищенных фракций цитокининов по сравнению с неочищенными метанольными экстрактами; также апоптотический индекс был зафиксирован выше. Под влиянием исследуемых агентов наблюдалось усиление поглощения глюкозы в клетки. Этот показатель был выше для неочищенных экстрактов мицелия грибов, тогда как под действием очищенных фракций скорость поглощения глюкозы была ниже и регистрировался пониженный гликолиз. Также влияние как сырого экстракта, так и очищенной фракции мицелиальной биомассы *H. coralloides* на поглощение глюкозы в кондиционированной среде было меньше по сравнению с *F. officinalis*. Влияние цитокининовой фракции из мицелиальной биомассы *F. officinalis* на патогенные клетки было выше по сравнению с *H. coralloides*. Эти результаты поддерживают предположение, что в состав биологически активных веществ лекарственных грибов с высоким фармакологическим потенциалом входят цитокинины.

Ключевые слова: лекарственные грибы, мицелиальная биомасса, цитокинины, *HerG2*, *T-24/83* и *HeLa* клетки.

УДК 581.9 (477.41)

В. Коломійчук, канд. біол. наук, доц.
Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фомина, "Навчально-науковий центр Інститут біології та медицини",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
М. Шевера, канд. біол. наук, ст. наук. співроб.
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ, Україна,
Є. Воробйов, наук. співроб.
Чорнобильський радіаційно-екологічний біосферний заповідник, Іванків, Україна,
О. Орлов, канд. біол. наук, ст. наук. співроб.
Поліський філіал Українського науково-дослідного інституту лісового господарства та агролісомеліорації
ім. Г.М. Висоцького НАН України та Держлісагентства України, Житомир, Україна,
О. Прядко, канд. біол. наук
Національний природний парк "Голосіївський", Київ, Україна

ERECHTITES HIERACIFOLIA (L.) RAF. EX DC. (ASTERACEAE BERCHT. & J. PRESL) – НОВИЙ ВИД АДВЕНТИВНИХ РОСЛИН ДЛЯ ФЛОРИ КИЇВСЬКОГО ПОЛІССЯ

Повідомлено про знахідку *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) – нового виду адвентивних рослин для флори Київського Полісся, зафіксованого на території Чорнобильського радіаційно-екологічного біосферного заповідника та Національного природного парку "Голосіївський". Вид північноамериканського походження, за часом занесення – кенофіт, за способом занесення – ксенофіт, за ступенем натуралізації – колонофіт. Уперше в регіоні досліджень його виявлено в 2018 р. на території біосферного заповідника: на північній околиці колишнього с. Іловниця Іванківського р-ну Київської обл. Згодом, у 2019 р., вид відмічений ще на двох ділянках заповідника: в околицях колишніх сіл Кливини та Кам'янка цієї області. Загалом зафіксовано понад 30 рослин виду, як вегетативних, які суттєво переважають, так і генеративних. Рослини відмічені спорадично на галявинах соснового лісу та лісових дорогах у складі неформованих рослинних угруповань. У серпні 2019 р. вид виявлено також на території національного природного парку "Голосіївський" (Святошинсько-Біличанське відділення), де рослини росли поодинокі або невеликими групами по 5–10 особин. Нині на досліджених об'єктах природно-заповідного фонду відмічено близько 60 екземплярів виду. На територію Київського Полісся вид потрапив, імовірно, кілька років тому, занесення рослин відбувалося автомагістралями, які вони використовують як вітрові коридори, до яких прилягають лісові масиви, а також за допомогою транспорту; не виключено, що розселення діаспор здійснювалося й за допомогою птахів. Складено картосхеми поширення виду в регіоні. Наведено дані про первинний і вторинний ареал *E. hieracifolia*, еколого-фітоценотичну приуроченість рослин. Реконструйовано основні етапи занесення та подальшого розповсюдження виду в Україні, який поширюється передусім у західних та північних районах країни й виявляє тенденцію до активного поширення в інші регіони. В Європі належить до інвазійних видів, який підлягає контролю за поширенням.

Ключові слова: *Erechtites hieracifolia*, вид адвентивних рослин, флористична знахідка, Київське Полісся, Україна.

Вступ. Останнім часом в Україні спостерігається активне поширення низки видів адвентивних рослин, зокрема і тих, що належать до групи інвазійних. Враховуючи їхній негативний вплив на довкілля, такі види потребують моніторингу та розробки заходів контролю за їхнім подальшим розповсюдженням. До таких, зокрема, належить *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae Bercht. & J. Presl), вид північноамериканського походження [6]. Рослини виду продукують велику кількість (до 30.000) насіння з однієї рослини [14, 16], яке зберігає здатність до проростання протягом восьми років [13]. Утворюючи масові зарості, *E. hieracifolia*, зо-

крема в Поліському природному заповіднику, на частині післяпожежних ділянок щільність його популяцій складає 60–80 особин/м², що призводить до збіднення флористичного різноманіття лісових ценозів, перешкоджаючи природному відновленню проростків та підросту деревного та трав'яно-чагарничкового ярусів. Лімітуючими факторами його поширення є рівень освітлення, вміст мінерального азоту та вологість ґрунту [5]. В Європі цей вид визнаний інвазійним, який підлягає контролю ЕРРО. Окрім того, рослини отруйні, оскільки містять піролізидинові алкалоїди [5]. Зазначається, що *E. hieracifolia* є серед господарів нематод родини

Heteroderidae, зокрема *Meloidogyne incognita* Kofoid & White та *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 [3].

Первинний ареал *E. hieracifolia* – помірна та тропічна зони Північної та Центральної Америки, північ Південної Америки та Карибські острови, де він росте у сухих лісах, на болотах та пустирях [15].

У вторинному ареалі вид відмічений в Європі (з 1876), Південно-Східній Азії, Індонезії, Новій Зеландії та на Гавайських островах, де росте також на болотах, у заболочених і сухих лісах, а також на згаданих, вирубах, молодих лісових культурах (віком 1–5 років), пустирях, узбіччях лісових доріг тощо.

В Україні *E. hieracifolia* відомий з початку ХХ ст.: вперше зафіксований у 1911 р. у м. Мукачеве Закарпатської обл. та у 1918 р. – с. Серне Мукачівського р-ну цієї ж області, а згодом, у повоєнний час, був виявлений і в інших районах області [2, 5]. Відмічений у заплавах лісах класу *Alnetea glutinosae* Br.-Bl. ex Tx. ex Westhoff et al. 1946, букових лісах класу *Carpino-Fagetum sylvaticae* Jakucs ex Passarge 1968, спорадично трапляється у вологих лучних угрупованнях класу *Molinio-Arrhenatheretea* Tüxen 1937 та високотравних гідрофільних заболочених луках класу *Phragmito-Magnocaricetea* Klika in Klika et Novák 1941. У 1940 р. знайдений на Прикарпатті: с. Джурів Снятинського р-ну Івано-Франківської обл. Пізніше, у 1993 р., виявлений біля с. Вибранівка Жидачівського р-ну Львівської обл. [4], у 2003–2011 рр. – у багатьох місцях у Житомирському Поліссі, у 2005 р. – на Західному Поліссі [5, 9, 11]. На Поліссі відомий переважно на місцях лісових пожеж, а також на лісових зрубках, у лісових культурах молодшого віку у складі рослинних угруповань класів *Epilobietea angustifolii* Tüxen et Preising ex von Rochow 1951 та *Artemisietea vulgaris* Lohmeyer et al. in Tüxen ex von Rochow 1951 тощо. Нещодавно нові локалітети виду

зафіксовані у 2015 р. на Малому Поліссі [1], у 2016 р. – на Волинській височині [7] та на Покутті [10]. В останньому локалітеті рослини виявлено в урочищі "Сіножаті" (околиці с. Старий Гвіздець Коломийського р-ну Івано-Франківської обл.), яке включено до переліку "Важливих ботанічних територій України" [19].

Окрім того, за даними Plantarium.ru [18] рослини *E. hieracifolia* також зафіксовані на території НПП "Вишницький", біля с. Вишенька Чернівецької обл. (24.08.2015, В. Гелюта), в Полянському регіональному ландшафтному парку, в окол. с. Поляна Болехівського р-ну Івано-Франківської обл. (21.09.2017, П. Кіндрат; 29.08.2018, П. Кіндрат), а за даними UkrBIN [17] – в м. Золочів (05.11.2018, V. Batochenko, R. Yurechko) та с. Перемишляни Львівської обл. (29.08.2018, V. Batochenko, R. Yurechko).

Одним із шляхів проникнення рослин виду в Україну був залізничний транспорт із країн Західної Європи, а на місцевому рівні – автомагістралі, які рослини використовують як вітрові коридори, до яких прилягають лісові масиви та зруби, також гужовий транспорт і, не виключено, розселення діаспор за допомогою птахів.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єкт дослідження – *E. hieracifolia*. В основу роботи покладено порівняльний морфолого-географічний метод дослідження. З'ясування поширення виду на Київському Поліссі проводилося маршрутним способом. Фітоценотичні описи за участю виду виконані згідно підходів флористичної класифікації рослинності. Також проаналізовано та узгальнено матеріали гербарію КИ.

Результати дослідження. Під час флористичних досліджень, проведених на території Київського Полісся у 2018 та 2019 рр. авторами повідомлення був виявлений *E. hieracifolia*, новий вид адвентивних рослин для флори Київського Полісся (рис. 1).



Рис. 1. *Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC., загальний вигляд (фото В.П. Коломійчука)

Вперше в регіоні дослідження *E. hieracifolia* відмічений авторами у липні та серпні 2018 р. на території Чо-

рнобільського радіаційно-екологічного біосферного заповідника – на північно-західній околиці колишнього

с. Іловниця Іванківського р-ну Київської обл. (координати – 51.19'18.86" N, 30.04'92.18" E та 51.18'78.63" N, 30.24'53.44" E) (В. Коломійчук, Є. Воробйов, КИ). Рослини виду зрідка траплялися на галявині свіжого соснового зеленомохового лісу у двох дуже подібних за флористичним складом рослинних угрупованнях. У деревостані окрім *Pinus sylvestris* L. (осібне проективне покриття (ОПП) – 20– 25 (30)%), відмічені *Betula pendula* Roth (7-10%) та *Quercus robur* L. (1-2%). Чагарниковий ярус чітко не виражений. В ньому відмічено лише *Amelanchier ovalis* Medik. (3%). Травостій зріджений, тут зафіксовано *Luzula sylvatica* (Huds.) Gaudin (3%), *Brachypodium pinnatum* (L.) P. Beauv. (2%), *Mycelis muralis* (L.) Dumort. (1–2%), *Carex* sp. (1%), *Festuca*

ovina L. (1%), *Galeopsis ladanum* L. (1%), *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (1–2%), *Solidago virgaurea* L. (1%). Моховий ярус на ділянці виражений слабо, домінує *Pleurozium schreberi* (Bridd.) Mitt. – 10-15%. Всього на двох ділянках нараховано 15 екземплярів *E. hieracifolia*, зокрема на першій – шість, на другій – дев'ять.

Згодом, у 2019 р., рослини виду зібрані нами на двох нових ділянках заповідника (рис. 2): на північній околиці колишнього с. Кливини (координати – 51.36'50.38" N, 29.62'72.77" E) та у межах Чорнобильського спеціального загальнозоологічного заказника – на південній околиці колишнього с. Кам'янка (координати – 51.16'52.51" N, 30.24'67.02" E).

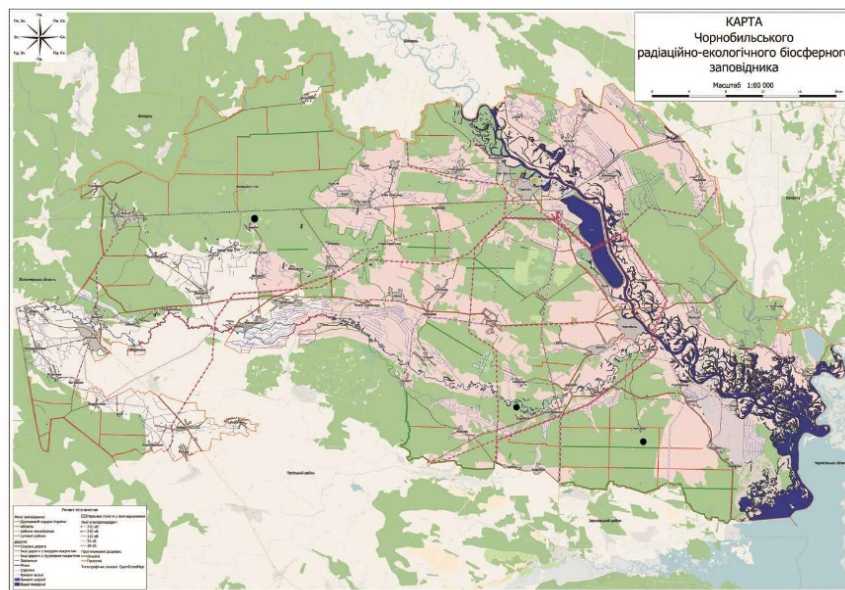


Рис. 2. Поширення *Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. на території Чорнобильського радіаційно-екологічного біосферного заповідника

На першій ділянці, в окол. с. Кливини (В. Коломійчук, М. Шевера, Є. Воробйов, КИ), де загальне проективне покриття становило 70–75 %, окрім *Pinus sylvestris* (ОПП – 20-25%) у деревному ярусі також відмічені: *Quercus robur* (3%) та *Populus nigra* L. (1%). Чагарниковий ярус виражений слабо, тут трапляються *Rubus caesius* L. (3%), *Amelanchier ovalis* (2%), *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Wolf.) Klásk. (1%), *Sambucus nigra* L. (<1%). У трав'яному ярусі постійно трапляються *Agrostis capillaris* L. (3%), *Festuca polesica* Zapal. (2%), *Luzula sylvatica* (10%), *Rumex acetosella* L. (7–10%), поодинокі відмічені *Anthericum ramosum* L. (+), *Galeopsis ladanum* (1%), *Solidago virgaurea* (1%) та *E. hieracifolia* (+). Моховий ярус на ділянці виражений слабо, домінує *Pleurozium schreberi* – 7–10%. На ділянці виявлено 22 особини, переважна більшість з яких була у вегетативному стані, лише кілька у стані бутонізації. Ще п'ять вегетативних особин відмічено також на лісовій дорозі, поблизу вище згаданої ділянки.

На другій ділянці, в 1 км на південь від колишнього с. Кам'янка (В. Коломійчук, М. Шевера, КИ), виявлено п'ять особин: дві у стані бутонізації та три – вегетативні, які росли між галявиною соснового лісу зеленомохового та обабіч лісової дороги на площі 10 м². Проективне покриття угруповань – 95–100%. Деревний ярус утворює *Pinus sylvestris* – 15%, тут відмічено підріст *Betula*

pendula – поодинокі та *Quercus rubra* – поодинокі. У чагарниковому ярусі відмічений лише *Chamaecytisus ruthenicus* – 12–15%. Трав'яний ярус формують *Festuca polesica* – 5% *Erechites hieracifolia* – 1%, *Viola matutina* Klokov – 1%, *Hypericum perforatum* L. – поодинокі, *Pilosella officinarum* F. Schultz & Sch. Bip. – поод., *Luzula sylvatica* – поод., *Calamagrostis epigeios* – поод., *Hieracium* sp. – поод., *Senecio* sp. – поод., *Carex* sp. – поод., *Convolvulus dumetorum* – поод., *Rumex thyrsiflorus* Fingerh – поод. У моховому ярусі домінував *Pleurozium schreberi* – 70%.

Окрім того, цього ж року *E. hieracifolia* зафіксовано на території національного природного парку "Голосіївський", зокрема у Святошинсько-Біличанському відділенні – у кварталах 75 та 54 Святошинського лісництва (О. Орлов, О. Прядко, КИ), у старому сосновому лісі зеленомоховому (рис. 3). У першому з них (квартал 75) рослини виду поодинокі відмічені на узбіччі ґрунтової лісової дороги. Проективне покриття трав'яного ярусу – 8–10%. Це несформоване угруповання складає набір лучних та рудеральних видів, зокрема *Leontodon autumnalis* L. – 1-3%, *Plantago major* L. – 3%, *Linaria vulgaris* Mill. – 1%, *Prunella vulgaris* L. – поодинокі, *Poa annua* L. – 1%, *Agrostis vinealis* Schreb. – 1–3%. У другому локалітеті (квартал 54, виділ 7 та через квартальну просіку у кварталі 55) (О. Орлов, О. Прядко, КИ) відмічено не-

великі групи рослин виду (по 5–10 особин) у старому сосняку зеленомоховому. Деревостан сосни частково всох, характер всихання – осередковий. У згаданих осередках значно збільшилося освітлення поверхні ґрунту, що створило сприятливі умови для *E. hieracifolia*. Проективне покриття трав'яного ярусу – 5%. До

його складу входили: *Melampyrum pratense* L. – 1%, *Vaccinium vitis-idaea* L. – 1%, *Agrostis vinealis* – 1-3%, *Chamerion angustifolium* (L.) Holub. – 1%. Проективне покриття мохового ярусу – 95%, його основу створював *Pleurozium schreberi*.

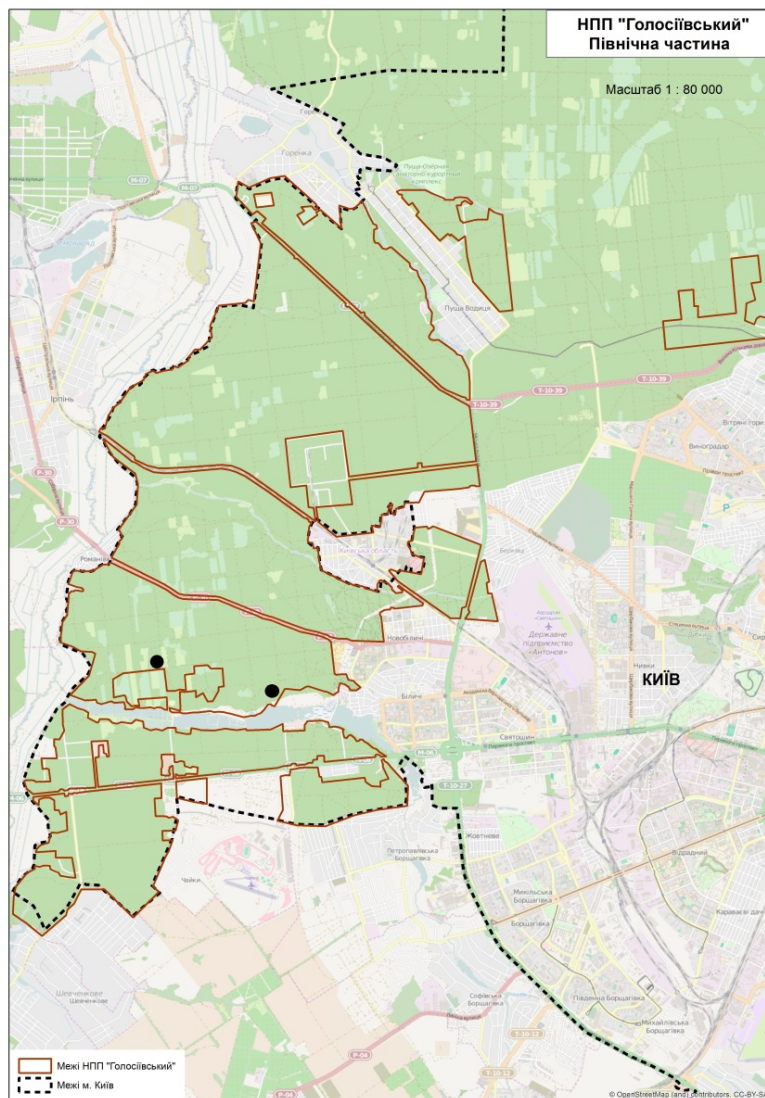


Рис. 3. Поширення *Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. на території національного природного парку "Голосіївський"

Отже, наразі достовірно відомо п'ять місцезнаходжень *E. hieracifolia* в Київському Поліссі, зокрема 3 на території Чорнобильського радіаційно-екологічного біосферного заповідника та 2 – на території національного природного парку "Голосіївський" (рис. 4.). Представленість цього інвазійного виду на територіях об'єктів природно-заповідного фонду України викликає занепокоєння, оскільки в майбутньому він може створити проблеми для їхнього природного фіторізноманіття. Проникнення *E. hieracifolia* в околиці м. Київ, який має розгалужені зв'язки з усіма регіонами України, може суттєво пришвидшити поширення цього виду у країні, в переліку, у Поліссі та Лісостепу.

Зауважимо, також, що рослини виду активно освоюють нові території і вже зараз вони зафіксовані у Лісо-

степовій зоні. Зокрема нами він знайдений на Лівобережжі Дніпра, у Броварському районі Київської області, у 2,5 км на захід від с. Пухівка, на узліссі, на лівому березі р. Десна (Орлов, 10.08.2019, КИ), де він також траплявся невеликими групами.

Erechites hieracifolia потрапив на територію Київського Полісся, ймовірно, кілька років тому, про що свідчить відносно невелика кількість місцезнаходжень (чотири), де зафіксовано близько 60 екземплярів та їхня приуроченість антропогенно-порушених місць (галявини соснових лісів та лісові дороги). Тому звертаємо увагу ботаніків, які досліджують даний регіон і взагалі Полісся та Лісостеп, на можливі нові знахідки виду, зокрема і на сході України.

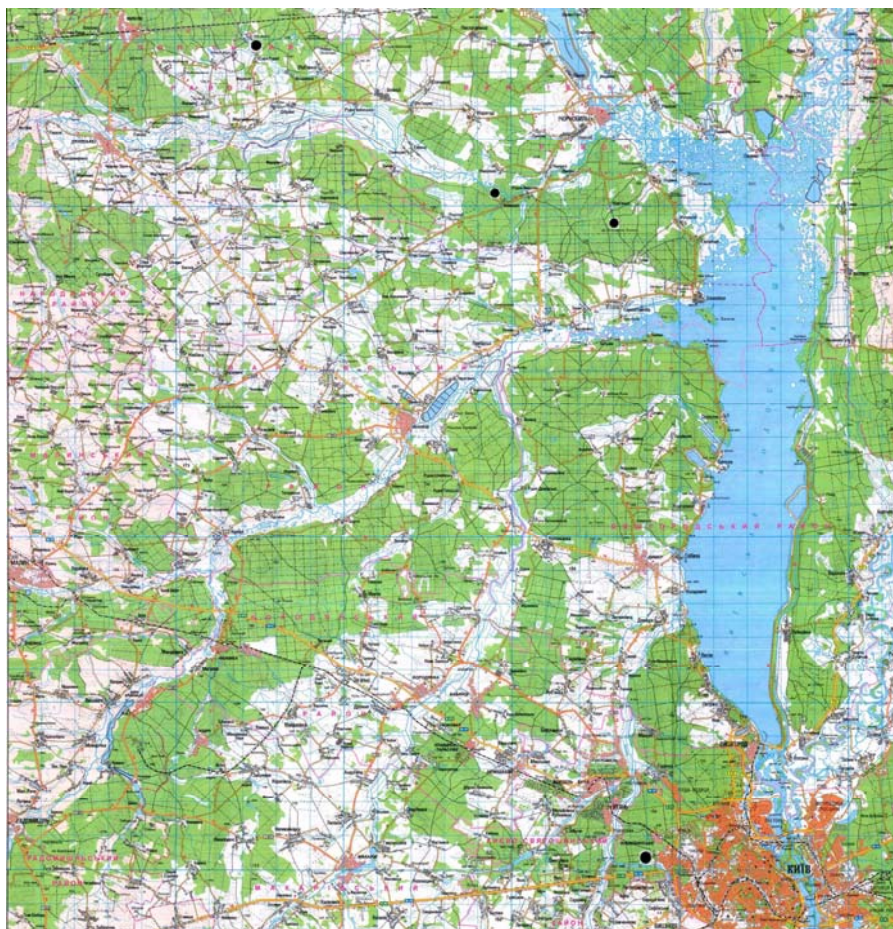


Рис. 4. Поширення *Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. на території Київського Полісся

Гербарні зразки *E. hieracifolia* з дослідженої території передані до фондів Гербаріїв Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (КИ), Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету ім. Тараса Шевченка (КНУ) та Чорнобильського радіологічно-екологічного біосферного заповідника.

Висновки. Враховуючи сучасний стрімкий характер поширення *E. hieracifolia* в Україні, зокрема й на Поліссі, можна прогнозувати його подальше розповсюдження у східних та південних лісових регіонах.

У майбутньому на території об'єктів Природно-заповідного фонду високого рангу слід продовжувати здійснювати моніторинг за поширенням у природні фітоценози низки видів адвентивних рослин, серед яких і досліджений нами вид. При підготовці Проектів організації території заповідників та національних природних парків Поліського регіону потрібно розробляти систему заходів контролю за інвазійними чужорідними видами рослин.

Подяки. Автори щиро вдячні адміністраціям національного природного парку "Голосіївський" та Чорнобильського радіаційно-екологічного біосферного заповідника, а також завідувачам відділів заповідника – Д.О. Вишневецькому та С.М. Обрізану за допомогу в організації досліджень.

Список використаних джерел:

- Белінська М.М. Гідрологічний заказник "Теребіжі" ключова територія збереження місцезростань *Carex bohemica* Schreb. та інших раритетів НПП "Мале Полісся" / М.М. Белінська, Б.Є. Якубенко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол., 2017. – № 1 (68). – С. 25–28.
- Кліматогенні зміни рослинного світу Українських Карпат / Я.П. Дідух, І.І. Чорней, В.В. Буджак; наук. ред. Я.П. Дідух і І.І. Чорней. – Чернівці: Друк Арт, 2016. – 284 с.

- Калатур К.А. Бур'яни – резерватори популяцій паразитичних видів фітономатод / К.А. Калатур, Л.А. Пилипенко // Новітні агротехнології, 2017, № 5. – Режим доступу: <http://jna.bio.gov.ua>

- Кузярін А.Т. Рідкісні антропофіти для території Львівської області / А.Т. Кузярін // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку: мат.-ли наук. конф. (10–13 вересня 2009 р., смт. Шацьк). – Львів: СПОЛОМ, 2009. – С. 57–59.

- Орлов О.О. Поширення та еколого-ценотичні особливості *Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) в Україні / О.О. Орлов, Д.М. Якушенко // Укр. ботан. журн., 2011. – 68, № 6. – С. 795–804.

- Протопопова В.В. Синантропная флора Украины и пути её развития / В.В. Протопопова. – К.: Наук. думка, 1991. – 204 с.

- Стасюк М.В. Біологічне забруднення флори Волинської височини видами адвентивних рослин / М.В. Стасюк, С.О. Глінська // Інтродукція рослин, 2016. – № 3. – С. 96–101.

- Тарасевич О.В. Розповсюдження адвентивних видів трав'янистих рослин на Поліссі та можлива загроза для лісового господарства / О.В. Тарасевич // Лісівництво і агролісомеліорація. – Харків: УкрНДІЛ-ГА, 2012. – Вип. 121. – С. 88–94.

- Тарасевич О.В. Трав'яні адвентивні види рослин – загроза для лісовідновлення та лісових екосистем у Житомирському Поліссі / О.В. Тарасевич, О.О. Орлов // Наук. вісн. НЛТУ України, 2013. – Вип. 23. – 16. – С. 81–92.

- Токарюк А.І. *Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) у лучних комплексах Покуття / А.І. Токарюк, І.І. Чорней, В.В. Буджак // Наук. вісн. Чернівецького ун-ту. Біологія (Біологічні системи), 2017. – Т. 9, № 1. – С. 144–146.

- Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) в Полесьє України та України / Д.І. Третяков, Д.В. Дубовик, А.А. Орлов, Д.Н. Якушенко // Ботаника (исследования) // Сб. научн. тр., 2011. – Вип. 40. – С. 138–147.

- Фіторізноманіття Поліського природного заповідника: водорості, мохоподібні, судинні рослини / Колектив авторів; за заг. ред. О.О. Орлова. – Київ: вид-во ТОВ "НВП "Інтерсервіс", 2013. – 256 с.

- Baskin C.C. Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of weedy species of disturbed forests. 2. *Erechites hieracifolia* / C.C. Baskin, J.M. Baskin // Canad. J. of Botan., 1996. – Vol. 74. – P. 2202–2005.

- Morphological variation of *Erechites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) achenes in the zone of the species' geographic range expansion, based on the localities from East-Central Europe / Z. Celka,

P. Szkudlarz, M.V. Shevera, N. Milicka// Baltic Forestry. – 2017. – 23, № 2. – P. 356–363.

15. Gleason H.A. Manual of vascular plants of Northern United States and adjacent Canada / H.A. Gleason, A. Cronquist (2 ed.). – New York: The N.Y. Bot. Garden, 1993. – 910 p.

16. Csiszár Á. A kisvirágú nebánsvirág (*Impatiens parviflora* DC.) és a keresztlapu (*Erechtites hieracifolia* Raf. ex DC.) terjedési stratégiáinak vizsgálata / Á. Csiszár // Nyugat-Magyarországi Egyetem, Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola. – Sopron, 2004. – 137 p.

17. DB UkrBIN. Available at: http://ukrbn.com/show_image.php?imageid=94835

18. DB Plantarium. Available at: <http://www.plantarium.ru/page/view/item/14729.html> 19. Important Plant Areas of Ukraine / V.A. Onyshchenko (ed.). – Kyiv: Alterpress, 2017. – 376 p.

References (Scopus):

1. Belinska M.M., Yakubenko B.E. Hydrologichnyi rezervat "Terebizh" klyuchova territoriya zbrezhennya mistezrostan *Carex bohemica* Schreb. ta inshykh raryetiv NPP "Male Polissia" // Naukovu Zapyssky Ternopilskoho Natsionalnoho Pedahohichnoho Universytetu. Ser. Biologia. – 2017. – № 1 (68). – S. 25–28.

2. Didukh Ya.P., Chorney I.I., Budzhak V.V., Tokaryuk A.I., Kish R.Ya., Protopopova V.V., Shevera M.V., Kozak O.M., Kontar I.S., Rosenblit Yu.V., Norenko K.M. Klimatogennni zminy roslynnoho svitu Ukrainskykh Carpat / Nauk. red. Ya.P. Didukh i I.I. Chorney. – Chernivtsi: Druk Art, 2016. – 284 s.

3. Kalatur K.A., Pilipenko L.A. Buryany – rezervatory populyatsiy parazytychnykh vydiv fitonematod // Novitni ahrotekhnologii. – 2017, № 5. rezhym dostupu <http://jna.bio.gov.ua>

4. Kuziari A.T. Ridkisi anthropolofity dlia territorii Lvivskoyi Oblasti // Stan ta bioriznomanittia ecosystem Shatskoho Natsionalnoho Prirodnoho Parke. Materialy naukovoi konferencii (10–13 veresnia 2009, Shatsk). – Lviv: SPOLOM, 2009. – S. 57–59.

5. Orlov O.O., Yakushenko D.M. Poshyrennya ta ekoloho-tsenotychni osoblyvosti *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) v Ukraini // Ukr. botan. zhurn. – 2011. – № 6. – S. 795–804.

6. Protopopova V.V. The synantropa flora Ukraini i puti yeye rozvitiya. – Kiev: Naykova dumka, 1991. – 204 s.

7. Stasyuk M.V., Glinka S.O. Biologichne zabrudnenna flory Volynskoyi vysochynu vydamy adventyvnikh roslin // Introduktsia roslin. – 2016. – № 3. – S. 96–101.

8. Tarasevich O.V. Rospovsjudzhennya adventyvnikh vydiv travnyastyh roslin na Polissi ta mozhliha zagroza dlya lisovogo gospodarstva // Lisivnitsvo and agrolisomeliorsiya. – Kharkiv: UkrNDILGA, 2012. – Vypusk 121. – S. 88–94.

9. Tarasevych O.V., Orlov O.O. Trav'anyi adventyvnii vydy roslin – zahroza dlya lisovidnovlennya ta lisovykh ekosystem u Zhytomyrskomu

Polissi // Naukovyi Visnyk Natisopnalnoho Lisotekhnichnoho Universytetu Ukrainy. – 2013. – Vypusk 23.16. – S. 81–92.

10. Tokaryuk A.I., Chorney I.I., Budzhak V.V. *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) u uchnykh kompleksakh Pokuttia // Naukovyi Visnyk Chernivetsky University. Biology (Biologichni systemy). – 2017. – 9, № 1. – P. 144–146.

11. Tretyakov D.I., Dubovik D.V., Orlov A.A., Yakushenko D.N. *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) iv Polesie Belarussii i Ukrain y// Botanika (issledovaniye): Sbornik nauchnykh trudov. – 2011. – Vypusk. 40. – P. 138–147.

12. Fitoriznomanittia Poliskoho pryrodnoho zapovidnika: vodorostu, mokhopodibni, sudynni rosliny y / Collectiv autoriv / Naukovyi redactor O.O. Orlov. – Kyiv: TOV "NVP" Interservis", 2013. – 256 s.

13. Baskin C.C., Baskin J.M. Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of weedy species of disturbed forests. 2. *Erechtites hieracifolia* // Canad. J. of Botan. – 1996. – Vol. 74. – P. 2202–2005.

14. Celka Z., Szkudlarz P., Shevera M.V., Milicka N. Morphological variation of *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae) achenes in the zone of the species' geographic range expansion, based on the localities from East-Central Europe // Baltic Forestry. – 2017. – 23, № 2. – P. 356–363.

15. Gleason H.A., Cronquist A. Manual of vascular plants of Northern United States and adjacent Canada (2 ed.). – New York: The N.Y. Bot. Garden, 1993. – 910 p.

16. Csiszár Á. A kisvirágú nebánsvirág (*Impatiens parviflora* DC.) és a keresztlapu (*Erechtites hieracifolia* Raf. ex DC.) terjedési stratégiáinak vizsgálata. Nyugat-Magyarországi Egyetem, Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola. – Sopron, 2004. – 137 p.

17. DB UkrBIN. Available at: http://ukrbn.com/show_image.php?imageid=94835

18. DB Plantarium. Available at: <http://www.plantarium.ru/page/view/item/14729.html> 19. Important Plant Areas of Ukraine / V.A. Onyshchenko (ed.). – Kyiv: Alterpress, 2017. – 376 p.

Надійшла до редколегії 03.10.19

Отримано виправлений варіант 04.11.19

Підписано до друку 04.11.19

Received in the editorial 03.10.19

Received revised version on 04.11.19

Signed in the press on 04.11.19

В. Коломийчук, канд. биол. наук, доц.

Ботанический сад им. А.В. Фомина, УНЦ "Институт биологии и медицины", Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина, М. Шевера, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев, Украина, Е. Воробьев, науч. сотр.

Чернобыльский радиационно-экологический биосферный заповедник, Иванков, Украина,

А. Орлов, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

Полесский филиал Украинского научно-исследовательского института лесного хозяйства и агролесомелиорации им. Г.Н. Высоцкого НАН Украины и Гослесагентства Украины, Житомир, Украина,

Е. Прядко, канд. биол. наук

Национальный природный парк "Голосеевский", Киев, Украина

ERECHTITES HIERACIFOLIA (L.) RAF. EX DC. (ASTERACEAE BERCHT. & J. PRESL), НОВЫЙ ВИД АДВЕНТИВНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ФЛОРЫ КИЕВСКОГО ПОЛЕСЬЯ

Сообщается о находке *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) – нового вида адвентивных растений для флоры Киевского Полесья на территории Чернобыльского радиационно-экологического биосферного заповедника и Национального природного парка "Голосеевский". Вид североамериканского происхождения, по времени заноса – кенофит, по способу заноса – ксенофит, по степени натурализации – колонофит. Впервые в регионе исследований растения данного вида были собраны в 2018 г. в окрестностях бывшего с. Иловица (северная часть населенного пункта) Иванковского р-на Киевской обл. Позже, в 2019 г., вид отмечен еще на двух участках: в окрестностях бывших сел Кливины и Каменка этой же области. Всего выявлено более 30 растений вида, как в вегетативном состоянии, которые существенно преобладают, так и генеративном. Растения отмечены спорадически на опушках соснового леса и на лесных дорогах в составе несформированных растительных сообществ. В 2019 г. вид выявлен также на территории национального природного парка "Голосеевский" (Святошинско-Биличанское отделение), где растения выявлены единично или небольшими группами по 5–10 экземпляров. Всего на исследованных объектах природно-заповедного фонда отмечено около 60 экземпляров растений этого вида. В регион исследования они попали, вероятно, несколько лет назад, занос произошел по автомагистралям, которые растения используют как ветровые коридоры, к которым подходят лесные массивы, а также с помощью транспорта; не исключено, что расселение диаспор осуществляется и с помощью птиц. Представлена картосхема распространения вида в регионе. Приводятся сведения о первичном и вторичном ареалах *E. hieracifolia*, эколого-фитоценотической приуроченности растений. Реконструированы основные этапы заноса и дальнейшего распространения вида в Украине, направление которого связано с северными и западными регионами страны. В настоящее время вид выявляет тенденцию к активному распространению в другие регионы. В Европе он относится к инвазионным видам и требует контроля за распространением.

Ключевые слова: *Erechtites hieracifolia*, вид адвентивных растений, флористическая находка, Киевское Полесье, Украина.

V. Kolomiychuk, Dr., Associate Prof.
O.V. Fomin Botanical Garden, Education and Science Center "Institute of Biology and Medicine",
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
M. Shevera, Dr., Associate Prof.
M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
E. Vorobyov, Researcher
Chernobyl Radiation and Ecological Biosphere Reserve, Ivankiv, Ukraine,
O. Orlov, Dr., Associate Prof.
Poliskiy Branch of Ukrainian Scientific-Research Institute of Forestry and Agro-Forest Amelioration
named after G.M. Vysotskiy of NAS of Ukraine and State Agency of Forestry of Ukraine, Zhytomyr, Ukraine,
O. Pryadko, Dr.
Holosiivsky national nature park, Kyiv, Ukraine

ERECHTITES HIERACIFOLIA (L.) RAF. EX DC. (ASTERACEAE BERCHT. & J. PRESL), NEW FOR THE KYIV POLISSIA ALIEN SPECIES

Information about floristic record of *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) at the territory of the Chernobyl Radiation and Ecological Biosphere Reserve and National Nature Park "Holosiivsky", new for the Kyiv Polyssia alien species was presented. This species has north american origin, according to the time of arrival it is kenophyte, according to the skidding method – xenophyte, on naturalization level – kolonophyte. Firstly in the region of study this species was collected in 2018 in vicinities of former village Ilovnitsa (northern part of the village) of Ivankov district of Kyiv Oblast. Later, in 2019 *E. hieracifolia* was noted in two another sites of biosphere reserve (vicinities of former village Klyvnyy of Ivankiv District, Kyiv Region and former village Kamianka of the same administrative units). Total revealed more than 60 species plants, in vegetative state (prevailed) and also in generative state. Plants were noted sporadically on forest edges and roads in composition of unformed plant communities. In 2019 this species was also found on the territory of National Nature Park "Holosiivsky" (Sviatoshin-Bilychi branch) where individuals of the species were found singly or in small groups (5–10 plants). In total, 60 plants of *E. hieracifolia* were noted here. Probably they came to the study region recently – some years ago, skid occurred on high roads which plants used as wind corridors flanked by forests, and also on local ways; it is possible that diaspores distribution is carried out also by birds. Schematic map of species distribution in the region was presented. Data about primary and secondary areas of the *E. hieracifolia*, its ecological and coenotic peculiarities were presented. The main stages of history of skidding and further distribution of the investigated species in Ukraine were reconstructed; the main directions of its distribution is connected with northern and western regions of the country. Currently, the species tends to actively spread into another regions of Ukraine. In Europe it belongs to invasive species and demands control of spread.

Key words: *Erechtites hieracifolia*, species of alien plants, floristic record, Kyiv Polyssia, Ukraine.

УДК 577.352; 576.342

О. Котик, мол. наук. співроб., А. Котлярова, канд. біол. наук, ст. наук. співроб.,
О. Ісаєва, д-р біол. наук, пров. наук. співроб., С. Марченко, д-р біол. наук
Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

ВПЛИВ ДЕЯКИХ АНЕСТЕТИКІВ ТА ПРИРОДНИХ ОТРУТ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ LCC-КАНАЛІВ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ КАРДІОМІОЦИТІВ ТА НЕЙРОНІВ ПУРКІНЬС МОЗОЧКА

Вивчення фармакологічної чутливості катіонних каналів ядерної мембрани до дії анестетиків і природних отрут є актуальним, оскільки раніше показано, що деякі модулятори N-холінорецепторів (дитилін та атракуріум), які змінюють функціональну активність високопровідних катіонних каналів (LCC-каналів) застосовуються в медицині під час проведення хірургічних втручань. Також певні ін'єкційні форми токсинів, виділених з отрути змії, використовують як препарати з анальгезивною дією. Саме тому метою роботи було перевірити фармакологічну чутливість LCC-каналів до дії міорелаксантів та анестетиків (мідокалму, дипрофолу) і природних отрут (нейротоксину II, α -Кобратоксину). Вплив перелічених речовин оцінювали на основі змін біофізичних параметрів функціонування LCC-каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів і нейронів Пуркінє мозочка. Іонні струми крізь ці канали реєстрували методом петч-клемп у конфігурації nucleus-attached або excised patch у режимі фіксації потенціалу. Нами встановлено, що мідокалм (2 ммоль/л), дипрофол (2 ммоль/л) та α -Кобратоксин (1 ммоль/л) у декілька разів зменшували ймовірність перебування каналів у відкритому стані (P_o). За дії високих концентрацій (1–2 ммоль/л) мідокалму та α -Кобратоксину спостерігали ефект "миготіння" каналів, що свідчить про блокування пори каналу у його відкритому стані. Водночас, під впливом NT II (25 мкмоль/л) середня амплітуда K^+ -струму крізь LCC-канали достовірно зменшилася на 13 % порівняно з контролем. Отримані результати стануть підґрунтям для пошуку нових ефективніших інгібіторів LCC-каналів, які будуть перспективними для використання як інструмента при дослідженні молекулярної динаміки, механізмів регуляції, фізіологічної ролі і структури цих каналів.

Ключові слова: LCC-канали, ядерна мембрана, анестетики, природні отрути.

Вступ. Анестетики мають доволі широке застосування в медичній практиці, при цьому не лише в анестезіології, а й при лікуванні хронічного та онкологічного болю, ЛОР-практиці, офтальмології. Залежно від обсягу впливу на організм розрізняють місцеві (локальне знеболення) та загальні. Останні залежно від способу застосування поділяють на інгаляційні (газоподібні речовини і леткі рідини, котрі вводять в організм через дихальні шляхи) та неінгаляційні (вводять у кров'яне русло). Місцеві анестетики можуть існувати в іонізований (протонний) формі, котрі проникають крізь мембрану у вигляді ліпофільних основ та у формі неіонізованих сполук, котрі розчиняються у мембрані [1]. При проведенні хірургічних втручань найчастіше застосовують лідокаїн, який блокує потенціалзалежні натрієві канали, чим перешкоджає проведенню імпуль-

сів по нервових волокнах [2]. Інший поширений анестетик – новокаїн має здатність блокувати натрієві канали, гальмувати K^+ -струм, конкурувати з кальцієм, знижувати синтез ацетилхоліну. Попри широке застосування анестетиків, механізм дії частини з них досі залишається нез'ясованим, вони мають побічні ефекти, які можуть бути зумовлені широким спектром неспецифічної фармакологічної активності – впливом на інші (крім натрієвих каналів) транспортувальні системи у клітинах. Такі неспецифічні ефекти особливо цікаві для нас з точки зору пошуку блокатора описаних у 2005 р. [3] високопровідних катіонних каналів (LCC-каналів) ядерної мембрани. Метою роботи було перевірити фармакологічну чутливість LCC-каналів до дії анестетиків (мідокалму, дипрофолу) та очищених фракцій зміїних отрут (нейротоксину II, α -Кобратоксину).

Матеріали і методи. Дослідження виконано на щурах ліній *Wistar* та *Fisher* віком від 3 до 4 тижнів. Усі експериментальні процедури виконували відповідно до положень Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України та положень Європейської Конвенції із захисту тварин (Страсбург, 1986). Тварин швидко декапітували та виділяли серце або мозок в розчин на основі NaCl, який містив (ммоль/л): NaCl – 150; HEPES – 10; EDTA – 1 (pH 7,4).

Виділення ядер кардіоміоцитів. Серце відмивали від крові та переносили у розчин такого складу: цукроза – 300; KCl – 60; HEPES – 10 (pH 7,2), у якому його подрібнювали та гомогенізували. До розчину додавали суміш інгібіторів протеаз (cOmplete Protease Inhibitor Cocktail tablets, "Roche", Німеччина) у концентрації зазначеній виробником. Гомогенізацію тканини проводили при 1–4°C із застосуванням скляного гомогенізатора об'ємом 2 мл (Dounce "Bellco Glass", США). Отриманий гомогенат центрифугували протягом 10 хв при 1000 g (4 °C) у центрифугі miniSpin "EppendorfAG" (Гамбург, Німеччина). Супернатант зливали, а осад ресуспендували піпетуванням у розчині, що містив (ммоль/л): KCl – 150; HEPES – 8; HEPES-калієва сіль – 12; EGTA – 1 (pH 7,2) – далі робочий розчин KCl. Детальніше методику виділення описано нами раніше [4].

Виділення ядер нейронів Пуркінє. Зрізи мозочка товщиною приблизно 400 мкм виготовляли вручну та поміщали у розчин (ммоль/л): калію глюконат – 150; EDTA – 1; HEPES – 10; HEPES-калієва сіль – 10 (pH 7,2), також додавали 1,6 мг/мл суміші інгібіторів протеаз (cOmplete Protease Inhibitor Cocktail tablets, "Roche", Німеччина). Тканину гомогенізували шляхом пропускання через металеву голку діаметром 0,7 мм, після чого гомогенат центрифугували на холоді (4°C) при 2000 g протягом 5 хв (miniSpin "EppendorfAG", Гамбург, Німеччина). Детальніше методику отримання ізольованих ядер нейронів Пуркінє описано Марченком С. М. і співавт. [3].

Отриману суспензію ядер нейронів або кардіоміоцитів поміщали в робочу камеру (з прозорим дном) об'ємом 200 мкл. Через 4–7 хв препарат відмивали від залишків інших органел робочим розчином KCl, яким заповнювали також і patch-піпетки. Візуалізацію ядер проводили із використанням інвертованого мікроскопа ("LEICADMIRB", Німеччина). Діючі речовини вносили безпосередньо у камеру із врахуванням кінцевої концентрації або ж повністю замінювали розчин проточною аплікацією.

Електрофізіологічні дослідження. Струми через поодинокі канали реєстрували, використовуючи метод *patch-clamp* у конфігурації *nucleus-attached* або *excised patch* в режимі фіксації потенціалу. Значення показників отримували за допомогою підсилювача Visual-Patch 500 ("Bio-Logic", Франція). Patch-піпетки з опором від 9 до 14 МОм виготовляли з боросилікатного скла ("Sutter Instruments", США). Індиферентний електрод Ag-AgCl був сполучений із робочою камерою через 0,3 % агаровий місток, заповнений робочим розчином. Отримані результати були проаналізовані за допомогою програми Clampfit 10.7 ("Axon Instruments", США). Для графіч-

ного зображення результатів використовували OriginPro 9.0 ("OriginLab Corporation", США).

Результати та їх обговорення. Однією з актуальних досліджуваних нами проблем є вивчення фармакологічної чутливості описаних у 2005 р. високوپровідних катіонних каналів (LCC-каналів) ядерної мембрани. Нашими попередніми дослідженнями показано, що деякі речовини з ряду н-холіномодуляторів здатні суттєво впливати на функціонування цих каналів [5]. Частина з цих речовин (атракуріум, дитилін) одночасно є анестетиками, стосованими у медичній практиці, а як відомо, їм притаманна відносна специфічність, що обумовило вибір блокаторів для подальшого дослідження саме серед препаратів цієї групи. Тим більше, кількість публікацій, котрі підтверджують низьку специфічність навіть відомих і поширених блокаторів (котрі раніше вважали високоспецифічними) щороку зростає. Наприклад, 2-аміноетоксидифенілборат (2-АФБ), який є блокатором IP₃-рецепторів [6, 7], частково інгібує також Ca²⁺-помпу ендоплазматичного ретикулу та депокерований вхід Ca²⁺ [8, 9], блокує TRPC6, TRPM8 і активує TRPV1, TRPV2, TRPV3 – канали [10]. α -конотоксин PeIA інгібує $\alpha 9\alpha 10$ і $\alpha 3\beta 2$ субтипи н-холінорецепторів, а також N-тип кальцієвих каналів [11].

Спочатку ми дослідили вплив мідокалму (міорелаксанта з анестетико-подібною дією) на LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів і нейронів. Діюча речовина мідокалму – толперизон є специфічним інгібітором моносинаптичних і лише частково пригнічує полісинаптичні рефлексі, також має здатність блокувати натрієві канали та кальцієві канали N-типу [12]. У концентраціях від 0,1 до 2 ммоль/л мідокалм не проявляв статистично достовірного впливу на середню амплітуду струму крізь LCC-канали (n=5; рис. 1). Однак, під впливом 2 ммоль/л цієї речовини в 2-4 рази зменшувалася ймовірність перебування каналу у відкритому стані (P_o), а також спостерігали так зване "миготіння" каналу (показано на рис. 1 стрілкою) – кількість швидких послідовних закривань та відкривань каналу за одиницю часу була у 6 разів більшою, ніж у контролі. Оскільки ефект перевірених нами речовин на LCC-канали експресовані в мембранах нейронів Пуркінє та кардіоміоцитах був подібним, то приклад реєстрації струму (тут і далі) представлено на одному з об'єктів, а залежність доза-ефект показано на усереднених показниках для каналів ядер обох типів клітин.

Після цього ми досліджували вплив дипрофолу (діюча речовина – пропофол), механізм дії якого повністю не вивчений, але відомо, що його ефекти зумовлені порушенням функціонування іонних каналів (у т. ч. натрієвих) унаслідок неспецифічного впливу на мембрани нейронів центральної нервової системи. Дія пропофолу передбачає позитивну модуляцію інгібіторної функції нейромедіатора гама-аміномасляної кислоти через ГАМК-рецептори [13]. Під впливом дипрофолу (0,2–2 ммоль/л) середня амплітуда K⁺-струму крізь LCC-канали не змінювалася, але у два рази зменшувалася показник P_o (n=4; рис. 2).

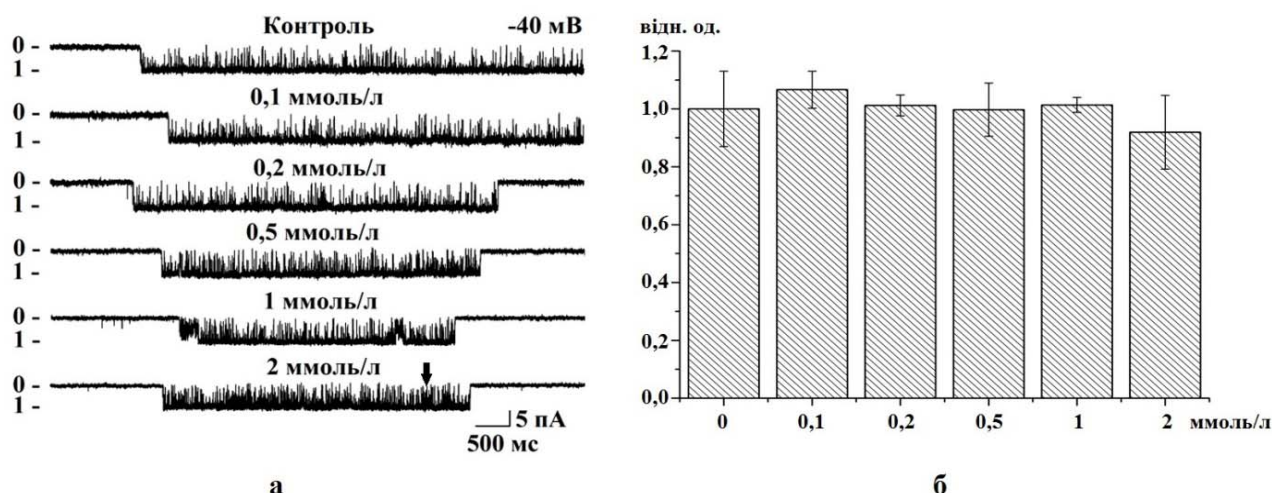


Рис. 1. Активність LCC-каналів ядерної мембрани за дії мідокальму в концентрації від 0,1 до 2 ммоль/л. Оригінальні реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі -40 мВ (а): 0 – всі канали закриті, 1 – відкритий один канал. Амплітуда K⁺-струму через канал, нормалізовані показники (б)

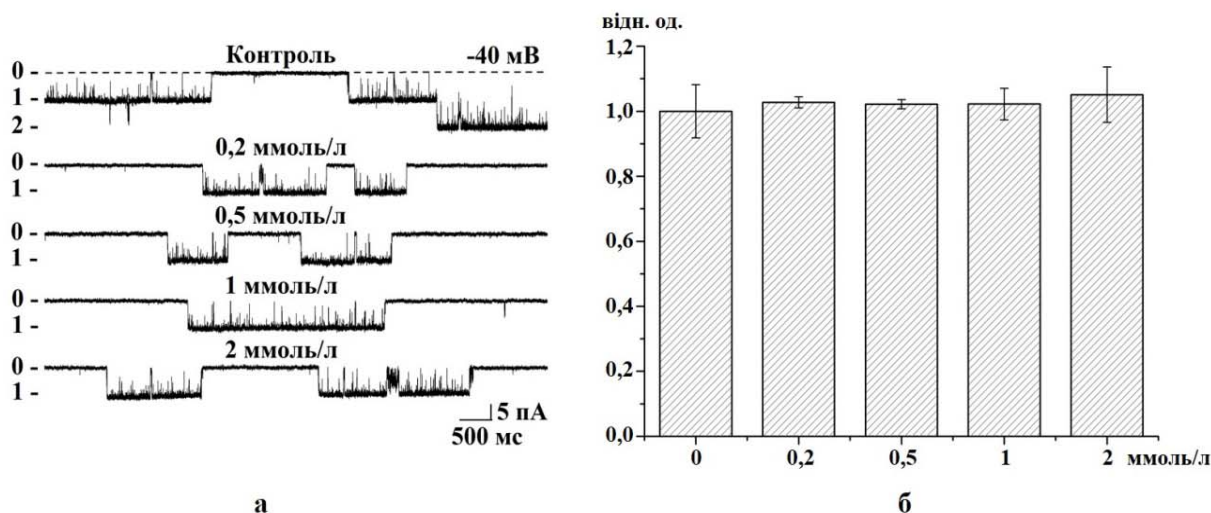


Рис. 2. Приклад реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє при потенціалі -40 мВ (а) та усереднені K⁺-струми крізь LCC-канали ядерних мембран нейронів і кардіоміоцитів (б) під впливом дипрофолу [0,1 – 2 ммоль/л]

Деякі ін'єкційні форми препаратів з анальгезивною і спазмолітичною дією і на сьогодні виготовляють на основі змішаних отрут. Зважаючи на недостатню кількість даних про фармакологічну чутливість LCC-каналів, цікавим аспектом є дослідження не лише впливу н-холіномодуляторів, але й інших речовин, зокрема отрут, які в історичному плані часто були ідентифіковані як блокатори того чи іншого типу каналів. Вплив кількох фракцій таких отрут на LCC-канали нейронів Пуркінє мозочка раніше вже був досліджений. Зокрема, встановлено, що фракції отрути кобри моноклевої, гадюки степової та гадюки шумливої значно (до 85 %) зменшували ймовірність перебування LCC-каналів у відкритому стані, а отрута крайта стрічкового (на четвертину) і скорпі-

она лісового (вдвічі) зменшували значення K⁺-струму через ці канали [14]. Однак, досліджені речовини були у формі неочищених фракцій, що унеможлиблює однозначну оцінку частки впливу тої чи іншої їх складової. Крім цього, за таких умов складно оцінити концентрації діючих речовин у фракційній суміші.

Продовжуючи дослідження впливу природних отрут на функціонування LCC-каналів ми поділяли на них очищеним препаратом нейротоксину II (NTII). Цей нейротоксин, який здатний інгібувати н-холінорецептори, виділяють з отрути кобри *Naja oxiana*. У концентрації 25 мкмоль/л він достовірно зменшував амплітуду струму через LCC-канали на 13 % порівняно з контролем (n=5; рис. 3).

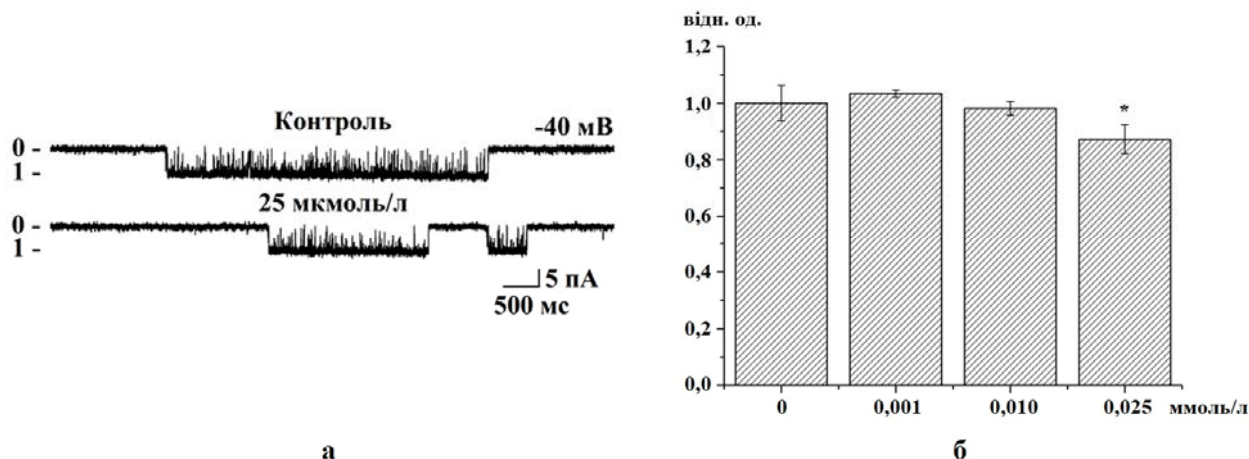


Рис. 3. Функціональна активність LCC-каналів ядерної мембрани за дії NTII [0,001–0,025 ммоль/л]. Оригінальні реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі -40 мВ (а): 0 – всі канали закриті, 1 – один канал відкритий. Калієвий струм через LCC-канал, нормалізовані показники (б)

У наступній серії експериментів ми досліджували біофізичні характеристики функціонування LCC-каналів ядерної мембрани при аплікації α -Кобратоксину (α -CTX). Останній є основним компонентом фракції отрути кобри *Naja kaouthia cobra*, це довголанцюговий α -нейротоксин, що специфічно взаємодіє з $\alpha 7$ і $\alpha 9(\alpha 10)$ субодинами н-холінорецепторів ссавців [15]. α -CTX конкурентно

зв'язується з н-холінорецепторами нейронального і м'язового типів, тим самим гальмуючи іонний потік через постсинаптичну мембрану, що призводить до паралічу. За дії α -CTX у концентрації 1-2 ммоль/л спостерігали зменшення P_o вдвічі та незначний ефект "миготіння" каналу ($n=4$; рис. 4).

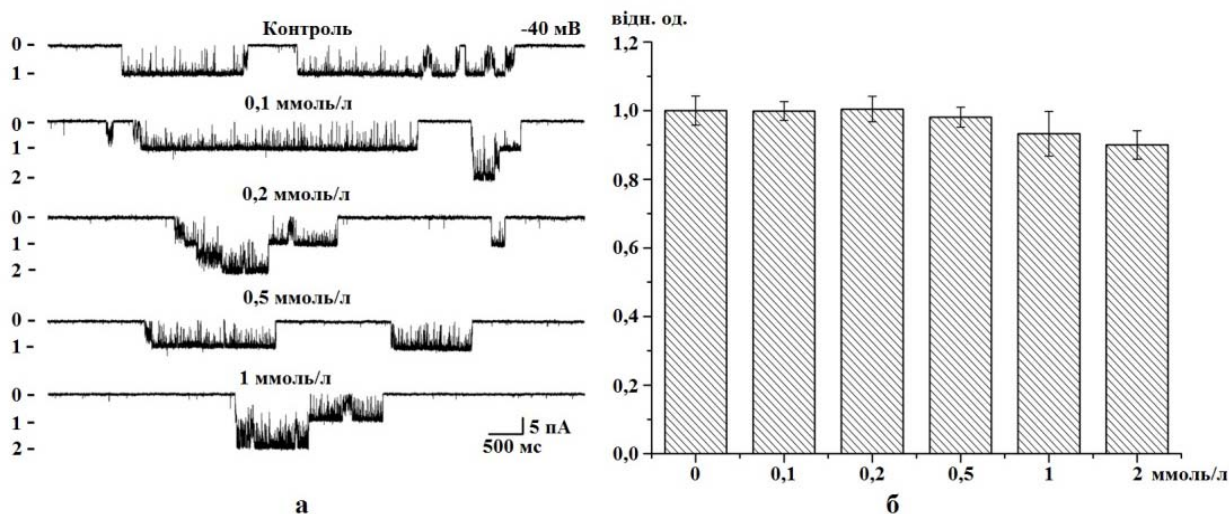


Рис. 4. Функціонування LCC-каналів ядерної мембрани під впливом α -Кобратоксину (α -CTX) у концентрації від 0,1 до 2 ммоль/л. Приклад реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі -40 мВ (а): 0 – всі канали закриті, 1, 2 – відповідна кількість відкритих каналів. Калієвий струм через LCC-канали, нормалізовані показники (б)

Такий ефект "миготіння" під впливом деяких досліджених нами речовин (тубокурарин, дитилін, атракуріум, мідокалм, α -CTX) очевидно, пов'язаний з механічним блокуванням пори каналу у його відкритому стані.

Але ми не можемо також виключити, що зменшення ймовірності перебування каналів у відкритому стані та безпосередня зміна амплітуди струму через них під впливом лігандів нікотинних холінорецепторів зумовлена опосередкованим впливом на певну форму нікотинних рецепторів, присутню на ядерній мембрані, подібно до нещодавно відкритих нікотинних рецепторів на зовнішній мембрані мітохондрій [16], однак це припущення потребує окремого дослідження.

Отже, серед досліджених нами речовин мідокалм і дипрофол, а також α -Кобратоксин в декілька разів змен-

шували ймовірність перебування LCC-каналів у відкритому стані. Після аплікації високих доз мідокалму та α -Кобратоксину спостерігали ефект "миготіння" каналів, що свідчить про часткове механічне блокування пори каналу у його відкритому стані. При цьому середня амплітуда струму за дії усіх перелічених речовин у досліджуваних концентраціях залишалася незмінною. Отримані результати стануть важливими індикаторами при подальшому пошуку більш ефективних і специфічних блокаторів LCC-каналів.

Робота виконана за підтримки гранту "Молекулярно-генетичні і біохімічні механізми регуляції клітинних та системних взаємодій за фізіологічних та патологічних станів – 2017–2021" НАН України 0116U004470.

Автори висловлюють щире подяку академіку НАН України Марині Володимирівні Скок за консультаційну допомогу і надання деяких реагентів; пану Шота Хаджишвілі за часткове фінансування проекту; Наталії Павловій, Марії Хомин, Іраді Юришинець, Лінді Зоркот за асистування під час проведення експериментів.

Список використаних джерел:

1. Місцеві анестетики: механізм дії, токсичні реакції та їх профілактика / Ю. Л. Кучин, М. М. Пилипенко, Ю. І. Налапко, Р. Крегг // Укр. журн. екстремальної медицини імені Г.О. Можаяєва, 2011. – № 2 (12). – С. 33–47.
2. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lignocaine: a review / L. Weinberg, B. Peake, C. Tan, M. Nikfarjam // World J Anesthesiol., 2015. – Vol. 2(4). – С. 17–29.
3. Spontaneously active and InsP₃-activated ion channels in cell nuclei from rat cerebellar Purkinje and granule neurones / S. M. Marchenko, V. V. Yarotsky, T. N. Kovalenko et al. // J. of Physiology, 2005. – Vol. 3, (565). – P. 897–910.
4. Котик О. А. Оптимізація методу ізолювання ядер для електрофізіологічних досліджень іонних каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів щура / О. А. Котик, А. Б. Котлярова, С. М. Марченко // Фізіол. журн., 2018. – № 2 (64). – С. 26–33.
5. Вплив блокаторів на високопровідні катіонні канали в ядерній мембрані / О. А. Котик, А. Б. Котлярова, Н. І. Павлова, С. М. Марченко // Нейрофізіологія. Neurophysiology, 2017. – № 2 (49). – С. 159–161.
6. Котлярова А. Б. IP₃-чутливі Ca²⁺-канали ендоплазматичного ретикула секреторних клітин зовнішньоробітальних слизових залоз щура / А. Б. Котлярова, В. В. Манько // Укр. біохім. журн., 2013. – № 5 (85). – С. 27–36.
7. 2-Aminoethoxydiphenyl borate affects the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, the intracellular Ca²⁺ pump and the non-specific Ca²⁺ leak from the non-mitochondrial Ca²⁺ stores in permeabilized A7r5 cells / L. Missiaen, G. Callewaert, H. de Smedt, J. B. Parys // Cell Calcium., 2001. – Vol. 29(2). – P. 111–116.
8. Котлярова А. Б. Вплив 2-АФБ на Ca²⁺-помпу ендоплазматичного ретикула секреторних клітин слизової залози / А. Б. Котлярова, В. В. Манько // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія, 2013. – № 3. – С. 38–43.
9. Bootman M. 2-Aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) is a reliable blocker of store-operated Ca²⁺ entry but an inconsistent inhibitor of InsP₃-induced Ca²⁺ release / M. Bootman, T. Collins, L. Mackenzie et al // FASEB J., 2002. – Vol. 16(10). – P. 1145–1150.
10. 2-Aminoethoxydiphenyl borate is a common activator of TRPV1, TRPV2, and TRPV3 / Hong-Zhen Hu, Qihai Gu, Chunbo Wang et al. // J. Biological Chem., 2004. – Vol. 279 (34). – P. 35741–35748.
11. Daly N.L. Structure and activity of α -Conotoxin PeIA at nicotinic acetylcholine receptor subtypes and GABA(B) receptor-coupled N-type calcium channels / N. L. Daly, B. Callaghan, R. J. Clark // J. Biological Chem., 2011. – Vol. 286 (12). – P. 10233–10237.
12. Tekes K. Basic aspects of the pharmacodynamics of tolperisone, a widely applicable centrally acting muscle relaxant / K. Tekes // The Open Medicinal Chem. J., 2014. – Vol. 8. – P. 17–22.
13. Propofol anesthesia. mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery / G. M. Trapani, C. Altomare, G. Lisoet et al // Current Medicinal Chem., 2000. – Vol. 7 (2). – P. 249–271.
14. Вплив природних отрут на характеристики катіонних каналів великої провідності внутрішньої ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щурів / О. В. Луцько, О. А. Федоренко, О. В. Ісаєва, С. М. Марченко // Фізіол. журн., 2018. – № 6 (64). – С. 23–31.
15. Detection of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors with the aid of antibodies and toxins / V. Tsetlin, I. Shelukhina, E. Kryukova et al. // Life Sciences, 2007. – Vol. 80 (24–25). – P. 2202–2205.
16. Nicotinic acetylcholine receptors in mitochondria: subunit composition, function and signaling / M. Skok, G. Gergalova, O. Lykhmus // Neurotransmitter, 2016. – Vol. 3 (e1290). – P. 1–12.

Е. Котик, мл. науч. сотр., А. Котлярова, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Е. Исаева, д-р биол. наук, вед. науч. сотр., С. Марченко, д-р биол. наук
Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, Киев, Украина

References (Scopus):

1. Kuchin YuL, Pylypenko MM, Nalapko Yul, Cregg R. [Local anesthetics: mechanism of action, toxic reactions and its prevention]. Ukrainian J of extreme medicine behalf H.O. Mozhayeva. 2011;2(12):33–47. (Ukrainian).
2. Weinberg L, Peake B, Tan C, Nikfarjam M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lignocaine: A review. World J Anesthesiol. 2015;2(4):17–29.
3. Marchenko SM, Yarotsky VV, Kovalenko TN et al. Spontaneously active and InsP₃-activated ion channels in cell nuclei from rat cerebellar Purkinje and granule neurones. J Physiology. 2005;3(565):897–910.
4. Kotyk OA, Kotliarova AB, Marchenko SM. [Optimization of the method of nuclei isolation for electrophysiological studies of ion channels in the nuclear membrane of the rat cardiomyocytes]. Fiziol Zh. 2018;64(2):26–33. (Ukrainian).
5. Kotyk OA, Kotliarova AB, Pavlova NI, Marchenko SM. [Effects of blockers of large-conductance cation channels of the nuclear membrane]. Neurophysiology. 2017 Apr;49(2):159–61. (Ukrainian).
6. Kotliarova AB, Manko VV. [IP₃-sensitive Ca²⁺-channels of endoplasmic reticulum in secretory cells of the rat exorbital lacrimal gland]. 2013;85(5):27–36. (Ukrainian).
7. Missiaen L, Callewaert G, De Smedt H, Parys J. 2-Aminoethoxydiphenyl borate affects the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, the intracellular Ca²⁺ pump and the non-specific Ca²⁺ leak from the non-mitochondrial Ca²⁺ stores in permeabilized A7r5 cells. Cell Calcium. 2001 Feb;29(2):111–6.
8. Kotliarova A, Manko V. [Effect of 2-APB on SERCA of lacrimal gland secretory cells]. Experimental and clinical physiology and biochemistry. 2013;3:38–43. (Ukrainian).
9. Bootman M, Collins T, Mackenzie L et al. 2-Aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) is a reliable blocker of store-operated Ca²⁺ entry but an inconsistent inhibitor of InsP₃-induced Ca²⁺ release. FASEB J. 2002;16(10):1145–50.
10. Hong-Zhen Hu, Qihai Gu, Chunbo Wang et al. 2-Aminoethoxydiphenyl borate is a common activator of TRPV1, TRPV2, and TRPV3. J Biol Chem. 2004;279(34):35741–8.
11. Daly NL, Callaghan B, Clark RJ. Structure and activity of α -Conotoxin PeIA at nicotinic acetylcholine receptor subtypes and GABA(B) receptor-coupled N-type calcium channels. J Biol Chem. 2011;286(12):10233–7.
12. Tekes K. Basic aspects of the pharmacodynamics of tolperisone, a widely applicable centrally acting muscle relaxant. The Open Medicinal Chemistry J. 2014;8:17–22.
13. Trapani G, Altomare C, Liso G, Sanna E, Biggio G. Propofol in anesthesia, mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery. Curr Med Chem. 2000;7(2):249–71.
14. Lunko OV, Fedorenko OA, Isaeva EV, Marchenko SM. [Effects of venoms on large conductance cationic channels on the inner nuclear membrane of rat cerebellum Purkinje neurons]. Fiziol Zn. 2018;6(64):23–31. (Ukrainian).
15. Tsetlin V, Shelukhina I, Kryukova E et al. Detection of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors with the aid of antibodies and toxins. Life Sciences. 2007;80(24–25):2202–5.
16. Skok M, Gergalova G, Lykhmus O et al. Nicotinic acetylcholine receptors in mitochondria: subunit composition, function and signalling. Neurotransmitter. 2016;3(e1290):1–12.

Надійшла до редколегії 03.10.19

Отримано виправлений варіант 04.11.19

Підписано до друку 04.11.19

Received in the editorial 03.10.19

Received revised version on 04.11.19

Signed in the press on 04.11.19

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АНЕСТЕТИКОВ И ПРИРОДНЫХ ЯДОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЛСС-КАНАЛОВ ЯДЕРНОЙ МЕМБРАНЫ КАРДИОМИОЦИТОВ И НЕЙРОНОВ ПУРКИНЬЕ МОЗЖЕЧКА

Изучение фармакологической чувствительности катионных каналов ядерной мембраны к влиянию анестетиков и природных ядов является актуальным, поскольку ранее показано, что некоторые модуляторы н-холинорецепторов (атракуриум и дитилин), которые изменяют функциональную активность ЛСС-каналов используются в медицине. Кроме того, некоторые инъекционные формы токсинов, которые выделяют из яда змей, используются в качестве препаратов с анальгезирующим действием. Поэтому целью исследования было проверить фармакологическую чувствительность ЛСС-каналов к действию миорелаксантов и анестетиков (мидокалма, дипрофол) и природных ядов (нейротоксина II, α -Кобратоксина). Влияние перечисленных веществ оценивали на основе изменений биофизических параметров функционирования ЛСС-каналов ядерной мембраны кардиомиоцитов и нейронов Пуркинье мозжечка. Токи через каналы регистрировали методом пэтч-клэмп в конфигурации nucleus-attached или excised patch в режиме фиксации потенциала. Нами установлено, что мидокалм (2 ммоль/л), дипрофол (2 ммоль/л) и α -Кобратоксин (1 ммоль/л) в несколько раз уменьшали вероятность нахождения каналов в открытом состоянии. За действия высоких концентраций (1–2 ммоль/л) мидокалма и α -Кобратоксина наблюдали эффект "мерцания" каналов, что свидетельствует о блокировании поры канала в открытом состоянии. Также средняя амплитуда К⁺-тока через канал под влиянием NT II в концентрации 25 мкмоль/л достоверно уменьшалась на 13% относительно контроля. Полученные результаты станут основой для поиска более эффективных ингибиторов ЛСС-каналов, которые будут перспективными для использования в качестве инструмента при исследовании молекулярной динамики, механизмов регуляции, физиологической роли и структуры этих каналов.

Ключевые слова: ЛСС-каналы, ядерная мембрана, анестетики, природные яды.

O. Kotyk, M. Sci, A. Kotliarova, Ph. D., O. Isaeva, Dr. Sci., S. Marchenko, Dr. Sci.
Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

THE EFFECT OF SOME ANESTHETICS AND NATURAL VENOMS ON THE LCC-CHANNELS FUNCTIONING OF THE NUCLEAR MEMBRANE OF CARDIOMYOCYTES AND CEREBELLUM PURKINJE NEURONS

The investigation of pharmacological sensitivity of the cationic channels in nuclear membrane to the influence of anesthetics and natural venoms is relevant since it was shown that some modulators of N-cholinoreceptors (dithylinum, atracurium) affecting the large conductance cation channels (LCC-channels) functional activity are used in medicine during surgery. In addition, some injectable forms of toxins from the snake venom are used as drugs with an analgesic effect. Therefore, the aim of the study was to investigate the pharmacological sensitivity of the LCC-channels to the muscle relaxants, anaesthetics (mydocalm, diprofol) and natural venoms (neurotoxin II, α -Cobratoxin). The influence of these substances was evaluated based on changes in biophysical parameters of functioning of the LCC-channels of nuclear membrane of the cardiomyocytes and cerebellar Purkinje neurons. Ion currents through these channels were registered in the nucleus-attached or excised patch configuration and the voltage-clamp mode of the patch-clamp technique. We found that mydocalm (2 mM), diprofol (2 mM) and α -Cobratoxin (1 mM) reduced several times the probability of the channels being in the open state. Under the influence of mydocalm and α -Cobratoxin in high concentrations (1-2 mM) the effect of channels flickering was observed which indicates the channel pore blocking in its open state. At the same time, the average amplitude of the K⁺ current through the LCC-channels decreased by 13 % under the influence of NT II (25 μ M). The results will be the basis for identification of new, more effective inhibitors of the LCC-channels that will be promising for the physiological relevance and structure of the channels investigation.

Keywords: LCC channels, nuclear membrane, anesthetics, natural venoms.

УДК 581.9 (477.72)

Л. Мацап'як, провід. наук. співроб.
Національний природний парк "Верховинський", Верхній Ясенів, Україна

АНАЛІЗ ФЛОРИ СУДИННИХ РОСЛИН НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ "ВЕРХОВИНСЬКИЙ"

Проаналізовано систематичну структуру флори Національного природного парку "Верховинський" з подальшим здійсненням критико-таксономічного, біоморфологічного, географічного аналізів, проаналізована соціологічна цінність флори. Встановлено, що у складі флори наявні 675 видів вищих судинних рослин, які належать до 5 відділів. Домінують Magnoliophyta – 93,6 %, співвідношення Magnoliopsida до Liliopsida становить 1:3,2, що характерно для флори Середньої Європи. Це є свідченням приблизно однакового віку флор НППВ, Українських Карпат та Середньої Європи. Отже, проведено систематичний аналіз, який підтвердив, що флора парку є типовою середньоевропейською з вираженими бореальними рисами. За аналізом географічної структури встановлено приналежність флори НПП "Верховинський" до середньоевропейського типу з переважанням елементів монтанних, океанічних, темперантних та субтемперантних флор. Разом з тим в її складі участь видів, характерних для європейсько-азійських бореальних субконтинентальних флор, значна. Проаналізовано екологічну структуру флори, що вказує на переважання у її складі мезофітів, мезотрофіє та геліофітів, що властиво для флор Середньої Європи. Встановлено, що в межах території парку ростуть 71,4 % видів флори Українських Карпат, загрожуваних в глобальному масштабі, 36,4 % – загрожуваних в європейському масштабі, 47,8 % ендеміків і 54,2 % субендеміків Українських Карпат. Найвищий рівень соціологічної значимості характерний для масивів Гнєтєса-Фатія Банулуї (63 раритетних види), Прелуки-Хутанка – (53 види).

Ключові слова: флора, судинні рослини, ендеміки, раритетні види, НПП "Верховинський", Чивчино – Гринявські гори.

Вступ. Збереження біорізноманіття є глобальною екологічною проблемою і розв'язання її можливе тільки на основі вичерпних знань про різноманіття рослинного і тваринного світу конкретних регіонів. У зв'язку з цим важливе значення мають детальні флористичні дослідження, без яких неможливе регіональне природокористування і створення науково обґрунтованої системи охорони фітобіоти. Окрім того, встановлення повного видового складу і детальний аналіз флори сприяють вирішенню багатьох питань систематики і фітогеографії, є підставою для наступного фітомоніторингу.

Розв'язання вищезазначених питань актуально для регіонів з високим рівнем видового багатства та оригінальністю флори. До таких в Українських Карпатах належать Чивчино-Гринявські гори, де створений Національний природний парк "Верховинський" Указом Президента України від 22 січня 2010 р. (№ 58/2010), загальною площею – 12022,9 га. В адміністративних межах Верховинського району Івано-Франківської області (верхів'я Білого і Чорного Черемошів) – це найбільш віддалена і важкодоступна частина Українських Карпат.

Чивчинські гори, в межах яких розташована більша частина НПП "Верховинський", є північно-західною частиною Мармароського кристалічного масиву. Це єдиний в Українських Карпатах район, де на поверхню виходять найдавніші метаморфічні утворення, складені доверхньопалеозойськими вулканогенними, туфогенними та осадовими метаморфічними породами – гнейсами, амфіболітами, вапняками. Своєрідна геоло-

гічна будова стали причинами формування специфічної флори цього регіону.

За фізико-географічним районуванням територія НПП "Верховинський" знаходиться в межах Рахівсько-Чивчинської, та в межах Полонинсько-Чорногірської області Українських Карпат [15].

За геоботанічним районуванням територія належить до Свидовецько-Покутсько-Мармароського округу Східно-Карпатської гірської підпровінції Центрально-європейської провінції Європейської широколистяно-лісової області [5].

Чивчинські гори, незважаючи на віддаленість здавна привертала увагу ботаніків. Ботанічні дослідження на території, яку зараз займає НПП "Верховинський" почалися ще у XIX ст. Вони мали суто флористичний характер, а результати наведено у працях О. Волощака (Woloszszak, 1888) та Х. Запаловича (Zapalowicz, 1889; 1906; 1908; 1911). У середині 30-х років минулого століття на території Чивчинських гір працювала комплексна ботанічна експедиція польських вчених під керівництвом Б. Павловського. За її результатами опубліковано аналіз флори Чивчинських гір (Pawlowski, 1948) та їхня геоботанічна характеристика (Pawlowski, Walas, 1949). Відомості про флору і рослинність Чивчинських гір містяться у працях низки українських ботаніків: В.І. Чопика (1969; 1976), Є.М. Бродіс (1969), В.П. Горбика (1968а; 1968б), В.П. Горбика і Т.Л. Андрієнко (1969), К.А. Малиновського (1980), С.О. Волгіна та Н.М. Сичак (1989а; 1989б; 1992), Л.І. Мілкіної (1994), І.І. Чорнея

(2005; 2006), І.І. Чорнея та В.В. Буджака (2003), М.В. Величка та І.І. Чорнея (2003; 2004), М.В. Величка, І.І. Чорнея та В.В. Буджака (2004а; 2004б), а також у різних "Флорах", "Визначниках" "Червоних книгах".

Метою даної публікації було встановлення сучасного різноманіття флори судинних рослин НПП "Верховинський" з подальшим здійсненням критико-таксономічного, біоморфологічного, географічного аналізів, проаналізована соціологічна цінність флори.

Об'єкти та методи дослідження.

Дослідження проводили у 2013–2018 рр., протягом всього вегетаційного періоду, з використанням загальноприйнятих методик на пробних площах, зі зборами гербарію та фенологічними спостереженнями. Номенклатура таксонів наведена за S. Mosyakin, M. Fedorovich (1999). Географічний аналіз, зокрема, характеристику ареалів видів, проводили із застосуванням ареалогічних формул видів (Meusel, Jager, Weinert, 1965). Аналіз біоморфологічної структури флори проведений з використанням класифікації біологічних типів (Raun-

kiaer, 1934). Для розгляду екологічних особливостей видів враховувались такі лімітуючі фактори як світло, волога, трофічність та хімізм субстрату методом фітоіндикації (Дідух, Плюта, 1984). Соціологічну оцінку флори здійснено з урахуванням підходів К.А. Малиновського зі співавторами (2002).

Результати та обговорення.

Найважливішим кількісним показником флори тієї чи іншої території є рівень її багатства, який визначається загальною кількістю видів, родів та родин [12]. За результатами власних польових досліджень, літературних матеріалів та опрацювання гербарних зборів встановлено, що флора НПП "Верховинський" представлена 675 видами судинних рослин, які належать до 5 відділів (табл. 1). Домінують, Magnoliophyta – 93,6 % від загальної кількості видів, з яких до Magnoliopsida належать 70,3 % видів, до Liliopsida – 23,4 % видів. Видове багатство парку складає 34,0 % видів флори Українських Карпат. Причому Чивчинські гори становлять 8,1 % площі Українських Карпат.

Таблиця 1. Кількісна характеристика головних таксономічних одиниць у флорі НПП "Верховинський"

№ п/п	Назва таксону	Кількість родин	%	Кількість родів	%	Кількість видів	%
1	<i>Lycopodiophyta</i>	3	3,6	4	2,3	5	0,7
2	<i>Equisetophyta</i>	1	1,2	1	0,5	7	1,0
3	<i>Polypodiophyta</i>	8	9,7	11	6,4	25	3,7
4	<i>Pinophyta</i>	2	2,4	5	2,9	5	0,7
5	<i>Magnoliophyta</i>	68	82,9	149	87,6	632	93,6
	з них: <i>Magnoliopsida</i>	51	62,2	93	54,7	475	70,3
	<i>Liliopsida</i>	17	20,7	56	32,9	158	23,4
	Всього:	82	100,0	170	100,0	675	100,0

Досить великий відсоток у флорі НППВ становлять *Lycopodiophyta* (0,7 %), *Equisetophyta* (1,0 %) і *Polypodiophyta* (3,7 %) порівняно з показниками для Українських Карпат (0,45 %; 0,45 %; 1,9 %) [22]. Спорів судинні рослини (*Lycopodiophyta*, *Equisetophyta*, *Polypodiophyta*) та *Pinophyta* разом включають 42 види, що становить 6,1 % від їхньої загальної кількості,

що властиве як для флор різних регіонів, так і для флори Земної кулі в цілому.

Систематична структура флори дає можливість порівнювати флористичне багатство різних за площею регіонів і визначити її місце в системі суміжних і регіональних флор. Саме таку інформацію надає порівняльний аналіз флористичних спектрів НПП "Верховинський" та Українських Карпат (табл. 2.)

Таблиця 2. Розподіл таксономічних груп у флорах НПП "Верховинський" та Українських Карпат

Назва таксону	Українські Карпати/НПП "Верховинський"	
	Кількість	%
<i>Lycopodiophyta</i>	9/5	0,45/0,7
<i>Equisetophyta</i>	9/7	0,45/1,0
<i>Polypodiophyta</i>	38/25	1,9/3,7
<i>Pinophyta</i>	10/5	0,5/0,7
<i>Magnoliophyta</i>	1931/632	96,7/93,6
<i>Magnoliopsida</i>	1486/475	74,4/70,3
<i>Liliopsida</i>	445/158	22,3/23,4
Разом	1997/675	100

Зважаючи на те, що площі порівнюваних флор відрізняються майже у сто разів, ступінь репрезентативності рослинного покриву парку для Українських Карпат вважаємо достатньо високим.

Найпоказовішими для характеристики флор будь-яких територій є флористичні спектри, зокрема, перші десять родин (за кількістю видів) та порядок їхнього розміщення [12, 14, 18].

Як видно з представлених на рис. 1 даних провідну частину родинного спектру флори НППВ складають такі родини: *Asteraceae* – 97 видів, *Poaceae* – 55 видів, *Cyperaceae* – 28 видів, *Caryophyllaceae* – 25 видів, *Ranunculaceae* та *Brassicaceae* по 24 види, *Orchidaceae*

– 23 видів, *Rosaceae* – 22 видів, *Fabaceae* – 20 видів, *Lamiaceae* – 19 видів.

Перші дві позиції у спектрі провідних родин займають космополітні родини *Asteraceae* і *Poaceae*, що властиво практично для всіх регіональних флор Палеарктики – від Португалії і Північної Африки до Японії і Чукотки. Третє місце займає родина *Superaceae*, представники якої поширені по всій Земній кулі, але найчисленніші в помірних і холодних поясах північної півкулі і тому вона знаходиться на провідних позиціях переважно у флорах бореальних і монтанних областей. На четвертому місці знаходиться родина *Caryophyllaceae*, представники якої трапляються повсюди, а особливо в Середземноморській та Ірано-Туранській областях,

тому, що своїм походженням вони переважно зв'язані з Древнім Середзем'ям. Через це їй властивий високий рівень видового багатства в бореальних, монтанних та середземноморських областях. На наступній позиції

родина *Ranunculaceae*, представники якої дуже широко розповсюджені, але зосереджені, головним чином, у помірних і холодних областях північної і південної півкулі, особливо в північній помірній зоні.

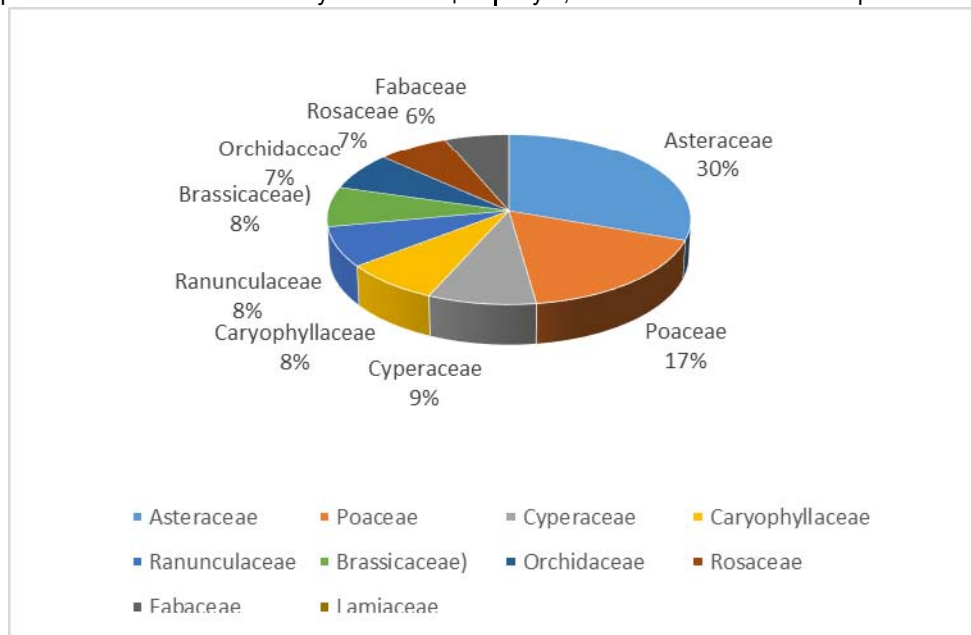


Рис. 1. Спектр провідних родин флори НПП "Верховинський"

Як зазначає А.П. Хохряков, порівнюючи спектри провідних родин, особливо перших трьох або шести з них, можна отримати певні якісні оцінки. Порівнюючи родинно-видові спектри регіональних флор Палеарктики, він виявив таку закономірність: перша тріада родин у них подібна. До її складу майже завжди входять *Asteraceae* і *Poaceae*, а третьою (не обов'язково третьою за рангом) може бути одна з таких родин (упорядку зниження частоти "трапляння"): *Fabaceae*, *Cyperaceae*, *Rosaceae*, *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae*, *Ranunculaceae*, *Lamiaceae*, *Scrophulariaceae*. Таким чином, *Asteraceae* і *Poaceae* можна назвати "характерними" родинками, а третю – "диференційною" [12].

Отже, таксономічний склад провідної частини родинного спектру НПП "Верховинський" свідчить про її монтанно-бореальний характер. Однією з причин цього може бути те, що якраз на території Чивчино-Гринявських гір знаходяться мезоекореїони з найвищими в Українських Карпатах середніми абсолютними висотами: Чивчинські кристалічні полонини (середня абсолютна висота 1382 м н.р.м.) і Чивчинські флішеві полонини (середня абсолютна висота 1271 м н.р.м.). У зв'язку з цим тільки на території Чивчино-Гринявських гір представлені мезоекореїони дев'ятого, найхолоднішого, біокліматичного класу (прохолодні до помірно холодних). Разом з тим, на цій території відсутні мезоекореїони перших чотирьох (найтепліших) біокліматичних класів [12, 14].

Аналіз географічної структури. Спектр географічних елементів флори Чивчино-Гринявських гір складають представники двох типів (плурірегіональний і голарктичний), 8 географічних елементів (плурірегіональний, голарктичний, аркто-альпійський, євразійський,

європейський, євро-кавказький, субсередземноморський і монтанний), 55 груп поширення і 7 груп зв'язуючих видів. Переважають види, які належать до євразійського (25,6 %), монтанного (22,1 %) та європейського (19,8 %) геоелементів, що зумовлено як гірським характером дослідженої флори, так і розташуванням Карпат на перетині головних міграційних шляхів. Представники плурірегіонального геоелемента складають 4,7 % видового складу флори, а їхня кількість зменшується зі зниженням висоти над рівнем моря. Відсоток видів голарктичного геоелемента вищий, ніж у флорі Карпат (11,5 % проти 7,1 %) [21]. Частка аркто-альпійських таксонів у флорі Чивчино-Гринявських гір становить 4,0 %, а розподіл їх по території регіону дуже нерівномірний: майже всі представники цього геоелемента зосереджені в Чивчинських горах, де добре виражений субальпійський пояс. Частка монтанних видів складає 22,1 %. У їхньому складі переважають ендемічні таксони, значний відсоток припадає на види таких груп поширення як карпато-балканська – 2,4 %, альпійсько-карпато-балканська – 2,2 % і альпійсько-карпатська – 1,1 %.

Аналіз біоморфологічної структури. У флорі НППВ переважають трав'янисті рослини 621 видів (93,9 %), частка видів інших типів життєвих форм складає 6,1 %. За тривалістю життєвого циклу переважають полікарпики – 548 видів (87,2 %), монокарпиків відмічено – 73 види (11,8 %).

Як видно з рис. 2. спектр екобіоморфологічних типів флори Чивчино-Гринявських гір досить типовий для флор помірної зони. У спектрі біологічних типів (Raunkiaer, 1934) переважають гемікриптофіти (60,7 %), на другому місці знаходяться криптофіти (16,3 %), наступні позиції займають терофіти (11,1 %), фанерофіти (8,2 %) і хамефіти (3,8 %).

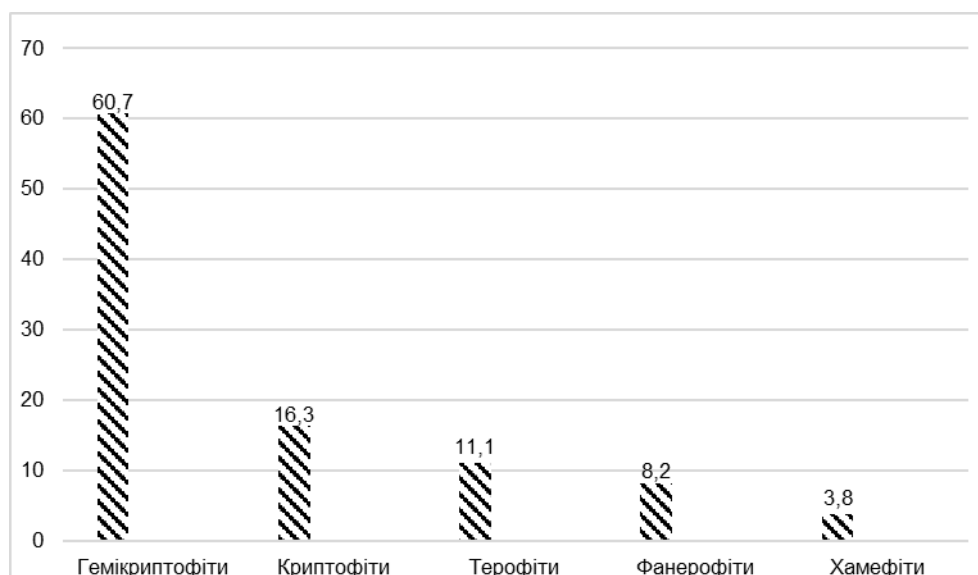


Рис. 2. Спектр екобіоморфологічних типів флори НПП "Верховинський"

У складі флори Чивчинських гір переважають ентомогами – 66,2 %, що напевно пов'язано з тим, що у горах для більшості видів характерне яскраве забарвлення віночка. Значний відсоток анемогамів – 21,5 %, що можна пов'язати з високою репрезентативністю у даній флорі родин *Scrophulariaceae* та *Rosaceae*, представники яких приурочені до болотних та лучних угруповань, що складають значну долю рослинного покриву досліджуваної території. Особливості кліматичних умов території НППВ (зокрема, постійні сильні вітри) зумовлюють значне переважання анемохорного типу поширення діаспори 67,2 % [14, 24].

Екологічна структура. Завданням екологічного аналізу флори є виявлення головних рис екологічних досліджуваного регіону методом фітоіндикації [8]. Розглянуто екологічну структуру флори НППВ за такими факторами як вологість, світло, трофність та хімізм субстрату. Серед гігоморф у досліджуваній флорі переважають мезофіти – 73 %, фактично вони є фоновими у досліджуваному регіоні і зайняті переважно лучними та лісовими фітоценозами. На другій позиції гідрофіти – 21,4 %, поширені вони біля гірських джерел, вздовж берегів, потоків та річок. Далі йдуть ксерофіти – 3,5 % та гігрофіти – 2,1 %.

За ступенем пристосування до інтенсивності освітлення геліофітів найбільше – 85,8 %. Причина цього – значні площі угруповань відкритого типу (лучні, болотні, скельні) і високий рівень їх видового багатства.

За відношенням до трофності ґрунтів переважають мезотрофи – 69,5 %, на долю евтрофів припадає 17,7 %, оліготрофів – 12,8 %.

За відношенням до хімізму субстрату види досліджуваної флори розподілені наступним чином: індиферентні – 69,3 %, кальцефіли – 14,2 %, кальцефоби – 11,9 %, нітрофіли – 3,4 %. Слід зазначити, що Чивчинські гори належать до найбагатших кальцефілами регіонів в Українських Карпатах, серед яких велика кількість раритетних видів.

Чивчино-Гринявські гори "найбагатші" в Українських Карпатах на ендемічні таксони, що є одним із проявів північно-південного градієнту наростання кількості ендемічних видів. Тут найбільша кількість стенохорних і гемістенохорних ендеміків та палеоендеміків, що свідчить про високу ступінь індивідуальності флори регіону. Найбільше ендеміків, які зростають в Українських Карпатах, належить до східно-південнокарпатської та схід-

нокарпатської ареалогічних груп, що є одним із свідчень більш тісних флорогенетичних зв'язків Південних і Східних Карпат [16, 17].

Аналіз розподілу ендеміків за флористичними районами показав, що найбільше їх відомо з Чивчино-Гринявських гір – 51. У складі досліджуваної флори виявлено 54,3 % ендемічних таксонів із зведеного списку ендеміків Українських Карпат. Їх розподіл за ареалогічними групами: переважають південно-східнокарпатські ендеміки, а найменша доля припадає на загальнокарпатські та західносхіднокарпатські. Виявилось, що 27 родин мають у своєму складі ендемічні таксони, але найбагатшими з них на ендеміки є родини *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Ranunculaceae*, *Campanulaceae*, *Rubiaceae* [15, 16, 17].

Найбільше ендеміків у Чивчинських горах належать до групи видів, поширених у субальпійському та середньогірському поясах (40 %). На другому місці (27 %) – види, поширені переважно у субальпійському поясі. Це характерна риса Чивчин, за якою висотний розподіл ендеміків Чивчино-Гринявських гір відрізняється від висотного розподілу ендеміків Українських Карпат за В.І. Чопиком (1976), згідно з якого більшість ендемічних таксонів зосереджені в субальпійському поясі. Причиною цього є те, що, дві третини ендеміків у Чивчино-Гринявських горах належать до кальцефілів. Поширення карбонатних відслонень у регіоні має інтразональний характер: вони трапляються в субальпійському (Чивчин, Будийовська Велика, Сулігул, Кукул, Ротундул, Прелуки) і досить часто в монтанному (Чивчин, Попадя-Лостун, Мокринів Камінь, Гнетеса, Фатія Банулуї, Прелуки) поясах. Цим і обумовлена наявність низки видів поза межами звичайного для них висотного діапазону, тобто поширення субальпійських видів також і в монтанному поясі [15, 18, 23].

Переважає більшість ендеміків приурочені до угруповань, які формуються на карбонатних відслоненнях або вапнякових ґрунтах, що є загальною закономірністю поширення ендеміків у більшості гірських систем Європи, у тому числі Карпат [14, 25].

Ряд ендеміків відомий в Українських Карпатах тільки з території Чивчинських гір: *Delphinium elatum* L. subsp. *nacladense* (Zapał.) J. Holub, *Minuartia verna* (L.) Hern. subsp. *oxypetala* (Wol.) Hall., *Erysimum wittmannii* Zawadskisubsp. *transsilvanicum* (Schur) P.W. Ball, *Thlaspi pawlowskii* Dvoraková, *Galium pawlowskii* Kukova, *Nigritella carpatica* (Zapał.) Teppner, Klein et Zagulskij,

Trisetum alpestre (Host) P. Beauv subsp. *glabrescens* (Schur) Tzevel. Крім того, для Чивчинських гір властивий свій власний ендемізм: *Thlaspi pawlowskii* (г. Сулігул), *Galium pawlowskii* (г. Чивчин), *Nigritella carpatica* (полонина Прелуки). До цієї ж групи (відомих в Українських Карпатах тільки з Чивчин) належать і такі види, як *Elisanthe zawadskii* (Herbich) Klokov (= *Silenanthe zawadskii* (Herbich) Griseb. et Schenk, *Dianthus superbus* subsp. *Speciosus* (Rchb.) Simonk., *Saxifraga corymbosa* Boiss., *Lathyrus subalpestris* (Herbich) G. Beck, *Cirsium heterophyllum* (L.) Hill., *Crepis jaquinii* Tausch., *Carduus defloratus* subsp. *glaucus* Baumg.

З території Гринявських гір відомо 16 ендемічних таксонів – це "некарбонатні" ендеміки, які досить часто трапляються в Чивчинських горах і відомі переважно з поодиноких оселищ у Гринявських горах. До них належать *Aconitum moldavicum* subsp. *hosteanum* (Schur) Graebn, *Ranunculus carpaticus* Herbich, *Trollis altissimus* subsp. *Deylii* Chrtek, *Primula elatior* subsp. *poloninensis* (Domin) Dostál, *Chrysosplenium alpinum* Schur, *Pulmonaria rubra* subsp. *filarszkyana* (Jáv.) Domin., *Melampyrum saxosum* Baumg., *Phyteuma tetramerum* Schur., *Achillea carpatica* Blocki ex Dubovik, *Carduus kernerii* subsp. *kernerii* (Griseb.) Kazmi, *Centaurea marmarosiensis* (Jáv.) Czerep. та ін.

У складі флори НПП "Верховинський" виділено 78 созофітів, з них 64 види занесено до Червоної книги України. Зі списків міжнародної охорони тут відзначено 14 таксонів (3 – занесені до списку МСОП, 7 – до Європейського червоного списку, 2 – до Додатка I Бернської конвенції і ще два види включено в Додатки IIb і IVb Директиви ЄС про збереження типів оселищ та видів природної фауни і флори.

Спектр провідних родин раритетного компоненту флори НПП "Верховинський" складають *Orchidaceae*, *Asteraceae*, *Ranunculaceae*, *Cyperaceae*, *Ericaceae*, *Apiaceae*, *Gentianaceae*, *Ophioglossaceae* і *Poaceae*. Найбільше раритетних видів приурочено до середньогірського поясу (28), у субальпійському поясі ростуть 16 видів, поширених у субальпійському та середньогірському поясах – 17 видів.

Згідно з категоризацією раритетних видів за ознаками структури популяцій встановлено, що три види належать до числа зниклих, вони не виявлені на даній території протягом останніх 50 років (*Armeriapocutica* Pawl., *Trifolium lupinaster* L., *Primula halleri* J.F. Gmel) [15, 23]. 23 види належать до малочисленних з порушеною структурою популяцій; 22 види з нормальною популяційною структурою, але збереглися лише в одному-двох оселищах. У 32 видів популяції відзначаються повночленними віковими спектрами і трапляються вони в понаді двох ізольованих оселищах; 11 видів з малопорушеними популяціями і часто трапляються на великих площах.

Список раритетних видів флори НПП "Верховинський" разом з регіонально рідкісними видами налічує 104 таксони. За рівнем созологічної цінності виділені чотири групи гірських масивів. I група (Гнетеса-Фатія Банулуї, Сулігул-Чивчин) – 60–63 раритетних види, II група (Прелуки-Хитанка) – 53 види, III група (Будичевська, Ротундул, Попадя, Лостун, Мокрин) – 29–34 види, IV група (Глистувата, Палениця-Команова) – 21–26 видів. Майже на кожному з цих масивів є види, які більше ніде в Чивчинах не ростуть. П'ять видів відомі у Чивчинах тільки з масиву Сулігул-Чивчин (*Sedum alpestre* Vill., *Potentilla palustris* (L.) Scop., *Plantago atrata* Hoppe subsp. *carpatica* (Pilger) Soo, *Senecio carpaticus* Herbich, *Thlaspi kovatschii* Heuff.). По чотири – з масивів Гнетеса-Фатія Банулуї (*Pulsatilla scherfelii* (Uller.) Skalicky, *Primula halleri* J.F. Gmel. i, *Cirsium heterophyllum* (L.) Hill., *Carex rupestris* All.) і Прелуки-Хитанка (*Botrychium*

matricarii folium (A. Braun ex Doll) W.D.J. Koch, *Lathyrus subalpinus* (Herb.) G. Beck., *Aster alpinus* L., *Erigeron alpinus* (L.). Три таких види ростуть на г. Лостун (*Erysimum hungaricum* Zapal., *Conioselinum tataricum* Hoffm, *Gagea fistulosa* Ker-Gawl.), по два – на полонині Глистувата (*Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo, *Carex hartmanii* Cajander) і г. Будичевська (*Trifolium lupinaster* Juncus *castaneus* Smith.), по одному – на масиві Палениця-Команова (*Airacaryophillea* L.), хр. Ротундул (*Drosera rotundifolia* L.) [1, 3, 13].

Переважає більшість території НПП "Верховинський" розташована у найвіддаленішій і важкодоступній частині Українських Карпат. Цей регіон зараз майже обезлюднений, традиційні види господарської діяльності які здійснювались тут у минулому (лісгосподарська і випас худоби) зведені до мінімуму.

Для більшості раритетних видів (36) на території НПП найбільшою потенційною загрозою є вузькоспеціалізовані вимоги до екологічної ніші. Для 27 видів це скельні карбонатні відслонення, для решти видів – це карбонатні приджерельні та прируслові болота. 33 раритетні види представлені на території НПП однією або декількома популяціями. Для 27 видів які трапляються переважно у складі угруповань сінокісних лук основна загроза це припинення викошування. 25 раритетних видів представлені невеликими за розмірами популяціями. Для 19 видів поширених в основному на полонинах і луках основна загроза це сільватизація їхніх оселищ, 16 – це вузькоареальні види, для 14 властива низька щільність популяцій, для 12 болотних видів – це порушення гідрологічного режиму, для 8 – проведення лісгосподарських заходів.

Однією з важливих практичних проблем збереження фіторізноманіття в регіоні, де знаходиться НПП "Верховинський", є масштабні демуційні процеси, які супроводжуються заростанням вторинних лук лісовою або чагарниковою рослинністю, що пов'язано із занепадом тваринництва у горах. Це стосується і ділянок з карбонатними відслоненнями, де зосереджена значна частина раритетного фіторізноманіття. У зв'язку з цим важливе значення мають детальні флористичні дослідження, без яких неможливе регіональне природокористування і створення науково обґрунтованої системи охорони фітобіоти. Крім того, встановлення повного видового складу і детальний аналіз флори сприяють вирішенню багатьох питань систематики і фітогеографії, є підставою для наступного фітомоніторингу.

Висновки

Флора судинних рослин НПП "Верховинський" налічує 675 видів. За систематичною структурою досліджуваної флори відзначається високою різноманітністю й таксономічною насиченістю, в ній виразно простежуються риси бореальності.

1. За результатами аналізу географічної структури встановлено приналежність флори НПП "Верховинський" до середньоевропейського типу переважання елементів монтанних, океанічних, температних та субтемператних флор. Разом з тим в її складі значною є участь видів характерних для європейсько-азійських бореальних субконтинентальних флор.

2. На основі вивчення біоморфологічної структури флори встановлено, що в цілому спектр життєвих форм типовий для флор помірної зони та аналогічних ландшафтно-кліматичних умов і відповідає комплексу природних умов досліджуваної території.

3. Аналіз екологічної структури флори вказує на переважання у її складі мезофітів, мезотрофів, індеферентних щодо хімізму субстрату видів та геліофітів, що властиво для флор Середньої Європи. Значна участь кальцефілів, мезогірофітів і гірофітів відображає регі-

ональну специфіку вертикальної поясності досліджуваної території.

4. Чивчинські гори один з найбагатших на ендеміки регіонів Українських Карпат, що свідчить про високий рівень специфічності флори НПП "Верховинський" та її автохтонний характер. Більшість ендеміків зосереджені в субальпійському та верхньому лісовому поясах, де найчастіше зустрічаються вапнякові відслонення.

5. Про високу соцологічну цінність території НПП "Верховинський" свідчить зростання тут 3 видів з "Світowego Червоного списку", 7 – з "Європейського Червоного списку", 4 – з "Бернської конвенції", 64 – з "Червоної книги України". До числа регіонально рідкісних віднесені 26 видів.

6. Встановлено, що в межах території парку ростуть 71,4 % видів флори Українських Карпат загрожуваних в глобальному масштабі, 36,4 % – загрожуваних в європейському масштабі, 47,8 % ендеміків і 54,2 % субендеміків Українських Карпат. Найвищий рівень соцологічної значимості характерний для масивів Гнетеса-Фатія Банулі (63 раритетних види), Сулігул-Чивчин (60 видів), Прелуки-Хитанка – (53 види).

Список використаних джерел:

1. Флора та рослинність проєктованого міждержавного україно-румунського біосферного резервату "Мармароські та Чивчино-Гринявські гори" / Т.Л. Андрієнко, І.І. Чорней, В.А. Онищенко, В.В. Буджак // Укр. ботан. журн., 2005. – Т. 62, № 4. – С. 589–596.
2. Величко М.В. Інвентаризаційний список судинних рослин Чивчинських гір (Українські Карпати) / М.В. Величко, І.І. Чорней, В.В. Буджак // Наук. вісн. Чернівецького ун-ту. Біологія. : зб. наук. пр. – Чернівці : Рута, 2004. – Вип. 223. – С. 152–161.
3. Величко М.В. Про місце Чивчинських гір у складі проєктованого трансграничного україно-румунського біосферного резервату "Гори Мармарошчини" / М.В. Величко, І.І. Чорней, В.В. Буджак // Нац. екологічна політика в контексті європейської інтеграції України : мат.-ли Міжнар. наук.-практ. конф. (Київ, 27 жовтня 2010 р.). – К. : Центр екологічної освіти та інформації, 2010. – С. 75–78.
4. Визначник рослин Українських Карпат / під ред. В.І. Чопика. – К. : Наук. думка, 1977. – 434 с.
5. Геоботаничне районування Української РСР. – К. : Наук. думка, 1977. – 304 с.
6. Горбик В.П. Лучна рослинність Чивчинських та Гринявських гір / В.П. Горбик // Укр. ботан. журн., 1968. – Т. 25, № 4. – С. 11–17.
7. Горбик В.П. Лісова та чагарникова рослинність Чивчинських та Гринявських гір / В.П. Горбик // Укр. ботан. журн., 1968. – Т. 25, № 6. – С. 87–92.
8. Дідух Я.П. Фітоіндикація екологічних факторів / Я.П. Дідух, П.Г. Пліута. – К. : Наук. думка, 1994. – 280 с.
9. Малиновський К.А. Рослинність високогір'я Українських Карпат / К.А. Малиновський. – К. : Наук. думка, 1980. – 278 с.
10. Малиновський К.А. Рослинні угруповання високогір'я Українських Карпат / К.А. Малиновський, В.В. Крічфалуші. – Ужгород, 2002. – 244 с.
11. Мілікіна Л.І. Ботанічні резервати і пам'ятки природи Івано-Франківської області / Л.І. Мілікіна // Охорона природи Українських Карпат та прилеглих територій / під ред. С.М. Стойко. – К. : Наук. думка, 1980. – С. 142–193.
12. Толмачев А.И. Методы сравнительной флористики проблемы флорогенетики / А.И. Толмачев. – Новосибирск : Наука, 1986. – 196 с.
13. Червона книга України. Рослинний світ / М-во охорони навколиш. природ. середовища України, Нац. акад. наук України ; за ред. Я.П. Дідуха. – К. : Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
14. Чопик В.І. Ботаніко-географічна характеристика Чивчино-Гринявських гір в Українських Карпатах / В.І. Чопик // Укр. ботан. журн. – 1969. – Т. 26, № 6. – С. 26–33.
15. Чорней І.І., Буджак В.В. Нове місцезнаходження раритетних видів флори у Чивчинських горах (Українські Карпати) / І.І. Чорней, В.В. Буджак // Укр. ботан. журн., 2003. – 60, № 1. – С. 53–57.
16. Чорней І.І. До питання про ендемізм флори Українських Карпат / І.І. Чорней // Заповідна справа в Україні, 2006. – Т. 12, вип. 2. – С. 7–16.
17. Чорней І.І. До питання про ботанічну цінність Чивчинських гір (Українські Карпати) / І.І. Чорней // Наук. вісник Чернів. ун-ту. Біологія : зб. наук. пр. – Чернівці : Рута, 2006. – Вип. 298. – С. 269–273.
18. Шмидт В.М. Статистические методы в современной флористике / В.М. Шмидт. – Л. : изд-во Ленингр. ун-та, 1980. – 176 с.
19. Хохряков А.П. Таксономические спектры и их роль в сравнительной флористике / А.П. Хохряков // Бот. журн., 2000. – № 5. – С. 1–11.
20. Mosjak S.L. Vascular Plants of Ukraine. A nomenclatural checklist / S.L. Mosjak, N.M. Fedoronchuk. – Kiev, 1999. – 345 p.
21. Meusel H. Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Bd. II / H. Meusel, Y. Jäger, E. Weinert. – Jena : Fischer, 1965. – 258 p.
22. Pawlowski B. Zagadnienie ochrony przyrody szaty roślinnej gor Czywczynskich / B. Pawlowski // Ochrona przyrody. – Krakow, 1937. – № 17. – S. 93–110.

23. Pawlowski B. Ogólna charakterystyka geobotaniczna gór Czywczynskich // Rozprawy wydziału mat.-przyrodniczego, Krakow, 1948. – p. 1–72.

24. Raunkiaer C. The life form of plants and statistical plant geography / C. Raunkiaer-Claredon, Oxford, 1934. – 632.

25. Tasenkevich L. Flora of the Carpatians. Checklist of the native vascular plant species / L. Tasenkevich. – L'viv : State Museum of Nat. History, 1998. – 610 p.

26. Woloszczak E. Przyczynek do Flori Pokucia / E. Woloszczak // Spraw. kom. fizyogr., 1888. – 21. – S. 1–134.

27. Zapalowicz H. Roślinna szata gór Pokucko-Marmaroskich / H. Zapalowicz // Spraw. Kom. Fizjograf. – Kraków., 1889. – Vol. 24. – 389 s.

References (Scopus):

1. Andrienko T.L., Chorney I.I., Onyshchenko V.A., Budzhak V.V. Flora and vegetation of the projected interstate Ukrainian-Romanian biosphere reserve "Marmaroski and Chivchino-Grinyava Mountains". Ukr. Botanical J. 2005; 62 (4):589-596. Ukrainian.
2. Velychko M.V., Chorney I.I., Budzhak V.V. Inventory list of vascular plants of the Chyvchyni mountains (Ukrainian Carpathians). Scientific Bulletin of Chernivtsi University Sciences. 2004; (223):152-161. Ukrainian.
3. Velychko M.V., Chorney I.I., Budzhak V.V. About the place of Chyvchyni mountains in the projected transboundary Ukrainian-Romanian biosphere reserve "Mount Marmaroschyna". Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. 2010: 75-78. Ukrainian.
4. Vyznachnyk roslin Ukrainykh Karpat. K.: Science opinion; 1977; 434. (in Ukrainian).
5. Heobotanichne raionuvannia Ukrainsoi RSR. K.: Science opinion; 1977; 304. (in Ukrainian).
6. Horbyk V.P. Meadow vegetation of the Chyvchyni and Grynyavsky mountains. Ukr. Botanical J. 1968; 25 (4):11-17.
7. Horbyk V.P. Forest and shrub vegetation of the Chyvchyni and Grynyavsky mountains. Ukr. Botanical J. 1968; 25(6): 87-92. Ukrainian.
8. Didukh Ya.P., Pliuta P.H. Phytoidication of environmental factors. Kiev: Scientific Opinion; 1994; 280. Ukrainian.
9. Malynovskyi K.A. Highlands vegetation of the Ukrainian Carpathians. Kiev: Scientific Opinion; 1980; 278. Ukrainian.
10. Malynovskyi K.A., Krichfalushii V.V. Vegetable communities of the highlands of the Ukrainian Carpathians. Uzhgorod; 2002; 244. Ukrainian.
11. Milkina L.I., S.M. Stoiko. Botanical reserves and natural monuments of Ivano-Frankivsk region. Nature protection of the Ukrainian Carpathians and adjacent territories. Kiev: Scientific Thought; 1980; 142-143.
12. Tolmachev A.Y. Methods of comparative floristics of the problem of phlorogenetics. Novosibirsk: Science; 1986; 196. Russian.
13. Red Book of Ukraine. Flora. M-in environmental protection. nature. environment of Ukraine, Nat. Acad. Sciences of Ukraine; editor. Kiev: Global Consulting; 2009.
14. Chopyk B.I. Botanical-geographical characteristics of the Chyvchyno-Grinyavsky mountains in the Ukrainian Carpathians. Ukr. Botanical J. 1969; 26(6):26-33.
15. Chorney I.I., Budzhak V.V. The new location of rare flora species in the Chyvchyni Mountains (Ukrainian Carpathians). Ukr. Botanical Journal. 2003; 60 (1):53-57.
16. Chorney I.I. On the issue of endemism of the flora of the Ukrainian Carpathians. Reserve in Ukraine. 2006; 12(2): 7-16.
17. Chorney I.I. On the question of the botanical value of the Chyvchyni Mountains (Ukrainian Carpathians). Sciences. Herald of Chernivtsi. un-tu. Coll. Sciences. wash. Biology. Chernivtsi: Ruta; 2006; 298:269-273.
18. Shmydt V.M. Statistical methods in modern floristry. L.: Publishing house Leningrad. University. 1980; 176. Russian.
19. Khokhriakov A.P. Taxonomic spectra and their role in comparative floristry. Botanical J. 2000.; 5: 1 – 11. Russian.
20. Mosjak S. L., Fedoronchuk M.M. Vascular Plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. Kiev; 1999:345. Ukrainian.
21. Meusel H., Jäger Y., Weinert E. Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Bd. II. Jena: Fischer; 1965: 258.
22. Pawlowski B. Problems of nature protection plant cover of Czywczynskie Gorges. Protection of the prince. Krakow; 1937. (17): 93-110. Poland.
23. Pawlowski B. General geobotanical characteristics of the Czywczynskie Mountains. Dissertations in the Faculty of Natural Sciences. Krakow; 1948:1-72. Poland.
24. Raunkiaer C. The life form of plants and statistical plant geography. Claredon, Oxford; 1934: 632.
25. Tasenkevich L. Flora of the Carpatians. Checklist of the native vascular plant species. L'viv: State Museum of Natural History; 1998: 610. Ukrainian.
26. Woloszczak E. A contribution to Flori Pokucia. Cases. physical physics. 1888. (21): 1-134. Poland.
27. Zapalowicz H. Plant cover of Pokucko-Marmaroskie Mountains. Affairs. Kom. Physiograph., Krakow; 1889 (24): 389. Poland.

Надійшла до редколегії 04.10.19

Отримано виправлений варіант 04.11.19

Підписано до друку 04.11.19

Received in the editorial 04.10.19

Received revised version on 04.11.19

Signed in the press on 04.11.19

Л. Мацапьяк, вед. науч. сотруд.
Национальный природный парк "Верховинский", Верхний Ясеново, Украина

АНАЛИЗ ФЛОРЫ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НАЦИОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКА "ВЕРХОВИНСКИЙ"

Проанализировано систематическую структуру флоры Национального природного парка "Верховинский" с последующим осуществлением критико-таксономического, биоморфологического и географического анализов, проанализирована соэкологическая ценность флоры. Установлено, что в составе флоры имеющиеся 675 видов высших сосудистых растений, относящихся к 5 отделам. Доминируют Magnoliophyta – 93,6%, соотношение Magnoliopsida к Liliopsida составляет 1: 3,2, что характерно для флоры Средней Европы. Это свидетельствует о примерно одинаковом возрасте флор НППВ, Украинских Карпат и Средней Европы. Итак, нами проведен систематический анализ, который подтвердил, что флора НППВ является типичной средневропейской с выраженными бореальными чертами. По анализу географической структуры установлена принадлежность флоры НПП "Верховинский" до средневропейского типа с преобладанием элементов монтанных, океанических, темперантных и субтемперантных флор. Вместе с тем в ее составе значительное участие видов, характерных для европейско-азиатских бореальных субконтинентальных флор. Проведенный анализ экологической структуры флоры указывает на преобладание в ее составе мезофитов, мезотроф, и гелиофиты, что свойственно для флор Средней Европы. Итак, нами проведен систематический анализ, который подтверждает, что флора НПП "Верховинский" свидетельствует о средневропейском характере и ее принадлежности к монтанно-бореальному подтипу. Установлено, что в пределах территории парка растут 71,4 % видов флоры Украинских Карпат, угрожаемых в глобальном масштабе, 36,4% – в европейском масштабе, 47,8% эндемиков и 54,2% субэндемиков Украинских Карпат. Самый высокий уровень соэкологической значимости является для массивов Гнетеса-Фатия Банулуи (63 редких вида), Прелуки-Хитанка – (53 вида).

Ключевые слова: флора, сосудистые растения, эндемики, редкие виды, НПП "Верховинский", Чивчино – Гринявские горы.

L. Matsapiak, Conduction, Sci. co-worker
National Park "Verkhovyna", Upper Ash, Ukraine

ANALYSIS OF FLORA OF WATER PLANTS OF THE NATIONAL NATURE PARK "VERKHOVINSKIY"

The systematic structure of the flora of the Verkhovyna National Nature Park was analyzed, followed by the implementation of critically-taxonomic, biomorphological, geographical analyzes, and the sosological value of the flora was analyzed. It has been established that 675 species of higher vascular plants belonging to 5 divisions are present in the flora. Dominated by Magnoliophyta – 93.6%, the ratio of Magnoliopsida to Liliopsida is 1: 3.2, which is characteristic of the flora of Central Europe. This is evidenced by the approximately equal age of the flora of NSAIDs, the Ukrainian Carpathians and Central Europe. Therefore, we conducted a systematic analysis that confirmed that the flora of the park is typical Central European with pronounced boreal features. According to the analysis of the geographical structure, the flora of NP Verkhovynskyi was found to be of the Central European type with the predominance of elements of montane, oceanic, temperant and subtemperate flora. At the same time, the composition of species typical for the Euro-Asian boreal subcontinental flora is significant in its composition. The analysis of the ecological structure of the flora indicates the predominance in its composition of mesophytes, mesotrophs, and heliophytes, which is characteristic of the flora of Central Europe. Thus, we conducted a systematic analysis, which confirmed that the flora of Verkhovyna NPP testifies to the Central European character and its belonging to the montane-boreal subtype its found that 71.4 % of the flora species of the Ukrainian Carpathians are threatened globally, 36.4% are endangered on the European scale, 47.8% are endemic and 54.2 % are sub-endemic within the territory of the park. The highest level of sosological significance is characteristic of the Gnetes-Fatia Banului arrays (63 rare species), Preluki-Hitanka – (53 species).

Key words: flora, vascular plants, endemics, rare species, NPP "Verhovinsky", Chivchino – Grinyavsky mountains.

UDC 577.112.8

A. Beliyeva, Intern., L. Garmanchuk, Dr. Sci, Prof.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

CHANGING IN THE NUMBER OF CD117+ STEM CELLS, CYTOGENETIC AND CYTOKINETIC PARAMETERS UNDER THE USING OF CANDESARTAN, CANDESARTAN CILEXETIL AND RESVERATROL *IN VITRO*

Due to the increase in cardiovascular disease, it is urgent to research new effective and safe drugs and their combinations. Candesartan cilexetil, an angiotensin II receptor antagonist, is a precursor to the active form of candesartan. However, these anti-ischemic drugs have a cytotoxic effect, affecting the antioxidant system. Therefore, to prevent the cytotoxic effect is the need to use antioxidants. To study the effect of candesartan cilexetil, candesartan and resveratrol antioxidant in various doses and combinations on CD117+ stem cell mobilization, on the number of apoptotic and micronucleated cells and cell cycle parameters *in vitro*. Bone marrow cells isolated from C57Bl / 6 mice were selected for experiments. After incubation for 2 days with the means in different concentrations and combinations, the biological characteristics of the stem cells were determined. Flow cytometry was used to analyze the number of CD117 + stem cells, the ratio of apoptotic cells, cells with micronuclei and cell cycle parameters when using candesartan cilexetil, candesartan, and resveratrol *in vitro*. It was found that using candesartan cilexetil with resveratrol and candesartan with resveratrol promotes the formation of CD117 + stem cells from 1.2 times to almost 2 times compared with controls and 1.5 and 2.5 compared with cytostatics. Candesartan cilexetil and candesartan were cytotoxic, while resveratrol reduced the adverse effects of the substances in combination. Combination of candesartan cilexetil with resveratrol; Candesartan with resveratrol significantly increased CD117+ stem cell count and was not cytotoxic.

Keywords: Candesartan cilexetil, candesartan, resveratrol, CD117+ stem cells, apoptotic cells, micronuclei and cell cycle parameters.

Introduction. The incidence of cardiovascular diseases has increased several times in many countries all over the world. So it's necessary to study new methods of treatment of cardiovascular diseases, investigate new effective and safe drugs and combinations thereof.

Candesartan cilexetil is an angiotensin II receptor antagonist. It is a pro-drug, which converted to the active form candesartan during absorption from the gastrointestinal tract. It is used as a long-term antihypertensive agent [1]. Candesartan cilexetil increases resistance to stress and

endurance during exercise in people suffering from hypertension [2]. However, it is shown that candesartan has also a number of side effects, such as dizziness, weakness, headache. High doses of candesartan cilexetil influence the formation of separate subpopulations of cells in bone marrow [3]. Resveratrol, a naturally occurring polyphenol, shows pleiotropic health beneficial effects, including antioxidant, anti-inflammatory, anti-aging, cardioprotective and neuroprotective activities [4–6]. It's found that this substance decreases the synthesis of lipids in liver and eico-

sanoids in leukocytes in animals, inhibits platelet activation/aggregation, decreases the activity of protein kinases, inhibits formation of reactive oxygen species [7].

At present stem cell technologies are widely applied for treatment of different pathologies and also cardiovascular diseases. It is shown that mobilized stem cells and endothelial progenitor cells have the capacity to migrate into the heart muscle and endothelium with the subsequent positive therapeutic effect [8–10].

In recent study we evaluate the effect of candesartan cilexetil, candesartan and safer resveratrol in different dosages and combinations on mobilization of CD117+ stem cells, on the number of apoptotic cells and micronucleated cells and parameters of cell cycle *in vitro*.

Materials and methods. Bone marrow cells, isolated from C57Bl/6 mice were sampled for further experiments. Cells were inoculated into growth medium (90 % of DMEM medium ("Sigma-Aldrich"), 10 % of fetal bovine serum ("HyClone") with addition of 0.1 % antibiotics (Antibiotic-antimycotic solution, "Sigma-Aldrich") at the cell density $10^4/\text{cm}^2$ in 6-well plates. This culture was incubated in CO_2 -incubator (37°C , 5 % CO_2) and then candesartan cilexetil, candesartan and resveratrol (we used *trans*-resveratrol) were supplied to the cell culture. The medium was changed every 3–4 days. Cells were removed by 0.25 % trypsin/EDTA solution and washed in 0.1 % PBS buffer. We studied the next doses and combinations of

substances: candesartan cilexetil at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose and 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose, candesartan at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose and 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose, resveratrol at 1, 5, 10, 30 and 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses, combination of candesartan cilexetil at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resveratrol at 1, 5, 10, 30 and 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses. Flow cytometry method was used for the analysis of the number of CD117+ stem cells. For this purpose, monoclonal antimouse antibodies CD117 (Beckman Coulter, США) were used. The ratio of apoptotic cells and micronucleated cells and parameters of cell cycle were also studied by flow cytometry method.

The results of the study are presented as mean $\pm$ SEM. We used Student's t-test to compare 2 samples and one-way ANOVA for multiple comparisons followed by pair-wise comparison.

Results and discussion. We investigated the effect of candesartan cilexetil, candesartan and resveratrol on changes in the number of CD117+ stem cells. Cell surface marker CD117 (or c-kit) is a marker of endothelial progenitor cells, which is a cytokine receptor and KIT gene product.

It was shown that candesartan cilexetil at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose didn't stimulate generation of CD117+ stem cells *in vitro* as compared to the control. Candesartan cilexetil at 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose also didn't promoted production of CD117+ stem cells (Table 1). It was demonstrated that candesartan at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses stimulate the formation of endothelial progenitor cells as shown in the table 1.

Table 1. The influence of combination of candesartan cilexetil, candesartan and resveratrol on the number of CD117+ cells *in vitro*

Samples	The content of CD117+ stem cells, %
1. Control	6,38 $\pm$ 0,02
2. Cand. cilex. 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$	3,29 $\pm$ 0,01
3. Cand. cilex. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	7,64 $\pm$ 0,03*
4. Cand. 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$	7,64 $\pm$ 0,04*
5. Cand. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6,91 $\pm$ 0,02*
6. Resv. 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6,31 $\pm$ 0,03
7. Resv. 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6,37 $\pm$ 0,03
8. Resv. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6,40 $\pm$ 0,02
9. Resv. 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$	8,56 $\pm$ 0,02*
10. Resv. 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	9,93 $\pm$ 0,03*
11. Cand. cilex. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	4,27 $\pm$ 0,03*
12. Cand. cilex. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	4,51 $\pm$ 0,04*
13. Cand. cilex. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6,41 $\pm$ 0,03
14. Cand. cilex. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$	8,32 $\pm$ 0,04*
15. Cand. cilex. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	9,88 $\pm$ 0,03*
16. Cand. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6,97 $\pm$ 0,02*
17. Cand. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	7,43 $\pm$ 0,03*
18. Cand. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	8,10 $\pm$ 0,04*
19. Cand. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$	8,98 $\pm$ 0,06*
20. Cand. 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and resv. 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	11,21 $\pm$ 0,04*

* – comparing with the control ($p < 0.05$); Cand. cilex. – candesartan cilexetil; Cand. – candesartan; Resv. – resveratrol.

We found that resveratrol influenced the ratio of endothelial progenitor cells in cell culture. The obtained result was dose-dependent. Resveratrol at 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses didn't increase the amount of CD117+ stem cells in comparison with the control. Application of resveratrol at 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses significantly increased the number of CD117+ stem cells *in vitro*. The largest increment of the number of endothelial progenitor cells in cell culture was observed in variant with resveratrol at 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose (Table 1).

It was demonstrated that combination of candesartan cilexetil at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose and resveratrol at 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses didn't stimulate the formation of CD117+ stem cells, whereas with resveratrol at 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses significantly increased the ratio of endothelial progenitor cells in cell culture as compared to the

control. It was found that combination of candesartan cilexetil at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose and resveratrol at 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses was effective in the mobilization of CD117+ stem cells ($p < 0.05$) (Table 1).

Changing of the count of endothelial progenitor cells under using of candesartan at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ with resveratrol at 1, 5, 10, 30 and 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doses was studied. The effect was dose-dependent. The obtained data were also significantly higher than those recorded for individual compounds (Table 1).

The next step was investigation of the number of apoptotic cells under using candesartan, candesartan cilexetil and resveratrol *in vitro*. It was shown that candesartan cilexetil at high dose increased the amount of apoptotic cells in comparison with the control. Candesartan cilexetil at 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dose didn't change the number of apoptotic

cells as compared to the control (Table 2). Candesartan at 1.5 µg/ml and 3 µg/ml doses significantly increased the count of studied cells ($p < 0.05$). It was found that the num-

ber of apoptotic cells didn't change under using resveratrol at 1, 5, 10, 30 and 50 µg/ml doses (Table 2).

Table 2. Cytogenetic parameters and parameters of cell kinetics of bone marrow cells of C57Bl/6 mice under using candesartan, candesartan cilexetil and resveratrol *in vitro*

Samples	The number of apoptotic cells, %	Distribution of cells at the stages of the cell cycle			The number of cells with micronuclei, %
		G ₀ /G ₁ , %	S, %	G ₂ /M, %	
1. Control	2,85±0,11	83,41±1,64	13,53±1,66	3,07±0,23	3,01±0,24
2. Cand. cilex. 3 µg/ml	3,42±0,19*	83,78±2,05	12,06±0,95	4,16±1,31	3,13±0,25
3. Cand. cilex. 1.5 µg/ml	3,03±0,20	84,33±2,74	11,67±1,74	4,00±1,56	3,04±0,20
4. Cand. 3 µg/ml	6,85±0,41*	83,49±2,54	13,33±2,32	3,19±0,45	6,06±0,34*
5. Cand. 1.5 µg/ml	5,21±0,24*	84,37±2,51	11,87±2,36	3,76±0,47	4,96±0,12*
6. Resv. 1 µg/ml	2,88±0,13	82,92±3,01	12,74±1,85	4,34±1,25	3,09±0,14
7. Resv. 5 µg/ml	2,90±0,18	83,28±2,79	12,19±2,32	4,54±1,12	2,92±0,24
8. Resv. 10 µg/ml	2,90±0,14	80,76±3,27	14,93±2,47	4,31±0,86	3,11±0,17
9. Resv. 30 µg/ml	2,87±0,24	82,79±2,25	13,09±2,08	4,12±0,89	3,09±0,19
10. Resv. 50 µg/ml	2,83±0,22	83,50±2,42	13,59±2,19	2,91±0,37	2,94±0,22
11. Cand. cilex. 1.5 µg/ml and resv. 1 µg/ml	2,93±0,21	81,17±3,80	15,76±2,92	3,08±1,12	3,10±0,17
12. Cand. cilex. 1.5 µg/ml and resv. 5 µg/ml	2,91±0,25	84,51±4,17	12,01±3,74	3,49±0,62	3,01±0,25
13. Cand. cilex. 1.5 µg/ml and resv. 10 µg/ml	2,92±0,29	83,95±2,83	12,97±2,25	3,08±0,74	3,10±0,18
14. Cand. cilex. 1.5 µg/ml and resv. 30 µg/ml	2,95±0,29	80,17±5,34	15,84±5,11	3,99±0,56	3,09±0,29
15. Cand. cilex. 1.5 µg/ml and resv. 50 µg/ml	2,91±0,25	79,58±6,22	16,38±5,91	4,04±0,71	3,11±0,18
16. Cand. 1.5 µg/ml and resv. 1 µg/ml	5,10±0,21*	81,45±3,10	13,72±2,52	4,83±1,46	5,02±0,16*
17. Cand. 1.5 µg/ml and resv. 5 µg/ml	5,05±0,26*	80,30±2,89	15,08±2,00	4,62±1,44	4,85±0,38*
18. Cand. 1.5 µg/ml and resv. 10 µg/ml	4,26±0,32*	81,14±2,76	14,16±2,59	4,71±1,03	4,17±0,16*
19. Cand. 1.5 µg/ml and resv. 30 µg/ml	3,37±0,45	83,22±2,12	14,09±1,51	2,69±0,69	3,66±0,19
20. Cand. 1.5 µg/ml and resv. 50 µg/ml	3,12±0,34	81,35±3,81	14,22±3,11	4,43±0,96	3,52±0,36

* – comparing with the control ($p < 0.05$); Cand. cilex. – candesartan cilexetil; Cand. – candesartan; Resv. – resveratrol.

It was also recorded that candesartan cilexetil didn't influence the amount of cells with micronuclei, whereas candesartan increased the contents of micronucleated cells as compared to the control result. Resveratrol didn't raise the number of test cells *in vitro* (Table 2).

Combination of candesartan cilexetil and resveratrol didn't change the amount of cells with DNA damage. It was found that resveratrol in the combination with candesartan significantly decreased cytotoxic effect of second one. Resveratrol at 50 µg/ml dose was more effective in the complex (Table 2).

We also investigated distribution of cells at stages of cell cycle. It was shown that studied substances didn't change proliferation of cells, as shown in the Table 2.

Thus, the results obtained by our combined use of antischismatic agents with resveratrol in the primary culture of MSC indicate an increase in the content of immobilized CD117 positive cells. Also in recent years, transplanted MSCs have been intensively used in regenerative medicine. [12]. The transplantation of mesenchymal stromal cells (MSCs) has emerged as an effective strategy to protect against tissue and organ injury [13]. According to the ISCT criteria, MSCs must have multipotency to differentiate into somatic cells, including osteocytes, adipose cells, and chondrocytes. MSCs with multilineage potential exist prevalently in almost all tissues, and they are promising cell sources for treating multiple diseases without ethical issues [14]. Also date some authors demonstrated that various dosages of resveratrol (1, 5, and 10 mg/kg) significantly decreased myocardial lesions by increasing myocardial AKT expression and decreasing caspase-3 activity during carbon monoxide-induced cardiotoxicity in rats in a dose-dependent manner [15].

Conclusions. It was found that active form candesartan stimulated formation of CD117+ stem cells *in vitro*, whereas pro-drug candesartan cilexetil decreased the number of studied cells, and both substances were cyto-

toxic. It was shown that resveratrol increased the number of endothelial progenitor cells and was safe for cell culture. Combination of candesartan cilexetil and resveratrol didn't change the number of apoptotic cells and cells with micronuclei. Application of resveratrol with candesartan reduced cytotoxic effect of last one. It should be noted that combinations of candesartan cilexetil with resveratrol and candesartan with resveratrol significantly increased the count of CD117+ stem cells. The obtained data was better when resveratrol was used in higher dosages. These results are important to develop new complex drug to stimulate mobilization of endothelium progenitor cells and stimulate reparative processes.

Список використаних джерел:

1. Zhao D. A Meta-analysis of antihypertensive effect of telmisartan versus candesartan in patients with essential hypertension / D. Zhao, H. Liu, P. Dong // Clin Exp Hypertens. 2019. – 41(1). – 75–79.
2. De Rosa M. Candesartan improves maximal exercise capacity in hypertensives results of a randomized placebo-controlled crossover trial / M.L. de Rosa, M. Chiariello // J. Clin Hypertens. 2009. – 11 (4). – 192–200.
3. Possible mechanism for the anemia induced by candesartan cilexetil (TCV-116), an angiotensin II receptor antagonist, in rats / I. Naeshiro, K. Sato, F. Chatani, S. Sato // Europ J. of Pharmacology. 1998. – 354 (2/3). – 179–187.
4. Adi Y. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials / Y. Adi, L. Berman, A. Rachel et al. // NPJ Precis Oncol. 2017. – 1. – 35.
5. Brisdelli F. Resveratrol: a natural polyphenol with multiple chemopreventive properties / F. Brisdelli, G. D'Andrea, A. Bozzi // Curr. Drug. Metab., 2009 Jul. – 10(6). – 530–546.
6. Cardioprotective effect of resveratrol in a postinfarction heart failure model / A. Riba, L. Deres, B. Sumegi et al. // Oxid. Med. Cell. Longev., 2017. – 2017:6819281. doi: 10.1155/2017/6819281.
7. Resveratrol, a Natural Antioxidant, Has a Protective Effect on Liver Injury Induced by Inorganic Arsenic Exposure / Zhigang Z., Riba A., Deres L. et al. // BioMed Res. Internat. Vol. 2014, Article ID 617202, 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/617202>
8. Yan F. Protective effects of resveratrol improve cardiovascular function in rats with diabetes / F. Yan, X. Sun, C. Xu // Exp. Ther. Med., 2018. – 15:1728–1734. doi: 10.3892/etm.2017.5537.
9. Orlic D. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. / Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., Jakoniuk I., Anderson S., Li B., Pickel J., McKay R., Nadal-Ginard B., Bodine D., Leri A., Anversa P. // Nature. 2001. – 410 (6829). – 701–705.

10. Orlic D. Stem cells for myocardial regeneration / Orlic D., Hill J., Arai A. // *Circulation Research*. 2002. – 91. – 1092–1102.
11. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival / D. Orlic, J. Kajstura, S. Chimenti et al. // *Proc. of the Nat. Acad. of Sci. of the USA*. 2001. – 98(18). – 10344–10349.
12. Chenxia Hu. The application of resveratrol to mesenchymal stromal cell-based regenerative medicine / Hu. Chenxia, Li. Lanjuan // *Stem. Cell. Res. Therapy*. 2019. – Vol. 10, Article number 307.
13. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller et al. // *The internat. soc. for cell. therapy position statement. Cytotherapy*. 2006. – 8(4). – 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>.
14. Salem H. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status / H. Salem, C. Thiemermann // *Stem Cells (Dayton, Ohio)*. 2010. – 28(3). – 585–596. <https://doi.org/10.1002/stem.269>.
15. Resveratrol represses tumor necrosis factor α /c-Jun N-terminal kinase signaling via autophagy in human dental pulp stem cells / F. Wang, Z. Hu, X. Liu et al. // *Arch. Oral. Biol.* 2019. – 97. – 116–21. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.10.020>.

Reference (Scopus):

1. Zhao D., Liu H., Dong P. A Meta-analysis of antihypertensive effect of telmisartan versus candesartan in patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2019;41(1):75–79.
2. De Rosa M., Chiariello M. Candesartan improves maximal exercise capacity in hypertensives results of a randomized placebo-controlled crossover trial. *J. Clin Hypertens*. 2009; 11 (4): 192–200.
3. Naeshiro I., Sato K., Chatani F., Sato S. Possible mechanism for the anemia induced by candesartan cilexetil (TCV-116), an angiotensin II receptor antagonist, in rats. *Europ J of Pharmacology*. 1998; 354 (2/3): 179–187.
4. Adi Y., Rachel A., Maia Y., Marina K. Holz. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials. *NPJ Precis Oncol*. 2017; 1: 35.
5. Brisdeli F., D'Andrea G., Bozzi A. Resveratrol: a natural polyphenol with multiple chemopreventive properties // *Curr Drug Metab*. 2009 Jul;10(6):530–46.
6. Riba A., Deres L., Sumegi B., Toth K., Szabados E., Halmosi R. Cardioprotective effect of resveratrol in a postinfarction heart failure model. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2017;2017:6819281. doi: 10.1155/2017/6819281.
7. Zhigang Z., Li Gao., Yanyan C., Jing Jiang., Yan Chen., Huijie Jiang., Hongxiang Yu., Anshan Shan., Baojing Cheng. Resveratrol, a Natural Antioxidant, Has a Protective Effect on Liver Injury Induced by Inorganic Arsenic Exposure. *BioMed Research International*. Volume 2014, Article ID 617202, 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/617202>

8. Yan F., Sun X., Xu C. Protective effects of resveratrol improve cardiovascular function in rats with diabetes. *Exp. Ther. Med*. 2018;15:1728–1734. doi: 10.3892/etm.2017.5537.

9. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., Jakoniuk I., Anderson S., Li B., Pickel J., McKay R., Nadal-Ginard B., Bodine D., Leri A., Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001; 410 (6829): 701–705.

10. Orlic D., Hill J., Arai A. Stem cells for myocardial regeneration. *Circulation Research*. 2002; 91: 1092–1102.

11. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., Limana F., Jakoniuk I., Quaini F., Nadal-Ginard B., Bodine D., Leri A., Anversa P. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc. of the Nat. Acad. of Sciences of the USA*. 2001; 98 (18): 10344–10349.

12. Chenxia Hu., Lanjuan Li. The application of resveratrol to mesenchymal stromal cell-based regenerative medicine *Stem Cell Research Therapy* 2019 volume 10, Article number: 307

13. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315–7. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>.

14. Salem H., Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*. 2010;28(3):585–96. <https://doi.org/10.1002/stem.269>.

15. Wang F., Hu Z., Liu X., Feng J., Augsburger R., Gutmann J., Glickman G. Resveratrol represses tumor necrosis factor α /c-Jun N-terminal kinase signaling via autophagy in human dental pulp stem cells.

16. *Arch Oral Biol*. 2019;97:116–121. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.10.020>.

Надійшла до редколегії 04.10.19

Отримано виправлений варіант 04.11.19

Підписано до друку 04.11.19

Received in the editorial 04.10.19

Received revised version on 04.11.19

Signed in the press on 04.11.19

А. Беляєва, стажер, Л. Гарманчук, д-р біол. наук, проф.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ЗМІНА ВМІСТУ CD117 + СТОБУРОВИХ КЛІТИН, ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ТА ЦИТОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ПРИ ВИКОРИСТАННІ КАНДЕСАРАНУ, КАНЦЕЗАРТАНУ, ЦИЛЕКСЕТИЛУ ТА РЕСВЕРАТРОЛА *IN VITRO*

Через наростання серцево-судинних патологій актуальним є вивчення нових ефективних і безпечних препаратів та їхні комбінації. Кандесартан цилексетил, антагоніст рецептора ангіотензину II, є попередником активної форми кандесартану. Однак ці протиішемічні препарати проявляють цитотоксичну дію, впливаючи на антиоксидантну систему. Тому для запобігання цитотоксичного ефекту є необхідність використання антиоксидантів. Вивчити вплив кандесартану цилексетилу, кандесартану та ресвератролу в різних дозах та комбінаціях на мобілізацію стовбурових клітин CD117 + із стовбурових клітин кісткового мозку, на кількість апоптотичних та мікроядерних клітин та параметри клітинного циклу *in vitro*. Клітини кісткового мозку, виділені з мишей C57Bl/6, були відібрані для експериментів. Після інкубації протягом 2 діб із засобами в різних концентраціях та комбінаціях визначали біологічні характеристики стовбурових клітин. Протокову цитометрію використовували для аналізу кількості CD117+ стовбурових клітин, співвідношення апоптотичних клітин, клітин з мікроядрами і параметри клітинного циклу, після інкубації первинної культури МСК з кандесартан цилексетилом кандесартаном і ресвератролом *in vitro*. Було встановлено, що кандесартан цилексетил і кандесартан у комбінації з ресвератролом стимулюють мобілізацію CD117 + стовбурових клітин від 1,2 раза до майже в 2 рази порівняно з контролем і в 1,5–2,5 порівняно з цитостатиками в окремому застосуванні. Кандесартан цилексетил і кандесартан проявляли цитотоксичну дію, тоді як в комбінації з ресвератролом цитотоксичний ефект знижувався. Таким чином, застосування антиішемічних засобів кандесартан цилексетил і кандесартан у комбінації з ресвератролом збільшували вміст CD117+ стовбурових клітин і не був цитотоксичним.

Ключові слова: кандесартан цилексетил, кандесартан, ресвератрол, CD117 + стовбурові клітини, апоптотичні клітини, мікроядра та параметри клітинного циклу.

А. Беляєва, стажер, Л. Гарманчук, д-р біол. наук, проф.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ CD117 + СТОЛОВОЙ КЛЕТКИ, ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И ЦИТОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КАНДЕСАРАНА, КАНЦЕЗАРТАНА, ЦИЛЕКСЕТИЛА И РЕСВЕРАТРОЛА *IN VITRO*

Из-за нарастания сердечно-сосудистых патологий актуальным является изучение новых эффективных и безопасных препаратов и их комбинации. Кандесартан цилексетил, антагонист рецептора ангиотензина II, является предшественником активной формы кандесартана. Однако эти противоишемические препараты проявляют цитотоксическое действие, влияя на антиоксидантную систему. Поэтому для предотвращения цитотоксического эффекта необходимо использование антиоксидантов. Цель статьи изучить влияние кандесартана цилексетил, кандесартана и ресвератрола в различных дозах и комбинациях на мобилизацию стволовых клеток CD117 + из стволовых клеток костного мозга, на количество апоптотических и микроядерных клеток и на параметры клеточного цикла *in vitro*. Клетки костного мозга, выделенные из мышей C57Bl/6, были отобраны для экспериментов. После инкубации в течение 2 суток со средствами в различных концентрациях и сочетаниях определяли биологические характеристики стволовых клеток. Протоковую цитометрию использовали для анализа количества CD117 + стволовых клеток, соотношение апоптотических клеток, клеток с микроядрами и параметров клеточного цикла, после инкубации первичной культуры МСК с кандесартан цилексетилом кандесартаном и ресвератролом *in vitro*. В результате было установлено, что кандесартан цилексетил и кандесартан в сочетании с ресвератролом стимулируют мобилизацию CD117 + стволовых клеток от 1,2 раза до почти в 2 раза по сравнению с контролем и в 1,5–2,5 по сравнению с цитостатиками. Кандесартан цилексетил и кандесартан проявляли цитотоксическое действие, тогда как в комбинации с ресвератролом цитотоксический эффект снижался. Таким образом, применение антиишемических средств кандесартана цилексетил и кандесартана в сочетании с ресвератролом увеличивало содержание CD117 + стволовых клеток и не было цитотоксическим.

Ключевые слова: кандесартан цилексетил, кандесартан, ресвератрол, CD117 + стволовые клетки, апоптотические клетки, микроядра и параметры клеточного цикла.

УДК 617.723/35-005:616.547.26-778.317-092.9

Н. Молчанюк, канд. біол. наук
ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України", Одеса, Україна

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СУДИНАХ І КАПІЛЯРАХ ХОРІОІДЕЇ ТА В СІТКІВЦІ ОЧЕЙ ЩУРІВ, ЯКІ ВИКЛИКАНІ СУМІШШЮ СПИРТІВ (40 % ЕТАНОЛУ І 100 % МЕТАНОЛУ)

Досліджено ультраструктуру ендотеліальних клітин (ЕК) судин і капілярів хоріоїдеї (ХО), пігментний епітелій сітківки (ПЕС), її фоторецепторні клітини, гангліозні клітини та відростки мюллерівських клітин, які оточують ГК, щурів після внутрішньочеревного введення суміші спиртів (40 % етанолу і 100 % метанолу) у співвідношенні 3:1 та окремо чистого метанолу (доза метанолу в кожній групі становила 0,75 г/кг маси тіла щура) в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 (виробництво Україна) в період від 1 год 10 хв до 14 діб після ін'єкцій спиртів. Показано, що найбільш чутливими структурами до токсичної дії суміші спиртів виявились ЕК судин хоріоїдеї і клітини ПЕС. У цитоплазмі ЕК судин спостерігався набряк цитоплазми та деструкція їхніх органел. Патологічні зміни в клітинах ПЕС полягали в альтерації мітохондрій, елементів гладкої ендоплазматичної сітки та інших органел, за відсутності складок на базальній стороні клітин і пошкодженні апікальних мікроворсинок. Істотні деструктивні зміни в цих клітинах виявлялись вже через 1 год 10 хв після введення суміші спиртів. У динаміці дослідження (до 14 діб) явища гідропічної дистрофії та елементи деструкції органел у досліджуваних клітинах поступово прогресували з одночасним посиленням в клітинах компенсаційно-відновних процесів, які полягали в посиленні білоксинтезуючої й енергоутворюючої функцій. Після ін'єкції метанолу патологічні зміни в ХО і сітківці мали односпрямований характер, що і після ін'єкції суміші спиртів, за винятком перших 3 год. Етанол потенціював дію метанолу в початковій терміні спостереження, що призводило до глибоких пошкоджень ультраструктури ХО і клітин ПЕС. Провідне місце в розвитку патологічних змін у досліджуваних структурах, після введення суміші спиртів, відводиться метанолу.

Ключові слова: ультраструктура, судини, капіляри, хоріоїдея, сітківка.

Введення. В останні роки досить часто зустрічаються випадки отруєння населення нашої планети неякісними, нелегально виробленими, алкогольними напоями, до складу яких входить метанол [1]. Відомо, що метанол по запаху та смаку нагадує етанол, але він є значно токсичною речовиною. 10 мл його вживання призводить до втрати зору, а 30 мл – до смерті. Відомо також, що метанол в першу чергу пошкоджує сітківку, зоровий нерв та тканини головного мозку [2–4]. Однак до теперішнього часу немає чіткого уявлення про початкові механізми токсичної дії на органи і системи організму як метанолу, так і суміші його з етанолом, який з одного боку сам по собі, в великих дозах або при хронічному його вживанні, чинить токсичну дію на організм, а з іншого – являється антидотом до метанолу, оскільки етанол здатний конкурувати з метанолом за зв'язок з ферментом алкогольдегідрогеназою, який метаболізує спирти [5]. Ряд авторів при вивченні токсико-кінетичної взаємодії етилового і метилового спиртів в організмі білих мишей прийшли до висновку, що під час транспорту речовин із шлунково-кишкового тракту в кровоносне русло етанол має більш високу швидкість адсорбції ніж метанол [6]. Інші дослідники виявили в експериментах на білих щурах, що етанол при використанні його в якості антидоту при гострій інтоксикації метанолом (1,0 LD₅₀) викликає посилення імунотоксичних ефектів [7]. Однак у літературному пошуку ми не зустріли відомостей стосовно структурних змін в тканинах головного мозку та очей експериментальних тварин, зокрема, в судинній оболонці та сітківці, викликаних вищевказаною сумішшю спиртів (СС). У проведеній нами раніше пошуковій роботі визначена доза метанолу, яка не викликає значних деструктивних процесів в структурах хоріокапілярів (ХК) і сітківці, а призводить до альтеративних змін в цих тканинах, які носять зворотній характер [8].

Дана експериментальна робота є продовженням нашого комплексного дослідження впливу метанолу та суміші його з етанолом на тканини ока та головного мозку експериментальних тварин.

Мета дослідження. Вивчення ультраструктурних змін в судинах та капілярах хоріоїдеї та в сітківці щурів, викликаних внутрішньочеревним одноразовим введенням (ВОВ) СС (40 % етанолу і 100 % метанолу) у співвідношенні 3:1.

Матеріали та методи. Робота виконана на 36 дорослих білих щурах лінії Вістар масою 250-300 г, розподілених на три групи: I (піддослідна) – ВОВ СС (40 % етанолу і 100 % метанолу), в якій доза метанолу складає 0,75 г/кг маси їх тіла; II (піддослідна) – ВОВ 100 % метанолу в дозі 0,75 г/кг; III – контрольна, щурам ВОВ воду для ін'єкцій в аналогічній дозі. Для щурів ефект LD₅₀ при ВОВ метанолу складає 9,5 г/кг маси їх тіла. Ін'єкції та евтаназія тварин здійснювались відповідно до вимог Європейської конвенції (Страсбург, 1986). Досліджувалась ультраструктура судин та капілярів хоріоїдеї (ХО), пігментний епітелій сітківки (ПЕС), її фоторецепторні клітини (ФК), гангліозні клітини (ГК) та відростки мюллерівських клітин (ВМЮК), які оточують ГК, в трансмісійному електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 (Україна) через 1 год 10 хв, 3 год, 1, 3, 7 та 14 діб після введення токсичних речовин.

Результати дослідження та їх обговорення. У піддослідній групі через 1 год 10 хв і 3 год після введення суміші спиртів у всіх судинах і капілярах спостерігався електронно-щільний вміст їх просвіту, що підтверджувало знаходження в них СС. У розширеному просвіті великих судин відзначалась агрегація або складж еритроцитів. Ендотеліальні клітини (ЕК) практично всіх судин характеризувались електронно-світлим цитозолом, що свідчить про їх набряк, та патологічно зміненими мітохондріями, тобто спостерігалось просвітлення внутрішньомітохондріального матриксу та деструкція їх крист різного ступеня прояву. У хоріокапілярному шарі лише у частині хоріокапілярів (ХК) ЕК мала патологічні зміни, аналогічно змінам ЕК судин, а також були відсутні фенестри. Основна речовина мембрани Бруха підвищеної електронної щільності. Її волокнисті структури погано визначались.

У сітківці в цей період часу визначався екстраклітинний набряк в області шару пігментного епітелію сітківки (ПЕС) та її фоторецепторних клітин (ФК). Внутрішньоклітинні патологічні зміни були характерні для клітин ПЕС. В електронно-прозорій цитоплазмі окремих клітин визначалась практично повна деструкція елементів гладкої ендоплазматичної сітки (ГлЕС) та відмічалась вакуолізація мітохондрій або деструкція їх крист, великі мітохондрії – з осередковим руйнуванням їх зовнішньої мембрани. Виявлялись також мітохондрії з нормальною ультраструктурою. Слід зазначити, що кількість мітохо-

ндрій в цих клітинах була підвищена порівняно з контрольною групою, вони розташовувались не тільки в базальній області клітин, але і дифузно по всій цитоплазмі. Складки на базальні поверхні розташовані нерівномірно, місцями зовсім зруйновані, що ускладнює транспортні процеси між ПЕС та ХК. В апікальній

області цих клітин дифузно розташовані різних розмірів первинні і вторинні лізосоми, а також остаточні тільця. Апікальні мікроворсинки на незначних ділянках цих клітин відсутні, що робить неможливим протікання процесу фагоцитозу відпрацьованих дисків зовнішніх сегментів (ЗС) ФК (рис. 1).

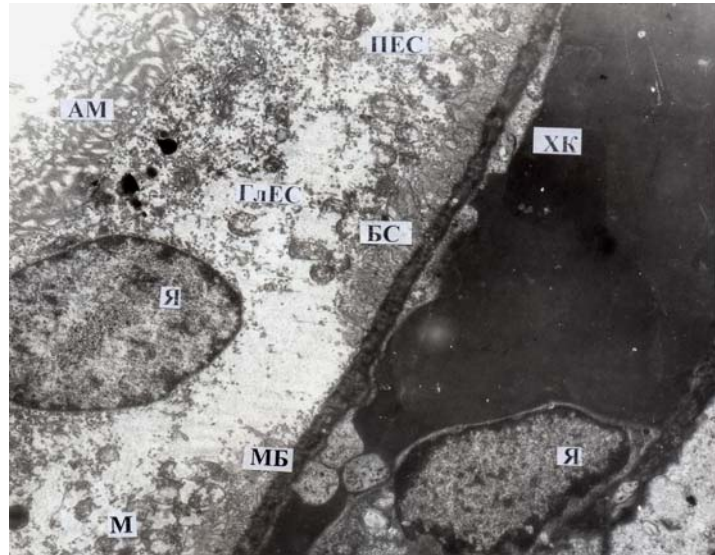


Рис. 1. Ультраструктура хоріоретинального комплексу щура через 3 год після введення суміші спиртів. Незначний набряк цитоплазми ендотеліальних клітин та складж еритроцитів в електронно-щільному просвіті хоріокапілярів. У цитоплазмі клітин пігментного епітелію деструкція елементів гладкої ендоплазматичної сітки, патологія мітохондрій та скупчення лізосом, складки на їхній базальній поверхні та апікальні мікроворсинки місцями відсутні

Електронна мікрофотографія. Х 3 000. Умовні позначення: ХК – хоріокапіляр, Я – ядро ендотеліальної клітини, МБ – мембрана Бруха, ПЕС – пігментний епітелій сітківки, ГЛЕС – гладка ендоплазматична сітка, М – мітохондрії, БС – складки на базальній поверхні, АМ – апікальні мікроворсинки.

У шарі палочок ЗС ФК розташовані розріджено, однак їх структура не відрізнялась від норми, внутрішні сегменти (ВС) ФК були з різко розширеними цистерна-

ми гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) та з деформацією частини мітохондрій і осередковою деструкцією їх крист (рис. 2).

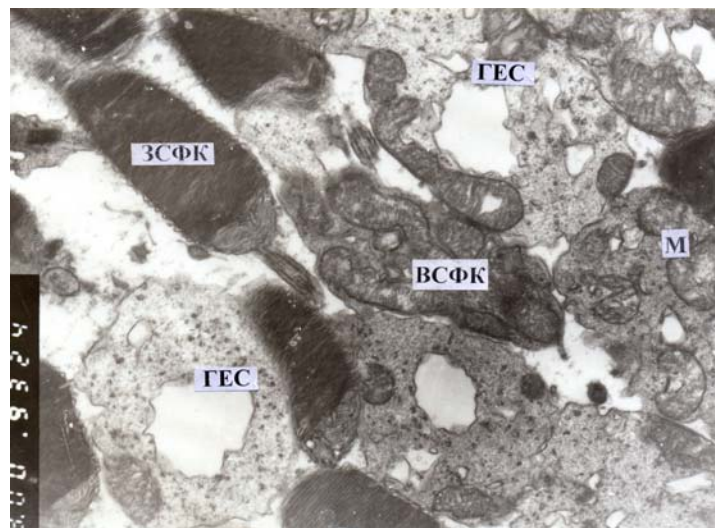


Рис. 2. Ультраструктура сітківки щура через 3 год після введення суміші спиртів.

Міжклітинний набряк у шарі палочок та колбочок, у внутрішніх сегментах фоторецепторних клітин різко розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки

Електронна мікрофотографія. Х 6 000. Умовні позначення: ЗСФК – зовнішні сегменти фоторецепторних клітин, ВСФК – внутрішні сегменти фоторецепторних клітин, М – мітохондрії, ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка.

На окремих ділянках ФК у відростках мюллерівських клітин (ВМЮК) біля зовнішньої пограничної мембрани (ЗПМ) та між ядрами ФК спостерігалось зрушення цитоплазми і ознаки її набряку. Ядра ФК були в норма-

льному стані. Синапси ФК також з ознаками гідропічної дистрофії.

У гангліозному шарі великі гангліозні клітини (ГК) мали гіпертрофований комплекс Гольджі, злегка роз-

ширені цистерни ГЕС, багато полісом, а мілкі ГК – легкі гідропічні зміни мембранних структур. У ВМЮК, які оточують ГК, ультраструктурні зміни не виявлялись.

У II піддослідній групі на даний період часу в судинах та капілярах ХО відзначалися аналогічні зміни, що і після введення СС. Однак у ХК визначалось більше ЕК з підвищеним вмістом вільних рибосом і полісом, елементів ГЕС. Просвіт ХК також був заповнений електронно-щільним вмістом, в деяких ХК в просвіті розташовувались лейкоцити. Ультраструктура сітківки, на відміну від таких I піддослідної групи, мала більш збережену ультраструктуру.

У I піддослідній групі через 1-3 доби в судинах та капілярах ХО ознаки набряку розширювались на більшу кількість ЕК, а також в них відзначалось зменшення кількості органел. У клітинах ПЕС спостерігався поліморфізм змін: від клітин з майже повним спустошенням органел до клітин з ознаками компенсаційно-відновних процесів. В ФК і ГК наростали ознаки гідропічної дистрофії.

У II піддослідній групі, в аналогічні терміни, в структурах хоріоретинального комплексу (ХРК) патологічні зміни в клітинах прогресували, мали односпрямований характер зі змінами в матеріалі першої піддослідної групи, особливо в ХО і в шарі ПЕС.

В I піддослідній групі в динаміці дослідження (7–14 діб) в ЕК судин ХО залишались явища гідропічної дистрофії. Однак ультраструктура ЕК ХК була більш збережена, але серед ЕК також проявлялись поліморфні зміни: від клітин з елементами деструкції мембранних органел до клітин з нормальною структурою чи та-

ких з підвищеним вмістом типових їх органел. Просвіт частини судин та капілярів ХО був заповнений осміофільною речовиною, а в інших їх частинах дещо більш електронно-просвітленою. Причому в ЕК ХК фенестри на стоншених ділянках цитоплазми практично були відсутні, що погіршувало проходження нормальних транспортних процесів між ХК і клітинами ПЕС.

В шарі ПЕС в ці строки також спостерігались клітини різного ступеня деструкції органел, в яких паралельно відзначались прояви компенсаційно-відновних процесів, про що свідчило підвищення кількості в них полісом, мітохондрій, появились мілкі пухирці ГлЕС та короткі вузькі цистерни ГЕС, місцями відновлювались складки на базальній поверхні. Слід зазначити, що клітини ПЕС з деструкцією органел зустрічались не тільки напроти ХК з осміофільним вмістом їх просвіту, але й напроти таких з практично нормальною ультраструктурою. Окрім того, поряд з клітинами ПЕС з деструкцією органел, виявлялись такі з нормальною ультраструктурою і клітини з ознаками підвищення метаболічних процесів. В той же час по всій цитоплазмі розташовані первинні і вторинні лізосоми і залишкові тільця, що свідчить про елементи розпаду структур в цих клітинах. Складки на базальній поверхні цих клітин – укорочені і звивисті. Апікальні мікроворсинки в частині клітин фрагментовані і фагосоми в даній зоні практично не виявляються. Під клітинами ПЕС в інтеррецепторному матриксі спостерігалось скупчення обломків дисків ЗСФК як з нормальною ультраструктурою, так і з елементами альтерації їх мембран (рис. 3).

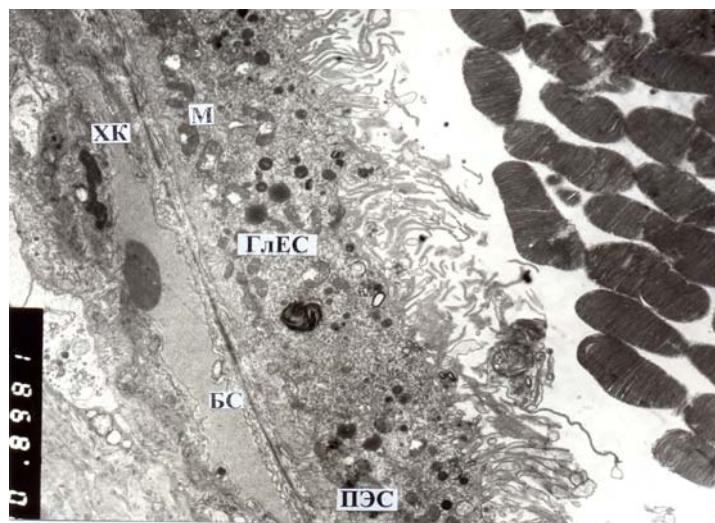


Рис. 3. Ультраструктура хоріоретинального комплексу щура через 7 діб після введення суміші спиртів. Просвіт ХК звужений і заповнений помірно електронно-щільною плазмою. Ендотеліальні клітини з ознаками гідропічної дистрофії. Клітини пігментного епітелію сітківки з підвищеним вмістом типових органел

Електронна мікрофотографія. Х 3 000. Умовні позначення: ХК – хоріокапіляр, ПЕС – пігментний епітелій сітківки, БС – складки на базальній поверхні клітин ПЕС, М – мітохондрії, ГлЕС – гладка ендоплазматична сітка.

У II піддослідній групі у вказаний період часу після введення метанолу в ХК наростали гідропічні зміни в ЕК. У ПЕС спостерігались поліморфні зміни: частина клітин мала ультраструктуру, близьку до нормальної, інша частина відрізнялась ознаками набряку, осередковим руйнуванням елементів ГлЕС, деструкцією крист частини мітохондрій (хоча кількість мітохондрій у клітинах залишалася підвищеною), третя – характеризувались

практично повною альтерацією цитоплазматичних органел, відсутністю складок на базальній поверхні і осередковим руйнуванням апікальних мікроворсинок, четверта – характеризувалась підвищеним вмістом мітохондрій з нормальною ультраструктурою, гіпертрофією комплексу Гольджі, великою кількістю полісом, що являється проявом компенсаційно-відновних процесів (рис. 4).

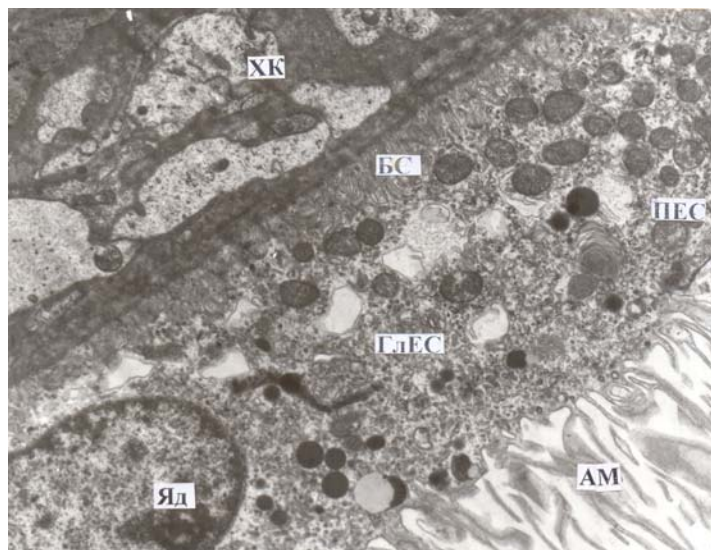


Рис. 4. Ультраструктура хоріоретинального комплексу щура через 7 діб після введення метанолу. Різко звужені просвіти хоріокапілярів з набряком цитоплазми їх ендотеліальних клітин. У клітині пігментного епітелію сітківки осередкова деструкція елементів гладкої ендоплазматичної сітки, скупчення лізосом і мітохондрій з нормальною структурою

Електронна мікрофотографія. Х 6 000. Умовні позначення: ХК – хоріокапіляр, ПЕС – пігментний епітелій сітківки, БС – складки на базальні поверхні клітин, Яд – ядро, ГЛЕС – гладка ендоплазматична сітка, АМ – апікальні мікрроворсинки.

Аналіз матеріалу показав, що у I піддослідній групі після ВОВ СС патологічні зміни в клітинах ХРК виявлялись уже в перші 3 години, переважно в ЕК судин ХО та у клітинах ПЕС. В подальші терміни спостереження (1 – 14 доба) в ЕК судин і капілярів, а також в клітинах сітківки, особливо ПЕС, відмічались ультраструктурні ознаки як деструктивного, так і компенсаційно-відновного характеру. Причому явища гідропічної дистрофії в частині клітин ХРК, а також елементи деструкції органел в них, залишались і в деякій мірі прогресували водночас з посилення в клітинах білоксинтезуючої і енергоутворюючої функцій, спрямованих на внутрішньоклітинні відновні процеси.

У матеріалі II піддослідної групи, тобто, після ВОВ чистого метанолу, спостерігались однотипові зміни в елементах ХРК, що і в I піддослідній групі. Однак клітини ПЕС у період від 1 год 10 хв до 1 доби були більш збережені, ніж в таких клітинах I піддослідної групи. Найбільші деструктивні зміни в клітинах ПЕС проявлялись на 3–7 добу, а на 14 добу в них переважали компенсаційно-відновні процеси.

Заключення. Таким чином, в початкові строки (1 год 10 хв – 3 год) після введення суміші спиртів патологічні зміни в структурах ХРК проявляються в більшій мірі, ніж після введення чистого метанолу (при збереженні в обох групах однакової дози метанолу), що, вочевидь, пов'язано з потенціюванням токсичної дії цих спиртів на дані структури. Відомо, що етиловий спирт швидше метаболізується в організмі ніж метиловий, який в організмі може знаходитись до 3-4 діб і чинити свою токсичну дію. Причому найбільш вразливими структурами до дії спиртів стали ЕК судин хоріоїдеї та клітини ПЕС. У літературі наявні дані про шкідливий дію спиртів на мембрани клітин [9], у результаті чого порушується проникність плазмолем клітин, що призводить до набряку цитоплазми і внутрішньоклітинних органел, викликаючи їх патологію. У нашому випадку зміни в судинах і капілярах ХО, які виникли під дією цих спиртів призводять до руйнування речовин плазми крові. У лі-

тературних джерелах описані зміни реологічних властивостей крові, деструкція білків, пошкодження формених елементів крові під впливом великих доз метанолу [10], що призводить до дефіциту поживних речовин, які проникають із ХК у клітини ПЕС у нормі. Це підтверджується відсутністю фенестр на стоншених ділянках ЕК ХК та відсутністю складок на базальній поверхні клітин ПЕС, які відображають стан насосної функції цих клітин. У цілому, ці фактори негативно відображаються як на ультраструктурі клітин ПЕС, так і на стані ФК і в подальшому на інших нейронах сітківки. Слід зазначити, що в результаті дії метанолу також блокується процес фагоцитозу відпрацьованих дисків ЗС ФК і вони скупчено розташовані під апікальними мікрроворсинками ПЕС. Пошкодження ВМЮК призводить до зниження їх функціонування, що також впливає на нормальну їх діяльність і діяльність ГК. В той же час не виключена також пряма дія спиртів на клітини сітківки за рахунок їх дифузного проникнення через плазмолему ЕК ХК і ПЕС, через мембрану Бруха і в інші клітини сітківки. Про вплив метанолу на гангліозні клітини сітківки показано в роботі [10]. В зв'язку з цим в подальші терміни спостереження (1–14 діб) зміни в структурах ХРК у матеріалі двох піддослідних груп практично однотипові, вони характеризуються як деструктивними проявами, так і ознаками компенсаційно-відновних процесів, за винятком першої групи, в якій у вивчених клітинах більш активно проявляються останні.

Висновки

1. Одноразове внутрішньочеревне введення суміші спиртів (40 % етанолу і 100 % метанолу) у співвідношенні 3:1, доза метанолу в якій складає 0,75 г /кг маси тіла щура, викликає патологічні зміни в структурах хоріоретинального комплексу і, в найбільшій мірі, в ендотеліальних клітинах судин хоріоїдеї, проявляючись явищами гідропічної дистрофії, та в клітинах пігментного епітелію сітківки – патологією мітохондрій і значною деструкцією каналів

ців гладкої ендоплазматичної сітки, осередковим руйнуванням плазмолем уже в перші 3 год спостереження.

2. У динаміці (до 14 діб) в структурах хоріоретинального комплексу визначаються як клітини з патологічними змінами, так і з елементи компенсаційно-відновних процесів. Провідне місце в них належить метанолу, за винятком початкових термінів, в яких патологічні зміни в структурах більш глибокі, що скоріше пов'язано з потенціюванням дії двох спиртів.

Список використаних джерел:

1. Битенский В.С. Роль алкоголизма и наркоманий в демографическом кризисе в Украине / В.С. Битенский // журн. АМН Украины, 2007. – Т. 13. – № 3. – С. 543–550.
2. A case of methanol poisoning leading to prolonged respirator dependency with consequent blindness and irreversible brain damage / A.A. Manuchehri, E. Alijanpour, M. Daghmehchi et al. // Caspian. J. of Internal Medicine, 2015. – Vol. 6, № 3. – P. 180–183.
3. 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, R. Sheeladevi // Toxicol. Lett., 2006. – Vol. 12, № 5. – P. 12–15.
4. Long-term visual damage after acute methanol poisonings: longitudinal cross-sectional study in 50 patients / S. Zakharov, D. Pelcova, P. Diblik et al. // Clinical Toxicology, 2015. – Vol. 53, № 9. – P. 884–892.
5. Pohanka M. Toxicology and The Biological Role Of Methanol And Ethanol: current view / M. Pohanka // Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc. Czech. Repub., 2016. – Vol. 160, № 1. – P. 54–63.
6. Токсико-кинетическое взаимодействие этилового и метилового спиртов в организме белых мышей / Н.Я. Головенко, Н.В. Ларионов, И.Ю. Овчаренко и др. // Современные проблемы токсикологии, 2008. – № 1. – С. 32–36.
7. Забродский П.Ф. Влияние этанола на изменение иммунотоксичности метанола / П.Ф. Забродский, В.Г. Германчук // Эксперим. и клин. фармакол., 2001. – Т. 64, № 5. – С. 40–42.
8. Молчанюк Н.И. Свето- и электронно-микроскопическое изучение хориокапилляров, пигментного эпителия и фоторецепторных клеток сетчатки крыс в динамике после введения различных доз метанола / Н.И. Молчанюк // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій, 2015. – Т. 1, № 18. – С. 74–78.
9. Долматова Л.С. Особенности изменения активности антиоксидантных ферментов в различных типах лейкоцитов крови у больных с хроническим алкоголизмом / Л.С. Долматова, В.В. Ромашина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2003. – № 2. – С. 17–19.
10. Patra M. Under the influence of alcohol: the effect of ethanol and methanol on lipid bilayers / M. Patra, E. Salonen, E. Teramaet al. // Biophys. J., 2006. – Vol. 90, № 2. – P. 1121–1135.

11. The Superoxide Dismutase Mimetic Tempol and Its Effect on Retinal Ganglion Cells in Experimental Methanol-Intoxicated Rats / B. Setiohadji, I. Irfani, M. Rifada et al. // Ophthalmol. Ther., 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 167–172.

Reference (Scopus):

1. Bitensky VS The role of alcohol and drug abuse in the demographic crisis in Ukraine // Journal of Medical Sciences of Ukraine. 2007; 13(3): 543 – 550.
2. Manuchehri AA. A case of methanol poisoning leading to prolonged respirator dependency with consequent blindness and irreversible brain damage. / Manuchehri AA, Alijanpour E, Daghmehchi M, Ghaemian N, Abedi SH, Nikbakhsh N, Ghazi, Mir Saeed SA, Amani N. // Caspian Journal of Internal Medicine. 2015; 6(3): 180-183.
3. 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, R.Sheeladevi. // Toxicol. Lett. 2006; 12(5): 12–15.
4. Zakharov S. Long-term visual damage after acute methanol poisonings: longitudinal cross-sectional study in 50 patients / Zakharov S., Pelcova D., Diblik P., et al. // Clinical Toxicology. 2015; 53(9): 884–892.
5. Pohanka M. Toxicology and The Biological Role Of Methanol And Ethanol: Current View. / Pohanka M. // Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2016; 160(1): 54–63.
6. Toxicokinetic interaction of ethyl and methyl alcohols in the body of white mice / Golovenko N.Ya., Lariyonov N.V., Ovcharenko I.Yu, Borisyyuk. Likhota E. B // Modern problems of toxicology. 2008; (1): 32–36.
7. Zabrodsky P.F. The effect of ethanol on the change in the immunotoxicity of methanol / P.F. Zabrodsky, V.G. Germanchuk. // Experiment. and wedge. pharmacol. 2001; 64(5): 40–42.
8. Molchanuk 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 / Molchanuk NI // Bulletin of Kiev National Taras Shevchenko University. Problems of regulation of physiological functions. 2015; 1(18): 74–78.
9. Dolmatova L.S. Features of changes in the activity of antioxidant enzymes in various types of blood leukocytes in patients with chronic alcoholism / Dolmatova L.S., Romashina V.V. // Pathological physiology and experimental therapy. 2003; (2): 17–19.
10. Patra M. Under the influence of alcohol: the effect of ethanol and methanol on lipid bilayers / M.Patra, E.Salonen, E.Teramaet al. // Biophys.J. 2006; 90(2): 1121–1135.
11. Setiohadji B. The Superoxide Dismutase Mimetic Tempol and Its Effect on Retinal Ganglion Cells in Experimental Methanol-Intoxicated Rats. / Setiohadji B, Irfani I, Rifada M, Virgana R, Kartasasmita AS // Ophthalmol Ther. 2018; 7(1): 167–172.

Надійшла до редколегії 07.10.19

Отримано виправлений варіант 08.11.19

Підписано до друку 08.11.19

Received in the editorial 07.10.19

Received revised version on 08.11.19

Signed in the press on 08.11.19

Н. Молчанюк, канд. биол. наук

ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины", Одесса, Украина

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СОСУДАХ И КАПИЛЛЯРАХ ХОРИОИДЕИ И В СЕТЧАТКЕ ГЛАЗ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ СМЕСЬЮ СПИРТОВ (40% ЭТАНОЛА И 100% МЕТАНОЛА)

Исследовалась ультраструктура сосудов и капилляров хориоидеи (ХО), пигментный эпителий сетчатки (ПЭС), ее фоторецепторные клетки, ганглиозные клетки и отростки мюллеровских клеток, которые окружают ГК, крыс после внутрибрюшного введения смеси спиртов (40% этанола и 100% метанола) в соотношении 3: 1 и отдельно чистого метанола (доза метанола в каждой группе составляла 0,75 г / кг массы тела крысы) в электронном микроскопе ПЭМ-100-01 (Украина) в период с 1 ч 10 мин до 14 суток после введения спиртов. Показано, что наиболее чувствительными структурами к токсическому действию смеси спиртов оказались эндотелиальные клетки (ЭК)ХО и клетки ПЭС. В цитоплазме ЕК сосудов определялся отек цитоплазмы и деструкция их органелл. Патологические изменения в клетках ПЭС заключались в альтерации митохондрий, элементов гладкой эндоплазматической сети и других органелл, в сложности базальных складок и в разрушении апикальных микроворсинок. Существенные деструктивные изменения в его клетках отмечались уже в срок 1 ч 10 мин после введения смеси спиртов. В динамике исследования (до 14 суток) явления гидропической дистрофии и элементы деструкции органелл в исследуемых клетках постепенно прогрессировали с одновременным усилением в его клетках компенсаторно-восстановительных процессов, заключающихся в усилении белоксинтезирующей и энергообразующей функций. После введения чистого метанола изменения в ХО и сетчатке имели однонаправленный характер, что и после инъекции смеси спиртов, за исключением первых трех часов. Этанол потенцировал токсическое действие метанола в начальные сроки наблюдения, что приводило к глубоким повреждениям ультраструктуры ХО и ПЭС. Ведущее место в развитии патологических изменений в исследованных структурах, после введения смеси спиртов, отведено метанолу.

Ключевые слова: ультраструктура, сосуды, капилляры, хориоидея, сетчатка.

N. Molchaniuk, Senior Researcher, Ph. D.
State institution "The Filatov institute of eye diseases and tissue therapy
of the national academy of medical sciences of Ukraine", Odessa. Ukraine

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE VESSELS AND CAPILLARIES OF THE CHOROID AND IN THE RETINA OF RATS CAUSED BY A MIXTURE OF ALCOHOLS (40% ETHANOL AND 100% METHANOL)

We was study the ultrastructure of blood vessels and capillaries of the choroid (CO), retina's pigment epithelium (RPE), it's photoreceptor cells, ganglion cells, shoots of Muller cells of rats, that surround them, after in traperit one alinjection of a mixture of alcohols (40% ethanol and 100% methanol) in a 3:1 ratio and separately pure methanol (the methanol dose in each group was 0.75 g/kg rat body weight) in a PEM-100-01electron microscope (Ukraine) in the period from 1 h10 min to 14 days after the alcohols injection. It was shown that the most sensitive structures to the toxic effect of a mixture of alcohol swere endothelial cells of CO and RPE cells. Pathological changes in RPE cells consistin alteration of mitochondria, in destructi on of the elements of the smooth endoplasmic reticulum and other organelles, in alignment of folds on the basal side of the cell sand in the destruction of apical microvilli. Significant destructive changes in its cells were not as early as 1 h10 min after ijection. In the dynamics of the study 1 h 10 min to 14 days the phenomenon of hydropic dystrophy and elements of destruction of organelles in the studied cells gradually progressed with simultaneous enhancement in the cells of the compensatory-restorative processes. After the injection of pure methanol, pathological changes in the chronic retinal area and in the retina are unidirectional except for the first 3 hours. Ethanol potentiates the toxic effect of methanol in the initial observation terms and leads to deeper damage to the rat CO and RPE ultrastructure. The leading place in the amplification of pathological changes in the investigated structures, after in jection of the alcohols' mixture, is given to methanol.

Keywords: ultrastructure, blood vessels, capillaries, choroid, retina.

УДК: 577.3

О. Подпалова, асист.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ДИНАМІКА СКОРОЧЕННЯ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ

Алкогольна міопатія вважається багатофакторною хворобою. Механізми, що ведуть до розвитку патології м'язів при надмірному споживанні алкоголю, мають декілька варіантів реалізації. Хронічний прийом алкоголю і гостра алкогольна інтоксикація здатні знижувати швидкість білкового синтезу, у тому числі і міофібрилярних білків, призводить як мінімум до двох функціональних змін показників скорочувальних процесів: збільшення часу релаксації та неадекватної, некоректної реалізації м'язевого скорочення. Хронічне зловживання алкоголем сприяє погіршенню здатності м'язів до скорочення, зокрема зменшення сили та механокінетичних параметрів скорочення, що може бути наслідком порушення ультраструктурної організації міоцитів та їхньої атрофії, оскільки етанол здатний безпосередньо взаємодіяти з мембранними структурами міоцитів. Порушення цілісності мембранних структур та підвищення активності Ca^{2+} -АТФази призводять до зміни гомеостазу кальцію і порушення скоротливої функції м'язів. Ознакою алкогольної міопатії також є слабкість скелетних м'язів, яка зумовлена зменшенням відносної маси скоротливих білків – міозину, десміну, актину і тропоніну, і скоротливих – титіну й небуліну, адже етанол і ацетальдегід виступають потужними інгібіторами синтезу міофібрилярних і саркоплазматичних білків. Метою дослідження було порівняти динаміки параметрів скорочення скелетних м'язів алкоголізованих щурів при застосуванні електростимуляції з різним часом релаксації. У першій серії експерименту ми провели стимуляцію *m.tibialis* щурів електричними імпульсами тривалістю 2, 3, 4, 5 секунд з періодом релаксації 30 с. У наступній серії експериментів ми збільшили час релаксації до 1 хв, у даних стимуляційних умовах міопатичні м'язи виявляють тенденцію до збільшення часу релаксації, а не до якісної або кількісної зміни динаміки їхніх скоротливих процесів.

Ключові слова: етанол; алкоголь; міопатія; скорочення; релаксація; динаміка.

Вступ. Алкоголізм є однією з першорядних медико-соціальних проблем сучасного суспільства. Хворі на алкоголізм помирають, як правило, не від алкогольної хвороби, а від супутніх захворювань і розладів. Раніше вважалося, що скелетні м'язи є стійкими до дії ушкоджуючих факторів, у тому числі етилового спирту і його метаболітів. Як виявилось, довготривалий вплив алкоголю викликає зміни навіть в скелетних м'язах, які раніше вважалися досить стійкими до дії зовнішніх факторів [1, 2]. Встановлено, що ускладнення алкоголізму супроводжується розвитком алкогольних міопатій у біля 60% хворих [3]. Алкогольна міопатія, яка зустрічається у хронічних алкоголіків, представляє собою сукупність метаболічних і біомеханічних змін у скелетних м'язах. Хронічне зловживання алкоголем є однією з причин загальної дисфункції скелетних м'язів, їх атрофії із супутньою втратою м'язової маси і, як наслідок, порушення рухливості кінцівок загалом. Алкоголь порушує усі ланки обміну речовин м'язової і кісткової тканин [4]. Значні незворотні зміни, що відбуваються у кістковій і м'язовій тканинах, є результатом дії алкогольної інтоксикації, яка призводить до порушення живлення тканин.

Складність молекулярних механізмів м'язового скорочення та, ймовірно, їхня недостатня вивченість нерідко не дозволяє пояснити багато чого з того великого експериментального матеріалу, що був накопичений при дослідженні механічних реакцій цілого м'яза. Вод-

ночас феноменологічний підхід до аналізу механічних властивостей м'язу дозволяє, зокрема, емпіричним шляхом встановити дуже важливі співвідношення між реальними макроскопічними параметрами стану м'язу, такими як сила, довжина й рівень поступаючої до м'яза еферентної активності. Феноменологічний рівень опису м'язової динаміки в багатьох випадках виявляється цілком достатнім при аналізі центральних процесів регуляції рухової активності [5–7].

Метою дослідження було порівняння динаміки параметрів скорочення скелетних м'язів алкоголізованих щурів при застосування електростимуляції з різним часом релаксації. Для реєстрації сили скорочення використовували тензометричну установку, створену на кафедрі біофізики Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Матеріали та методи дослідження. Для індукції хронічної алкогольної інтоксикації, щурам протягом 30 днів ентерогастрально вводили 40% етиловий спирт (отриманий шляхом розведення 96% етилового спирту дистильованою водою), з розрахунку 2 мл/100 г маси тіла тварини, використовуючи епідуральний катетр: G 18 ("BBraun", Німеччина). Інтактним щурам, для отримання гомогенності стресових реакцій, в асептичних умовах і з дотриманням умов антисептики, ентеро-

гастрально вводився еквівалентний об'єм стерильної дистильованої води.

Під час підготовки до гострого експерименту, анестезію здійснювали введенням тіопенталу натрію. Ініціація наркотичного сну тіопенталом натрію (40 мг/кг, підтримуюча доза – 0,1 мг/ 100 г, швидкість введення – 5–10 мл/хв). Для реєстрації сили скорочення використовували тензометричну установку, створену на кафедрі біофізики Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Даний пристрій являв собою комплекс датчиків сили та довжини, температурного датчика, комплексу АЦП-ЦАП, персонального комп'ютера, стереотаксичного станку СЕЖ – 4, модульного біопідсилювача УБМ. Для зовнішнього механічного впливу на м'яз застосовували сервокерований механостимулятор, який був створений на основі електромагнітного двигуна, на рухливій частині якого були змонтовані датчики сили й довжини. Дослідження динамічних властивостей м'язового скорочення проводили в умовах активації м'язу з використанням методу модульованої стимуляції еферентів.

Стимуляцію здійснювали електричними імпульсами прямокутної форми тривалістю 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів, керованим АЦП, через платинові електроди. Тривалість стимуляційного сигналу варіювала від 2 до 6 с залежно від умов досліду. Характеристики стимулюючого сигналу задавали програмно й передавали з комплексу АЦП-ЦАП на генератор. Паралельний візуальний контроль стимулюючого сигналу здійснювали за допомогою осцилографа.

Для реєстрації зміни довжини препарату використовували систему, виготовлену на основі комплексу фотоелектронного помножувача, тріохпроменевого квантового генератору та системи рухомих фіксаналів. Збурення навантаження здійснювали лінійним електромагнітним двигуном. Крок зміщення електромагнітного двигуна становив 1 В/мм. Власна податливість механостимулятора становила ~ 5 мкН/мм. Пристрій рухомо фіксували на блоці установки за допомогою системи мікрomanipуляторів, навпроти датчика довжини, що дозволяло орієнтувати положення датчика паралельно відносно камери з досліджуванним препаратом. Датчик сили та механостимулятор були з'єднані зворотнім зв'язком. Така сервосистема дозволяла здійснювати дискретний контроль сили та довжини в будь-який момент скорочення об'єкту. Власна податливість сервосистеми пристрою складала ~ 0,01 град/Н.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Statistica 8.0 ("StatSoft", США). Перевірку вибірок на їхню приналежність до нормально розподілених генеральних сукупностей здійснювали за допомогою критерію Шапіро–Вілка. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували U-критерій Манна-Вітні. Достовірними вважалися відмінності при $p \leq 0,05$. Результати представлені як середнє арифметичне $\pm$ похибка середнього ($M \pm m$) і вказана кількість дослідів (n).

Експериментальні групи тварин. Для дослідження були використані здорові щурі-самці лінії *Wistar*, масою 150–200 г. Протокол дослідження був затверджений комісією з питань біоетики СНУ імені Лесі Українки згідно з правилами "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" [8], і норм біомедичної етики згідно із Законом України № : 3446 – IV 21.02.2006 р., м. Київ, "Про захист тварин від жорстокого поводження" з проведенням медико-біологічних досліджень.

Алкоголізацію тварин здійснювали за методикою [9] в авторській модифікації. Тварин відбирали на основі їх індивідуальної схильності до споживання розчину етилового спирту, що оцінювалась протягом двох тижнів щоденним вимірюванням кількості спожитого 5 %-го розчину алкоголю.

Кожну експериментальну групу становили щури (20 тварин), що, перебуваючи в умовах вільного вибору, віддавали перевагу розчину алкоголю з першого дня тестування. Кількість споживаного спирту колилася від 15 мл і вище на тварину. Після тестування для експериментальних тварин наступні два тижні концентрацію етилового спирту поступово підвищували від 5 до 36 % (з кроком у 10%) і у подальшому не змінювали. Хронічну алкоголізацію тварин здійснювали протягом 2, 4, 6, та 8 місяців.

Для кожної експериментальної групи була своя контрольна група (6 тварин), що складалась із тварин, які демонстрували повну відмову від споживання алкоголю і яких утримували в аналогічних умовах віварію протягом строку експерименту.

Результати та їх обговорення. Хронічне зловживання алкоголем сприяє погіршенню здатності м'язів до скорочення, зокрема зменшення сили та механокінетичних параметрів скорочення, що може бути наслідком порушення ультраструктурної організації міоцитів та їх атрофії. Етанол здатний безпосередньо взаємодіяти з мембранними структурами міозитів [10] і призводити до порушення роботи й функції ферментних систем саркомери, зокрема, зниження активності Na^+/K^+ -АТФ-ази і підвищення Ca^{2+} -АТФ-ази. Порушення цілісності мембранних структур та підвищення активності Ca^{2+} -АТФази призводять до зміни гомеостазу кальцію і порушення скоротливої функції м'язів. На додаток до механічних змін у м'язах за міопатії виявлено порушення у метаболізмі білка усього організму, оскільки скелетні м'язи становлять 40% від маси тіла, та синтезу білків міофібрил зокрема, що негативно впливає на функціональний стан скелетних м'язів. Зазначено, що у людей, у яких підтверджено хронічний алкоголізм, синтез білків може знижуватися на 27–15 %. При цьому зменшується як відносна маса скоротливих білків – міозину, десміну, актину і тропоніну та структурних – титину й небуліну, що ускладнює взаємодію актину й міозину, так і знижується інтенсивність їх біосинтезу. Етанол та його похідні сприяють розвитку окисного стресу, який призводить до зростання кількості АФК і, як наслідок, відбуваються редукція клітинних механізмів захисту, зміни стану мембран м'язів та пошкодження структурних білків, ДНК і РНК. Виражений інтенсивний синтез АФК у мітросомальній системі органел впливає на процес окиснення жирних кислот і підвищує ПОЛ, що є характерною ознакою ішемічного ушкодження.

У першій серії експерименту ми провели стимуляцію *m.tibialis* щурів електричними імпульсами тривалістю 2, 3, 4, 5 секунд. З періодом релаксації 30 с. Слід зауважити, що в нативних м'язах достовірних змін м'язової динаміки не відбувається протягом 2–3 год. У даному випадку ми бачимо яскраво виражене падіння максимальних значень сили і довжини як із збільшенням тривалості стимуляційного імпульсу, так і зі збільшенням часу проведення експерименту. Тривалість експерименту складала 30 хв, після досягнення яких падіння сили і довжини становило від 90 до 100 % (рис. 1.). Слід зауважити, що плавне падіння сили і довжини при стимуляції 2 с імпульсами переходять в хаотичну флуктуаційну нестабільну зміну м'язової динаміки при стимуляції 4 і 5 с. В даному випадку практично неможливо розділити

стаціонарну і динамічну фазу скорочення внаслідок високоамплітудних флуктуацій як довжини, так і сили. Після 30 хв стимуляції м'яз переходить у фізіологічну

ригідність, не відповідаючи зміною динаміки на стимуляційний сигнал.

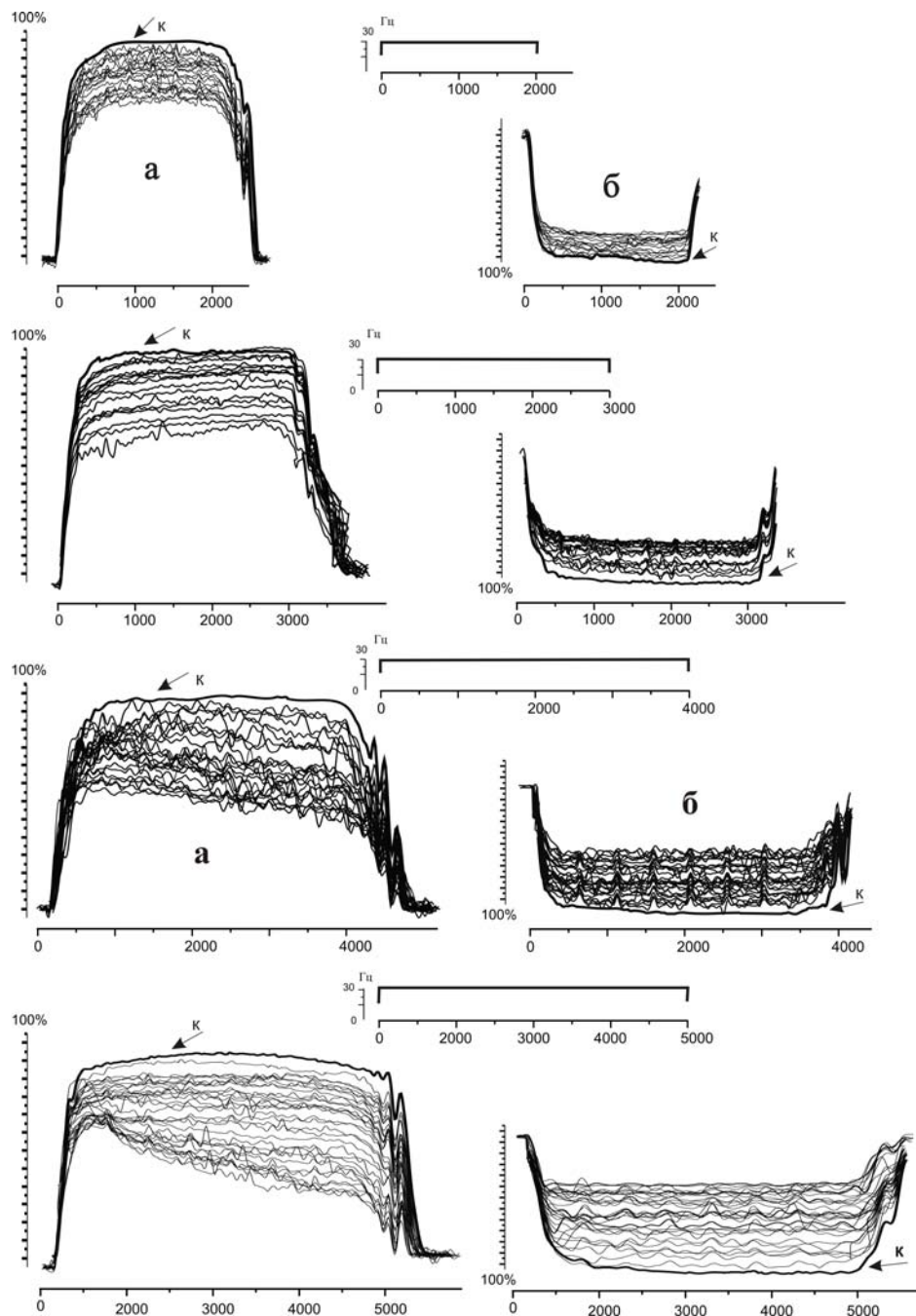


Рис. 1. Зміна динаміки параметрів скорочення m.tibialis алкоголізованих щурів при застосуванні модульованої електростимуляції з часом релаксації 30 с.

К – контроль значення динамічних параметрів. Вихідний рівень.

а – зміна сили скорочення, б – зміна довжини м'яза

У наступній серії експериментів ми збільшили час релаксації до 1 хв. У цьому випадку контрольний м'яз не проявляв тенденції до зміни динамічних параметрів (прояву втомних ефектів) протягом 6–8 год. З рисунка 2 видно, що із збільшенням часу релаксації зменшується падіння динамічних параметрів. У цьому випадку ми спостерігаємо зміну динаміки скорочення по довжині, що не перевищує 50% змін від норми. По силі не перевищує 40%. У цьому випадку слід відзначити відсутність ригідності, яка спостерігалася раніше про-

тягом проведення всього експерименту. Флуктуаційні зміни динаміки скорочення при 3 і 4-секундній стимуляції були помітні менше і виявляли тенденцію до періодичності. При збільшенні часу релаксації до 5 хв будь-яких достовірних змін у динаміці скорочення м'язів алкоголізованих щурів не виявлялося. Таким чином, можна стверджувати, що в даних стимуляційних умовах міопатичні м'язи виявляють тенденцію до збільшення часу релаксації, а не до якісної або кількісної зміни динаміки її скоротливих процесів.

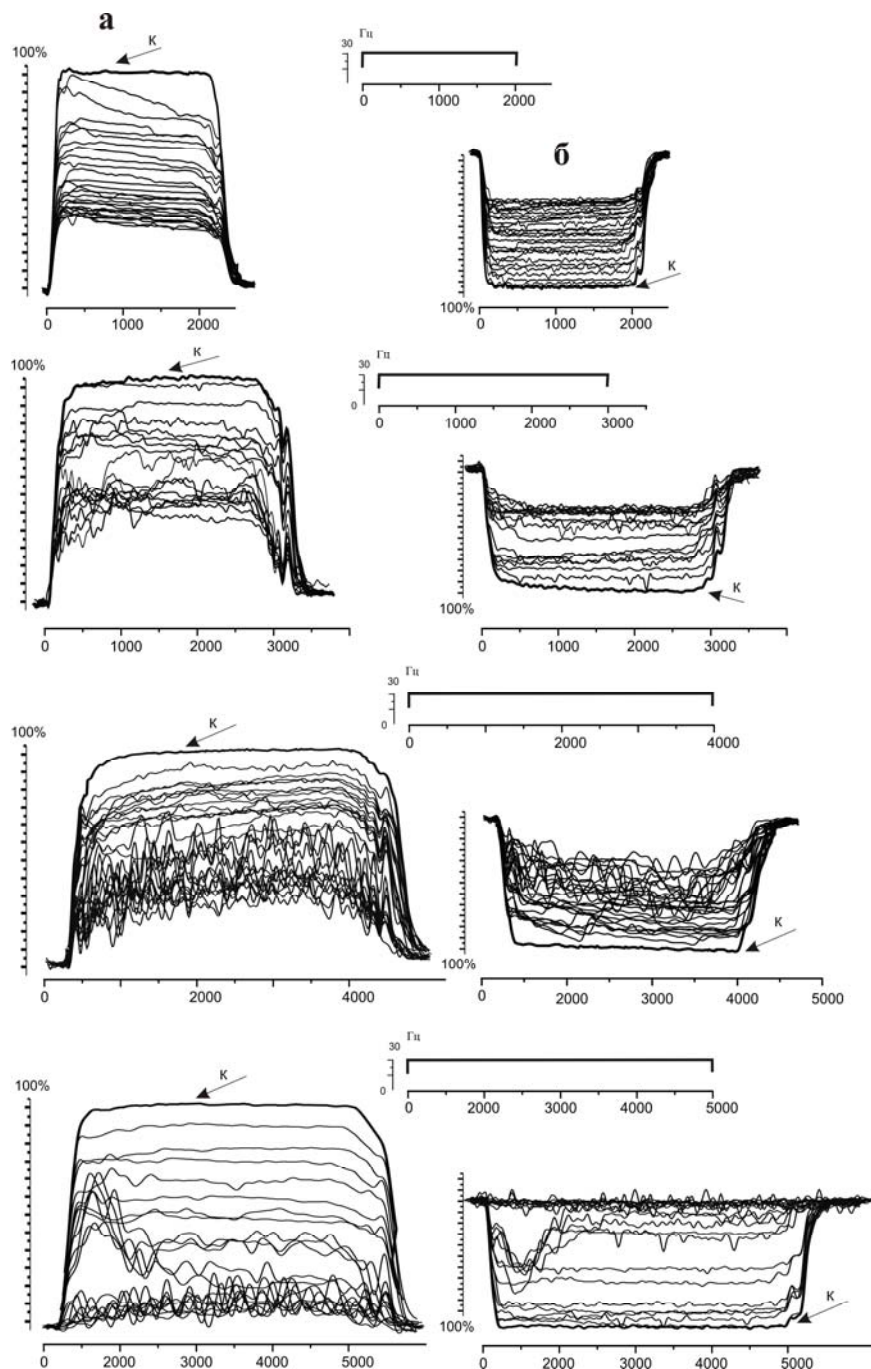


Рис. 2. Зміна динаміки параметрів скорочення *m.tibialis* алкоголізованих щурів при застосуванні модульованої електростимуляції з часом релаксації 1 хв.

К – контроль значення динамічних параметрів. Вихідний рівень.
а – зміна сили скорочення, б – зміна довжини м'яза

Виявлені зміни розвитку силової відповіді та механокінетичних параметрів тетанічних скорочень м'яза є результатом значних біохімічних порушень, які відбуваються за алкогольної міопатії. Насамперед внаслідок зниження припливу крові артеріальними судинами зменшується доставка до м'яза кисню, поживних і регуляторних речовин, що призводить до численних іонних та метаболічних змін. В нормальних фізіологічних умовах незначна частина АТФ використовується для підтримки мембранного потенціалу та розподілу іонів, проте за нестачі кисню процеси окисного фосфорилування та електронтранспортні ланцюги мітохондрій інгібуються, а мембранний потенціал знижується. Це в свою чергу призводить до зниження синтезу АТФ та збільшення

кількості неорганічних фосфатів і АДФ. З функціональної точки зору ці дані вказують на те, що значна кількість високоенергетичних фосфатних сполук витрачається ушкодженою м'язовою клітиною на підтримку гомеостазу, як наслідок, порушення обміну речовин призводить до значного зростання втомлюваності м'яза.

Виснаження клітинних енергетичних субстанцій, особливо розпад АТФ, призводить до різкого порушення гомеостазу і втрати іонного градієнта через клітинні мембрани. Водночас спостерігається накопичення НАД, лактату та H^+ , і, відповідно, підкислення рН внутрішньоклітинного та позаклітинного середовища. Зниження продукції АТФ пригнічує діяльність Na^+-K^+-ATP ази, що призводить до зростання концентрації внутрішньоклітинного Na^+ , і, як

наслідок, внутрішньоклітинного Ca^{2+} . Отже, підвищений вміст K^+ спричиняє затримку генерації ПД, і, відповідно, його поширення по Т – трубочках. Можна припустити, що при алкогольної міопатії, іонні зміни погіршують здатність м'яза реагувати на електричні імпульси, оскільки втрату здатності м'яза до скорочення пов'язують з деполяризацією мембранних систем міоцитів і порушенням внутрішньоклітинної провідності, що перешкоджає розвитку збудження і призводить до його згасання.

Сила скорочення м'яза залежить і від кількості поперечних актино-міозинових містків, які утворилися під час скорочення, кількість яких, насамперед обумовлена: концентрацією іонів кальцію в міоплазмі та енергетичним забезпеченням скорочення. Зниження її може бути зменшення кількості поперечних містків залучених у скорочення або зменшенням сили їхнього зв'язку. Модулятором цих процесів є рівень концентрації іонів вільного саркоплазматичного Ca^{2+} у міоплазмі. Головним депо Ca^{2+} в скелетних м'язах є саркоплазматичний ретикулум (СР), він забезпечує вихід кальцію в цитозоль, після надходження ПД, що забезпечує взаємодію міозину й актину. Як зазначалося, за алкогольної міопатії зростає кількість цитозольного Ca^{2+} . У результаті цього підвищується проникність саркоплазматичного ретикулума для іонів Ca^{2+} , одночасно зі зменшенням швидкості його акумуляції в СР. Можна припустити, що надлишок Ca^{2+} призводить до порушення механізмів Ca^{2+} -опосередкованої функціональної сигналізації, а саме пригнічення здатності Ca^{2+} зв'язуватись із тропоніном-С, від чого залежить швидкість молекулярної взаємодії актину і міозину. Коливання рівнів вільного Ca^{2+} в міоцитах є ключовим чинником скорочення і розслаблення м'яза й загалом впливають на кінетику розвитку сили. Водночас, на звільнення іонів Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулуму впливає виснаження запасів глікогену у скелетних м'язах, внаслідок чого порушуються механізми ресинтезу АТФ. Нестача АТФ, яка може бути спричинена дефіцитом креатинфосфокіназного шляху або накопиченням недоокиснених продуктів під час гліколізу, призводить до зміщення рН саркоплазми у кислий бік, що, в свою чергу, гальмує активність гліколітичних ферментів і спричинює швидкий розвиток втоми під час експерименту. Крім того, однією з ознак алкогольної міопатії є слабкість скелетних м'язів, яка обумовлена зменшенням відносною маси скоротливих білків – міозину, десміну, актину і тропоніну, і скоротливих – титіну й небуліну, адже етанол і ацетальдегід виступають потужними інгібіторами синтезу міофібрилярних і саркоплазматичних білків.

Висновки. Отже, з огляду на отримані результати, можна зробити висновок, що алкогольна міопатія призводить до значних морфологічних і функціональних змін. Причиною таких порушень є виснаження клітинних енергетичних субстанцій, особливо розпад АТФ, що призводить до різкого порушення гомеостазу і втрати іонного градієнта через клітинні мембрани, а також зменшує кількість поперечних актин-міозинових містків, які утворюються під час скорочення. Патологічні зміни опосередковуються дією вільних радикалів кисню, які пошкоджують клітинні компоненти, зокрема сарколеми та мітохондрій, на фоні пригнічення антиоксидантних систем організму.

З представлених даних видно, що, збільшуючи час релаксації м'яза алкоголізованих щурів, ми можемо практично повністю усунути ефекти, викликані алкогольною міопатією. Перед нами стояло завдання визна-

чити ефекти, які не усуваються збільшенням релаксації і можуть бути чіткими маркерами змін, рівня, викликані алкогольної міопатії, і дозволять якісно описати отримані ефекти. Таким чином, наші результати показують, що алкоголізація щурів 6–8 місяців призводить до збільшення часу релаксації для можливості адекватної м'язової відповіді на стимуляційні пули.

Список використаних джерел:

1. Fernandez-Sola J. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease / J. Fernandez-Sola, V.R. Preedy, C.H. Lang et al. // *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 2007. – Vol. 31. – P. 1953–1962.
2. Vary T.C. Restoration of protein synthesis in heart and skeletal muscle after withdrawal of alcohol / T.C. Vary, A.C. Nairn, C.H. Lang. // *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2004. – Vol. 28. – P. 517–525.
3. Relationship between ethanol-related diseases and nutritional status in chronically alcoholic men. / R. Estruch, J.M. Nicolas, E. Villegas et al. // *Alcohol Alcohol.*, 1993. – Vol. 28. – P. 543–550.
4. Oba T. Differential contribution of clinical amounts of acetaldehyde to skeletal and cardiac muscle dysfunction in alcoholic myopathy / T. Oba, Y. Maeno, K. Ishida // *Curr. Pharm. Des.*, 2005. – Vol. 11, N 6. – P. 791–800.
5. Chronic alcohol feeding impairs hepatic translational initiation by modulating eIF2 and eIF4E / C.H. Lang, D. Wu, R.A. Frost et al. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1999. – P. 805–814.
6. Structural characterization of the binding of myosin ADP-P_i to actin in permeabilized rabbit psoas muscle / Xu Sengen, Gu Jin, B. Belknap et al. // *Biophys. J.*, 2006. – Vol. 91, № 9. – P. 3370–3382.
7. De La Cruz E.M. Kinetic and equilibrium analysis of the myosin ATPase / E.M. de la Cruz, E.M. Ostap // *Meth. Enzymol.* – 2009. – Vol. 455. – P. 157–192.
8. The influence of complex drug cocarnit on the nerve conduction velocity in nerve tibialis of rats with diabetic polyneuropathy / D.N. Nozdrenko, S.M. Berehovi, N.S. Nikitina et al. // *Res. Article – Biomed. Res.*, 2018. – Vol. 29, Issue 19. – P. 3629–3634.
9. Бардина Л.П. Метаболическая адаптация к алкоголю у крыс, различающихся по предпочтению этанола воде / Л.П. Бардина, В.И. Сатановская // *Вопросы медицинской химии*, 1999. – 45, № 2. – С. 117–122.
10. Ethanol inhibits skeletal muscle cell proliferation and delays its differentiation in cell culture / J. Garrica, E. Adanero, J. Fernandez-Sola et al. // *Alcohol & Alcoholism.*, 2000. – Vol. 35 (3). – P. 236–241.

References (Scopus):

1. Fernandez-Sola J., Preedy V.R., Lang C.H. et al. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2007. – V. 31. – P. 1953–62.
2. Vary T.C., Nairn A.C., Lang C.H. Restoration of protein synthesis in heart and skeletal muscle after withdrawal of alcohol // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2004. – V. 28. – P. 517–525.
3. Estruch R., Nicolas J.M., Villegas E., Junque A., Urbano-Marquez A. Relationship between ethanol-related diseases and nutritional status in chronically alcoholic men // *Alcohol Alcohol.* – 1993. – V. 28. – P. 543–550.
4. Oba T., Maeno Y., Ishida K. Differential contribution of clinical amounts of acetaldehyde to skeletal and cardiac muscle dysfunction in alcoholic myopathy // *Curr. Pharm. Des.* – 2005. – Vol. 11, N 6. – P. 791–800.
5. Lang C.H., Wu D., Frost R.A., Jefferson L.S., Vary T.C., Kimball S.R. Chronic alcohol feeding impairs hepatic translational initiation by modulating eIF2 and eIF4E // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 1999. – P. 805–814.
6. Sengen Xu, Jin Gu, Belknap B. et al. Structural characterization of the binding of myosin ADP-P_i to actin in permeabilized rabbit psoas muscle // *Biophys. J.* – 2006. – Vol. 91, № 9. – P. 3370–3382.
7. De La Cruz E.M., Ostap E.M. Kinetic and equilibrium analysis of the myosin ATPase // *Meth. Enzymol.* – 2009. – Vol. 455. – P. 157–192.
8. Nozdrenko D.N., Berehovi S.M., Nikitina N.S., Stepanova L.I., Beregova T.V. and Ostapchenko L.I. The influence of complex drug cocarnit on the nerve conduction velocity in nerve tibialis of rats with diabetic polyneuropathy // *Research Article – Biomedical Research (2018) Volume 29, Issue 19. P.3629-3634*
9. Бардина Л.П., Сатановская В.И. Метаболическая адаптация к алкоголю у крыс, различающихся по предпочтению этанола воде // *Вопросы медицинской химии*, 1999. – 45, № 2. – С. 117–122.
10. Garrica J., Adanero E., Fernandez-Sola J., Urbano-Marquez A., Cusso R. Ethanol inhibits skeletal muscle cell proliferation and delays its differentiation in cell culture // *Alcohol & Alcoholism.* – 2000. – Vol. 35 (3). – P. 236–241.

Надійшла до редколегії 07.10.19

Отримано виправлений варіант 08.11.19

Підписано до друку 08.11.19

Received in the editorial 07.10.19

Received revised version on 08.11.19

Signed in the press on 08.11.19

О. Подпалова, ассист.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ДИНАМИКА СОКРАЩЕНИЯ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Алкогольная миопатия считается многофакторной болезнью. Механизмы, ведущие к развитию патологии мышц при чрезмерном потреблении алкоголя, имеют несколько вариантов реализации. Хронический прием алкоголя и острая алкогольная интоксикация способны снижать скорость белкового синтеза, в том числе и миофибриллярных белков, приводит как минимум к двум функциональным изменениям показателей сократительных процессов: увеличение времени релаксации и неадекватной, некорректной реализации мышечного сокращения. Хроническое злоупотребление алкоголем способствует ухудшению способности мышц к сокращению, в частности уменьшение силы и механикоинетичных параметров сокращения, что может быть следствием нарушения ультраструктурной организации миоцитов, их атрофии, поскольку этанол способен напрямую взаимодействовать с мембранными структурами миоцитов. Нарушение целостности мембранных структур и повышение активности Ca^{2+} -АТФазы приводят к изменению гомеостаза кальция и нарушению сократительной функции мышц. Признаком алкогольной миопатии также является слабость скелетных мышц, которая обусловлена уменьшением относительной массы сократительных белков – миозина, десмина, актина и тропонина, и сократительных – титина и небулина, ведь этанол и ацетальдегид выступают мощными ингибиторами синтеза миофибриллярных и саркоплазматического белков. Целью исследования было сравнение динамики параметров сокращения скелетных мышц алкоголизированных крыс при применении электростимуляции с разным временем релаксации. В первой серии эксперимента мы провели стимуляцию *m.tibialis* крыс электрическими импульсами длительностью 2, 3, 4, 5 секунд. В периодом релаксации 30 с. В следующий серии экспериментов мы увеличили время релаксации до 1 мин. В данных стимулирующих условиях миопатические мышцы обнаруживают тенденцию к увеличению времени релаксации, а не к качественному или количественному изменению динамики ее сократительных процессов.

Ключевые слова: этанол; алкоголь; миопатия; сокращения; релаксация; динамика.

O. Podpalova, assist.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

MUSCLE CONTRACTIONS DYNAMICS DURING CHRONIC ALCOHOLIZATION

Alcoholic myopathy is considered a multifactorial disease. The mechanisms leading to the development of muscle pathology in the case of excessive alcohol consumption have several implementation options. Chronic alcohol intake and acute alcohol intoxication can to reduce the rate of protein synthesis, including myofibrillar proteins, leading to at least 2 functional changes in contractile processes: increased relaxation time and inadequate, incorrect muscle contraction. Chronic alcohol abuse contributes to the impairment of muscle contraction, including the reduction of the force and mechanokinetic parameters of contraction, which may be the result of the ultrastructural organization disruption of myocytes and their atrophy, because ethanol is able to interact directly on membrane structures. Impaired membrane structures and increased Ca^{2+} -ATPase activity lead to changes in calcium homeostasis and impaired muscle contractile function. Alcoholic myopathy is also represented by skeletal muscles weakness, which is caused by a decrease of the relative weight of myosin, desmin, actin and troponin, titin and nebulin, as ethanol and acetaldehyde act like as potent inhibitors of synthesis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins. The purpose of the study was to compare the dynamics of the parameters of skeletal muscle contraction of alcoholic rats using electrical stimulation with different relaxation times. In the first series of the experiment, we performed stimulation of m.tibialis rats with electrical pulses of 2.3-4.5 seconds. With a relaxation period of 30 s. In the next series of experiments, we increased the relaxation time to 1 min. In these stimulating conditions, myopathic muscles tend to increase the relaxation time rather than qualitatively or quantitatively change the dynamics of its contractile processes.

Keywords: ethanol; alcohol; myopathy; contraction; relaxation; dynamics.

УДК 577.352.4:581.43

М. Рудницька, асп., Т. Палладіна, д-р біол. наук, проф.

Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ МЕТІУРУ ТА ІВІНУ НА ВАКУОЛЯРНИЙ $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ АНТИПОРТЕР КЛІТИН КОРЕНЯ *ZEA MAYS L.* ЗА УМОВ СОЛЬОВОГО СТРЕСУ

Оскільки кальцій відіграє важливу роль у регуляції процесів росту і розвитку рослинного організму, а також формуванні специфічної фізіологічної реакції на дію різних стресових факторів, виконуючи функцію вторинного месенджера, метою роботи було вивчити вплив гетероциклічних препаратів Метіуру та Івіну на $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ антипортер у вакуолях клітин кореня *Zea mays* L. за умов сольового стресу. Для цього корені проростків кукурудзи гібриду Остреч СВ експонували в присутності 0,1 М хлориду натрію протягом 1 та 10 діб. Вакуолярні мембрани отримували із гомогенату коренів кукурудзи шляхом центрифугування в ступінчастому градієнті сахарози. Активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ антипортера оцінювали за виходом протонів із везикул при додаванні іонів кальцію в інкубаційне середовище, виражаючи в $\Delta F\%$ на мг протеїну за хвилину. Встановлено, що за контрольних умов гетероциклічні препарати Метіур та Івін не впливають на активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера у вакуолярних мембранах кореня кукурудзи й істотно не сприяють розвитку стрес-реакції у рослин. Однак за умов сольової експозиції проростків кукурудзи було виявлено протилежно направлений вплив препаратів Метіуру та Івіну на активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера в мембранах вакуолей кореня. За умов тривалої сольової експозиції Метіур підвищує активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера у вакуолярній мембрані кореня, а Івін, навпаки, знижує її, що може бути пов'язано з хімічним складом цих гетероциклічних препаратів. Отримані результати вказують на те, що солепротекторна дія гетероциклічного препарату Метіур може бути зумовлена також і його впливом на функціональну активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера у вакуолярній мембрані кореня кукурудзи.

Ключові слова: $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ антипортер, вакуолярна мембрана, корінь, кукурудза, засолення, Метіур, Івін.

Вступ. Са²⁺ відіграє важливу роль у процесах регуляції росту, розвитку рослинного організму та формуванні специфічної фізіологічної реакції на дію різних стресових факторів, виконуючи функцію вторинного месенджера [1]. Ця функція забезпечується функціонуванням системи Са²⁺-залежної трансдукції сигналів, що починається з підвищення концентрації Са²⁺ в цитоплазмі ([Са²⁺]_{цит}) та активації відповідних протеїнів [2]. На-

ступним етапом є відновлення концентрації цього йону в цитоплазмі, до початкового рівня, порядку 100-200 нмоль/л, оскільки довготривала висока концентрація Ca^{2+} може викликати цитотоксичні ефекти: агрегацію протеїнів і нуклеїнових кислот, осадження фосфатів, порушення цілісності мембран в результаті високої реакційної здатності Ca^{2+} [3]. У генерації Ca^{2+} -сигналів і підтримці його клітинного гомеостазу вирішальну роль

відіграють Ca^{2+} -транспортери, серед яких виділяють Ca^{2+} -канали, Ca^{2+} -АТФази і клас $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортерів (CAH), які забезпечують спряжений транспорт. Останні використовують рушійну силу протона, створену H^{+} -АТФазою, та відіграють життєво важливу роль у стресостійкості, беручи участь в системі трансдукції Ca^{2+} сигналів і тим самим формуючи захисну реакцію у рослин на дію стресового фактора [4]. У клітинах рослин $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ антипортери локалізуються у плазматичній мембрані [5, 6], вакуолярній мембрані (далі ВМ) [7, 8], та в мембранах мітохондрій [9].

$\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортер є важливим компонентом вакуолярної мембрани, що забезпечує разом, а також Ca^{2+} -АТФазою, зниження рівня Ca^{2+} в цитоплазмі рослинної клітини після тимчасового його підвищення у відповідь на зовнішні стимули і при виконанні клітиною певних фізіологічних функцій, таких як секреція і полярний ріст.

Серед абіотичних факторів найбільш згубним для рослинних організмів є засолення ґрунту, котре викликає в них пригнічення росту та розвитку. Негативна дія цього чинника пов'язана з токсичною дією на клітинний метаболізм найпоширенішого катіона солей Na^{+} , який призводить до формування сильного іонного дисбалансу, що викликаний зменшенням поглинання K^{+} у результаті конкурентного процесу з високими концентраціями Na^{+} . Адаптація рослинних організмів до дії сольового стресу головним чином полягає у відновленні іонного гомеостазу шляхом відтоку токсичного йону Na^{+} в екстрацелюлярний простір та вакуолі. Формування стрес-реакції рослинами на збільшення концентрації Na^{+} в цитоплазмі відбувається шляхом підвищення рівня кальцію, який призводить до активації специфічної Ca^{2+} -залежної системи (SOS, Salt overly sensitive system), що включає три сенсорні протеїни. В клітині відбувається активація каскадного шляху від SOS3-SOS2 до SOS1 ($\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ -антипортер ВМ), останній переходить в активний стан та забезпечує видалення Na^{+} із цитоплазми клітини у вакуолі. Таким чином, як вже згадувалось вище, в цих процесах бере участь $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортер, що характеризується високою пропускну здатністю та є низькоспорідненим до Ca^{2+} транспортером, забезпечуючи видалення надлишку Ca^{2+} з цитоплазми, та знижуючи його концентрацію до мікромолярного рівня після підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ у результаті дії подразника, тоді як Ca^{2+} -АТФаза здійснює подальше зниження $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$, відновлюючи кальцевий гомеостаз. Встановлено, що експерименти з сенсорами Ca^{2+} дозволяють підвищувати стійкість до багатьох стресів. Так, спостерігалися зміни чутливості рослин з мутаціями по CAH до таких абіотичних стресів, як засолення і холодострес [4].

У попередніх дослідженнях наукової групи Т.О. Палладіної [10, 11] було виявлено солепротекторну дію препаратів циклогексанового ряду Метіуру (6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідин) та Івіну (N-оксид-2,6-диметилпіридин) на корені кукурудзи. У зв'язку з цим, для з'ясування можливого механізму їх дії було поставлено за мету дослідити вплив цих препаратів на активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани клітин кореня за умов засолення, спричиненого NaCl .

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були 8- або 17-добові корені проростків кукурудзи (*Zea mays* L.) гібриду Остреч СВ. Проростки вирощували на поживному середовищі Хогленда за температури 24°C , за умов 16-годинного світлового дня та освітлення 50 Вт/м^2 . У тижневому віці їх експонували в присутності $0,1 \text{ M NaCl}$ протягом 1 та 10 діб. У роботі для отримання мембранних фракцій використовували корені. Синтетичні препарати застосовували шляхом замочування насіння протягом доби в їх 10^{-7} M водних розчинах.

Препарат вакуолярної мембрани отримували з гомогенату тканин коренів рослин шляхом центрифугування на ультрацентрифузі Optima TM L-90K Beckman Coulter в ступінчастому градієнті сахарози (10/23%) [12]. Мембранний склад оцінювали із застосуванням біохімічних маркерних ензимів, частку правильно орієнтованих везикул – за впливом детергенту Тритону X-100 на гідроліз АТФ [13].

Активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ антипортера оцінювали за виходом H^{+} із везикул при додаванні Ca^{2+} в інкубаційне середовище, виражаючи у $\Delta F\%$ на мг протеїну за хвилину [14]. CaCl_2 вносили після того, як градієнт концентрації йонів H^{+} , утворений роботою одного із протонних насосів, досягав максимальної величини і виходив на стаціонарний рівень. Величину градієнта H^{+} вимірювали за зниженням поглинання оптичного зонду акридинового оранжевого при 495 нм [15] на спектрофотометрі 2000СФ. Оцінювали початкову швидкість зміни поглинання акридинового оранжевого і максимальне значення (що відповідає градієнту концентрації йонів H^{+} між вмістом везикул і зовнішнім середовищем при досягненні реакцією рівноваги). Розрахунок концентрації іонізованого Ca^{2+} , в реакційному середовищі, проводили за програмою Ca-Mg-ATP-EGTA -TS – Maxchelator (<http://maxchelator.stanford.edu/CaMgATPEGTA-TS.htm>) із застосуванням 1 mM EGTA . Вміст протеїну в мембранних препаратах визначали за методом Бредфорда [16].

Усі досліді здійснювали в чотирьох біологічних і трьох аналітичних повтореннях, визначаючи достовірність отриманих даних за t-критерієм Стюдента.

Результати та їх обговорення. Фракція вакуолярної мембрани, отриманої із гомогенату 8- або 17-добових коренів проростків кукурудзи за даними біохімічного аналізу має високий ступінь очищення. Склад препаратів ВМ становив: вакуолярна мембрана – 85%, плазматична мембрана – 6,4%, мембрани мітохондрій і апарату Гольджі – по 4,3% для кожної групи.

Транспорт, опосередкований $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ обміном, був оптимальним при $\text{pH } 7,0$. Залежність початкової швидкості виходу H^{+} від концентрації Ca^{2+} має насичувальний характер, задовільно описується кінетикою Міхаеліса-Ментен ($K_m = 11 \text{ мкМ}$), та відображає транспортну специфічність для Ca^{2+} .

Показано, що за нормальних умов гетероциклічні препарати Метіур та Івін істотно не впливають на активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани коренів 8- та 17-добових проростків кукурудзи (табл.1). Це вказує на те, що ці гетероциклічні препарати не беруть безпосередньої участі у процесах підтримання внутрішньоклітинного гомеостазу кальцію.

Таблиця 1. Активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани клітин коренів 8- та 17-добових проростків кукурудзи за дії препаратів Метіур та Івін

Варіанти	Вік проростків	
	8 діб	17 діб
	$\Delta F\%$ на мг протеїну за 1 хв	$\Delta F\%$ на мг протеїну за 1 хв
Контроль	$0,65 \pm 0,12$	$0,93 \pm 0,11$
Метіур	$0,69 \pm 0,08$	$1,02 \pm 0,09$
Івін	$0,66 \pm 0,21$	$0,96 \pm 0,07$

$M \pm m$; $n=4$

При дослідженні активності $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани за умов сольової (0,1 М хлориду натрію) експозиції проростків упродовж 1 або 10 діб (табл. 2) було виявлено відмінний за своїм характером вплив цих гетероциклічних препаратів. Так, Метіур посилював активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани, яка зростала з подовженням терміну сольової експозиції проростків кукурудзи до 10 діб. Разом з

тим, при обробці цих проростків Івіном було виявлено невелике за величиною, але статистично значиме зниження активності $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани так за довготривалої експозиції. Різниця між реакціями на обрані препарати вказує на відмінність механізмів їх дії, що може бути пов'язано зокрема з особливостями хімічного складу препаратів.

Таблиця 2. Активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани клітин коренів 8- та 17-добових проростків кукурудзи, експонованих у присутності 0,1 М NaCl впродовж 1 і 10 діб, відповідно, та за дії препаратів Метіур та Івін

Варіанти	Термін сольової експозиції/вік проростків	
	1 доба/8 діб	10 діб/17 діб
	$\Delta F\%$ на мг протеїну за 1 хв	$\Delta F\%$ на мг протеїну за 1 хв
Контроль + NaCl	$2,45 \pm 0,09$	$2,63 \pm 0,06$
Метіур + NaCl	$4,51 \pm 0,05^*$	$6,82 \pm 0,06^*$
Івін + NaCl	$2,28 \pm 0,07$	$2,13 \pm 0,08^*$

$M \pm m$; $n=4$, $P < 0,05$, * вірогідно відносно контролю за умов сольової експозиції

Висновки. Гетероциклічні сполуки Метіур та Івін можуть впливати на активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера вакуолярної мембрани. Встановлено, що за контрольних умов препарати Метіур та Івін не впливають на активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера в досліджуваних мембранах. Таким чином, застосування препаратів Метіур та Івін не викликає стрес-реакцію у рослин. Виявлено протилежний вплив препаратів Метіуру та Івіну на активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера ВМ за умов сольової експозиції проростків кукурудзи, що може бути пов'язано з хімічним складом препаратів. Встановлено, що за умов сольової експозиції, на відміну від Івіну, Метіур підвищує активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера у вакуолярній мембрані кореня за тривалої сольової експозиції. Одержані результати вказують, що солепротекторна дія Метіуру може бути обумовлена, серед іншого, його впливом на функціонування $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера у вакуолярній мембрані.

Список використаних джерел:

- De Falco T.A. Breaking the code: Ca^{2+} sensors in plant signalling / T.A. de Falco, K.W. Bender, W.A. Snedden // *Biochem. J.*, 2010. – Vol. 425, N 1. – P. 27–40. doi: 10.1042/BJ20091147.
- Calcium sensors as key hubs in plant responses to biotic and abiotic stresses / B. Ranty, D. Aldon, V. Cotelle et al. // *Front. Plant Sci.*, 2016. – Vol. 7. – P. 327. doi: 10.3389/fpls.2016.00327.
- Understanding calcium transport and signaling, and its use efficiency in vascular plants / A. González-Fontes, M. T. Navarro-Gochicoa, C.J. Ceacero et al. // *Plant Macronutrient Use Efficiency: Molecular and Genomic Perspectives in Crop Plants*. Academic Press, 2018. – P. 418. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811308-0.00009-0.
- Bickerton P. D. Role of cation/proton exchangers in abiotic stress signaling and stress tolerance in plants / P. D. Bickerton, J. K. Pittman // *Elucidation of Abiotic Stress Signaling in Plants*. Springer, 2015. – P. 95–117. doi: 10.1007/978-1-4939-2211-6_4.
- Functional analysis of rice $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter OsCAX3 in yeast and its subcellular localization in plant / B.S. Qi, C.G. Li, Y.M. Chen et al. // *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2005. – Vol. 32. – P. 876–882.

- Shen G.M. Involvement of plasma membrane $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter in Cd^{2+} tolerance / G.M. Shen, Q.Z. Du, J.X. Wang // *Rice Sci.*, 2012. – Vol. 19, N 2. – P. 161–165. https://doi.org/10.1016/S1672-6308(12)60035-3.
- Identification of three distinct phylogenetic groups of CAX cation/proton antiporters / T. Shigaki, I. Rees, L. Nakhleh et al. // *J. Mol. Evol.*, 2006. – Vol. 63. – P. 815–825. doi: 10.1007/s00239-006-0048-4.
- Martinoia E. Vacuolar transporters and their essential role in plant metabolism / E. Martinoia, M. Maeshima, H.E. Neuhaus // *J. Exp. Bot.*, 2007. – Vol. 58, N 1. – P. 83–102. doi: 10.1093/jxb/erl183.
- Jiang D. Genome-wide RNAi screen identifies Letm1 as a mitochondrial $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter / D. Jiang, L. Zhao, D.E. Clapham // *Science*, 2009. – Vol. 326. – P. 144–147. doi: 10.1126/science.1175145.
- Morphogenesis of maize primary roots in relation to salinity and methure effect / N.A. Belyavskaya, T.A. Palladina, O.I. Zhuk et al. // *Agriculture. Scientific articles*, 2004. – Vol. 86, N 2. – P. 67–75.
- Вплив сольового і осмотичного стресів та Метіуру на фотосинтетичний апарат листків кукурудзи / Н.О. Білявська, Н.Ю. Волошина, Н.М. Топчий та ін. // *Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 2009. – Т. 3, № 18. – С. 35–42.
- Density gradient localization of plasma membrane and tonoplast from storage tissue of growing and dormant red beet: characterization of proton-transport and ATPase in tonoplast vesicles / R.J. Poole, D.P. Briskin, Z. Krátký et al. // *Plant Physiol.*, 1984. – Vol. 74, N 3. – P. 549–556. doi: 10.1104/pp.74.3.549.
- Briskin D.R. Isolation of the plasma membrane: Membrane markers and general principles / D.R. Briskin, R.T. Leonard, T.K. Hodges // *Meth. Enzymol.*, 1987. – Vol. 148. – P. 542–558.
- $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ exchange in the plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* leaves / J.L. Zhai, H.X. Xu, X.L. Cong et al. // *Acta Physiol. Plant.*, 2013. – Vol. 35. – P. 161–173. doi:10.1007/s11738-012-1059-y.
- Palmgren M.G. Acridine orange as a probe for measuring pH gradients across membranes: Mechanism and limitations / M.G. Palmgren // *Analytical biochemistry*. – 1991. – Vol. 192. – P. 316–321. doi: 10.1016/0003-2697(91)90542-2.
- Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. / M.M. Bradford // *Anal. Biochem.*, 1976. – Vol. 72, N 1-2. – P. 248–254. doi:10.1006/abio.1976.9999.

References (Scopus):

- De Falco TA, Bender KW, Snedden WA. Breaking the code: Ca^{2+} sensors in plant signalling. *Biochem. J.* 2010;425(1):27–40. PubMed PMID:20001960.
- Ranty B, Aldon D, Cotelle V, Galaud JP, Thuleau P, Mazars C. Calcium sensors as key hubs in plant responses to biotic and abiotic stresses. *Front Plant Sci.* 2016;7:327. PubMed PMID: 27014336.

3. González-Fontes A, Navarro-Gochicoa MT, Ceacero CJ, Herrera-Rodríguez MB, Camacho-Cristóbal JJ, Rexach J. Understanding calcium transport and signaling, and its use efficiency in vascular plants. In: Hossain MA, Kamiya T, Burritt DJ, Phan Tran L-S, Fujiwara T, editors. *Plant Macro-nutrient Use Efficiency: Molecular and Genomic Perspectives in Crop Plants*. San Diego: Academic Press; 2017. p. 165-180.
4. Bickerton PD, Pittman JK. Role of cation/proton exchangers in abiotic stress signaling and stress tolerance in plants. In: Girdhar K. Pandey, editor. *Elucidation of abiotic stress signaling in plants*. New York: Springer-Verlag; 2015. p. 95-117.
5. Qi BS, Li CG, Chen YM, Lu P-L, Hao FS, Shen GM, et al. Functional analysis of rice $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter OsCAX3 in yeast and its subcellular localization in plant. *Progress in Biochemistry and Biophysics*. 2005;32(9):876-882.
6. Shen GM, Du QZ, Wang JX. Involvement of plasma membrane $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter in Cd^{2+} tolerance. *Rice Sci*. 2012;19(2):161-165.
7. Shigaki T, Rees I, Nakhleh L, Hirschi KD. Identification of three distinct phylogenetic groups of CAX cation/proton antiporters. *J Mol Evol*. 2006;63(6):815-825. PubMed PMID: 17086450.
8. Martinoia E, Maeshima M, Neuhaus HE. Vacuolar transporters and their essential role in plant metabolism. *J Exp Bot*. 2007;58(1): 83-102. PubMed PMID: 17110589.
9. Jiang D, Zhao L, Clapham DE. Genome-wide RNAi screen identifies Letm1 as a mitochondrial $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter. *Science*. 2009;326(5949):144-147. PubMed PMID: 19797662.
10. Bilyavska NO, Voloshina NY, Topchiy NM, Konturskaya OO, Palladina TO Influence of salt and osmotic stresses and Methyure on the photosynthetic apparatus of corn leaves. *Bisn. Kharkiv. national. agrarian. un-ty. Ser. Biology*. 2009; 3 (18). 35-42. Ukrainian.
11. Belyavskaya NA, Palladina TA, Zhuk OI, Kurilenko IN. Morphogenesis of maize primary roots in relation to salinity and methyure effect. *Agriculture. Scientific articles*. 2004; 86(2):67-75.
12. Poole RJ, Briskin DP, Krátký Z, Johnstone RM. Density gradient localization of plasma membrane and tonoplast from storage tissue of growing and dormant red beet: characterization of proton-transport and ATPase in tonoplast vesicles. *Plant Physiol*. 1984;74(3):549-556. PubMed PMID: 16663459.
13. Briskin DR, Leonard RT, Hodges TK. Isolation of the plasma membrane: Membrane markers and general principles. *Meth Enzymol*. 1987;148:542-558.
14. Zhai JL, Xu HX, Cong XL, Deng YC, Xia ZH, Huang X, et al. $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ exchange in the plasma membrane of Arabidopsis thaliana leaves. *Acta Physiol. Plant*. 2013;35(1):161-173.
15. Palmgren MG. Acridine orange as a probe for measuring pH gradients across membranes: Mechanism and limitations. *Analytical biochemistry*. 1991;192(2):316-321. PubMed PMID: 1827963.
16. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72(1-2):248-254. PubMed PMID: 942051.

Надійшла до редколегії 07.10.19

Отримано виправлений варіант 08.11.19

Підписано до друку 08.11.19

Received in the editorial 07.10.19

Received revised version on 08.11.19

Signed in the press on 08.11.19

M. Рудницькая, асп., Т. Палладина, д-р биол. наук, проф.
 Інститут ботаніки імені Н. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ МЕТИУРА И ИВИНА НА ВАКУОЛЯРНУЮ $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ АНТИПОРТЕР КЛЕТОК КОРЕНЯ ZEA MAYS L. В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА

Поскольку кальций играет важную роль в регуляции процессов роста и развития растительного организма, а также формировании специфической физиологической реакции на действие различных стрессовых факторов, выполняя функцию вторичного мессенджера, целью работы было изучить влияние гетероциклических препаратов Метиур и Ивин на $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортер в вакуолях клеток корня Zea mays L. в условиях солевого стресса. Для этого корни проростков кукурузы гибрида Остреч СВ экспонировали в присутствии 0,1 М хлорида натрия в течение 1 и 10 суток. Вакуолярные мембраны получали из гомогената корней кукурузы путем центрифугирования в ступенчатом градиенте сахарозы. Активность $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ антипортера оценивали по выходу протонов с везикул при добавлении ионов кальция в инкубационную среду, выражая в $\Delta F\%$ на мг протеина в минуту. Установлено, что при контролируемых условиях гетероциклические препараты Метиур и Ивин не влияют на активность $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера в вакуолярных мембранах корня кукурузы и существенно не способствуют развитию стресс-реакции у растений. Вместе с тем, в условиях солевой экспозиции проростков кукурузы было обнаружено противоположно направленное влияние препаратов Метиур и Ивин на активность $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера в мембранах вакуолей корня. Так, в условиях длительной солевой экспозиции Метиур повышает активность $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера в вакуолярной мембране корня, а Ивин, наоборот, снижает ее, что может быть связано с химическим составом этих гетероциклических препаратов. Полученные результаты указывают на то, что солепротекторное действие гетероциклического препарата Метиур может быть обусловлено также и его влиянием на функциональную активность $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортера в вакуолярной мембране корня кукурузы.

Ключевые слова: $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортер, вакуолярная мембрана, корень, кукуруза, засоления, Метиур, Ивин.

M. Rudnytska, Ph. D., stud., T. Palladina, Dr. Sci., Prof.
 M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

INFLUENCE OF METHYURE AND IVIN PREPARATIONS ON VACUOLAR $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ ANTIPORTER OF ZEA MAYS L. ROOT CELLS UNDER SALT STRESS

Because calcium plays an important role in the regulation of growth and development processes in plant organism as well as the formation of a specific physiological response to the action of various stressors, acting as a secondary messenger, the purpose of the study was to study the effect of heterocyclic drugs Methyure and Ivin of root cells Zea mays L. under salt stress. The roots of maize hybrids of Ostrich CB were exposed in the presence of 0.1 M sodium chloride for 1 and 10 days. Vacuolar membranes were obtained from corn root homogenate by centrifugation in a sucrose step gradient. The activity of the $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -antiporter was evaluated by the proton release from vesicles by adding calcium ions to the incubation medium, expressing $\Delta F\%$ per mg of protein per minute. Under control conditions, heterocyclic drugs Methyure and Ivin do not affect the activity of $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -antiporter in the vacuolar membranes of corn roots and do not significantly contribute to the development of stress response in plants. At the same time, under the conditions of salt exposure of maize seedlings the opposite directed effect of Methyure and Ivin on the activity of $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -antiporter in the membranes of root vacuoles was revealed. Thus, under prolonged salt exposure, Methyure increases the activity of $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -antiporter in the vacuolar membrane of the root and, on the contrary, Ivin reduces it, which may be due to the differences in chemical composition of these heterocyclic drugs. The results, that were obtained, indicate that the salt-protective effect of the heterocyclic drug Methyure may also be due to its effect on the functional activity of the $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -antiporter in the vacuolar membrane of corn root.

Keywords: $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -antiporter, vacuolar membrane, root, corn, salinization, Methyure, Ivin.

УДК: 617. – 089.843

Я.-М. Семенова, мол. наук. співроб.,
І. Нікольський, д-р мед. наук, проф.
ДУ "Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України", Київ, Україна,
Л. Остапченко, д-р біол. наук, проф.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ПРИГНІЧЕННЯ ФОРМУВАННЯ ШЛУНКОВИХ ВИРАЗОК ПРИ ІМОБІЛІЗАЦІЙНОМУ ВОДОІМЕРСІЙНОМУ СТРЕСІ ПОПЕРЕДНЬОЮ ТРАНСПЛАНТАЦІЄЮ МУЛЬТИПОТЕНТНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН

Розглянуто вплив попередньої трансплантації мультипотентних стромальних клітин (МСК) кісткового мозку на шлункове виразкоутворення і стан імунної системи в умовах гострого та пролонгованого стресу. У щурів лінії Вістар було відтворено імобілізаційний водоімерсійний стрес 2 типів: гострий та пролонгований. Досліджено кількість і площу стресових виразок, показники тимусу і селезінки, а також гематологічні показники, проліферативну і цитотоксичну активність мононуклеарів периферичної крові, спленоцитів і клітин лімфатичних вузлів, визначено поглинання клітин нормалізувалась, за виключенням лімфоцитів. При пролонгованому стресі в результаті трансплантації МСК значно зменшувалась кількість і площа виразок, що свідчить про адаптивну протекторну дію клітин. При гострому стресі введення МСК майже не впливало на виразкоутворення. При пролонгованому стресі спостерігалось зниження клітинності тимусу, селезінки та збільшення кількості лейкоцитів у крові. Під впливом трансплантованих МСК кількість всіх мобілізованих клітин нормалізувалась, за виключенням лімфоцитів. Природна цитотоксичність і проліферативна активність спленоцитів, клітин лімфатичних вузлів і периферичної крові при гострому та пролонгованому стресі у результаті введення МСК суттєво не змінювалась. У результаті введення МСК кісткового мозку за 24 год до останнього відтворення стресових реакцій у моделі пролонгованого стресу значно зменшувалась кількість та площа виразок, що в цілому свідчить про антивиразкову дію клітин, і нормалізувались викликані стресом кількісні клітинні зміни в імунній системі. Трансплантація МСК кісткового мозку щурів перед відтворенням у них стресу підсилює адаптаційні антистресові механізми, які розвиваються при пролонгованому стресі, що призводить до пригнічення шлункового виразкоутворення і суттєво змінює показники активності імунної системи. Можна припустити, що одним із механізмів дії на організм МСК є сприяння формування адаптаційних реакцій.

Ключові слова: водоімерсійний холодний стрес, імунна система, мультипотентні стромальні клітини, трансплантація.

Вступ. Виразкова хвороба є однією із найбільш розповсюджених і важких. Окремі її види мають різну етіологію і патогенез, що обґрунтовує селективний підхід до терапії. У цьому аспекті треба мати на увазі, що з часів виходу у світ робіт Г. Сельє формування виразок у шлунку вважається одним із класичних проявів розгортання стресових реакцій. Серед останніх важливе значення має не тільки сила діючого фактору, а і частота, кратність і тривалість впливу іноді з пролонгацією реакції і формуванням хронічного стресового процесу. Але роль у виразкоутворенні гострого або пролонгованого (що часто визначається як хронічний) стресів ще не зовсім зрозуміла. З іншого боку, стресові фактори позначаються не лише на стані слизової оболонки шлунку, а часто є супутнім фактором формування багатьох видів патологій, у тому числі імунопатологій [1]. Тому, вивчення особливостей стресу по імунологічним параметрам одночасно з дослідженням виразкоутворення може поглибити уявлення про механізми переходу фізіологічної стресової реакції в процес виникнення патологічних змін у слизовій оболонці шлунку.

Останнім часом з метою корекції різних видів патологій використовують мультипотентні стромальні клітини (МСК), які володіють регенеративними і імунобіологічними властивостями, мають високу проліферативну активність [9, 17]. Особливе місце займає клітинна терапія, заснована на трансплантації МСК кісткового мозку, властивості яких вивчені краще, ніж МСК іншого тканинного походження. Але вплив цих клітин на розвиток стресу і окремих класичних імунологічних його проявів, що виникають одночасно зі шлунковим виразкоутворенням практично не вивчений.

Метою роботи було дослідження впливу попередньої до відтворення стресу трансплантації МСК кісткового мозку на шлункове виразкоутворення і стан імунної системи в умовах гострого та пролонгованого стресів.

Матеріали та методи. Досліди проведені на самцях щурів лінії Вістар масою 220–260 г з розплідника Інституту патології, онкології та радіобіології

ім. Р.Є. Кавецького НАН України, які перебували в стандартних умовах віварію. Усі маніпуляції та виведення тварин з експерименту проводили з дотриманням вимог статті 26 Закону України "Про захист тварин від жорстокого поводження" (від 21.02.2006 р.) та "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою" (Страсбург, 1986). Під час проведення експерименту тварини отримували збалансоване харчування та мали вільний доступ до води.

Для трансплантації використовували МСК кісткового мозку щурів лінії Вістар другого пасажу, тому що на ранніх термінах культивування МСК вважаються більш генетично безпечними та стабільними, зберігають ідентичність і мають високу клонування активність [13, 16], а при тривалому культивуванні в клітинах виявляються хромосомні аномалії [18, 23].

МСК отримували із стегнової кістки методом механічної дезагрегації строми кісткового мозку. Адрезуючи до пластику фракцію клітин, культивували при 37°C та 5 % атмосфері CO₂ та пересівали до 2 пасажу (поживне середовище DMEM/F12, 10 % ембріональної телячої сироватки, 4 нг/мл основного фактору росту фібробластів, 0,5 мг/мл L-глутаміну, 1 мкг/мл фунгізону, 50 мкг/мл гентаміцину). Враховуючи, що для постановки експерименту потрібна достатня кількість клітин, отримували пул МСК 2-го пасажу, накопичували і зберігали кріоконсервуванням, використовуючи програмний заморожувач "KRYO 560 16" ("Planer", Велика Британія). Клітини заморожували в три етапи: перший етап – від кімнатної температури до (-3,5 ± 0,5)°C зі швидкістю охолодження (1 ± 0,5) град/хв; другий етап – швидкість охолодження (0,4 ± 0,1) град/хв до температури -9°C; третій етап – до температури -80°C зі швидкістю охолодження 10 град/хв. Потім пробірки з клітинами занурювали у рідкий азот. Зразки розморожували безпосередньо перед застосуванням при температурі (40 ± 0,5)°C до появи в кріопробірці рідкої фази. Після повного розморожування клітини відмивали від кріопротектора шляхом

центрифугування при 250 g протягом 5 хв із подальшим ресуспендуванням у живильному середовищі.

Експериментальне виразкоутворення у шлунку піддослідних тварин викликали методом імобілізаційного водоімерсійного стресу. Згідно з даною моделлю, імобілізованих тварин витримували 3 години у воді (23°C), що доходила до рівня мечоподібного відростка. Стрес відтворювали у двох варіантах: гострий та пролонгований стрес. Для отримання гострого стресу реакцію відтворювали одноразово. Для отримання пролонгованого стресу щурів стресували тричі з інтервалом у 24 год у перші три дні, потім через 96 год ще раз відтворювали стрес. Розморожені МСК кісткового мозку (4×10^6 в 0,2 мл середовища DMEM/F12) вводили у хвостову вену за 24 год до гострого стресу або останнього відтворення стресу при моделюванні пролонгованого стресу.

Було сформовано п'ять експериментальних груп тварин: I – контрольні (інтактні) щури (n=14), II – щури, яким відтворювали гострий стрес (n=11), III – щури, яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали гострий стрес (n=8), IV – щури, яким відтворювали пролонгований стрес (n=6), V – щури, яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали пролонгований стрес (n=6).

Експериментальні дослідження здійснювали відразу після припинення дії стресових факторів. Розмір виразок (середній діаметр) в шлунках вимірювали за допомогою бінокулярної лупи з окуляр-мікрометром, визначаючи кількість та сумарну площу виразок в мм² згідно з формулою $S = \frac{\pi d^2}{4}$.

Визначали абсолютну і відносну масу тимусу і селезінки, кількість тимоцитів і спленоцитів, клітинність (кількість клітин в 1 мг органу) тимусу і селезінки, а також кількість клітин кісткового мозку. Кількість лейкоцитів, лімфоцитів, гранулоцитів, еритроцитів, тром-

боцитів, концентрацію гемоглобіну в периферичній крові визначали на автоматичному гематологічному аналізаторі PARTICLE COUNTER (модель PCE-210) (ERMA INC, Японія). Вивчення проліферативної активності мононуклеарів периферичної крові, спленоцитів, клітин лімфатичних вузлів і природної цитотоксичності здійснювали МТТ-методом. Визначали також здатність нейтрофілів поглинати інактивовані клітини *Staphylococcus aureus*. Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики за допомогою програм Excell (MS Office XP) та Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.). Для визначення відмінностей між досліджуваними групами використовували непараметричний критерій Мана-Уїтні (U). Дані представлені у вигляді медіани (Median) з нижнім і верхнім кватилими (25–75 %). При інтерпретації результатів критичною величиною рівня значущості вважали $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У контрольних щурів патології слизової оболонки шлунку виявлено не було. Візуальне дослідження слизової оболонки шлунку одразу після стресу виявило умовно дві форми виразкових уражень у дослідних тварин: перша – малі виразки (площею менше 0,5 мм²), друга – великі виразки (площею більше 4 мм²) та меншою кількістю малих виразок.

Кількість виразок (рис. 1А) та їх площа (рис. 1Б) при гострому і пролонгованому стресі достовірно не відрізнялися. Кількість виразок у тварин з гострим стресом практично не змінювалась і в результаті введення МСК. Проте у щурів, які отримували МСК при пролонгованому стресі кількість уражень достовірно зменшувалась. Так саме значно зменшувалась при пролонгованому стресі і площа виразок. Таким чином, при пролонгованому стресі зростала чутливість процесу виразкоутворення до дії попередньо трансплантованих МСК, що проявлялось зменшенням кількості виразок і їх площі.

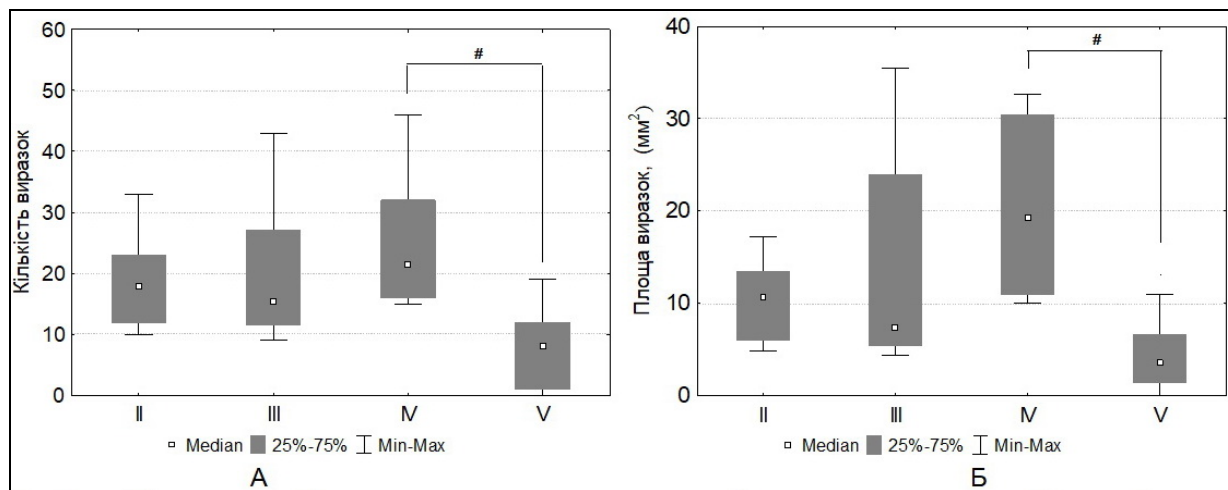


Рис 1. Кількість (А) та площа (Б) виразкових уражень шлунку щурів при експериментальній виразці, отриманій за допомогою імобілізаційної водоімерсійної моделі стресу

Групи: II – щури яким відтворювали гострий стрес, III – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали гострий стрес, IV – щури яким відтворювали пролонгований стрес, V – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали пролонгований стрес. # – $p < 0,05$ між групами.

Відомо, що трансплантовані МСК здатні мігрувати у вогнища запалення і здійснювати регенеративну дію.

Але такий механізм не може здійснюватися в умовах нашого експерименту, оскільки МСК трансплантуються, коли виразки ще відсутні. Можна припустити, що головну роль МСК відіграють, впливаючи на системні механізми. Гіперкатехолемія викликає адренергічну вазоконстрикцію і ішемію артерійол м'язової оболонки шлунку, що веде до виникнення виразко-геморагічних ушкоджень [19]. Помітну роль відіграють холінергічні механізми. На моделі водоімерсійного стресу встановлено,

що кількість стресових виразок суттєво знижується завдяки нейрональним (введення холінолітика метацина за 30 хв до відтворення стресу) і ненеурональним ефектам (введення метацину за 14 діб до початку стресу). Причому, зміни корелювали з активністю імунної системи. При ефективній профілактиці метацином антитілогенез і рівень кортикостерона у сироватці крові наближались до базального рівня. Не ефективна профілактика сприяла підвищенню активності В-лімфоцитів і синтезу глюкокортикоїдів [2]. Між тим, є дані про захисну роль глюкокортикоїдів, які підвищуються у кількості у відповідь на гострий стрес [11]. Гастропротекторну дію має сповільнення процесів перекисного окислення ліпідів і посилення активності антиоксидантної системи організму [6, 7]. Проведений при водоімерсійному стресі протеомний аналіз клітин показав зміни активності 26 білків; 13 із них були значно активовані, включаючи піруваткіназу і кальретікулін, які тісно пов'язані з енергетичним обміном. Активність 12 білків була значно зниженою, в тому числі тих, які важливі для білкового обміну і загибелі клітин [24].

У патогенезі виразкоутворення суттєву роль відіграють запальні захворювання кишківника, у розвитку яких велику роль відіграє імунна система. До теперішнього часу вважалося, що основне значення мають Т-хелпери 2 типу (Th2). Але наразі провідна роль відводиться Th17 і прозапальним цитокінам, які ними сек-

ретуються – IL4, IL17A, IL21, IL22 [4]. МСК2 значно пригнічують ці процеси.

На моделях опромінених тварин достатньо переконливо показано, що трансплантація МСК забезпечує швидке відновлення тонкого кишківника з регенерацією епітелію слизової оболонки і підвищує виживаність мишей. При цьому відбувається стимуляція ендогенної проліферації і пригнічення апоптозу епітелію [10, 15, 21, 22].

Отримані дані також свідчать, що МСК ефективно стимулюють регенерацію імунної системи. На рисунку 2 наведені результати дослідження відносної маси та кількості клітин у тимусі і селезінці. Після гострого стресу у тварин спостерігалось достовірне збільшення відносної маси тимусу (рис. 2А), ймовірно, за рахунок судинного стазу і тканинного набряку [19], що підтверджувалось зменшенням клітинності (рис. 2Б), і що узгоджується з відомою чутливістю тимоцитів до глюкокортикоїдів і здатністю до міграції на периферію при стресі [5, 12]. Попереднє введення МСК при гострому стресі не впливало на клітинність тимусу, але призводило до зменшення маси органу. Зміни цих показників можуть свідчити про ефективний вплив трансплантованих МСК на мікроциркуляцію внаслідок протизапальної дії МСК та регуляції процесів міграції і апоптозу тимоцитів [3]. При пролонгованому стресі спостерігалось значне зниження клітинності тимусу, як і при гострому стресі. Введення МСК нормалізувало ці показники щодо контролю.

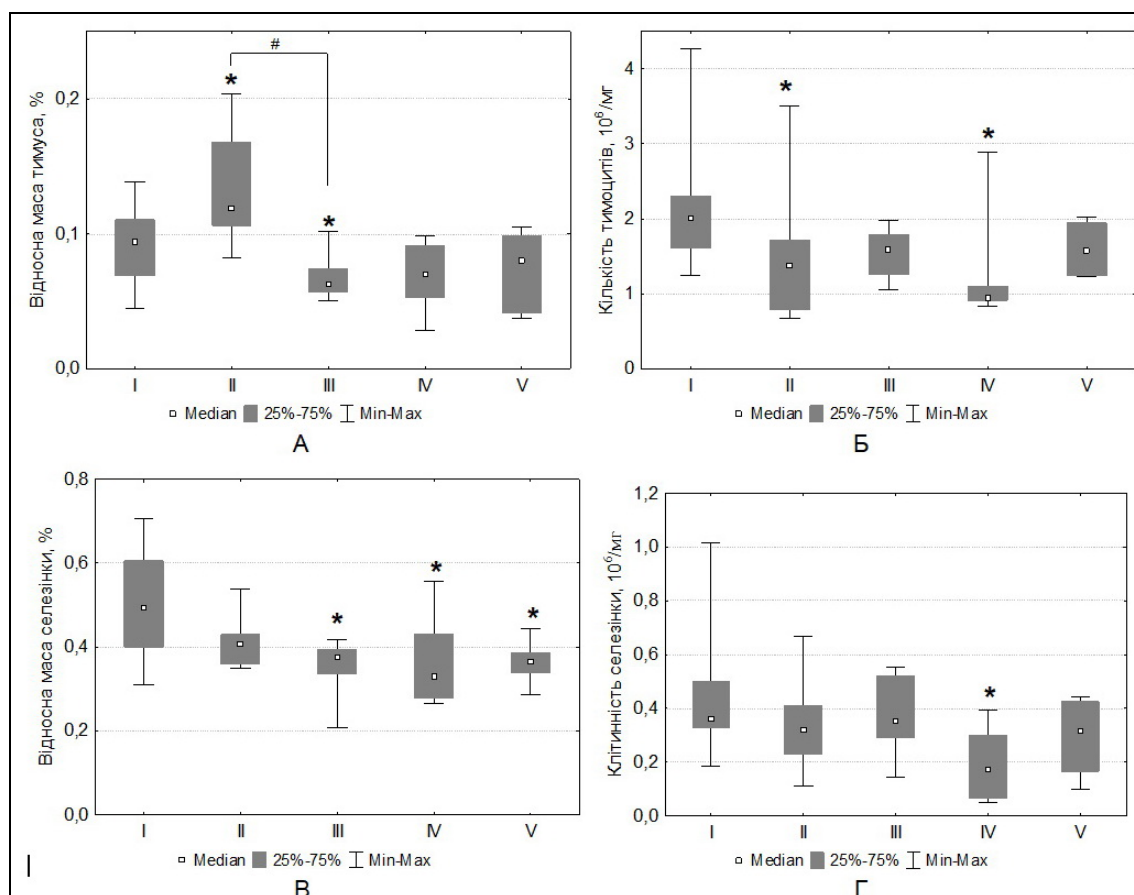


Рис 2. Показники тимусу та селезінки стресованих щурів: А – відносна маса тимусу; Б – клітинність тимусу; В – відносна маса селезінки; Г – клітинність селезінки

Групи: I (контрольна) – нормальні щури, II – щури яким відтворювали гострий стрес, III – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали гострий стрес, IV – щури яким відтворювали пролонгований стрес,

V – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали пролонгований стрес. * – $p < 0,05$ порівняно з групою контрольних тварин; # – $p < 0,05$ між групами.

Відносна маса селезінки (рис. 2В) у стресованих щурів достовірно зменшувалась майже у всіх групах. Введення МСК практично не впливало на ці показники. Після пролонгованого стресу суттєво знижувалась клітинність селезінки (рис. 2Г). А при введенні МСК вона вже достовірно не відрізнялася від контролю. Таким чином, і при гострому, і при пролонгованому стресі МСК нормалізували клітинність і тимусу і селезінки, а при гострому стресі діяли у сторону нормалізації відносної маси тимусу.

У периферичній крові тварин з пролонгованим стресом спостерігався характерний для стресу лейко-

цитоз (рис. 3А) і лімфоцитоз (рис. 3Б), а підвищена кількість великих грануловмісних лімфоцитів (ВГЛ) (рис. 3В) була і після гострого, і після пролонгованого стресу, що свідчить про більшу участь пролонгованого стресу у перерозподілі лейкоцитів в цілому. Під впливом МСК нормалізувалась кількість всіх типів лейкоцитів, за виключенням лімфоцитів, вміст яких знижувався, але залишався достовірно вищим за такий у контрольних тварин. Вміст ВГЛ повертався до норми під впливом МСК і при гострому, і при пролонгованому стресі. Таким чином, претрансплантація МСК значно нівелювала стресові порушення в імунній системі.

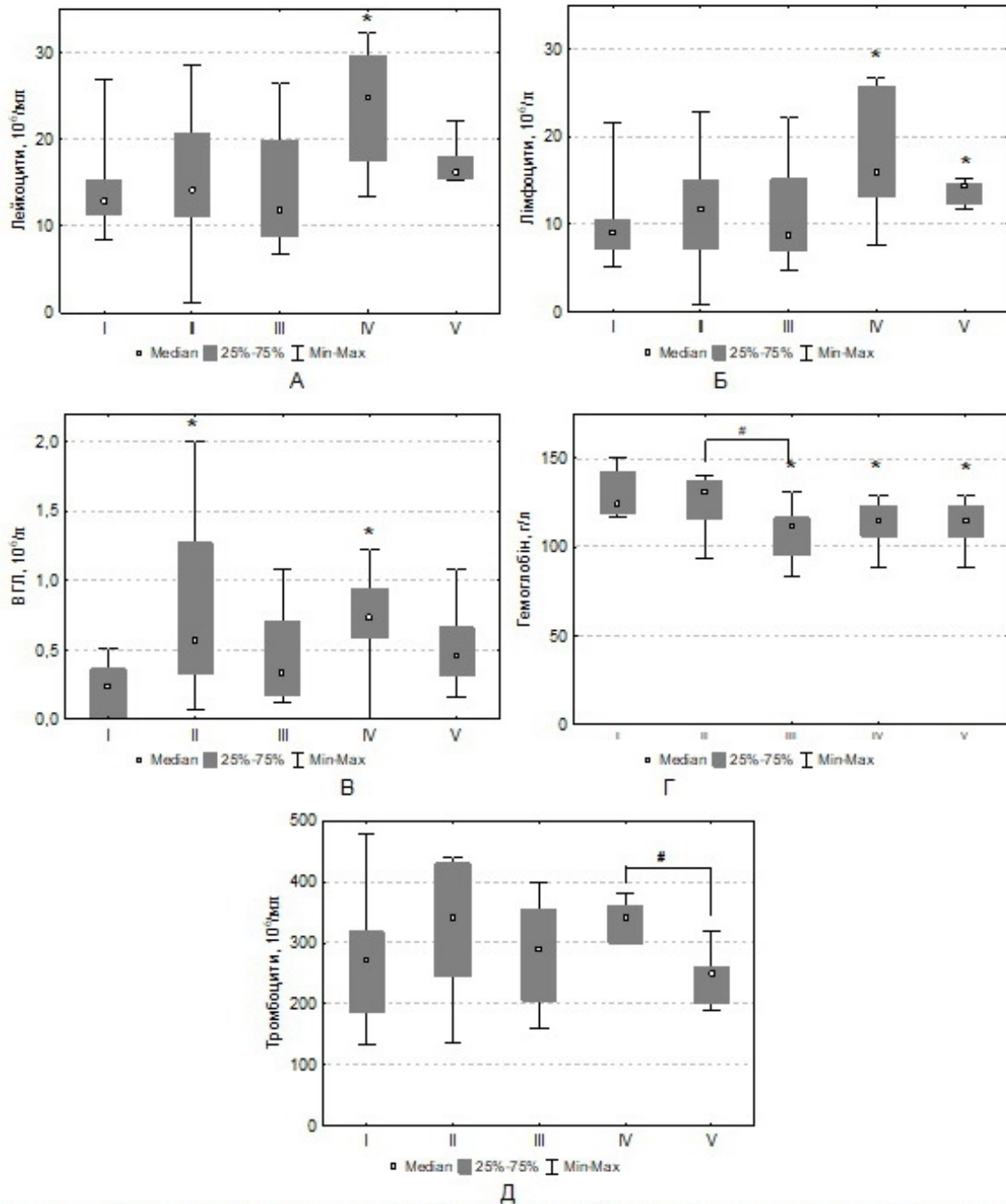


Рис 3. Кількість лейкоцитів (А), лімфоцитів (Б), ВГЛ (В), гемоглобіну (Г) і тромбоцитів (Д) у стресованих щурів

Групи: I (контрольна) – нормальні щури, II – щури яким відтворювали гострий стрес, III – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали гострий стрес,

IV – щури яким відтворювали пролонгований стрес, V – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворю-

вали пролонгований стрес. * – $p < 0,05$ порівняно з групою контрольних тварин; # – $p < 0,05$ між групами.

Кількість гемоглобіну (рис. 3Г) значно знижувалась у щурів після пролонгованого стресу, і залишалась на такому рівні після введення МСК. При гострому стресі рівень гемоглобіну не знижувався, а після трансплантації МСК відбувалося зменшення його кількості. Таким чином, МСК негативно впливає на вміст еритроцитів і при гострому, і при пролонгованому стресі. При пролонгованому стресі за трансплантації МСК, значно знижувалась кількість у крові тромбоцитів (рис. 3Д). Із даних літератури відомо, що при хронічному стресі з підвищеною кількістю катехоламінів пригнічення еритроїдного кровотворення відбувається не дивлячись на підвищений рівень еритропоетину [8, 20]. При травматичному стресі пригнічується утворення еритроцитарних бурс-формуючих одиниць і гранулоцитарно-моноцитарних колонієутворюючих одиниць опосередковане продукцією стромальними клітинами кісткового мозку TGF-beta1. Пов'язане із стресом порушення ери-

тропоезу, так званий стресовий еритропоез може бути визваний активацією дендритних клітин 1-го типу [14]. Є дані про пригнічення еритропоезу при стресі підвищеною кількістю адреналіну [20].

Імунологічні дослідження показали, що природна цитотоксичність мононуклеарів периферичної крові, спленоцитів і клітин лімфатичних вузлів при гострому та пролонгованому стресі після введення МСК суттєво не змінювалась. Лише при гострому стресі показник цитотоксичності спленоцитів виявився достовірно нижчим, ніж у контрольних тварин. Трансплантація МСК не впливала суттєво на активність клітин із усіх лімфоїдних органів.

Проліферативна активність мононуклеарів периферичної крові (рис. 4А), спленоцитів і клітин лімфатичних вузлів в контрольній групі і в групах при різних видах стресу практично не відрізнялась. Але вона була суттєво нижчою при гострому стресі у групі з введенням МСК, які, таким чином, спричиняли відому і притаманну цим клітинам антипроліферативну дію [9].

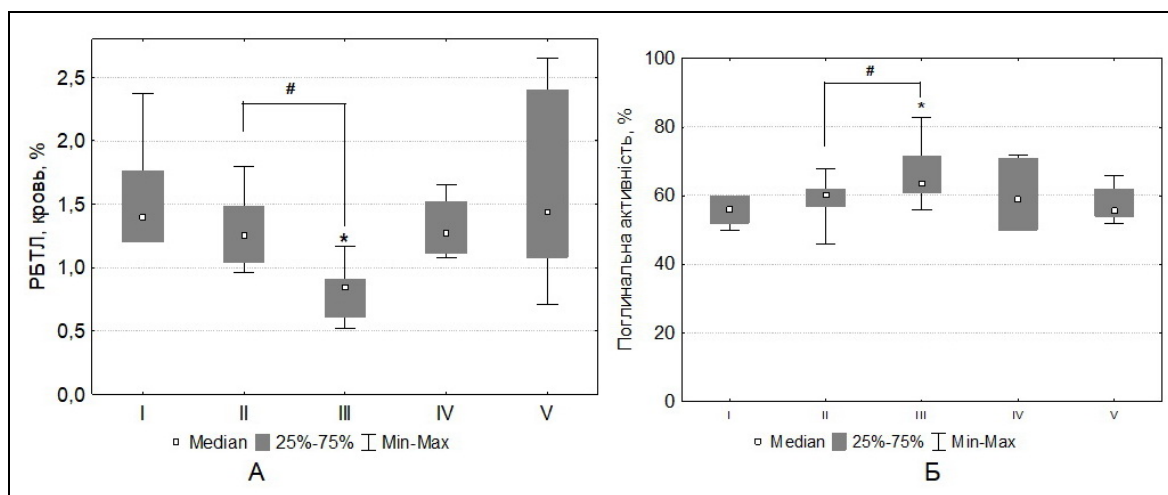


Рис. 4. Проліферативна активність лімфоцитів периферичної крові (А), та поглинальна активність нейтрофілів (Б) стресованих щурів

Групи: I (контрольна) – нормальні щури, II – щури яким відтворювали гострий стрес, III – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали гострий стрес, IV – щури яким відтворювали пролонгований стрес, V – щури яким вводили МСК кісткового мозку і відтворювали пролонгований стрес. * – $p < 0,05$ порівняно з групою контрольних тварин; # – $p < 0,05$ між групами.

Поглиняльна активність нейтрофілів крові значно підвищувалась тільки після гострого стресу і трансплантації МСК (рис. 4Б).

Слід зазначити, що дія на організм гострого і пролонгованого стресів суттєво відрізнялась по розвитку виразкоутворення, змін відносної маси тимусу, клітинності тимусу і селезінки, вираженості лейкоцитозу, лімфоцитозу, кількості гемоглобіну і тромбоцитів. Найбільш виражені зміни спостерігались при пролонгованому стресі. Трансплантація МСК в більшій мірі впливала на вищезазначені показники при пролонгованому стресі в сторону їх нормалізації до рівня у контрольних тварин.

При пролонгованому стресі в результаті трансплантації МСК значно зменшувалась кількість і площа виразок, що свідчить про адаптивну протекторну дію клітин.

При гострому стресі введення МСК практично не впливало на виразкоутворення, що свідчить про більшу ефективність протекторної дії МСК, якщо вони поєднуються з адаптогенною дією пролонгованого стресу. При гострому стресі збільшувалась відносна вага тимусу і знижувалась його клітинність. При пролонгованому стресі відносна вага тимусу знижувалась не суттєво, і також знижувалась клітинність органу. При гострому стресі введені МСК нормалізували відносну масу і клітинність тимусу, а при пролонгованому стресі суттєво сприяли підвищенню клітинності тимусу. В усіх групах відносна вага селезінки зменшувалась. Клітинність селезінки найбільше і суттєво зменшувалась при пролонгованому стресі, а при введенні таким тваринам МСК відбулось значне збільшення показника, що свідчить про регенеративну дію попередньо введених МСК.

Отримані дані свідчать про регенеративну дію МСК при стресі. На відміну від гострого стресу, при пролонгованому стресі спостерігався виражений лейкоцитоз та лімфоцитоз. ВГЛ-цитоз був і при гострому і при пролонгованому стресі. Під впливом трансплантованих МСК кількість всіх мобілізованих клітин нормалізувалась, за виключенням лімфоцитів, кількість яких

продовжувала значно перевищувати рівень контрольних тварин. Вміст ВГЛ повертався до норми і при гострому, і при пролонгованому стресі. При пролонгованому стресі зменшувалася кількість гемоглобіну, а після трансплантації МСК вона знижувалась при гострому стресі. При пролонгованому стресі трансплантація МСК призводила до значного зниження кількості тромбоцитів, що свідчить про ефективний вплив МСК на різні ростки кровотворення при стресі.

Висновки

Трансплантація МСК кісткового мозку щурам перед відтворенням у них стресу підсилює адаптаційні анти-стресові механізми, які розвиваються при пролонгованому стресі, що призводить до пригнічення шлункового виразкоутворення і суттєво змінює показники активності імунної системи. Можна припустити, що одним із механізмів дії на організм МСК є сприяння формування адаптаційних реакцій.

Список використаних джерел:

- Особливості лейкоцитарної формули крові щурів за умов стрес-індукованих ерозивно-виразкових уражень шлунка та профілактичного введення меланіну / Д.В. Голишкін, Т.М. Фалалеева, Н.В. Чижанська та ін. // Укр. антарктичний журн., 2015. – № 14. – С. 180–184.
- Нежинская Г.И. Нейрональные эффекты мускаринового антагониста в профилактике стресса / Д.В. Голишкін, Т.М. Фалалеева, Н.В. Чижанська та ін. // Эксперимент. и клиническая фармакология, 2008. – Т. 71, № 3. – С. 46–48.
- Структурно-функциональная организация костномозговых ниш гемопоэтических стволовых клеток / Д.В. Голишкін, Т.М. Фалалеева, Н.В. Чижанська та ін. // Клітинна та органна трансплантологія, 2016. – Т. 4, № 1. – С. 82–100.
- Скорородкина О.В. Роль цитокинов CD4+ лимфоцитов в патогенезе иммунного воспаления при язвенном колите / О.В. Скорородкина, О.Р. Валеева // Рос. аллергологич. журн., 2018. – Т. 15, № 1-2. – С. 103–105.
- Чеботарев В.Ф. Эндокринная регуляция иммуногенеза / В.Ф. Чеботарев. – К., 1979.
- The gastroprotective action of acidic mineral water from the Azhyg-Sug source on the stress-induced injuries to the stomach of white rats / K.D. Arakchaa, S.M. Salchak, Y.G. Razuvaeva et al. // Vopr. Kurortol. Fizioter. Lech. Fiz. Kult., 2019. – Vol. 96, N 2. – P. 54–60.
- Collagen Hydrolysis Products Reduce the Formation of Stress-Induced Ulcers by Regulating Stress-Associated Activation of the Neuroendocrine and Immune Systems / Z.V. Bakaeva, N.V. Ermakova, O.V. Mankaeva et al. // Bull Exp Biol Med., 2018. – Vol. 165, N 4. – P. 449–452.
- Chronic restraint stress after injury and shock is associated with persistent anemia despite prolonged elevation in erythropoietin levels / L.E. Bible, L.V. Pasupuleti, A.V. Gore et al. // J. Trauma Acute Care Surg., 2015. – Vol. 79, N 1. – P. 91–96.
- Immune Modulation by Mesenchymal Stem Cells / F. Bifari, V. Lisi, E. Mimiola et al. // Transfus. Med. Hemother., 2008. – Vol. 35, N 3. – P. 194–204.
- Multi-therapeutic effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells on radiation-induced intestinal injury / P. Chang, Y. Qu, Y. Liu et al. // Cell Death Dis., 2013. – N 4. – e685. doi: 10.1038/cddis.2013.178.
- Gastroprotective role of glucocorticoid hormones / L. Filaretova, T. Podvigina, T. Bagaeva et al. // J. Pharmacol. Sci., 2007. – Vol. 104, N 3. – P. 195–201.
- Effect of cold stress on immunity in rats / G.Z. Hu, S.J. Yang, W.X. Hu et al. // Exp. Ther. Med., 2016. – Vol. 11, N 1. – P. 33–42.
- Hao H., Chen G., Liu J. et al. Culturing on Wharton's jelly extract delays mesenchymal stem cell senescence through p53 and p16INK4a/pRb pathways / H. Hao, G. Chen, J. Liu et al. // PLoS One, 2013. – Vol. 8, N 3. – e58314. doi: 10.1371.
- Stress-associated erythropoiesis initiation is regulated by type 1 conventional dendritic cells / T.S. Kim, M. Hanak, P.C. Tramont, T.J. Braciale // J. Clin. Invest., 2015. – Vol. 125, N 10. – P. 3965–3980.
- Transplantation of mesenchymal stem cells to prevent radiation-induced intestinal injury in mice / K. Kudo, Y. Liu, K. Takahashi et al. // J. Radiat. Res., 2010. – Vol. 51, N 1. – P. 73–79.
- Identity, proliferation capacity, genomic stability and novel senescence markers of mesenchymal stem cells iso-lated from low volume of human bone marrow / G. Kundrotas, E. Gasperskaja, G. Slapsyte et al. // Oncotarget., 2016. – Vol. 7, N 10. – P. 10788–10802. doi: 10.18632/oncotarget.7456.
- Le Blanc K. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system / K. Le Blanc, D. Mougiakakos // Nat. Rev. Immunol., 2012. – Vol. 12, N 5. – P. 383–396.

- Clonal chromosomal and genomic instability during human multipotent mesenchymal stromal cells long-term culture / V. Nikitina, T. Astrelina, V. Nugis et al. // PLoS One, 2018. – Vol. 13, N 2. – e0192445. doi: 10.1371.
- Effects of tofisopam on the physiological changes induced by stress loading and hypothalamic stimulation / H. Ohnishi, C. Ito, K. Suzuki et al. // Nihon. Yakurigaku Zasshi., 1981. – Vol. 78, N 3. – P. 139–144.
- Dose-response relationship between norepinephrine and erythropoiesis: evidence for a critical threshold / A. Penn, A.M. Mohr, S.G. Shah et al. // J. Surg. Res., 2010. – Vol. 163, N 2. – e85–90. doi: 10.1016/j.jss.2010.03.051.
- Bone marrow stromal cell transplantation mitigates radiation-induced gastrointestinal syndrome in mice / S. Saha, P. Bhanja, R. Kabariti et al. // PLoS. One, 2011. – Vol. 6, N 9. – e24072. doi: 10.1371/journal.pone.0024072.
- Mesenchymal stem cells increase self-renewal of small intestinal epithelium and accelerate structural recovery after radiation injury / A. Sémont, S. François, M. Mouisseddine et al. // Adv Exp Med Biol., 2006. – Vol. 585. – P. 19–30.
- Long-term cultured mesenchymal stem cells frequently develop genomic mutations but do not undergo malignant transformation / Y. Wang, Z. Zhang, Y. Chi et al. // Cellio Death Dis., 2013. – Vol. 4. – e950. doi: 10.1038/cddis.2013.480.
- Comparative proteomic analysis of rats subjected to water immersion and restraint stress as an insight into gastric ulcers / Z.R. Zhou, P. Huang, G.H. Song et al. // Mol Med Rep., 2017. – Vol. 16, N 4. – P. 5425–5433.

References (Scopus):

- Golyshkin DV, Falalyeyeva TM, Chyzhanska NV, Beregova TV, Ostapchenko LI. White blood count of rats under stress-induced stomach lesions and the prophylactic administration of melanin. Ukrainian Antarctic Journal. 2015;14:180–4.
- Nezhinskaya GI, Vadykin AL, Sapronov NS. Non-neuronal effects of muscarinic antagonists in stress prophylaxis. Experimental and Clinical Pharmacology. 2008;71(3):46–8.
- Nikolskaya E.I., Butenko G.M. Structural-functional organisation of the bone marrow hematopoietic stem cells niches // Cell and Organ Transplantation. 2016;4(1):101–17.
- Skorokhodkina OV, Valeeva OR. The role of cytokines CD4 + lymphocytes in the pathogenesis of immune inflammation in ulcerative colitis. Russian Allergy Journal. 2018;15(1-2):103–5.
- Chebotarev VF. Endocrine regulation of immunogenesis. Kiev, 1979.
- Arakchaa KD, Salchak SM, Razuvaeva YG, Toropova AA, Smirnova IN, Nikolaev SM, et al. The gastroprotective action of acidic mineral water from the Azhyg-Sug source on the stress-induced injuries to the stomach of white rats. Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult. 2019;96(2):54–60. doi: 10.17116/kurortol20199602154.
- Bakaeva ZV, Ermakova NV, Mankaeva OV, Sveshnikov DS, Severin AE, Sine'nikova AN, et al. Collagen Hydrolysis Products Reduce the Formation of Stress-Induced Ulcers by Regulating Stress-Associated Activation of the Neuroendocrine and Immune Systems. Bull Exp Biol Med. 2018;165(4):449–52. doi: 10.1007/s10517-018-4191-x.
- Bible LE, Pasupuleti LV, Gore AV, Sifri ZC, Kannan KB, Mohr AM. Chronic restraint stress after injury and shock is associated with persistent anemia despite prolonged elevation in erythropoietin levels. J Trauma Acute Care Surg. 2015;79(1):91–6; discussion 96–7. doi: 10.1097/TA.0000000000000686.
- Bifari F, Lisi V, Mimiola E, Pasini A, Krampera M. Immune Modulation by Mesenchymal Stem Cells. Transfus Med Hemother. 2008;35(3):194–204.
- Chang P, Qu Y, Liu Y, Cui S, Zhu D, Wang H, et al. Multi-therapeutic effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells on radiation-induced intestinal injury. Cell Death Dis. 2013;4:e685. doi: 10.1038/cddis.2013.178.
- Filaretova L, Podvigina T, Bagaeva T, Bobryshev P, Takeuchi K. Gastroprotective role of glucocorticoid hormones. J Pharmacol Sci. 2007;104(3):195–201.
- Hu GZ, Yang SJ, Hu WX, Wen Z4, He D, Zeng LF, et al. Effect of cold stress on immunity in rats. Exp Ther Med. 2016;11(1):33–42.
- Hao H., Chen G., Liu J. et al. Culturing on Wharton's jelly extract delays mesenchymal stem cell senescence through p53 and p16INK4a/pRb pathways. PLoS One. 2013;8(3):e58314. doi: 10.1371.
- Kim TS, Hanak M, Tramont PC, Braciale TJ. Stress-associated erythropoiesis initiation is regulated by type 1 conventional dendritic cells. J Clin Invest. 2015;125(10):3965–80. doi: 10.1172/JCI81919.
- Kudo K, Liu Y, Takahashi K, Tarusawa K, Osanai M, Hu DL, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to prevent radiation-induced intestinal injury in mice. J Radiat Res. 2010;51(1):73–9.
- Kundrotas G., Gasperskaja E., Slapsyte G. et al. Identity, proliferation capacity, genomic stability and novel senescence markers of mesenchymal stem cells iso-lated from low volume of human bone marrow. Oncotarget. 2016;7(10):10788–802. doi: 10.18632/oncotarget.7456.
- Le Blanc K, Mougiakakos D. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. Nat Rev Immunol. 2012;12(5):383–96. doi: 10.1038/nri3209.

18. Nikitina V., Astrelina T., Nugis V. *et al.* Clonal chromosomal and genomic instability during human multipotent mesenchymal stromal cells long-term culture. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192445. doi: 10.1371

19. Ohnishi H, Ito C, Suzuki K, Niho T, Shimura M, Yamaguchi K. Effects of tofisopam on the physiological changes induced by stress loading and hypothalamic stimulation *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 1981;78(3):139-44.

20. Penn A, Mohr AM, Shah SG, Sifri ZC, Kaiser VL, Rameshwar P, *et al.* Dose-response relationship between norepinephrine and erythropoiesis: evidence for a critical threshold. *J Surg Res*. 2010;163(2):e85-90. doi: 10.1016/j.jss.2010.03.051.

21. Saha S, Bhanja P, Kabarriti R, Liu L, Alfieri AA, Guha C. Bone marrow stromal cell transplantation mitigates radiation-induced gastrointestinal syndrome in mice. *PLoS One*. 2011;6(9):e24072. doi: 10.1371/journal.pone.0024072.

22. Sémont A, François S, Mouisseddine M, François A, Saché A, Frick J, *et al.* Mesenchymal stem cells increase self-renewal of small intestinal

epithelium and accelerate structural recovery after radiation injury. *Adv Exp Med Biol*. 2006;585:19-30.

23. Wang Y., Zhang Z., Chi Y. *et al.* Long-term cultured mesenchymal stem cells frequently develop genomic mutations but do not undergo malignant transformation. *Cell Death Dis*. 2013;4:e950. doi: 10.1038/cddis.2013.480.

24. Zhou ZR, Huang P, Song GH, Zhang Z, An K, Lu HW, *et al.* Comparative proteomic analysis of rats subjected to water immersion and restraint stress as an insight into gastric ulcers. *Mol Med Rep*. 2017;16(4):5425-5433. doi: 10.3892/mmr.2017.7241.

Надійшла до редколегії 07.10.19

Отримано виправлений варіант 08.11.19

Підписано до друку 08.11.19

Received in the editorial 07.10.19

Received revised version on 08.11.19

Signed in the press on 08.11.19

Я.-М. Семенова, мл. науч. сотр., И. Никольский, д-р биол. наук., проф.

ГУ "Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины", Киев, Украина,

Л. Остапченко, д-р биол. наук., проф.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

УГНЕТЕНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЯЗВ ЖЕЛУДКА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ ВОДОИММЕРСИОННОМ СТРЕССЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Исследовано влияние предварительной трансплантации мультипотентных стромальных клеток (МСК) костного мозга на образование язв желудка и состояние иммунной системы в условиях острого и пролонгированного стрессов. У крыс линии Вистар воспроизводили иммобилизационный водоиммерсионный стресс 2 типов: острый и пролонгированный. Исследовали количество и площадь стрессовых язв, показатели тимуса и селезенки, а также гематологические показатели, пролиферативную и цитотоксическую активность мононуклеаров периферической крови, спленоцитов и клеток лимфатических узлов, определяли поглотительную активность нейтрофилов. При пролонгированном стрессе в результате трансплантации МСК значительно уменьшалось количество и площадь язв, что свидетельствует об адаптивном протекторном действии клеток. При остром стрессе введение МСК практически не влияло на язвообразование. При пролонгированном стрессе наблюдалось снижение клеточности тимуса, селезенки и увеличение количества лейкоцитов в крови. Под влиянием трансплантированных МСК нормализовалось количество всех мобилизованных клеток, исключая лимфоциты. Естественная цитотоксичность и пролиферативная активность спленоцитов, клеток лимфатических узлов и периферической крови при остром и пролонгированном стрессе в результате введения МСК существенно не менялась. В результате введения МСК костного мозга за 24 ч до последнего воспроизведения стрессовых реакций в модели пролонгированного стресса значительно уменьшалось количество и площадь язв, что в целом свидетельствует о противоязвенном действии клеток, и нормализовались вызванные стрессом количественные клеточные изменения в иммунной системе. Трансплантация МСК костного мозга крысам перед воспроизведением у них стресса, усиливает адаптационные антистрессовые механизмы, которые развиваются при пролонгированном стрессе, что приводит к подавлению образования язв желудка и существенно изменяет показатели активности иммунной системы. Можно предположить, что одним из механизмов действия на организм МСК является способствование формированию адаптационных реакций.

Ключевые слова: водоиммерсионный холодовой стресс, иммунная система, мультипотентные стромальные клетки, трансплантация.

Y.-M. Semenova, Junior Res., I. Nikolsky, Dr. Sci. Prof.

State Institute of Genetic and Regenerative Medicine National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine,

L. Ostapchenko, Dr.Sci. Prof.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

ACCESSION OF FORMATION OF GASTRIC ULCERS UNDER IMMOBILIZATION OF WATER-IMMERSION STRESS OF PRELIMINARY TRANSPLANTATION MULTIPOTENT STROMAL CELL

To investigate the effect of pre-transplantation of multipotent stromal cells (MSCs) of bone marrow on gastric ulcer formation and the state of the immune system in conditions of acute and prolonged stress. Wistar rats reproduced immobilizing water-immersion stress of 2 types: acute and prolonged. Investigated the number and area of stress ulcers, thymus and spleen, as well as hematologic parameters, proliferative and cytotoxic activity of peripheral blood mononuclear cells, splenocytes and cells of lymph nodes, determined the absorption activity of neutrophils. With prolonged stress as a result of MSC transplantation, the number and area of ulcers significantly decreased, indicating the adaptive protective effect of cells. With acute stress, the introduction of MSC had virtually no effect on ulcer formation. With prolonged stress, there was a decrease in thymus, spleen and leukocyte counts in the blood. Under the influence of transplanted MSCs, the number of all mobilized cells was normalized with the exception of lymphocytes. The natural cytotoxicity and proliferative activity of splenocytes, cells of lymph nodes and peripheral blood in acute and prolonged stress as a result of the introduction of MSC did not change significantly. The introduction of bone marrow MSC 24 h before the last reproduction of stress responses in the model of prolonged stress significantly reduced the number and area of ulcers, which generally indicates the anti-ulcer effect of cells, and normalized the stress-induced quantitative cellular changes in the immune system. Transplantation of bone marrow MSCs to rats prior to reproduction of stress enhances the adaptive antistress mechanisms that develop during prolonged stress, leading to suppression of gastric ulcer formation and significantly altering immune system activity. It can be assumed that one of the mechanisms of action on the body of MSCs is to promote the formation of adaptive responses.

Keywords: water-immersion cold stress, immune system, multipotent stromal cells, transplantation.

УДК. 581.144.9:58.032.3

Ю. Хома, асп., Н. Куцоконь, канд. біол. наук
Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна**ФЕНОЛОГІЯ РОЗКРИВАННЯ БРУНЬОК У РІЗНИХ КЛОНІВ ТОПОЛЬ ТА ВЕРБ**

Швидкорослі дерева тополя і верба є цінними енергетичними рослинами. В умовах глобальних змін клімату дослідження фенології розкривання та закривання бруньок у дерев необхідні для визначення тривалості вегетаційного сезону рослин, оптимального періоду посадки та проведення сезонних робіт для досягнення високої продуктивності. Мета нашого дослідження полягала у вивченні фенології розкривання бруньок у різних клонів тополі та верби, що важливо для передбачення можливих реакцій деревних рослин на кліматичні зміни. Матеріали та методи: Спостереження за фенологією розкривання бруньок у тополь і верб проводили на рослинах, що ростуть як у відкритому, так і захищеному ґрунті. Дослідження рослин у відкритому ґрунті здійснювали на дослідній ділянці швидкорослих біоенергетичних дерев у НБС ім. М.М. Гришка НАН України. Для досліджень у закритому ґрунті відбирали живці 9-ти найпродуктивніших клонів, які висаджували в горщики. Протягом вегетаційного сезону рослини утримували на відкритому повітрі, а після настання сезонного листопаду їх перенесли в неопалюване приміщення із обмеженим світловим режимом. Навесні, після виходу із стану спокою, щотижня протягом 45 днів аналізували фенологію розкривання бруньок згідно з шестибальною шкалою. Результати досліджень показали, що у рослин тополі, вирощених у лабораторних умовах, бруньки розкривалися швидше порівняно з вербами, у той час як у рослин на дослідній ділянці бруньки у верб, навпаки, розкривалися швидше, ніж у тополь. Такий вплив може бути зумовлений обмеженням світлового режиму в приміщенні, який, вірогідно, сильніше впливає на розкривання бруньок у верб, а також наявністю неврахованих чинників в умовах відкритого ґрунту. В умовах закритого ґрунту у верб спостерігали тенденцію до швидшого розпускання бічних бруньок, а у тополь в аналогічних умовах більшість клонів показали швидший ріст апікальних бруньок.

Ключові слова: тополі (*Populus*), верби (*Salix*), фенологія розкривання бруньок, глобальні зміни клімату.

Вступ. Верби (*Salix*) та тополі (*Populus*) належать до рослин родини Salicaceae. Ці дерева поширені в помірних та арктичних регіонах і пристосовані до широкого кола умов довкілля [1]. Високий рівень генетичної різноманітності [2] і широке фенотипове різноманіття дозволяє застосовувати їх як модельні деревні рослини, в тому числі й для вивчення адаптаційних та еволюційних процесів. Тополі та верби мають швидкий ріст, високі прирости біомаси та легко розмножуються вегетативно, що робить їх економічно привабливими біоенергетичними культурами [3]. В останні десятиліття короткоротаційні плантації швидкорослих дерев тополі та верби все частіше вирощують у всьому світі та використовують для виробництва біомаси. Для досягнення високої продуктивності швидкорослих дерев важливу роль відіграють інтенсивна агротехніка, відповідний посадковий матеріал та водний режим, особливості ґрунту і кліматичні умови [3–5].

В умовах глобальних змін клімату дослідження фенології розвитку бруньок у дерев необхідні для визначення тривалості вегетаційного сезону рослин, оптимального періоду посадки та проведення сезонних робіт для досягнення високої продуктивності. В Україні такі дослідження проводяться лише на плодкових деревах, зокрема персику [6], хоча подібні роботи є важливими і для лісових культур.

Фенологія розкривання бруньок – вагомий фактор у рості та розвитку дерев [7, 8]. Утворення бруньок є передумовою виживання та росту дерев, що синхронізуються щороку із щорічними змінами температури [9]. Температура, фотоперіод та інші кліматичні фактори спричиняють у рослин ряд гормональних реакцій, які призводять до розкривання бруньок навесні, а також їх закривання восени [10, 11]. Щоб уникнути несприятливих умов під час зими, які пов'язані із сезонними змінами фотоперіоду та температури, дерева переходять у стан спокою. Цей період у листяних дерев супроводжується опаданням листків та утворенням нових навесні, а не утриманням їх протягом всієї зими [12]. Спокій є необхідною умовою розвитку акліматизації та толерантності до заморожування [13]. Розкривання бруньок та відновлення росту регулюються температурою, світлом і фотоперіодом. Гормональні сигнали та вміст цукрів

індукують камбіальний ріст стебла та розвиток меристем всередині бруньки навіть ще до видимої появи видовження бруньок [14].

Відновлення росту та розкривання бруньок залежать від накопичення температурних одиниць [15]. Температура є важливим фактором, що регулює розкривання бруньок у деревних рослин помірних широт [16, 17], проте довжина світлого дня (фотоперіод) також відіграє важливу роль [18]. Зменшення фотоперіоду восени є основним екологічним критерієм, що сприяє припиненню росту, а його зростання навесні сприяє розпусканню бруньок у багаторічних рослин [19]. Реакція на фотоперіод знаходиться під сильним генетичним контролем [20] і зберігається, коли дерева розповсюджуються на різних широтах.

Найкращим температурним діапазоном для розкривання бруньок багатьох дерев у помірних широтах зазвичай вважається температура від + 3° С до + 7° С; як нижчі, так і вищі температури є менш ефективними [21]. Вагоме значення має й баланс між денними та нічними температурами [22]. Температура, кліматичні умови та терміни розкривання бруньок є дуже важливими для багаторічних рослин та їх продуктивності. З одного боку, генотипи з південних регіонів можуть мати перевагу у продуктивності за рахунок тривалішого вегетаційного сезону, зумовленого раннім розкриванням бруньок навесні та їх пізнім закриванням восени [11]. Прогнозований більш тривалий вегетаційний період у майбутньому може бути краще використаний генотипами з півдня, оскільки вони припинять ріст пізніше, ніж місцеві дерева [11].

З іншого боку, внаслідок занадто раннього розкривання бруньок навесні, дерева можуть зазнавати пошкодження морозом, що може призвести до втрати ресурсів та навіть загибелі [23]. В той же час гібриди тополь *Aigeiros* × *Tacamahaca* з північних регіонів, висаджені в більш південних широтах, демонстрували затримку в розпусканні бруньок навесні та ранню зупинку росту восени [24], що спричиняє зниження продуктивності.

У зв'язку з глобальними змінами клімату терміни фенологічних подій зміщуються [25]. У Європі, особливо під час настання ранньої весни, глобальне потепління змінює фенологію дерев [26], що може призвести до різних реакцій як у окремих рослин, так і на рівні попу-

ляцій. Ініціація, хід акліматизації та початок росту опосередковуються температурою та фотоперіодом [16]. Оскільки зміни фенології, спричинені кліматом, стають все більше очевидними, потреба в кількісній оцінці цих змін стає важливою в наш час.

Мета нашого дослідження полягала у вивченні фенології розкривання бруньок у різних клонів тополі та верби, що є важливим для передбачення можливих реакцій деревних рослин на кліматичні зміни.

Матеріали і методи дослідження. Спостереження за фенологією розкривання бруньок у тополь і верб проводили на рослинах в ювенільній стадії розвитку, що ростуть як у відкритому, так і закритому ґрунті. У квітні 2018 проводили спостереження за деревами, висадженими на випробній дослідній ділянці швидкорослих біоенергетичних дерев, закладених в 2015 р. у Національному Ботанічному саду ім. М.М.Гришка НАН України (м. Київ), яка включає 19 клонів тополь та 10 клонів верб. Детальний опис ділянки, характеристик клонів та їх продуктивності наведено в нашій попередній роботі [27]. Більшість клонів для закладення ділянки були надані Українським науково-дослідним Інститутом лісового господарства та агролісомеліорації (УкрНДІЛГА), і є переважно клонами української селекції [28]. Всього було проведено 5 обліків протягом 12 днів, з 12 по 23 квітня.

За результатами попередніх досліджень [27] було визначено клони з найбільш активним ростом рослин: три клони верби ('Лісова пісня', 'Печальна', 'Житомирська-1') та шість клонів тополь ('Стрілоподібна', 'Канадська×Бальзамічна', 'Слава України', 'Гулівер', 'Волосисто-плідна' та 'Новоберлінська-3'). Посадковий матеріал

вищезгаданих клонів відбирали на дослідній ділянці в Національному ботанічному саду в лютому 2018 року, живці висаджували в горщики об'ємом 1 л з ґрунтовою сумішшю, яка складалася із чорнозему, торфу та вермикуліту у співвідношенні (10:10:1,5). Протягом всього вегетаційного сезону рослини утримували в горщиках на відкритому повітрі, забезпечуючи достатній полив. Кожен варіант висаджували в 6-ти повторностях. Після настання сезонного листопаду рослини переносили в неопалюване приміщення із обмеженим світловим режимом. Середня температура під час зберігання становила 5–7°C, в період розкривання бруньок – 7–12°C. В період спокою та під час розкривання бруньок рослини утримували в приміщенні без штучного освітлення. Починаючи з 6-го лютого 2019 року, після виходу із стану спокою, щотижня проводили аналіз фенології розкривання бруньок протягом 45 днів.

Стадії розкривання бруньок (РБ) характеризували згідно шестибальної "Шкали розкривання бруньок" за методикою [29] (з модифікацією Анн Крістін Роннберг-Вестлюнг (Ann Christin Rönnerberg-Wästljung), яка застосовується в Шведському аграрному університеті (Швеція, Уппсала) (табл. 1). Окремо оцінювали динаміку розкривання апікальних та бічних бруньок. Отримані результати вимірювань опрацьовували статистично за загальноприйнятими методиками. Статистичну достовірність відмінностей між варіантами оцінювали за непараметричними критеріями Манна-Уїтні та Краскела-Уолліса із використанням пакету аналізу SPSS Statistics та MS Excel.



Рис. 1. Шкала розкривання бруньок [за 29] з модифікаціями Ann Christin Rönnerberg-Wästljung

- А.** Оцінка 1. Бруньки потовщені, але ініціалей не видно. Оцінка 1,5, якщо верхівка видається приблизно на 1 мм, але покривні луски закриті. **Б.** Оцінка 2. Бруньки розкриваються, ініціали видимо видаються на одну довжину покривних лусок. **В.** Оцінка 3. Бруньки все ще відкриваються, листові примордії витягнуті, скручені та довші, ніж покривні луски. **Г.** Оцінка 4. Листки напіврозкриті, покривні луски опадають. Оцінка 4,5, якщо більшість листків, але не всі, розкриті. **Д.** Оцінка 5. Листки повністю розкриті. **Е.** Оцінка 6. Приріст пагона > 1 см, листки повністю розкриті

Результати та їх обговорення. Аналіз розкривання бруньок у рослин на дослідній ділянці розпочинали 12 квітня, при цьому у трьох клонів верб бруньки знаходилися вже на стадії повністю розкритих листків (РБ=5), в той час як у тополь різних клонів бруньки були відкриті на 0,5 ('Слава України') – 4 бали ('Волосисто-плідна')

(рис. 1). Протягом часу обліків у шести клонів тополь спостерігали швидкий процес розгортання бруньок, і вже через 10 днів у цих клонів рівень розкривання становив 5 балів. Тобто, як бачимо, у верб стадія повністю розкритих листків наступала щонайменше на 10 днів раніше порівняно з тополями.

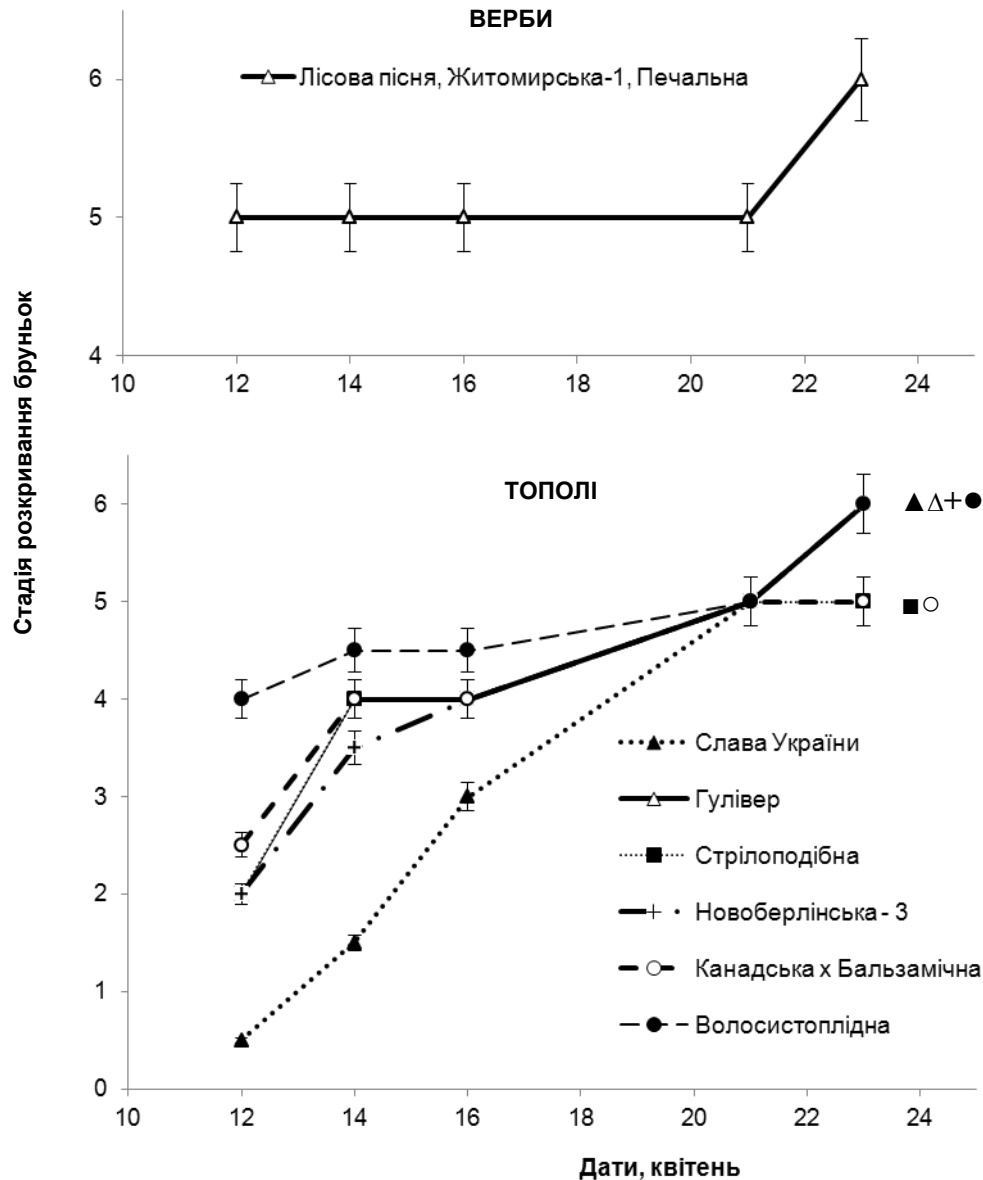


Рис. 1. Динаміка розкриття бруньок у верб і тополь на дослідній ділянці

У рослин, вирощених у горщиках, динаміка розкриття була відмінною, оскільки основні бруньки швидше розпускалися у більшості клонів тополь порівняно з вербами. Починаючи з 6-го лютого показники згідно зі "Шкалою розкриття бруньок" (табл. 1) становили у тополь 1–1,5 бали (рис. 2). Найактивніше розкриття бруньок, як апікальних, так і бічних, спостерігали у клонів тополь 'Гулівер' та 'Новоберлінська-3' (рис. 2 і 3). У клону 'Слава України' бічні бруньки хоч і починали розпускатися пізніше (на 13-у добу від початку спосте-

режень, (рис. 2), проте на 45 добу як основна, так і бічні бруньки досягали стадії РБ=6 (рис. 3). В інших клонів швидкорослих дерев бруньки розкривалися дещо повільніше, зокрема, у клонів верб 'Житомирська-1', де рівень розкриття як апікальних, так і бічних бруньок був найнижчим ($РБ=2,3\pm0,4$ та $РБ=2,7\pm0,4$, $p<0,05$), та 'Лісова пісня', де рівень розкриття апікальних бруньок також достовірно відрізнявся від такого у клонів з максимально розкритими бруньками ($РБ=5,2\pm0,3$, $p<0,05$) (рис. 3).

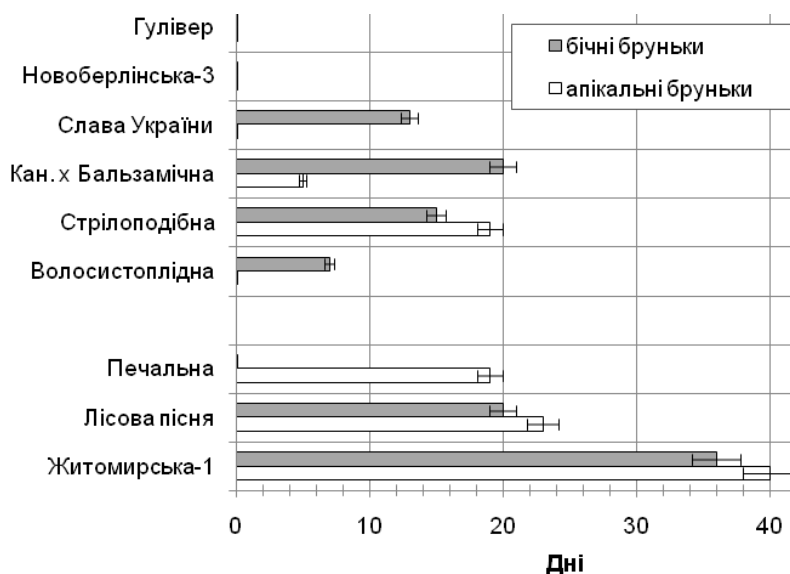


Рис. 2. Початок розкривання (РБ=1) бруньок (день) у тополь та верб в умовах закритого ґрунту

Загалом у верб апікальні бруньки починали розкриватися пізніше, починаючи з 19–40-го дня дослідження залежно від клону. В той же час, бічні бруньки у верб починали розкриватися раніше, ніж апікальні, за винятком верби 'Житомирська-1', де бруньки були

значимо менше відкриті навіть на 45 добу спостереження порівняно з максимальними показниками ($РБ=2,7 \pm 0,4$, $p < 0,05$). Натомість, у бічних бруньок верби 'Печальна' стадія РБ=1 виявлялася вже на перший день спостереження (рис. 2).

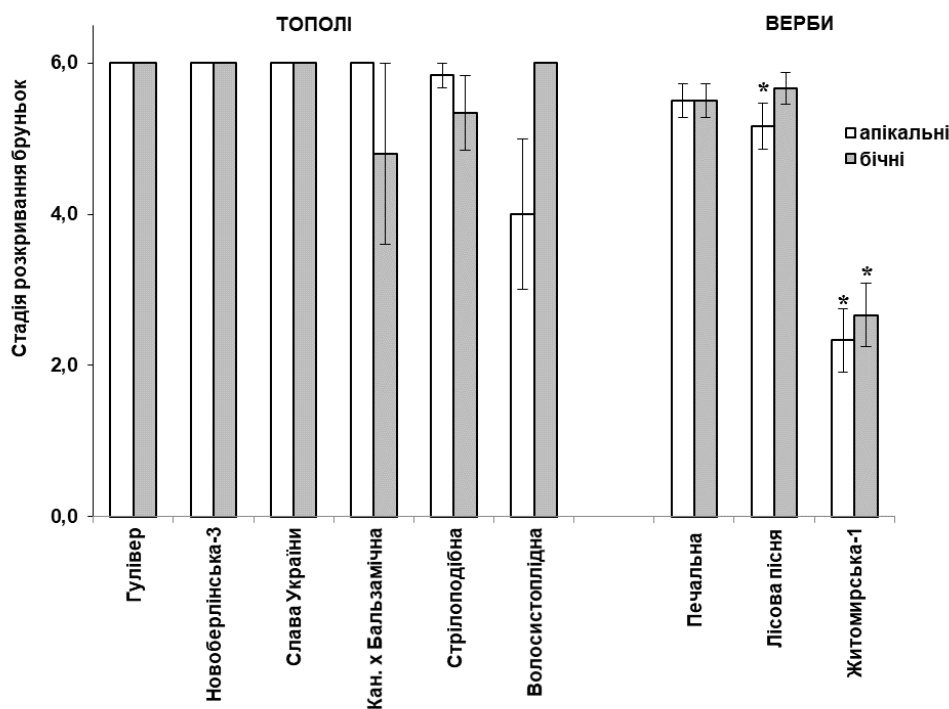


Рис. 3. Розкривання апікальних та бічних бруньок у різних клонів тополь і верб на 45-й день експерименту в умовах закритого ґрунту

Примітка: * – $p < 0,05$, відмінності достовірні порівняно з максимальним рівнем розкривання бруньок ($РБ=6$).

Отже, в умовах закритого ґрунту у верб спостерігали тенденцію до швидшого розпускання бічних бруньок, а у тополь в таких умовах більшість клонів показали швидший ріст апікальних бруньок. Очевидно, це пов'язане з ростовими особливостями представників

родів *Salix* та *Populus*, оскільки для багатьох верб характерне значне галузження стебла.

Як свідчать отримані результати, у рослин тополь, вирощених в лабораторних умовах, спостерігали швидші темпи розкривання бруньок порівняно з вербами, в той

час як у рослин на дослідній ділянці бруньки у верб, навпаки, розкривалися швидше, ніж у тополь. На нашу думку, такий вплив обумовлений обмеженням світлового режиму в приміщенні, який, вірогідно, сильніше впливає на розкривання бруньок у верб. Адже відомо, що спектр світла, разом з температурою та тривалістю дня є вагомими чинниками регуляції розвитку бруньок навесні. Зокрема, обмеження освітлення у блакитному спектрі (до 500 nm) спричиняло затримку розкривання бруньок на 3-6 днів у берези *Betula pendula*, вільхи *Alnus glutinosa* та дуба *Quercus robur* [30]. І, навпаки, додаткове освітлення дерев на вулицях міста в нічних час здатне пробуджувати бруньки до 7 днів раніше норми [31].

Відмінності між розкриванням бруньок у тополь та верб в польових та в контрольованих умовах спостерігали й у дослідженні [32]. Причиною цього автори вважають наявність в умовах відкритого ґрунту значно більшої кількості неврахованих чинників (наприклад, режим зволоження), які можуть по-різному впливати на терміни розкривання бруньок. Очевидно, фенологія розкривання бруньок – дуже чутлива до змін довкілля ознака, тому дослідження реакцій різних видів дерев є необхідними для упередження негативного впливу кліматичних змін на їх продуктивність.

Висновки. У рослин тополі, вирощених в горщиках у лабораторному приміщенні, спостерігали швидші темпи розкривання бруньок порівняно з вербами, у той час як у рослин на дослідній ділянці бруньки у верб, навпаки, розкривалися швидше, ніж у тополь. На нашу думку, такий вплив обумовлений з одного боку обмеженням світлового режиму в приміщенні, який, вірогідно, сильніше впливає на розкривання бруньок у верб. З іншого боку, відмінності можуть бути обумовлені більшою кількістю неврахованих чинників, які впливають на рослини в умовах відкритого ґрунту порівняно з рослинами, вирощеними в умовах захищеного ґрунту.

В умовах закритого ґрунту у верб спостерігали тенденцію до швидшого розпускання бічних бруньок, а у тополь в таких умовах більшість клонів показали швидший ріст апікальних бруньок. Очевидно, це пов'язане з ростовими особливостями представників родів *Salix* та *Populus*, оскільки для багатьох верб характерне значне галушення стебла.

Подяка. Робота виконувалася за підтримки цільової програми наукових досліджень НАН України "Біопаливні ресурси і біоенергетика", проект "Створення генофонду високопродуктивних біоенергетичних трав'янистих та деревних культур як біопаливного матеріалу" у рамках співпраці з Національним Ботанічним садом ім. М.М. Гришка НАН України, за що автори щиро вдячні заступнику директора д-ру с.-г. наук Рахметову Д.Б.

Список використаної літератури:

1. *Salix*: botany and global horticulture / Y. Kuzovkina, M. Weih, A. Romero et al. // Horticult. Revs. – 2008. – Vol. 34. – P. 447–489.
2. Polymorphism and divergence in two willow species, *Salix viminalis* L. And *Salix schwerinii* E. / S. Berlin, J. Fogelqvist, M. Lascoux et al. // Wolf. G3, 2011. – Vol. 1 – P. 387–400.
3. Куцоконь Н.К. Тринадцять цікавих фактів про тополь / Н.К. Куцоконь // Біологія і хімія в рідній школі, 2014. – № 5. – С. 45–47.
4. Bioenergy farming using woody crops: A review / C. Pleguezuelo, V. Zuazo, C. Bieler et al. // Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 2015. – Vol. 35(2). – P.95–119.
5. Kutsokon N. A global analysis of temperature effects on *Populus* plantation production potential / N. Kutsokon, S. Jose, E. Holzmüller // Amer. J. of Plant Sci., 2015. – Vol. 6, P.23–33.
6. Голубкова І.М. Особливості росту та розвитку видів роду *Persica mill.* в умовах правобережного лісостепу України // Наук. вісн. НЛТУ України, 2016. – Вип. 26. № 3. – С. 60–64.
7. Chuine I. Why does phenology drive species distribution? / I. Chuine // Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences, 2010. – P. 365.

8. Dijkstra J. The effects of climate change on species composition, succession and phenology: a case study / J. Dijkstra, E. Westerman, L. Harris // Global Change Biology, 2011. – Vol. 17. – P. 2360–2369.
9. Hänninen H., Kramer K.A. Framework for modelling the annual cycle of trees in boreal and temperate regions / H. Hänninen, K.A. Kramer // Silva Fennica, 2007. – Vol. 41(1) – P. 167–205.
10. Hannah L. Phenology / L. Hannah // Climate Change Biology (2nd Ed.), 2015.
11. Rohde A. Temperature signals contribute to the timing of photoperiodic growth cessation and bud set in poplar / A. Rohde, C. Bastien, W. Boerjan // Tree Physiol., 2011. – Vol. 31(5). – P. 472–482.
12. Arora R. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age / R. Arora, L. Rowland, K. Tanino // Hort Sci., 2003. – Vol. 38(5). – P. 911–921.
13. Schoot C. Dormant cycycling at the shoot apical meristem: transitioning between self-organization and self-arrest / C. Schoot // Plant Sci., 2011. – Vol. 180. – P.120–131.
14. Pletsers A. Chilling temperature and photoperiod influence the timing of bud burst in juvenile *Betula pubescens* Ehrh. and *Populus tremula* L. Trees / A. Pletsers, A. Caffarra, C. Kelleher // Annals of Forest Sci., 2015. – Vol. 72. – P. 941–953.
15. Perry T. Dormancy of trees in winter / T. Perry // Science, 1971. – Vol. 171. – P. 29–36.
16. Polgar C. Leaf-out phenology of temperate woody plants: from trees to ecosystems / C. Polgar, R. Primack // New Phytol., 2011. – Vol. 191. – P. 926–941.
17. The vegetative buds of *Salix myrsinifolia* are responsive to elevated UV-B and temperature / U. Sivadasan, T. Randriamanana, R. Jalkanen-Tiitto et al. // Plant Physiol. Biochem., 2015. – Vol. 93. – P. 66–73.
18. Sanz-Perez V. Differential and interactive effects of temperature and photoperiod on bud burst and carbon reserves in two co-occurring Mediterranean oaks / V. Sanz-Perez, P. Castro-Diez, F. Valladares // Plant Biol., 2009. – Vol. 11. – P. 142–151.
19. Lagercrantz U. At the end of the day: a common molecular mechanism for photoperiod responses in plants? / U. Lagercrantz // J. ExpBot., 2009. – Vol. 60. – P. 2501–2515.
20. Climate driven local adaptation of ecophysiology and phenology in balsam poplar, *Populus balsamifera* L. (Salicaceae) / S. Keller, R. Soolanayakanahally, R. Guy et al. // Am. J. Bot., 2011. – Vol. 98. – P. 99–108.
21. Saure M.C. Dormancy release in deciduous fruit trees / M.C. Saure // Horticultural Reviews, 1985. – Vol. 7. – P. 239–300.
22. Way D. Tree phenology responses to warming: spring forward, fall back? / D. Way // Tree Physiology, 2011. – Vol. 31. – P. 469–471.
23. Pellis A. Genetic variation of the bud and leaf phenology of seventeen poplar clones in a short rotation coppice culture / A. Pellis, I. Laureysens, I. Ceulemans // Plant Biology, 2004. – Vol. 6. – P. 38–46.
24. Biomass and genotype × environment interactions of *Populus* energy crops in the Midwestern United States / R. Zalesny, R. Hall, J. Zalesny et al. // Bioenerg. Res., 2009. – Vol. 2. – P. 106.
25. Parmesan C. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems / C. Parmesan, G. Yohe // Nature, 2003. – Vol. 421. – P. 37–42.
26. Shifting plant phenology in response to global change / E. Cleland, I. Chuine, A. Menzel et al. // Trends in Ecology & Evolution, 2007. – Vol. 22. – P. 357–365.
27. Ростові характеристики та енергопродуктивність тополь і верб на короткоротаційній плантації за перший рік вегетації / Н. Куцоконь, Д. Рахметов, Л. Худолєва та ін. // Біологічні системи, 2017. – Т. 9, Вип. 2. – С. 238–246.
28. Старова Н. Селекція ивових / Н. В. Старова // Лесн. пром-сть, 1980. – 208 с.
29. Weih M. Genetic and environmental variation in spring and autumn phenology of biomass willows (*Salix* spp.): effects on shoot growth and nitrogen economy / M. Weih // Tree Physiol., 2009. – Vol. 29(12). – P.1479–1490.
30. Brelsford C. Blue light advances bud burst in branches of three deciduous tree species under short-day conditions / C. Brelsford, T. Robson // Trees: Structure and Function, 2018. – Vol. 32 (4). – P. 1157–1164.
31. Light pollution is associated with earlier tree bud burst across the United Kingdom / R.R. French-Constant, J. Somers-Yeates, J. Bennie et al. // Proc. Biol. Sci., 2016. – Vol. 29. – P. 283.
32. Genetic architecture of spring and autumn phenology in *Salix* / L. Ghelardini, S. Berlin, M. Weih et al. // BMC Plant Biol., 2014. – Vol. 14. – P. 31.

References (Scopus):

1. Kuzovkina Y., Weih M., Romero A., Belyaeva I. et al. *Salix*: botany and global horticulture. Horticult. Revs. 2008, 34:447–489.
2. Berlin S., Fogelqvist J., Lascoux M. et al. Polymorphism and divergence in two willow species, *Salix viminalis* L. and *Salix schwerinii* E. Wolf. G3, 2011, 1:387–400.
3. Kutsokon N. Thirteen interesting facts about poplars. Biology and chemistry in school. 2014, 5: 45–47.
4. Pleguezuelo C. Bioenergy farming using woody crops. A review. Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag / EDP Sciences/INRA. 2015, 35: (2):95–119.
5. Kutsokon N., Jose S. Holzmüller E. A global analysis of temperature effects on *Populus* plantation production potential. American Journal of Plant Sciences. 2015, 6: 23–33.

6. Holubkova I. Some features of growth and development of the types of the *Persica* Mill. in the conditions of the right-bank forest-steppe of Ukraine. Scientific Bulletin of UNFU. 2016, 26 (3): 60-64.
7. Chuine I. Why does phenology drive species distribution? Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences. 2010, 365: 3149–3160-5.
8. Dijkstra J., Westerman E., Harris L. The effects of climate change on species composition, succession and phenology: a case study. Global Change Biology 2011, 17: 2360–2369.
9. Hänninen H., Kramer K. A Framework for modelling the annual cycle of trees in boreal and temperate regions. Silva Fennica. 2007, 41(1): 167-205.
10. Hannah L. Phenology. Climate Change Biology (Second Edition), 2015.
11. Rohde A., Bastien C., Boerjan W. Temperature signals contribute to the timing of photoperiodic growth cessation and bud set in poplar. Tree Physiol. 2011, 31(5):472-82.
12. Arora R., Rowland L., Tanino K. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. Hort Science. 2003, 38(5): 911-921.
13. Schoot C. Dormancy cycling at the shoot apical meristem: transitioning between self-organization and self-arrest // Plant Sci. 2011, 180:120–131.
14. Pletsers A., Caffarra A., Kelleher C., Donnelly A. Chilling temperature and photoperiod influence the timing of bud burst in juvenile *Betula pubescens* Ehrh. and *Populus tremula* L. trees. Annals of Forest Science. 2015, 72:941–953.
15. Perry T. Dormancy of trees in winter. Science 1971, 171:29–36.
16. Polgar C., Primack R. Leaf-out phenology of temperate woody plants: from trees to ecosystems. New Phytol 2011, 191:926–941.
17. Sivadasan U., Randriamanana T., Julkunen-Tiitto R., Nybakken L. The vegetative buds of *Salix myrsinifolia* are responsive to elevated UV-B and temperature. Plant Physiol. Biochem. 2015, 93: 66-73.
18. Sanz-Perez V., Castro-Diez P., Valladares F. Differential and interactive effects of temperature and photoperiod on bud burst and carbon reserves in two co-occurring Mediterranean oaks. Plant Biol 2009, 11:142–151.
19. Lagercrantz U. At the end of the day: a common molecular mechanism for photoperiod responses in plants? J Exp Bot 2009, 60:2501–2515.
20. Keller S., Soolanayakanahally R., Guy R. et al. Climate driven local adaptation of ecophysiology and phenology in balsam poplar, *Populus balsamifera* L. (*Salicaceae*). Am J Bot 2011, 98:99–108.
21. Saure M. Dormancy release in deciduous fruit trees. Horticultural Reviews. 1985, 7: 239-300.
22. Way D. Tree phenology responses to warming: spring forward, fall back? Tree Physiology. 2011, 31: 469–471.
23. Pellis A., Laureysens I., Ceulemans R. Genetic variation of the bud and leaf phenology of seventeen poplar clones in a short rotation coppice culture. Plant Biology. 2004, 6:38-46.
24. Zalesny R., Hall R., Zalesny J. et al. Biomass and genotype × environment interactions of *Populus* energy crops in the Midwestern United States. Bioenerg. Res. 2009, 2: 106.
25. Parmesan C., Yohe G. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. Nature. 2003, 421: 37-42.
26. Cleland E. Shifting plant phenology in response to global change. Trends in Ecology & Evolution. 2007, 22: 357-365.
27. Kutsokon N., Rakhmetov D., Khudolieva L. et al. Growth characteristics and energy productivity of poplars and willows under short rotation planting for the first vegetation year. Biological systems. 2017, 9 (2): 238-246.
28. Starova N. Breeding of *Salicaceae*. Lesn. prom-st. 1980; 208.
29. Weih M. Genetic and environmental variation in spring and autumn phenology of biomass willows (*Salix* spp.): effects on shoot growth and nitrogen economy. Tree Physiol. 2009; 29(12):1479-90. doi: 10.1093/treephys/tp081.
30. Brelsford C., Robson T. Blue light advances bud burst in branches of three deciduous tree species under short-day conditions. Trees: Structure and Function. 2018, 32 (4): 1157–1164.
31. French-Constant R., Somers-Yeates R., Bennie J. et al. Light pollution is associated with earlier tree bud burst across the United Kingdom. Proc Biol Sci. 2016, 29: 283.
32. Ghelardini L., Berlin S., Weih M., Lagercrantz U., Gyllenstrand N., Rönnerberg-Wästljung A. Genetic architecture of spring and autumn phenology in *Salix*. BMC Plant Biol 14, 31 (2014) doi:10.1186/1471-2229-14-31

Надійшла до редколегії 07.10.19

Отримано виправлений варіант 08.11.19

Підписано до друку 08.11.19

Received in the editorial 07.10.19

Received revised version on 08.11.19

Signed in the press on 08.11.19

Y. Khoma, Ph. D. stud., N. Kutsokon, Ph. D.

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

BUD BURST PHENOLOGY IN DIFFERENT POPLAR AND WILLOW CLONES

In the face of global climate changes, studies of bud burst and bud set phenology in trees are necessary to determine the duration of the growing season of plants, the optimal planting period, and seasonal works to achieve high productivity. The purpose of our study was to investigate bud burst phenology in different poplar and willow clones, what is important for predicting possible responses of woody plants to climate changes. Materials and methods: Bud burst phenology in poplar and willow was monitored both on the plants growing at experimental plot and on potted plants. Open-field plant research was conducted on a test site of fast-growing bioenergy trees in the M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine (Kyiv). Nine most productive poplar and willow clones were selected for the potted experiment. Throughout the growing season, the plants were kept outdoors, and after the seasonal fall of the leaves, the plants were transferred to an unheated storage room with a limited light regime. During spring, bud burst phenology was screened weekly through 45 days according to the 6-scores scale. The studies showed that the poplar plants grown under laboratory conditions demonstrated faster rates of bud burst compared to the willows, while the plants at the experimental plot, on the contrary, shown faster bud burst in the willows comparing to poplar clones. Such effects may be caused by the restricted light regime at the laboratory space what probably had stronger impact on the bud burst in willows, and in the case of open-field plants also by other random environmental factors. In potted conditions, willows demonstrated a tendency for faster flushing of lateral buds, while most poplar clones showed faster apical bud growth under the same conditions.

Keywords: poplar (*Populus*), willow (*Salix*), bud burst phenology, global climate changes.

Ю. Хома, асп., Н. Куцоконь, канд. биол. наук

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина

ФЕНОЛОГИЯ РАСКРЫТИЯ ПОЧЕК У РАЗЛИЧНЫХ КЛОНОВ ТОПОЛЕЙ И ИВ

Быстрорастущие деревья тополь и ива являются ценными энергетическими растениями. В условиях глобальных изменений климата исследования фенологии раскрытия и закрытия почек у деревьев необходимы для определения продолжительности вегетационного сезона растений, оптимального периода посадки и проведения сезонных работ для достижения высокой продуктивности. Цель работы – изучение фенологии раскрытия почек у различных клонов тополя и ивы, что важно для предсказания возможных реакций древесных растений на климатические изменения. Материалы и методы: Наблюдения за фенологией раскрытия почек у тополя и ивы проводили на растениях, растущих как в открытой, так и в закрытой почве. Исследование растений в открытой почве проводили на опытном участке быстрорастущих биоэнергетических деревьев в НБС им. Н.Н.Гришко НАН Украины. Для исследования в закрытой почве отбирали черенки 9-ти наиболее продуктивных клонов, которые высаживали в горшки. В течение всего вегетационного сезона растения содержали на открытом воздухе, а после наступления сезонного листопада их переносили в неотапливаемое помещение с ограниченным световым режимом. Весной, после выхода из состояния покоя, еженедельно в течение 45 суток анализировали фенологию раскрытия почек по шестибальной шкале. Результаты исследований показали, что у растений тополя, выращенных в лабораторных условиях, наблюдали более быстрые темпы раскрытия почек по сравнению с ивами, в то время как у растений на опытном участке тополя раскрылись быстрее, чем у топей. Такое влияние может быть обусловлено ограничением светового режима в помещении, который, очевидно, сильнее влияет на раскрытие почек у ивы, а также наличием неучтенных факторов в условиях открытой почвы. В условиях закрытой почвы у ивы наблюдалась тенденция к более быстрому распусканию боковых почек, а у топей в аналогичных условиях большинство клонов показали быстрый рост апикальных почек.

Ключевые слова: тополь (*Populus*), ива (*Salix*), фенология раскрытия почек, глобальные изменения климата.

УДК 582.573.47:581.46:581.47:581.48+581.522.4

М. Гайдаржи, д-р біол. наук
Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фоміна, "Навчально-науковий центр Інститут біології та медицини",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

РЕПРОДУКТИВНА БІОЛОГІЯ РОСЛИН РОДИНИ *ALOACEAE* В УМОВАХ ОРАНЖЕРЕЙНОЇ КУЛЬТУРИ

Представлено результати дослідження репродуктивної біології сукулентних рослин родини *Aloaceae* в умовах інтродукції. Представники родини є складовою частиною колекції сукулентних рослин ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна, в якій утримуються понад 190 видів, різновидів та гібридів рослин з трьох родів: *Aloe* Linne, що нараховує 86 таксонів, *Haworthia* Duval – 74, *Gasteria* Duval – 23 таксони. Окрім цього, представлено мікродові гібриди – *xGasteraloe* Guillaumin (*Gasteria* *x* *Aloe*), *xGasterhaworthia* Guillaumin (*Gasteria* *x* *Haworthia*), *xAstroworthia* G.D Rowley (*Astroloba* *x* *Haworthia*). Більшість видів рослин включені до міжнародних червоних списків. У процесі формування цієї частини колекції досліджено морфологію квіток, суцвіття і насіння; проведено фенологічні спостереження за цвітінням та плодоношенням; розроблено методи вегетативного та насіннєвого розмноження представників родини. Фенологічні спостереження показали, що основний термін цвітіння весняно-літній період, але для *Aloe* в умовах оранжерей характерні ще два піки (серпень, грудень). Встановлено, що крім простої або складної китиці в основній більшості видів, для *Aloe* *haworthioides* характерне суцвіття колос; форма оцвіттини трубчаста або циліндрична, притаманна для переважної більшості видів і виконує, на нашу думку, захисну функцію. Цвітіння однієї квітки проходить у три етапи, що передбачає ефект самозапилення, який характерний в умовах культури тільки для окремих видів *Aloe*, а життєздатність пилку тісно пов'язана з температурою оточуючого середовища. Свіжозібране насіння, отримане при самозапиленні або перехресному запиленні, має достатньо велику схожість, але при збереженні будь-яким способом через три місяці схожість збільшується. Запропоновано метод збільшення життєздатності насіння рослин родини *Aloaceae* у 2,5–3 рази та розроблено метод вегетативного розмноження представників родів *Haworthia* і *Gasteria* листковими живцями.

Ключові слова: родина *Aloaceae*, суцвіття, квітка, насіння, насіннєве та вегетативне розмноження.

Вступ. Репродуктивна біологія є науковою проблемою, що включає всебічне дослідження процесу репродукції та взаємопов'язаних з ним етапів онтогенезу: органогенез квітки, цвітіння, запилення, запліднення, ембріогенез, визрівання насіння, дисемінація. До репродуктивної біології приєднують також питання вегетативного розмноження рослин, в тому числі і в культурі *in vitro* [14, 22].

Проблеми вивчення особливостей репродуктивної біології рослин в умовах *ex situ* завжди стоять перед інтродукторами. Особливо актуальними ці проблеми є в сучасному світі, коли питання збереження фіторізноманіття є головними для збереження життя на планеті в цілому.

В умовах захищеного ґрунту вивчення різних аспектів репродукції тропічних та субтропічних рослин завжди було необхідним адже відтворення та розмноження рідкісних рослин насіннєвим чи вегетативним способами є запорука збереження та розширення колекції, збереження раритетних та ендемічних видів тощо.

Питанням вивчення особливостей репродуктивної біології рослин в умовах *ex situ* присвячена значна кількість робіт [16, 21, 24, 33, 34]. Здебільшого вони стосуються рослин відкритого ґрунту та тієї частини проблеми репродукції, що пов'язана з питаннями отримання повноцінного насіння рослин-інтродуцентів. Так цитуючи подібні роботи тільки співробітників Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна, можна згадати монографічні роботи з роду магнолія [17], рододендрон [15], роду кизильник [13], роду таволга [4]. Значно менше наукових досліджень з репродуктивної біології тропічних та субтропічних рослин. З питань репродукції рослин тропікогенних флор необхідно процитувати роботи наукових співробітників національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України [6, 21, 22].

У більшості в колекціях тропічних та субтропічних рослин вирощуються, або поодинокі деревні рослини, що знаходяться в цих колекціях багато десятиків років, або трав'янисті рослини, що легко розмножуються вегетативно. Крім цього донедавна між ботанічними садами світу існувала система "Списків насіння...", яка надавала можливість за рахунок обміну отримати значну кількість насіння або живців рослин, які цікавили співробітників ботанічного саду. На сьогодні ця система обміну

рослинами між ботанічними садами значно скоротилася. Особливо це стосується насіння або живців тропічних та субтропічних рослин. Причин тут декілька і в першу чергу економічна, адже пересилка відправлень коштує достатньо дорого. На менш важливу причину, на погляд автора, є існуючі міжнародні списки рідкісних та зникаючі видів рослин та цілий ряд міжнародних документів, що лімітують збір та вивіз рослин за межі їх ареалів. З одного боку, це є позитивним моментом для збереження популяцій зникаючих рослин. Але тут виникає деяке протиріччя. Адже для збору та вивезення рослин за межі їх ареалів необхідно отримати дозволи численних комісій, але в "Глобальній стратегії..." при цьому відмічене, що до 2020 року бажано зберігати в ботанічних садах не менше 75 % рідкісних видів рослин світу [29].

З цього випливає тільки те, що той об'єм рослинного матеріалу, особливо рослин тропіків та субтропіків, що був накопичений в ботанічних садах України необхідно зберегти, якомога повніше і для цього є необхідність активно вивчати репродуктивну біологію інтродукованих видів, розмножувати їх та досліджувати їх властивості, в першу чергу лікарські та декоративні.

Еколого-морфологічна група сукуленти нараховує за сучасними даними близько 10 000 видів, що відносяться до 60–65 родин [27]. У межах більшості родин часто представлені сукуленти з різним набором ксероморфних ознак. Зрозуміло, що репродуктивна біологія рослин різної систематичної приналежності, які мають різний набір ксероморфних ознак, різнитися між собою.

У процесі формування колекції сукулентів в Ботанічному саду часто виникали питання пов'язані з агротехнікою та репродуктивними особливостями окремих видів рослин. На основі спостережень за ростом та розвитком рослин, порівняння, по можливості, літературних даних з еколого-кліматичними факторами в природних умовах з умовами в оранжереях розроблялась агротехніка, приходило розуміння особливостей та методів їх розмноження в умовах інтродукції.

Метою даної статті є системний аналіз репродуктивної біології представників родини *Aloaceae* в умовах інтродукції.

Матеріали та методи. В межах колекції сукулентних рослин Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна ро-

дина *Aloaceae* представлена понад 190 видами, різновидами та гібридами, з яких рід *Aloe* Linne нараховує 86 видів та гібридів, рід *Haworthia* Duval – 74 види та різновидів, *Gasteria* Duval – 23 види та різновидів. Крім цього представлені міжродові гібриди – *xGasteraloe* Guillaumin (*Gasteria* *x* *Aloe*), *xGasterhaworthia* Guillaumin (*Gasteria* *x* *Haworthia*), *xAstroworthia* G.D Rowley (*Astroloba* *Uitewaal* *x* *Haworthia*) [19]. Ботанічні назви рослин уточнювали за [23, 26, 28, 31, 32].

Більшість рослин роду *Aloe* з колекції Ботанічного саду внесені до червоного списку МСОП та CITES, близько 56% видів та різновидів роду *Haworthia* включені до Червоного списку рослин Південної Африки [25, 30, 35].

Рослини вирощені з насіння або стеблових живців. Більшість рослин введено в колекцію сукулентів в 60-х – 90-х роках XX ст. [6].

При характеристиці суцвіть, квіток та насіння використовували [1, 2, 20]. Схеми вегетативного розмноження *Haworthia* та *Gasteria* та вивчення схожості насіння розроблено нами самостійно [7].

Результати та їх обговорення. Рослини родини *Aloaceae* поширені у аридних, напіваридних та іноді семиаридних районах Африканського континенту та Мадагаскару, що характеризуються більш менш тривалими посушливими періодами [3, 18, 26]. Якщо рослини родів *Haworthia* та *Gasteria* є ендеміками Південної Африки, то рослини роду *Aloe* поширені в Південній та Східній Африці, південній частині Аравійського півострова, о. Сокотра та на Мадагаскарі. У природних умовах рослини роду *Aloe* представлені деревами, кущами, кущиками та трав'янистими, *Haworthia* та *Gasteria* – кущиками та трав'янистими життєвими формами [7]. Усі характерні для родини життєві форми представлені в колекції [8, 12].

Суцвіття та квітки. Рослини цієї родини в колекції Ботанічного саду характеризуються боковими, брактеозними, відкритими суцвіттями-китицями, які можуть бути як простими так і складними. Для представників роду *Aloe* характерні як багатоквіткові, густі китиці з кількістю квіток до 200 (*A.arborescens*), так і малоквіткові китиці з кількістю квіток 6–20 (*A.descoingsii*). Для представників родів *Gasteria* та *Haworthia* в більшості характерні рідкі китиці, у багатьох видів вони малоквіткові. Єдиним виключенням нами було відмічене суцвіття-колос, що характерне для *Aloe haworthioides* Baker [10]. Для рослин, що формують наземні розетки листків або розетки з редукованим до 10–20 см заввишки стеблом, характерні суцвіття, висота яких у 3–7 разів перевищує висоту розетки в той час як рослини, що мають більш менш високе стебло мають невисокі суцвіття. Зауважимо, що подібні особливості мають і представники родини *Agavaceae* [11].

Квітки, як і у значної кількості однодольних рослин розташовані на більш-менш довгих квітконіжках в основі яких знаходяться білі або зеленкуваті видовжені або широкотрикутні приквітки, що прикривають бутони на перших етапах розвитку. У *Aloe* та *Gasteria* квітконіжки рухомі. Їх положення в просторі змінюється протягом бутонізації, цвітіння квітки та визрівання плодів [7, 9].

Оцвітина, частіше різних відтінків червоного або рожевого кольору, рідше жовта, дихотомічна, частіше зигморфна, трубчаста до яйцеподібної або циліндрична, зрослопелюсткова або різного ступеня роздільнопелюсткова. Для представників родів *Gasteria* та *Haworthia* виключень немає, а для окремих трав'янистих видів *Aloe* (*A. bellatula* Reynolds, *A. albiflora* Guillaumin) характерні конусоподібні оцвітини.

Органогенез квітки. Пелюстки оцвітини розташовані у двох колах, зовнішні вузькі і загострені, внутрішні більш широкі і тупозагострені, деякі види мають зовнішні пелюстки коротші за внутрішні. Пелюстки можуть бути зрослими на 2/3 (*A.saponaria* (Aiton) Haworth) або 1/3 (*A.bakeri*

Scott-Elliot). Такі види, як *A.arborescens* Millertta *A.lutescens* Groenewald мають роздільнопелюсткові оцвітини, а *A.jacksonii* Reynolds *A.ciliaris* Haworth – зрослопелюсткові оцвітини. Тичинки прикріплені основою, підматочкові, також у двох колах, у *Aloe* можуть досягати довжини трубки оцвітини, а у *Gasteria* та *Haworthia* – частіше досягають 2/3 довжини трубки оцвітини. Зав'язь верхівкова, циліндрична. Зеленого або жовто-зеленого кольору. Складається з трьох плодолистків, що також характерно для більшості представників родини.

В цілому цвітіння однієї квітки складається з декількох етапів:

чоловічий, починається з моменту відкриття квітки і характеризується ростом тичинкових ниток і розкриттям пиляків;

двостатевий етап, коли пиляки ще розкриті, а маточка вже почала збільшуватися в довжину і приймочка готова вже до прийняття пилку;

жіночий-характеризується зигзагоподібним рухом тичинкових ниток в зворотному напрямку, відсутністю пилку в пиляках та ще збільшенням довжини маточки, яка залишається на рівні оцвітини або вивиснується над нею на 1–3 мм.

Двостатевий етап цвітіння квіток передбачає наявність самозапилення у представників родини. Наприклад, у *A.puinosa* Reynolds при самозапиленні вона становить $25 \pm 11,26\%$, а при перехресному запиленні – $50,2 \pm 12,6\%$ [6, 8]. Слід зауважити, що помірною насінневою продуктивністю *Aloe* тісно пов'язана з життєздатністю пилку, яка в свою чергу пов'язана з температурою в умовах оранжерей. Нами встановлено, що при температурах в оранжерей у нижче 15°C життєздатність пилку наближується до 0. У цілому нами встановлено, що самозапилення в умовах нашої оранжерейної культури характерно крім *A.puinosa*, для *A.macrocampa* Todaro, *A.lineata* (Aiton) Haworth, *A.tornicrophii* Pole-Evans. Для *Haworthia* самозапилення не характерно. Досить часто можна побачити плоди у гібридні особини роду *Gasteria*, для видових рослин самозапилення в оранжерейних умовах не відмічено.

Цвітіння. Фенологічні спостереження за цвітінням представників родини показали, що чим швидше проходить ріст рослини в прегенеративному періоді та чим менше лінійний розмір рослин даного виду, тим швидше наступає генеративний період (хоча зрозуміло є і виключення з цього спостереження). Представники роду *Haworthia* збільшого починають цвісти на 2-3 рік, коли вже сформована материнська розетка і формування дорослої життєвої форми (материнська+дочірні розетки) та цвітіння материнської розетки проходять паралельно. У представників роду *Gasteria* прегенеративний розвиток значно довший. Залежно від виду він триває 5 і більше років, але так само, як і для представників попереднього роду цвітіння та формування дорослої життєвої форми проходить паралельно. Рослини роду *Aloe* за швидкістю росту можна умовно розділити на декілька груп. Рослини, що за швидкістю росту подібні до *Haworthia*. Це трав'янисті види: *A. haworthioides*, *A. bellatula*, *A. albiflora*. Ще одна група швидкозростаючих рослин – *A. arborescens*, *A. dawei* A.Berger, *A. ciliaris* – ростуть швидко, але вступають в генеративний період у віці не менше 6–9 років. Помірнозростаючі види (*A. humilis* (Linne) Miller, *A. lutescens*, *A. macrocarpa* та інші), їх більшість в колекції, вступають у генеративний період у віці 4–6 років, а рослини, що ростуть повільно (*A. africana* Miller, *A. ferox* Miller) – у віці 15 і більше років. Зауважимо, що суцвіття у представників роду *Aloe* в умовах інтродукції менші за кількістю квіток ніж у природних умовах.

У цілому цвітіння представників роду *Aloe* відмічено у майже 60%, *Haworthia* – 95%, *Gasteria* – 84% видів колекції. Для представників останніх двох родів характерно

ремонтантне цвітіння, що відбувається переважно впродовж травня-вересня. Цвітіння рослин роду *Aloe* відбувається частіше одноразово, але впродовж року є декілька

піків цвітіння. Основна більшість видів починає цвітіння у травні, на початку періоду активного росту (рис. 1).

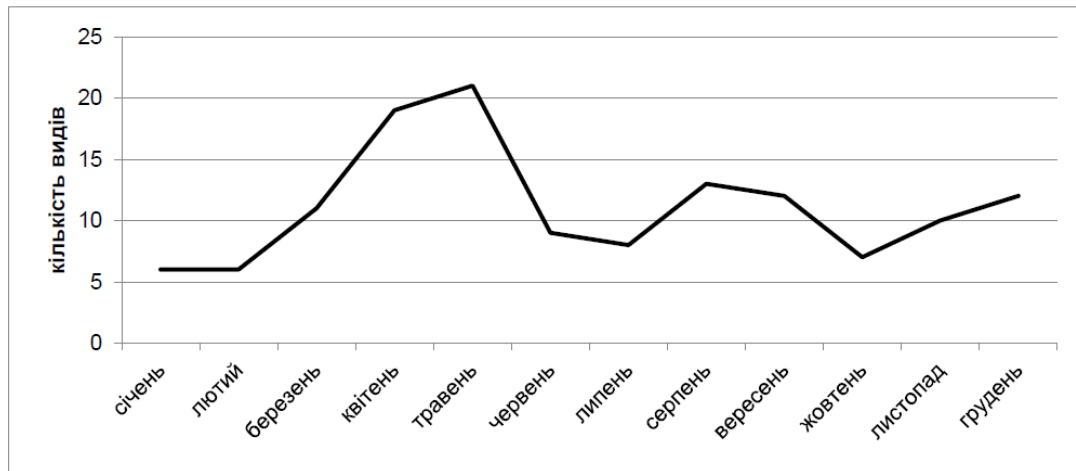


Рис. 1. Цвітіння представників роду *Aloe* L. колекції сукулентних рослин Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна

Насіння. Збереження схожості насіння. Розкривання квіток та визрівання плодів у рослин родин відбувається в акропетальній послідовності. Плоди у представників всіх трьох родів – синкарпні коробочки, що складаються з трьох плодолистків і при дозріванні розтріскуються по швах [2,7]. За формою коробочки циліндричні до яйцеподібних. Найменші за розмірами коробочки у *Haworthia* – близько 10 мм, у *Gasteria* – до 25 мм, а у *Aloe* від 5 до 40 мм завдовжки. Насінини у *Aloaceae* гемітропні з ендоспермом, чорні, блискучі. Їхні розміри коливаються від 1.9х1.4 до 6.1х4.0 мм. Особлива різноманітність за розмірами як насінин, так і арилусів спостерігається у *Aloe*. Всі досліджувані види мають тонкий арилус з більшими або меншими крилами від білого до різних відтінків коричневого кольору. Арилус у *Gasteria* виключно чорного кольору, *Haworthia* – світло коричневого до майже білого кольору.

Як і більшість рослин тропічної флори, насіння *Aloaceae* відносяться до мікробіотиків, що зберігають схожість впродовж 2-3 років [5]. Схожість свіжозібраного насіння складає 60–80% залежно від виду. Через три місяці схожість насіння збільшується до 80-90%. При збереженні насіння в лабораторних умовах при температурі 18–20°C схожість різко знижується вже після 12 місяців збереження, при 30 місяцях збереження схожість знижується до 0 при зберіганні в паперових пакетах і до 10–12% при зберіганні в герметично закритих ємностях. Як приклад наводимо графіки зміни схожості насіння *A. Grandidentata* Salm-Dyck (рис. 2).

Для підвищення термінів збереження схожості насіння *Aloe* було запропоновано зберігання насіння в умовах пониженої температур (4–6°C) в контейнері без доступу повітря. Це дозволило збільшити термін схожості насіння більше ніж у 2.5–3 рази.

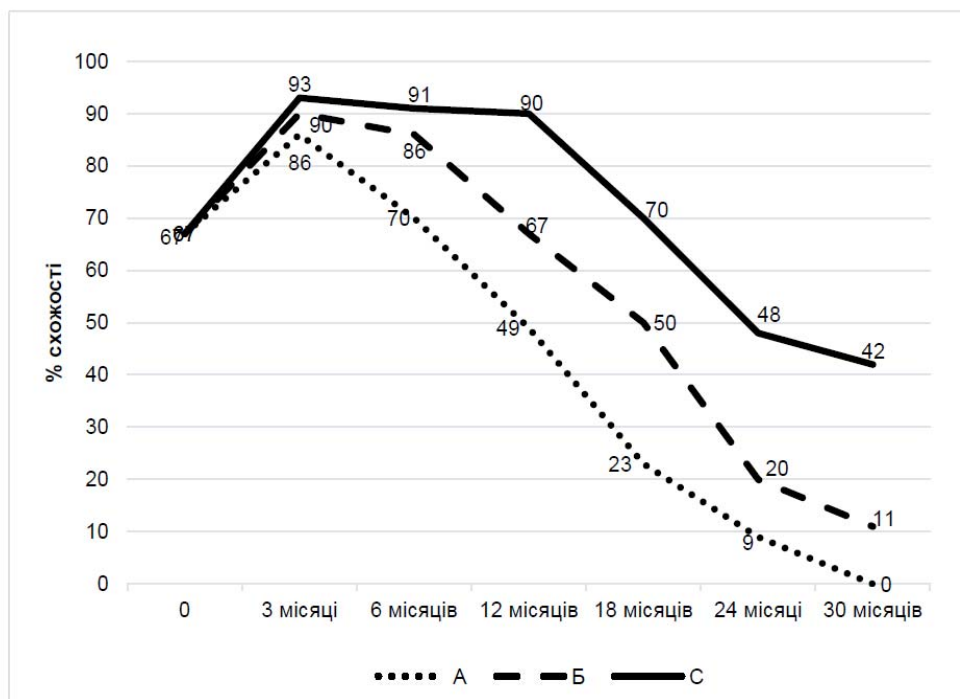


Рис. 2. Схожість насіння *Aloe grandidentata* за різних умов зберігання (А – паперові пакети в лабораторних умовах; Б – лабораторні умови в закритих контейнерах; В – закриті контейнери при понижених температурах)

Вегетативне розмноження. У багатьох випадках вегетативний тип розмноження переважає над насіннєвим. Так в оранжерейній культурі більшість представників родів *Haworthia* та *Gasteria* розмножують стебловими живцями внаслідок здатності рослин утворювати більш-менш великі клони. Особливо це характерно для *Haworthia*. Ми розробили метод розмноження рослин цих

двох родів листовими живцями [7]. Як показали наші дослідження найбільша кількість молодих рослин утворюється у представників роду *Gasteria* при висоті живця від 4 см і вище. Таким чином, з одного листка (у деяких видів його довжина становить близько 30 см) можна отримати значну кількість молодих рослин (табл).

Таблиця. Розмноження рослин роду *Gasteria* листовими живцями (на прикладі *G. carinata* (Miller) Duval)

Висота живця, см	Відсоток вкорінення живців, %	Кількість молодих рослин на 1 живець, шт
1	51.7	1.9±0.6
2	63.7	2.3±0.5
3	88.4	2.9±1.1
4	96.3	4.4±0.9
5	98.0	3.5±1.2
6	97.6	3.6±0.9
7	98.1	3.5±0.9
8	98.5	3.5±1.3
9	97.2	3.4±1.1
10	97.0	3.6±1.2

Представники роду *Haworthia*, а також можуть бути розмножені листовими живцями. За виключенням таких видів як *Haworthia coarctata* Haworth, *H. reinwardtii* (Salm-Dyck) Haworth, *H. viscosa* (Linne) Haworth та деякі інші, що мають довжину листків 2-3 см та формують стебло до 30 см завдовжки. Види *Haworthia*, що формують розетки розмножуються листовими живцями, при цьому відсоток вкорінення листків коливається від 35 до 90 % залежно від виду та термінів вкорінення. Слід зауважити, що для представників обох родів має значення ярусність листків, що вкорінюють [7, 9].

Отже результати наших досліджень можна розділити таким чином. Пристосування репродуктивної сфери рослин родини *Aloaceae* до виживання у аридних умовах Південної Африки та Мадагаскару, які ми спостерігаємо в умовах інтродукції: високі квітконоси та достатньо яскраві квіти, прикриття бутонів на ранніх стадіях розвитку за допомогою приквіткових, трубчасту або циліндричну оцвітину характерну для більшості видів, що захищає андроцей та гінецей від впливу високих температур, а також рухому квітконіжку у *Aloe* та *Gasteria*, як пристосування для перехресного запилення та розсіювання насіння. Цвітіння однієї квіткої проходить в декілька етапів, що передбачає як перехресне запилення так і самозапилення. Спостереження за цвітінням рослин в оранжерейі показало, що в окремих видів *Aloe* самозапилення відбувається в умовах культури, але при цьому насіннєва продуктивність невисока, в той час як при перехресному запиленні при тих же умовах насіннєва продуктивність може бути вдвічі вищою. Інші особливості репродуктивної біології *Aloaceae* ймовірно пов'язані з температурою, вологістю та рівнем освітленості в умовах оранжерей: відсутність регулярного цвітіння окремих видів, суттєве зниження життєздатності пилку при понижених температурах під час цвітіння, можливість розмноження листками (*Haworthia*) або відрізками листків (*Gasteria*).

Більша частина рослин колекції цвіте щорічно. Для представників родів *Gasteria* та *Haworthia*, характерне ремонтантне цвітіння впродовж весняно-літнього періоду. Для рослин роду *Aloe* основне цвітіння характерне у травні, але два невеликих піки цвітіння наявні у серпні-вересні та грудні. Можна передбачити, що початок бутонізації в умовах оранжерейної культури спостерігається в період, коли світловий день починає збільшуватися (квітень-травень) або зменшуватися (серпень-вересень), а температурний фактор достатньо високий (від 26–30°C і вище), що наближається до таких в місцях природного зростання цих рослин. З високими температурами на

батьківщині рослин родини *Aloaceae* пов'язані також і невисокі показники життєздатності пилку при температурах нижче 15°C. Рослини, що цвітуть в зимовий період зав'язують насіння тільки коли температурні показники перевищують відмітку 15–17°C, але і при цьому їх насіннєва продуктивність залишається низькою.

Нами виявлена приналежність представників родини *Aloaceae* до мікробіотиків – рослин, що втрачають схожість впродовж одного – максимум трьох років. Такі особливості характерні для більшості тропічних та пустельних рослин [5]. Збереження насіння при понижених температурах в закритих ємностях дозволило збільшити термін схожості насіння та рекомендувати цей метод насіннєвим лабораторіям ботанічних садів, а розробка методів вегетативного розмноження рослин листовими живцями або відрізками листків дозволяє отримати більшу кількість рослинного матеріалу чим при розмноженні цих рослин стебловими живцями.

Таким чином, нами підведений підсумок багаторічних досліджень репродуктивної біології рослин родини *Aloaceae* в умовах оранжерейної культури: здійснений системний опис морфології квіток, суцвіть та насіння, проаналізована фенологія цвітіння та плодоношення рослин родини *Aloaceae* з колекції Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна, яка нараховує понад 190 видів, різновидів та гібридів з шести родів, що необхідно для розуміння механізмів пристосування рослин до умов зростання їх в природі та збереження за умов інтродукції. Розроблені методи вегетативного та насіннєвого розмноження представників родини для збереження їхнього розмаїття в колекції та для обміну з іншими ботанічними установами.

Список використаних джерел:

1. Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений (Соцветие) / З.Т. Артюшенко, Ал.А. Федоров. – Л.: Наука, 1979. – 293 с.
2. Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений (Плод) / З.Т. Артюшенко, Ал.А. Федоров. – Л.: Наука, 1986. – 392 с.
3. Пустыни / А.Г. Бабаев, И.С. Зонн, Н.Н. Дроздов и др. – М.: Мысль, 1986. – 318 с.
4. Бонюк З.Г. Таволги (*Spiraea* L.): монографія / З.Г. Бонюк. – К.: ВПЦ "Київський університет", 2008. – 248 с.
5. Справочник по морфологии плодов и биологии прорастания семян пустынных растений Центральной Азии / А.А. Бутник, К.Н. Тодерич, Т.Е. Матюнина и др. – Ташкент: Yangi Nashr, 2016. – 322 с.
6. Буюн Л.И. Тропичні орхідні (*Orchidaceae* Juss.): репродуктивна біологія та структурно-функціональні адаптації за умов збереження *ex situ* / автореф. ... д-ра біол. наук / Л.И. Буюн. – Київ, 2011 – 46 с.

7. Гайдаржи М.М. Алое, Гастерія, Гавортія: інтродукція, біологія, екологія / М.М. Гайдаржи. – К.: ВПЦ "Київський університет", 2003. – 174 с.
8. Гайдаржи М.М. Соматичні зміни у сукулентних рослин родини Асфodelові в онтогенезі та філогенезі / М.М. Гайдаржи // Вісн. львів. ун-ту. Серія біологічна, 2003. – Вип. 36. – С. 101–107.
9. Гайдаржи М.М. Репродуктивна стратегія сукулентних рослин родини Асфodelові (Asphodelaceae) / М.М. Гайдаржи // Інтродукція рослин, 2004. – № 4. – С. 28–34.
10. Гайдаржи М.Н. Соцетия сукулентных растений семейства Асфodelовых / М.Н. Гайдаржи // Ботанический журн., 2005. – Т. 90, 2. – С. 233–243.
11. Гайдаржи М. Нікітіна В. Генеративний період рослин роду Agave / М. Гайдаржи // Вісн. Київ. ун-ту імені Тараса Шевченка. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття, 2007. – Вип. 12. – С. 10–13.
12. Гайдаржи М.М. Життєві форми і онтоморфогенезу сукулентних рослин: автореф. ... д-ра біол. наук / М.М. Гайдаржи. – Київ, 2009. – 40 с.
13. Гревцова А.Т. Кизильники в Україні: монографія / А.Т. Гревцова, Н.А. Казанская. – К.: изд. Нива, 1997. – 192 с.
14. Биоморфология растений: иллюстрир. словарь / П.Ю. Жмылев, Ю.Е. Алексеев, Е.А. Карпухина, С.А. Баландин. – М., 2005. – 256 с.
15. Зарубенко А.У. Культура рододендронів в Україні: монографія / А.У. Зарубенко. – К.: ВПЦ "Київський університет", 2006. – 175 с.
16. Коршук Т.П., Палагача Р.М. Магнолії (*Magnolia L.*): монографія / Т.П. Коршук, Р.М. Палагача. – К.: ВПЦ "Київський університет", 2007. – 207 с.
17. Мадагаскар. / пер. с англ. М.А. Аршиновой; отв. ред. В.Е. Соколов. – М.: Прогресс, 1990. – 280 с.
18. Каталог тропічних і субтропічних рослин захищеного ґрунту / В.В. Нікітіна, К.М. Баглай, М.М. Гайдаржи та ін. // Природно-заповідні території України. Рослинний світ. Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фомина, 2007. – Вип. 7. – С. 131–266.
19. Федоров Ал.А. Атлас по описательной морфологии высших растений (Цветок) / Ал.А. Федоров, З.Т. Артюшенко. – Л.: Наука, 1975. – 358 с.
20. Харченко И.И. Особенности семенного размножения камелии японской (*Camellia japonica L.*) / И.И. Харченко // Інтродукція рослин, 2000. – № 1. – С. 133–134.
21. Черевченко Т.М. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro* / Т.М. Черевченко, А.Н. Лаврентьева, Р.В. Иванников. – К.: Наук. думка, 2008. – 558 с.
22. Bayer B. *Haworthiopsis*: A revision of genus / B. Bayer. – Pretoria, 1999. – 250 p.
23. Checklist of Cites species. – UNEP world conservation Monitoring Centre. Cites Secretariat. – Geneva, 2017.
24. Court D. Succulent Flora of Southern Africa / D. Court – Rotterdam: Brookfield, 2000. – 300 p.
25. Illustrated Handbook of Succulent Plants: Monocotyledons / Ed. by U. Eggli. – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2001. – 254.
26. Jaarsveld van E.J. Gasterias of South Africa. South Africa / Van E.J. Jaarsveld. – Ferwood Press, 1995. – 96 p.
27. Global Strategy for Plant Conservation. <http://biodiv.org/programmes/cross-cutting/plant/default.asp>
28. Red List of South African Plants / D. Raimondo et al. – Pretoria: Strelitzia, 2009. – 668 p.
29. Reynolds G.W. The Aloes of South Africa / G.W. Reynolds. – Johannesburg: Aloes book Fund, 1950. – 520 p.
30. Reynolds G.W. The Aloes of tropical Africa and Madagascar / Reynolds G.W. – Mbabane (Swasilend): Aloes book Fund, 1966. – 548 p.
31. The IUCN Red List of Threatened Species. 2014. <http://www.iucnredlist.org>.
32. Artyushenko Z.T., Fedorov Al. A. Atlas po opisatel'noy morfologii vysshih rasteniy (Sotsvetie). – L.: Nauka, 1979. – 293s.
33. Artyushenko Z.T., Fedorov Al. A. Atlas po opisatel'noy morfologii vysshih rasteniy (Plod). – L.: Nauka, 1986. – 392 s.
34. Babaev A.G., Zonn I.S., Drozdov N.N. i dr. Pustyni. – M.: Myisl, 1986. – 318s.
35. Boniuk Z.H. Tavalhy (SpiraeaL.): monografiia. Kyiv: Vydavnyche-polihrafichnyi tsentr "Kyivskiy universytet", 2008. 248s.
36. Butnik A.A., Toderich K.N., Matyunina T.E. i dr. Spravochnik po morfologii plodov i biologii prorstaniya semyan pustynnykh rasteniy Tsentralnoy Azii. Tashkent: YangiNashr, 2016. – 322s.
37. Buiun L.I. Tropichni orkhidni (OrchidaceaeJuss.): reproduktyvna biolohiia ta strukturno-funktsionalni adaptatsii za umov zberezhennia eksitu. Avtoref.... Doktora biolohichnykh nauk, Kyiv, 2011 – 46s.
38. Haidarzhly M.M. Aloe, Hasteriia, Havortiiia: introduksiia, biolohiia, ekolohiia. – Kyiv: VPTs Kyivskiy universytet, 2003.-174s. 8.
39. Haidarzhly M.M. Somatychni zminy u sukulentnykh roslyn rodyny Asfodelovi v ontogenezi ta filogenezi// Visnyk Iyvskoho universytetu. Seria biolohichna. – 2003. – Vyp.36. – S.101-107.
40. Haidarzhly M.M. Reproduktyvna stratehiia sukulentnykh roslyn rodyny Asfodelovi (Asphodelaceae)// Introduksiia roslyn. – 2004. – № 4. – S.28-34.
41. Gaydarzhi M.N. Cotsvetiya sukulentnykh rasteniy semeystva Asfodelovykh // Botanicheskii zhurnal. – 2005. – T.90, 2. – S. 233-243.
42. Haidarzhly M. Nikitina V. Henerativnyi period roslyn rodu Agave // Visnyk Kyivskoho universytetu imeni tarasa Shevchenka. Introduksiia ta zberezhennia roslynnoho riznomanittia. 2007. – Vyp.12. – S.10-13.
43. Haidarzhly Zhyttievi formy i ontomorfogenezsukulentnykh roslyn. Avtoref... doktora biolohichnykh nauk, Kyiv, 2009. – 40 s.
44. Grevtsova A.T., Kazanskaya N.A. Kizilniki v Ukraine: monografiia. Kiev: izd. Niva, 1997. 192 s.
45. Zhmylev P.Yu., Alekseev Yu.E., Karpuhina E.A., Balandin S.A. Bi-omorfologiya rasteniy: illyustirovannyi slovar.M., 2005. – 256s.
46. Zarubenko A.U. Kultura rododendroniv v Ukraini: monografiia. Kyiv: Vydavnyche-polihrafichnyi tsentr "Kyivskiy universytet", 2006.175s.
47. Kirillova I.A., Kirillov D.V. Reproduktyvnaya biologiya Platanthera bifolia (L.) Rich (Orchidaceae) na severnoy granitse areala (respublika Komi) // Vesnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. – 2017. – # 36. – S.68-88
48. Korshuk T.P., Palahecha R.M. Mahnoli (MagnoliaL.): monografiia. Kyiv: Vydavnyche-polihrafichnyi tsentr "Kyivskiy universytet", 2007. 207s.
49. Madagaskar. / per. s angl. M.A.Arshinovoy,otv. red. V.E.Sokolov. – M.: Progress, 1990. – 280 s.
50. Nikitina V.V.,Bahlai K.M., Haidarzhly M.M. ta in. Katalog tropichnykh i subtropichnykh roslyn zakhyshchenoho gruntu // Pryrodno-zapovidni terytorii Ukrainy. Roslynniy svit. – 2007. – Vyp.7. Botanichnyi sad im.akad.O.V.Fomina. – S.131-266.
51. Fedorov Al. A.,Artyushenko Z.T. Atlas po opisatel'noy morfologii vysshih rasteniy (Tsvetok). – L.: Nauka, 1975. – 358 s.
52. Harchenko I.I. Osobennosti semennogo razmnzheniya kamelii yaponskoy(Camellia japonica L.). // Introduksiya roslin. – 2000. – #1. – S.133-134
53. Cherevchenko T.M., Lavrenteva A.N., Ivannikov R.V. Biotehnologiya tropicheskikh i subtropicheskikh rasteniy in vitro. Kiev: Naukova dumka, 2008. – 558 s.
54. Bayer B. Haworthiarevised. A revision ofgenus. – Pretoria, 1999. – 250 p.
55. Cabahug R., Sang Yohg Nam, Ki-Byeng Lim, Jae Kyung Jeon, Yoon-Jung Hwang Propagation Techniques for Ornamental Succulents // Flower Res.J. – 2018. – 26(3). – P.90-101.
56. Checklist of Cites species. – UNEP world conservation Monitoring Centre. Cites Secretariat. – Geneva, 2017.
57. Court D. Succulent Flora of Southern Africa. Rotterdam: Brookfield, 2000. – 300 p.
58. Illustrated Handbook of Succulent Plants: Monocotyledons./Ed.by Eggli U. Berlin,Heidelberg:Springer-Verlag, 2001. – 254.
59. Jaarsveld van E.J. Gasterias of South Africa. South Africa: Ferwood Press, 1995. – 96 p.
60. Global Strategy for Plant Conservation. <http://biodiv.org/programmes/cross-cutting/plant/default.asp>
61. Red List of South African Plants/ Raimondo D. et all. – Pretoria: Strelitzia. 2009. – 668p.
62. Reynolds G.W. The Aloes of South Africa. Johannesburg: Aloes book Fund. – 1950. – 520 p.
63. Reynolds G.W. The Aloes of tropical Africa and Madagascar. / Reynolds G.W. – Mbabane (Swasilend): Aloes book Fund, 1966. – 548p.
64. Rowley G. D. Name that succulent. Keys to the families and genera of succulent plantsin cultivation / G. D. Rowley. – Cheltenham: Stanley Thornes Ltd., 1980. – 268 p.
65. Rowley G. The pollination mechanism of Adenium (Apocynaceae) / G. Rowley // The National Cact. and Succ. J. – 1980. – Vol. 35, № 1. – P. 2-5.
66. The IUCN Red List of Threatened Species. 2014. <http://www.iucnredlist.org>.

Reference (Scopus):

1. Artyushenko Z.T., Fedorov Al. A. Atlas po opisatel'noy morfologii vysshih rasteniy (Sotsvetie). – L.: Nauka, 1979. – 293s.
2. Artyushenko Z.T., Fedorov Al. A. Atlas po opisatel'noy morfologii vysshih rasteniy (Plod). – L.: Nauka, 1986. – 392 s.
3. Babaev A.G., Zonn I.S., Drozdov N.N. i dr. Pustyni. – M.: Myisl, 1986. – 318s.
4. Boniuk Z.H. Tavalhy (SpiraeaL.): monografiia. Kyiv: Vydavnyche-polihrafichnyi tsentr "Kyivskiy universytet", 2008. 248s.
5. Butnik A.A., Toderich K.N., Matyunina T.E. i dr. Spravochnik po morfologii plodov i biologii prorstaniya semyan pustynnykh rasteniy Tsentralnoy Azii. Tashkent: YangiNashr, 2016. – 322s.
6. Buiun L.I. Tropichni orkhidni (OrchidaceaeJuss.): reproduktyvna biolohiia ta strukturno-funktsionalni adaptatsii za umov zberezhennia eksitu. Avtoref.... Doktora biolohichnykh nauk, Kyiv, 2011 – 46s.

М. Гайдаржи, д-р биол. наук
Ботанический сад им. А.В. Фомина, УНЦ "Институт биологии и медицины",
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ALOACEAE В УСЛОВИЯХ ОРАНЖЕРЕЙНОЙ КУЛЬТУРЫ

Представлены результаты исследований репродуктивной биологии растений семейства Aлоасеae в условиях интродукции. Представители семейства являются составляющей частью коллекции сукулентных растений ботанического сада им. акад. А.В. Фомина, в которой содержатся более 190 видов, разновидностей и гибридов растений трех родов: Aloe Linne – 86 таксонов,

Надійшла до редколегії 07.10.19
Отримано виправлений варіант 08.11.19
Підписано до друку 08.11.19

Received in the editorial 07.10.19
Received revised version on 08.11.19
Signed in the press on 08.11.19

Haworthia Duval – 74, *Gasteria Duval* – 23 таксона. Кроме этого в коллекции представлены межродовые гибриды – *xGasteraloe Guillaumin* (*Gasteria* *x* *Aloe*), *xGasterhaworthia Guillaumin* (*Gasteria* *x* *Haworthia*), *xAstroworthia G.D Rowley* (*Astroloba* *Uitewaal* *x* *Haworthia*). Большинство растений включены в международные красные списки. В процессе формирования этой части коллекции были проведены исследования морфологии цветов, соцветий и семян; проведены фенологические наблюдения за цветением и плодоношением; разработаны методы вегетативного и семенного размножения представителей семейства. Фенологические наблюдения показали, что основные сроки цветения характерны в весенне-летние месяцы, но для *Aloe* в условиях оранжерей характерны еще два пика цветения (август, декабрь). Показано, что кроме простой и сложной кисти у большинства видов, для *Aloe haworthioides* характерно соцветие колос; форма околоцветника трубчатая или цилиндрическая, что, вероятнее всего, выполняет защитную функцию. Цветение одного цветка проходит в три этапа, что предполагает эффект самоопыления, который подтвержден в условиях культуры для некоторых видов *Aloe*, а жизнеспособность пыльцы тесно связана с температурой окружающей среды. Свежесобранные семена, полученные в результате само- или перекрестного опыления имеют достаточно высокую всхожесть, которая увеличивается через три месяца. Предложен метод увеличения жизнеспособности семян растений семейства *Aloaceae* в 2,5-3 раза и разработан метод вегетативного размножения представителей родов *Haworthia* и *Gasteria* листовыми черенками.

Ключевые слова: семейство *Aloaceae*, соцветие, цветок, семя, вегетативное и семенное размножение.

M. Gaidarzhly, Dr. Sci.

O.V. Fomin Botanical Garden, Education and Science Center "Institute of Biology and Medicine",
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

REPRODUCTIVE BIOLOGY OF THE PLANTS OF THE ALOACEAE FAMILY IN THE GREENHOUSE

The article presents the results of the study of the reproductive biology of succulent plants of the *Aloaceae* family in the introduction. Representatives of the family are part of the collection of succulent plants of the O.V. Fomin Botanical Garden, which contains over 190 species, subspecies and hybrids of plants of three genera: *Aloe* Linne – 86, *Haworthia* Duval – 74, *Gasteria* Duval – 23 taxa. In addition, *xGasteraloe Guillaumin* (*Gasteria* *x* *Aloe*), *xGasterhaworthia Guillaumin* (*Gasteria* *x* *Haworthia*), *xAstroworthia G.D Rowley* (*Astroloba* *Uitewaal* *x* *Haworthia*). Most plant species are included in the international red lists. In the process of forming this part of the collection, the morphology of flowers, inflorescences and seeds was investigated, phenological observations of flowering and fruiting were conducted, methods of vegetative and seed reproduction of family members were developed. Phenological observations have shown that the main flowering period is the spring-summer period, but *Aloe* under greenhouse conditions is characterized by two more peaks (August, December). We have found that, in addition to simple or complex tics, in the vast majority of species, *Aloe haworthioides* is characterized by inflorescences of ears; perianth shaped tubular or cylindrical, inherent in the vast majority of species and performs, in our opinion, a protective function. The flowering of a single flower takes place in three stages, providing a self-pollination effect that is characteristic of crop conditions only for certain *Aloe* species, and the viability of the pollen is closely related to the ambient temperature. Freshly harvested seeds obtained by self-pollination or cross-pollination have a sufficiently large germination, but if stored in any way after three months, the germination increases. We have proposed a method of increasing the viability of seeds of plants of the *Aloaceae* family 2.5-3 times and developed a method of vegetative propagation of representatives of the genera *Haworthia* and *Gasteria* leaf cuttings.

Keywords: *Aloaceae* family, inflorescences, flower, seeds, seed and vegetative reproduction.

UDC616-006.48-039.

N. Senchylo, Ph. D.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
O. Gorbach, Ph. D.
National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine,
L. Dubovtseva, stud.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
O. Skachkova, Ph. D.
National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine,
P. Yakovlev, Ph. D.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
T. Skaterna, Ph. D.
Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (NASU), Kyiv, Ukraine,
L. Drobot, Dr.Sci.
Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (NASU), Kyiv, Ukraine,
L. Garmanchuk, Dr.Sci.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

TEICHOIC ACID DIFFERENTIALLY MODULATES TLR4 EXPRESSION IN SENSITIVE AND RESISTANT TO CISPLATIN SMALL CELL LUNG CARCINOMA H69 CELLS

The Toll-like receptor family plays crucial role in the innate immune system, recognizing the molecular structures associated with pathogens derived from different microbes. TLRs also recognize the molecular structures associated with damage associated with certain diseases, such as cancer. They can either promote tumorigenesis, or suppress it. Besides, the promotion of the tumor cells growth may be associated with the acquisition of drug resistance. The data on the TLR4 expression level changes during this pathological process are controversial. That is why the purpose of our study was to determine the expression level of TLR4 in cisplatin-sensitive and cisplatin-resistant lung cancer cells. Cells line NCI-H69 (human small cell lung carcinoma) and a drug resistant subline of NCI-H69/CPR were used to determine the expression level of TLR4. Incubation of cells with teichoic acid (1 µg / ml) was performed under standard conditions for two days. The level of TLR4 expression in the cell was determined with RT-PCR at 7500 Real-Time PCR Systems ("Applied Biosystems", USA) and specific primers and asymmetric cyan cationic fluorochrome SYBRGreen (C32H37N4S⁺) with spike of consumption at $\lambda_{max} = 488$ nm and fluorescence at $\lambda_{max} = 522$ nm. It was shown that TLR4 expression level was almost two times lower in WT H69 cells compared with H69 cells resistant to cisplatin. In contrast, teichoic acid oppositely influenced TLR4 expression level: increased by 1.3-times in WT H69 cells whereas decreased 4-times in H69 cells resistant to cisplatin compared with corresponding control samples without teichoic acid. In cisplatin-resistant lung cancer cells found high expression of TLR4 can be inhibited by adding teichoic acid ligand to TLRs.

Key words: TLR4 expression, NCI-H69 and NCI-H69/CPR cisplatin-resistant cells line, teichoic acid.

Introduction. The Toll-like receptor family (TLR) is a member of the interleukin-1 (IL-1R) / TLR receptor superfamily. This superfamily was described in 1998 as a family

of type I transmembrane proteins containing an intracellular TIR domain with common basic structure [1]. TLRs play crucial role in the innate immune system, recognizing the

molecular structures associated with pathogens derived from different microbes. TLRs also recognize the molecular structures associated with damage associated with certain diseases, such as cancer [2].

TLR activation was associated with both tumor suppression and tumor progression. Tumors are infiltrated by different types of immune cells, and immune cells can be the main cell population in the tumor microenvironment. Therefore, it is increasingly recognized that inflammatory processes play key role in tumorigenesis [3].

TLR ligands are often used as adjuncts to enhance immunogenicity of vaccines in anticancer therapy [4]. Such ligands are the cell wall biopolymers derived from gram-positive microorganisms *Staphylococcus aureus*, the teichoic acids (TA). Our previous studies have shown that TA in combination with the bimetallic copper and cadmium complex with ethylenediamine (PO244) exacerbated the antitumor activity of the latter. However, incubation of primary Lewis lung carcinoma cells with TA leads to an increase in aneuploidy cell population and a decrease in apoptotic cell levels. But in combination with PO244, TA provided 2-fold increase in the level of LLC apoptotic cells and reduced the population of LLC cells in the proliferative pool (G2 / M + S phase) to 40%, compared to 65% in control [5]. TLR4 expression is characteristic of innate immunity. However, the activation of TLR4 in the tumor process may be associated with tumor initiation and progression. Different types of tumors may have different patterns of TLR4 involvement during tumorigenesis or tumor progression [6]. In addition, in some tumor models, TLR2 and TLR4 polymorphisms are known to affect cancer risk, which means that a genetic difference in specific TLR may be associated with specific tumor behavior [7]. Cisplatin therapy is widely used anticancer treatment for various neoplasms. However, this compound causes side effects in healthy tissues and body systems, and causes drug resistance [8,9]. There is various evidence regarding the involvement of TLRs, in particular TLR4, in the emergence of cisplatin resistance.

Therefore, the purpose of our study was to determine the expression level of TLR4 in cisplatin-sensitive and cisplatin-resistant lung cancer cells

Materials and method. *Cells line* NCI-H69/CPR (human small cell lung carcinoma) is a drug resistant subline of NCI-H69 (Sigma Catalogue number. 91091802) were used to determine the expression level of TLR4. Drug resistance was developed by addition of cisplatin in a step-wise increment to the growth medium of the parental line. The cell line exhibits a 5-fold resistance to cisplatin and is cross resistant to melphalan. The cells were incubated in culture medium RPMI 1640+2mM glutamine + 0.4 µg/ml cisplatin + 10% fetal bovine serum (FBS). Incubation of cells with teichoic acid (1 µg/ml) derived from gram-positive microorganisms *Staphylococcus aureus* was performed under standard conditions for two days.

Total RNA was isolated by phenol-chloroform extraction and the "Ribo-zol" kit ("AmpliSens"). RNA concentration in all samples was measured by Thermo Scientific Nano Drop-1000 (Thermo Fisher Scientific, USA) and samples were diluted to 200 ng/µl. cDNA was obtained from total RNA by RT-PCR using "High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit" (Applied Biosystems, USA). The reverse transcription reaction was run under the following conditions: 25 °C – 10 min, 37 °C – 120 min and 85 °C – 5 sec. cDNA was diluted in half with DNA buffer. TLR4 expression level was evaluated by real-time PCR on 7500 Real-Time PCR Systems ("Applied Biosystems", USA) using specific primers and fluorochrome SYBR Green ("Applied Biosystems", USA). GAPDH was used to normalize levels of mRNA for the relative quantification method of analysis. TLR4 sequence (f- CTGTGTCAGTCACGGAGCC, r- GCAGGTAGTGGGAGAAGCC) and GAPDH sequence (f- GCCAAGGTCATCCATGACAACCTTTGG, r- GCCTGCTTCACCACCTTCTTGATGTC) were constructed by Primer Express® Software v3.0 (Applied Biosystems, USA). 45 cycles real-time PCR (94 °C – 15 sec, 65 °C – 15 sec and 72 °C – 30 sec) were run on 7300/7500 Real-Time PCR Systems, "Applied Biosystems", USA. Calculations were performed using the $\Delta\Delta C_t$ relative quantification method.

Results. Lung cancer cells sensitive (NCI-H69) and resistant to cisplatin (NCI-H69/CPR) differ in a number of morph functional characteristics, especially proliferative and adhesive properties (Fig. 1).

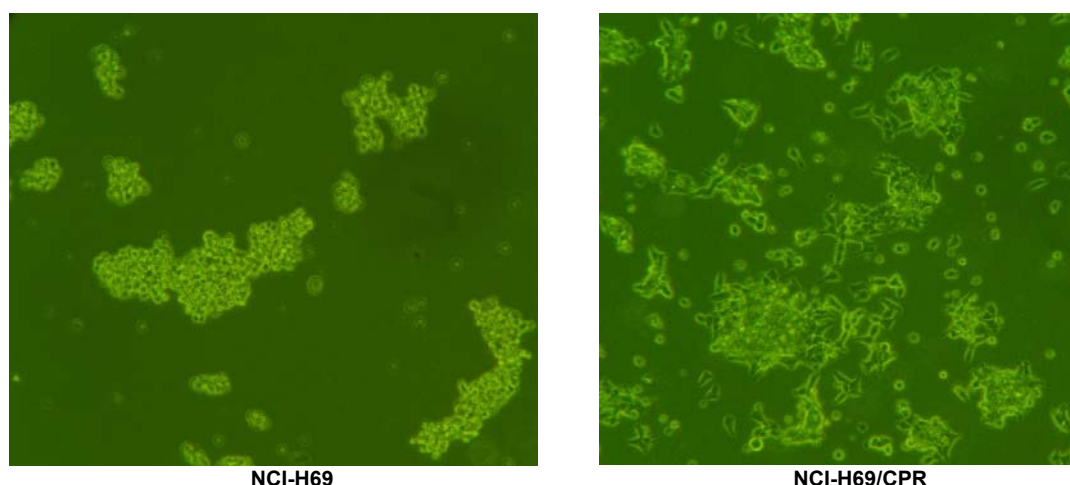


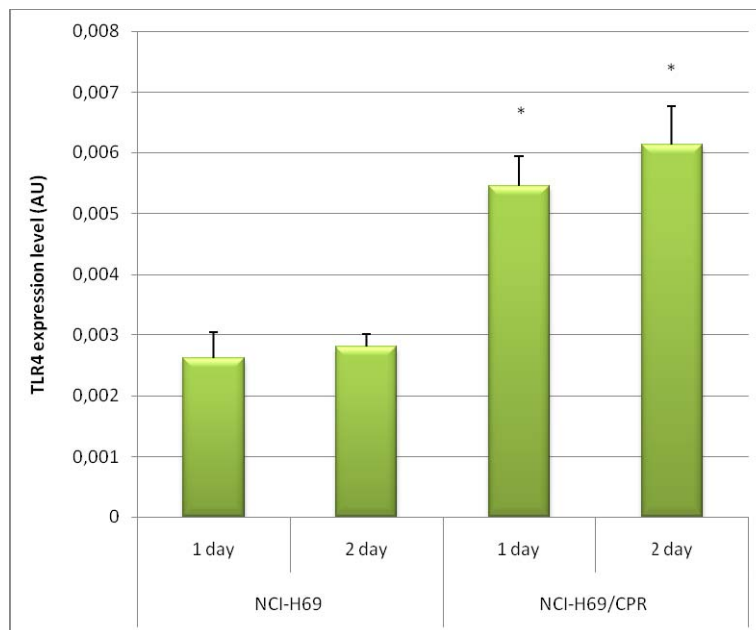
Fig. 1. Morphological features of WT (NCI-H69) and resistant to cisplatin (NCI-H69/CPR) small cell lung carcinoma NCI-H69 cells. Cells were imaged under phase-contrast microscopy

Incubation of NCI-H69 and NCI-H69/CPR cells was carried out for one and two days without and with TA at a concentration of 1 µg / ml. Through after day of cultivation,

it was found that in the wild type cells, the expression level of TLR4 was 0.002613 ± 0.000432 a.u., whereas on the second day of incubation this indicator increased slightly

and was 0.002814 ± 0.000202 a.u. With respect to the cisplatin-resistant cell line, almost twice the expression level of TLR4 was detected compared to the WT cells and this

indicator did not change on the second day of incubation of cells under standard conditions (Fig. 2).



Fig/ 2. TLR4 expression level in NCI-H69 and NCI-H69 / CPR cells under standard incubation conditions

*-P<0.05 vs control (WT NCI-H69 cells)

Since no differences in the expression of TLRs at 1 and 2 days of incubation were detected, the expression of TLR4 under the action of TA was determined after 2 days of incubation. Preincubation of cells of both lines for two

days with TA led to the following results: in WT cells it was possible to observe the increase of expression of TLR4 gene, whereas in the cisplatin-resistant cells we revealed a pronounced inhibitory effect of the TLR ligand (Fig. 3).

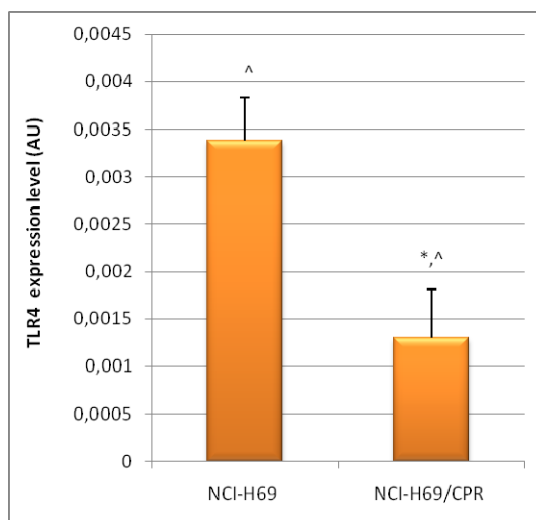


Fig. 3. TLR4 expression level in NCI-H69 and NCI-H69 / CPR cells by adding TA

*-P<0.05 vs WT NCI-H69, ^-P<0.05 vs cells without TA

Thus, It was shown that the TLR 4 expression level was almost twice lower in the WT cells than in the cisplatin-resistant cells. The effect of teichoic acid resulted in an increase of TLR4 expression in the WT cells line strain 1.3-times compared to control, whereas in cisplatin-resistant cells TLR4 expression level decreased 4-times compared to the sample without the effect of teichoic acid. The research conducted by Lewison carcinogenic lung indicates a significant role of TLR4 not only in tumor growth but also

in migration [10]. The refore, inhibition of expression of the sereceptors may be considered as a new strategy for antitumor and time tastication. It is also possible to use inhibition of the expression of TLR by specific ligands in combination with antitumor agents in resistant tumors.

Conclusion. Thus, in cisplatin-resistant lung cancer cells found high expression of TLR4 can be inhibited by adding a ligand to TLRs.

Список використаних джерел:

1. Akira S. Toll-Like Receptor Signaling / S. Akira and K. Takeda // *Nature Reviews Immunology*, 4, 499–511. (2004) <https://doi.org/10.1038/nri1391>
2. Masahiro Y. Current Views of Toll-Like Receptor Signaling Pathways / Y. Masahiro, T. Kiyoshi // *Gastroenterology Research and Practice*, vol. 2010, Article ID 240365, 8 pages, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/240365>
3. Braunstein, M. <https://doi.org/10.1007/s11523-018-0589-7> Eui Young So, Toru Ouchi The application of Toll like receptors for cancer therapy / M. Braunstein, J. Kucharczyk, S. Adams // *Int J BiolSci* 2010; 6(7):675–681. doi:10.7150/ijbs.6.675
4. Combined influence of teichoic acids from *Staphylococcus aureus* and heterometallik Cu/Cd ethylenediamine complex on peritoneal macrophages and tumor cells. / V.V. Nikulina, L.V. Garmanchuk, N.V. Senchylo et al. // *Cytology and Genetics*, 2014. – Vol. 48, Is. 6. – P. 392–397.
5. The Anticancer Effect of Teichoic Acids on Lewis Lung Carcinoma Model / V. Nikulina, L. Garmanchuk, T. Nikolaienko, N. Senchylo // *J. of Thoracic Oncology*, 2016. – Vol. 12, No. 1S. – S843–S844.
6. Mai C. W. Should a Toll-like receptor 4 (TLR-4) agonist or antagonist be designed to treat cancer? TLR-4: its expression and effects in the ten most common cancers / Mai Chun Wai et al. // *OncoTargets and therapy*, 2013. – 6. – P. 1573–1587. doi: 10.2147/OTT.S50838.
7. de Oliveira J. G. Polymorphisms of the TLR2 and TLR4 genes are associated with risk of gastric cancer in a Brazilian population / J.G. de Oliveira, A.E. Silva // *World Journal of Gastroenterology*, 2012. – 18(11). – P. 1235–1242. doi: 10.3748/wjg.v18.i11.1235.
8. Cancer drug resistance: An evolving paradigm / C. Holohan, S. van Schaeybroeck, D.B. Longley, P.G. Johnston // *Nat. Rev.*, 2013. – 13. – P. 714–726. doi: 10.1038/nrc3599.
9. Drug Resistance in Cancer: An Overview / G. Housman, S. Byler, S. Heerboth, et al. // *Cancers (Basel)*, 2014. – 6(3). – P. 1769–1792.
10. TLR4 signaling pathway in mouse Lewis lung cancer cells promotes the expression of TGF-1 and IL-10 and tumor cells migration / Chun Lia, Haixia Lib, Kun Jianga et al. // *Bio-Medical Materials and Engineering*, 2014. – 24. – P. 869–875.
3. Braunstein, M.J., Kucharczyk, J. & Adams, S. *TargOncol* (2018) 13: 583. <https://doi.org/10.1007/s11523-018-0589-7> Eui Young So, Toru Ouchi The application of Toll like receptors for cancer therapy *Int J BiolSci* 2010; 6(7):675–681. doi:10.7150/ijbs.6.675
4. Nikulina, V.V. Garmanchuk, L.V. Senchylo, N.V. Nikolaenko, T.V. Dzhus, O.I. Ostapchenko, L.I. Khramovska, N.M. Combined influence of teichoic acids from *Staphylococcus aureus* and heterometallik Cu/Cd ethylenediamine complex on peritoneal macrophages and tumor cells *Cytology and Genetics* Volume 48, Issue 6, 3 December 2014, Pages 392–397
5. Viktoriia Nikulina, Liudmyla Garmanchuk, Tetiana Nikolaienko, Natalia Senchylo The Anticancer Effect of Teichoic Acids on Lewis Lung Carcinoma Model // *Journal of Thoracic Oncology*, 2016 Vol. 12 No. 1S, S843–S844
6. Mai, Chun Wai et al. "Should a Toll-like receptor 4 (TLR-4) agonist or antagonist be designed to treat cancer? TLR-4: its expression and effects in the ten most common cancers." *OncoTargets and therapy* 2013; 6: 1573–1587. doi: 10.2147/OTT.S50838
7. de Oliveira J. G., Silva A. E. Polymorphisms of the TLR2 and TLR4 genes are associated with risk of gastric cancer in a Brazilian population. *World Journal of Gastroenterology*. 2012;18(11):1235–1242. doi: 10.3748/wjg.v18.i11.1235.
8. Holohan C., van Schaeybroeck S., Longley D.B., Johnston P.G. (2013) Cancer drug resistance: An evolving paradigm. *Nat. Rev.*, 13, 714–726 doi: 10.1038/nrc3599.
9. G. Housman, S. Byler, S. Heerboth, K. Lapinska, M. Longacre, N. Snyder, and S. Sarkar (2014) Drug Resistance in Cancer: An Overview *Cancers (Basel)*. 6(3): 1769–1792.
10. Chun Lia, Haixia Lib, Kun Jianga, Jing Lia and Xiaodong Gaia TLR4 signaling pathway in mouse Lewis lung cancer cells promotes the expression of TGF-1 and IL-10 and tumor cells migration // *Bio-Medical Materials and Engineering* 24 (2014) 869–875

Investigations were supported by grant 10B "The role of metabolic reprogramming of tumor cell sin the development of can cerstem cell phenotype (CSCs): contribution of the adapter protein Ruk / CIN".

Reference (Scopus):

1. Akira, S. and Takeda, K. (2004) Toll-Like Receptor Signaling. *Nature Reviews Immunology*, 4, 499–511. <https://doi.org/10.1038/nri1391>
2. Masahiro Yamamoto and Kiyoshi Takeda, "Current Views of Toll-Like Receptor Signaling Pathways," *Gastroenterology Research and Practice*, vol. 2010, Article ID 240365, 8 pages, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/240365>

Надійшла до редколегії 07.10.19
Отримано виправлений варіант 08.11.19
Підписано до друку 08.11.19

Received in the editorial 07.10.19
Received revised version on 08.11.19
Signed in the press on 08.11.19

Н. Сенчило, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
О. Горбач, канд. біол. наук
Національний інститут раку, Київ, Україна,
Л. Дубовцева, студ.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
О. Скачкова, канд. біол. наук
Національний інститут раку, Київ, Україна,
П. Яковлев, канд. мед. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
Т. Скатерна, канд. біол. наук
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, Київ, Україна,
Л. Дробот, д-р біол. наук
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, Київ, Україна,
Л. Гарманчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ТЕЙХОЄВА КИСЛОТА МОДУЮЄ ЕКСПРЕСІЮ ТОЛЛ-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ 4 У ЧУТЛИВИХ ТА РЕЗИСТЕНТНИХ ДО ДІЇ ЦИСПЛАТИНУ ЛІНІЯХ КЛІТИН ДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ

Родина Толл-подібних рецепторів (ТПР) відіграє важливу роль у механізмах розвитку вродженої імунної відповіді, розпізнаючи молекулярні структури патогенних мікроорганізмів. ТПР здатні також відігравати певну роль у розвитку протипухлинної імунної відповіді. Вони можуть або сприяти пухлинному генезу, або пригнічувати його. Окрім того, стимулювання росту пухлинних клітин може бути пов'язане з набуттям лікарської резистентності. Дані про рівень експресії ТПР4 за пухлинного росту є суперечливими. Саме тому мета нашого дослідження полягала у визначенні рівня експресії ТПР4 у клітинах раку легені, чутливих та резистентних до дії цисплатину. Клітинилінії NCI-H69 та NCI-H69 / CPR (дрібноклітинний рак легені людини) використовували для визначення рівня експресії ТПР4. Інкубацію клітин з тейхоєвою кислотою (1 мкг / мл) проводили в стандартних умовах упродовж двох діб. Рівень експресії ТПР4 у клітинах визначали за допомогою RT-PCR при 7500 ПЛР-системах у реальному часі ("Applied Biosystems", США), специфічних праймерів та асиметричному цiano-катіонному фторохромі SYBRGreen (C32H37N4S+) при λmax = 488 нм флуоресценції при λmax = 522 нм. Було показано, що рівень експресії ТПР4 був майже вдвічі нижчим у клітинах WTH69 порівняно з клітинами H69, резистентними до цисплатину. На відміну від цього, тейхоєва кислота протилежно впливала на рівень експресії ТПР-4. У клітинах WTH69 рівень зріс у 1,3 раза, тоді як у клітинах H69, резистентних до цисплатину, зменшився у 4 рази порівняно з контрольними зразками без додавання тейхоєвої кислоти. Отже, у клітинах раку легені, резистентних до цисплатину з високою експресією ТПР4, можна інгібувати таку, додаючи ліганди до ТПР4.

Ключові слова: експресія ТПР4, лінія клітин резистентна до цисплатину NCI-H69, тейхоєва кислота.

Н. Сенчило, канд. біол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,

А. Горбач, канд. биол. наук
Национальный институт рака, Киев, Украина,
Л. Дубовцева, студ.
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
О. Скачкова, канд. биол. наук
Национальный институт рака, Киев, Украина,
П. Яковлев, канд. мед. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
Т. Скатерна, канд. биол. наук
Институт биохимии им. О.В. Палладина НАНУ, Киев, Украина,
Л. Дробот, д-р биол. наук
Институт биохимии им. О.В. Палладина НАНУ, Киев, Украина,
Л. Гарманчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ТЕЙХОЕВАЯ КИСЛОТА МОДУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ 4 ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ К ДЕЙСТВИЮ ЦИСПЛАТИНА ЛИНИЙ КЛЕТОК МЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Семейство Толл-подобных рецепторов (ТПР) играет важную роль в механизмах развития врожденного иммунного ответа, распознавая молекулярные структуры патогенных микроорганизмов. ТПР способны также влиять на развитие противоопухолевого иммунного ответа. Они могут как стимулировать опухолевый рост, так и подавлять его. Стимулирование роста опухолевых клеток может быть связано с приобретением лекарственной резистентности. Данные экспрессии ТПР4 при опухолевом росте противоречивы. Именно поэтому целью исследования являлось определение уровня экспрессии ТПР4 в клетках рака легкого, чувствительных и резистентных к цисплатине. Клетки линий NCI-H69 и NCI-H69 / CPR (мелкоклеточный рак легкого человека) использовали для определения уровня экспрессии ТПР4. Инкубацию клеток с тейхоевой кислотой (1 мкг/мл) проводили в стандартных условиях в течение двух суток. Уровень экспрессии TLR4 в клетках определяли с помощью RT-PCR при 7500 ПЦР-системах в реальном времени ("Applied Bio systems", США), специфических праймеров и асимметрическом циано-катионном фторхроме SYBR Green (C32H37N4S +) при $\lambda_{\text{max}} = 488$ нм флуоресценции при $\lambda_{\text{max}} = 522$ нм. Было показано, что уровень экспрессии ТПР4 был почти в два раза ниже в клетках WT H69 по сравнению с клетками H69, резистентными к цисплатине. В отличие от этого, показано, что тейхоевая кислота имела противоположное влияние на уровень экспрессии ТПР4. В клетках WT H69 уровень экспрессии возрос в 1,3 раза, в клетках H69, резистентных к цисплатине – снизился в 4 раза по сравнению с контрольными образцами без добавления тейхоевой кислоты. Итак, в клетках рака легкого с высокой экспрессией ТПР4, резистентных к цисплатине, можно ингибировать экспрессию, добавляя лиганд к ТПР.

Ключевые слова: экспрессия ТПР4, линия клеток, резистентных к цисплатину NCI-H69, тейхоевая кислота.

Наукове видання



ВІСНИК

КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуск 3(79)

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.



Формат 60x84^{1/8}. Ум. друк. арк. 11,04. Наклад 300. Зам. № 219-9557.
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № Б 3.
Підписано до друку 26.12.19

Видавець і виготовлювач
ВПЦ "Київський університет"

Б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01030
☎ (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; тел./факс (38044) 239 31 28
e-mail: vpc_div.chief@univ.net.ua; redaktor@univ.net.ua
<http://vpc.univ.kiev.ua>

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02