

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.1-69

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 й органах у нормі та 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, флоре и фауне Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными УНЦ "Институт биологии и медицины" в областях 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**РЕДАКЦІЙНА
КОЛЕГІЯ**

Л. І. Остапченко, д-р біол. наук, проф.

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. Мойсеєнок, 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, Велика Британія); Т. В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; С. В. Пилипенко, д-р біол. наук, проф. (м. Полтава, Україна); М. Є. Держинський, д-р біол. наук, проф.; О. Я. Скляров, 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, 2 а, Київ, Україна, 03127
☎ (38044) 521-35-98; www.biovestnik.com; bulletin.vestnik@gmail.com

Затверджено

Вченою радою ННЦ "Інститут біології та медицини"
25.06.20 (протокол № 11)

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:**

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.).

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.1-69

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 й органах у нормі та 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, флоре и фауне Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными УНЦ "Институт биологии и медицины" в областях 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); Kopperiay Viktoriay, 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 Dzhanagan, 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"
25.06.20 (Protokol № 11)

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

Гапоненко М., Гнатюк А., Рахметов Д. Дистинктивні особливості популяцій рослин <i>ex situ</i>	6
Казанник В., Мартюшева О., Миленко Н. Результати обліків лелеки білого (<i>Ciconia ciconia</i> L.) у національному природному парку "Пирятинський" та на прилеглий території.....	11
Сербін А., Коваль Т., Харченко О. Протеолітична активність плазми крові та печінки щурів за хронічної алкогольної інтоксикації	18
Анцух Г., Куценко Т., Насєдкін Д., Погребна А. Дослідження міжпівкульної взаємодії за показниками потенціалів, пов'язаних із подіями.....	21
Ставнічук А., Савчук О., Абдул Хе Хан, Войцех К. Янкевіч, Джон Д. Іміг Модель клубочкової хвороби нирок, індукована сорафенібом	25
Гудзь С., Сківка Л. Особливості формування еубактеріального комплексу ризосфери пшениці озимої (<i>Triticum durum</i>) за різних систем удобрення	31
Совінська Р., Дуніч А., Міщенко Л. Ураженість рослин гладіолусів вірусом жовтої мозаїки квасолі, вірусом огіркової мозаїки та вірусом кільцевої плямистості тютюну на території деяких північних і центральних областей України	36
Федорчук С., Петрушевський Є. Стан психофізіологічних функцій у гандболісток із різним стажем спортивного тренування.....	42
Кот Л., Юрченко О., Шепелева А., Дворщенко К. Активність антиоксидантних ферментів у сироватці крові щурів за умов каррагінан-індукованого запалення суглобу та профілактичного введення хондроїтин сульфату.....	46
Пацюк М. Видовий склад голих амеб в епіфітних мохах Житомирської області	49
Креницька Д., Ракша Н., Савчук О. Аналіз пептидної складової тканин за розвитку експериментального ожиріння у щурів.....	55
Колосова О. Модуляційні впливи стомлення на Н-рефлекс камбалоподібного м'яза в умовах парної стимуляції великогомілкового нерва у нетренованих та тренуваних людей.....	59
Короткий О., Кот Л., Дворщенко К., Остапченко Л. Окисна модифікація білків у сироватці крові щурів за умов експериментального остеоартриту та сумісного введення хондропротектора та мультипробіотика	64

СОДЕРЖАНИЕ

Гапоненко М., Гнатюк А., Рахметов Д. Дистинктивные особенности популяций растений <i>ex situ</i>	6
Казанник В., Мартюшева А., Миленко Н. Результаты учетов белого аиста (<i>Ciconia ciconia</i> L.) в национальном природном парке "Пирятинский" и на сопредельной территории	11
Сербин А., Коваль Т., Харченко О. Протеолитическая активность плазмы крови и печени крыс при хронической алкогольной интоксикации	18
Анцух Г., Куценко Т., Наседкин Д., Погребна А. Исследование межполушарного взаимодействия по показателям потенциалов, связанных с событиями.....	21
Ставнийчук А., Савчук А., Абдул Хе Хан, Войцех К. Янкевич, Джон Д. Имиг Сорафениб-индуцированная модель клубочковой болезни почек.....	25
Гудзь С., Скивка Л. Особенности формирования зубактериального комплекса ризосферы пшеницы озимой (<i>Triticum durum</i>) при разных системах удобрения	31
Совинская Р., Дунич А., Мищенко Л. Пораженность растений гладиолусов вирусом желтой мозаики фасоли, вирусом огуречной мозаики и вирусом кольцевой пятнистости табака на территории некоторых северных и центральных областей Украины	36
Федорчук С., Петрушевский Е. Состояние психофизиологических функций у гандболисток с разным стажем спортивной тренировки	42
Кот Л., Юрченко Е., Шепелева А., Дворщенко Е. Активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови крыс в условиях каррагинан-индуцированного воспаления сустава и длительного введения хондроитин сульфата	46
Пацюк М. Видовой состав голых амёб в эпифитных мхах Житомирской области	49
Креницкая Д., Ракша Н., Савчук О. Анализ пептидной составляющей тканей при развитии экспериментального ожирения у крыс.....	55
Колосова Е. Модуляционные влияния утомления на Н-рефлекс камбаловидной мышцы в условиях парной стимуляции большеберцового нерва у нетренированных и тренированных людей	59
Короткий А., Кот Л., Дворщенко Е., Остапченко Л. Окислительная модификация белков в сыворотке крови крыс в условиях экспериментального остеоартрита и совместного введения хондропротектора и мультипробиотика	64

CONTENTS

Gaponenko M., Gnatiuk A., Rakhmetov D. Distinctive features of ex situ plant populations	6
Kazannyk V., Martiusheva O., Mylenko N. Results of the white storks counts (<i>CICONIA CICONIA</i> L.) in national nature park "PYRIATYNSKYI" and surrounding area	11
Serbin A., Koval T., Kharchenko O. Proteolytic activity of rat blood plasma and liver under chronic alcohol intoxication	18
Antsukh G., Kutsenko T., Nasiedkin D., Pohrebna A. Study of interhemispheric interaction by the indices of event-related potentials.....	21
Stavniichuk A., Savchuk O., Abdul Hye Khan, Wojciech K. Jankiewicz, John D. Imig A sorafenib induced model of glomerular kidney disease	25
Hudz S., Skivka L. Peculiarities of formation of the eubacterial complex of winter wheat rhysosphere (<i>Triticum durum</i>) by different fertilization systems	31
Sovinska R., Dunich A., Mishchenko L. Affection of gladiolus plants with bean yellow mosaic virus, cucumber mosaic virus and tobacco ringspot virus in some northern and central regions of Ukraine.....	36
Fedorchuk S., Petrushevskyi Ye. The state of psychophysiological functions in handball players with different experience of sports training	42
Kot L., Yurchenko L., Shepeleva A., Dvorshchenko K. Activity of antioxidant enzymes in serum of rats under conditions of carrageenan-induced joint inflammation and prophylactic administration of chondroitin sulfate.....	46
Patsyuk M. The species composition of amoeba in epiphytic mosses of the Zhytomyr region	49
Krenytska D., Raksha N., Savchuk O. Analysis of peptide component of tissues under the condition of experimental obesity in rats.....	55
Kolosova O. Fatigue-induced modulation of human soleus H-reflex in conditions of pair tibial nerve stimulation in untrained and trained people	59
Korotkyi O., Kot L., Dvorshchenko K., Ostapchenko L. Oxidative modification of rat serum under experimental osteoarthritis and joint administration of chondroprotector and multiprobiotic.....	64

ДИСТИНКТИВНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОПУЛЯЦІЙ РОСЛИН *EX SITU*

До дистинктивних особливостей популяцій рослин ex situ (поза межами природних місцезростань) віднесено їхні розпізнавальні ознаки, що проявляються під час формування і розвитку груп особин переважно у процесі їхньої інтродукції та акліматизації. Проаналізовано досвід і практику вживання термінів щодо популяцій рослин ex situ. Узагальнено відомості, що стосуються штучно створених груп рослин. Наведено результати аналізу щодо визначення терміна "популяція рослин ex situ" та його вживання стосовно інтродукованих рослин. Подано перелік дефініцій, які використовуються для опису популяцій рослин у культур фітоценозах, зокрема: "вихідна популяція", "інтродукційна популяція", "інтродукована популяція", "інтродукційна ценопопуляція", "культурна популяція", "культивована популяція", "агро-популяція", "гібридна популяція", "штучна популяція", "експериментальна популяція", "спонтанна популяція". Зазначено, що для утворення популяцій рослин ex situ використовують методи моделювання, формування та копіювання. Відзначено, що популяції рослин ex situ можуть утворюватися і розвиватися самостійно, або формуватися штучно. Запропоновано схему розподілу популяцій рослин ex situ за ступенем генетичної цілісності, здатністю до самовідтворення, тривалістю існування, розмірами, етапом розвитку, місцем і стилем формування вихідної популяції. Відзначено, що групи генетично однорідних особин рослин штучних угруповань, які вільно схрещуються між собою та тривалий час відтворюють нащадків, можна характеризувати як популяції рослин ex situ. Такі популяції є наслідком цілеспрямованої діяльності людини з інтродукції та культивування рослин і зазвичай вони залежать від антропогенного впливу. Дослідження їхньої структури та динаміки – необхідна умова прогнозування й оцінки успішності інтродукції та запобігання загроз спонтанного поширення й неконтрольованої, небажаної натуралізації рослин у нових умовах зростання.

Ключові слова: інтродукція, популяція рослин *ex situ*, інтродукційна популяція, дистинктивні особливості, культурфітоценоз.

Вступ. Одними з головних напрямів діяльності ботанічних садів та дендропарків є інтродукція та збереження різноманітності рослин. Вивчення принципів утворення та сучасного стану популяцій інтродуцентів, перспектив їхнього подальшого розвитку в культурфітоценозах є важливим й актуальним завданням для теорії і практики інтродукції рослин, як із позицій успішності введення в широку культуру, вирощування, селекції, збереження рослин та збагачення фіторізноманітності, так і в розрізі всебічного дослідження адвентизації флори. Донині накопичено значний досвід збереження рослин *ex situ*, вивчення особливостей їх росту, розвитку, розмноження у культурфітоценозах, однак узгодженого підходу до визначення термінів і понять, що мають концептуальне значення для висвітлення суті досліджуваної проблематики, досі не обґрунтовано.

Популяційний підхід у вивченні рослин наразі є досить поширеним, оскільки, згідно з біологічною концепцією, вид розглядають як систему популяцій, тобто елементарною складовою виду є не окрема особина, а популяція зі спільним генофондом [10, 33]. При цьому кожна популяція сформована групою особин, які мають спільне походження, подібні за фенотипом і географічно відмежовані від інших популяцій цього виду. Зміст популяційного підходу полягає в тому, що популяція є цілком реальною та конкретною формою співіснування особин. Відомо, що окремий організм не здатен довго жити й існувати самостійно. Саме популяційний рівень інтеграції живої матерії дозволяє організмам виживати, пристосовуватись, відтворюватись, опановувати певний ресурс або захоплювати новий життєвий простір, підтримуючи існування [13].

Зауважимо, що існують різні підходи до виділення і класифікації популяцій як угруповань у межах виду. У роботах Т. О. Работнова [29] й О. О. Уранова [31] прийнято поняття ценотичної популяції або ценопопуляції, тобто сукупності особин одного виду в межах ценозу. Такий підхід найчастіше застосовують для оцінки структури і динаміки популяцій рослин, зокрема й інтродукованих. З позицій популяційної генетики, найчастіше використовують історико-генетичний [34], генетико-еволюційний [37], генетичний і генетико-селекційний підходи [17, 30]. У сучасних еволюційних теоріях популяцію вважають елементарною одиницею еволюційного процесу [24].

Популяційна структура характерна для усіх видів, але при цьому розрізняють типи популяцій, використовуючи критерії, що відображають різні сторони їхньої взаємодії із середовищем. Зокрема, за способом розмноження і ступенем генетичної цілісності популяції ділять на панміктичні (з перехресним запиленням, найбільш цілісні), клональні і клонально-панміктичні. Залежно від розмірів займаної території виділяють три типи популяцій: локальну, екологічну та географічну. За здатністю до самовідтворення розрізняють постійні і тимчасові популяції. Постійні популяції можуть бути незалежними, що не потребують надходження особин ззовні для підтримки своєї чисельності, і напівзалежними, коли поповнення істотно підвищує чисельність популяції, але вони можуть зберігатися і без нього. Тимчасові популяції можуть різнитися, однак загальною їхньою рисою є зменшення чисельності без поповнення ззовні [2]. Як особливу групу розглядають популяції клонових рослин, вважаючи співвідношення чисел рамет і генет важливим показником стану ценопопуляції [22].

То що ж таке популяція в умовах *ex situ*, зокрема при інтродукції? Чи слід відрізняти популяції, утворені природним шляхом від сформованих людиною популяцій інтродукованих рослин? Які принципи виділення та формування таких популяцій? Ці питання неодмінно постають в інтродукційній практиці під час первинного випробування та подальшого введення в широку культуру нових видів рослин.

Як вже зазначалося, майже всі визначення терміна "популяція" стосуються біологічних видів. Зазначеної концепції найчастіше дотримуються також дослідники, які описують популяції інтродукованих рослин у ботанічних садах і дендропарках. Зокрема, М. А. Павлова пропонує розглядати популяції рослин-інтродуцентів, як локальні [26]. Р. І. Пельтіхіна та Т. Г. Орлова вживають для опису популяцій квітниково-декоративних рослин у штучних фітоценозах два терміни: "інтродукційна популяція" та "культурна популяція", не дають для них конкретних визначень, однак характеризують їхню вікову структуру та цільність [27]. О. М. Байрак використовує поняття "культивовані популяції" [1].

Групи інтродукованих видів рослин на модельних ботаніко-географічних ділянках в НБС імені М. М. Гришка

та в інших установах, які характеризуються гомеостатичністю, визначають як "інтродукційні популяції" або "інтродукційні ценопопуляції" [7, 9, 14, 18, 21, 35].

Термін "інтродукційна популяція" вперше був використаний для деревних рослин В. Некрасовим у 1971 р. і зараз досить широко вживається стосовно рослин різних життєвих форм. Автор зазначав, що при інтродукції за межі природного ареалу штучно створюється географічна ізоляція виду, що згодом впливає на його генотиповий склад. При цьому куртинні посадки і поодинокі дерева, які вирощуються в ботанічних садах і дендраріях із насіння, отриманого з місць природного ареалу виду, є штучно ізольованими фрагментами природних популяцій. В. Некрасов стверджував: "у нових умовах ... склад і будова інтродукційної популяції може зазнати значних змін" і вважав інтродукційну популяцію "еволюючою одиницею у процесі акліматизації". Автор підкреслює, що початковий етап інтродукції представників природної флори полягає у вирощуванні групи рослин за межами природного ареалу виду, а завершальний – входження інтродуцента до складу місцевої флори, тобто його "зди́чавіння". На думку В. Некрасова, у тих випадках, коли всі інтродуковані особини є малостійкими в нових умовах середовища і не можуть дати нащадків, формування інтродукційної популяції не відбувається [23].

Входження інтродукованих рослин до складу місцевої флори, тобто їхнє "зди́чавіння", є певною ознакою того, що процес інтродукції виходить з-під контролю людини і відбувається натуралізація, інакше кажучи, повне пристосування інтродуцентів до нових умов життя. Якщо розглядати "натуралізацію" як природне явище, не пов'язане із цілеспрямованою діяльністю людини, утворені внаслідок цього популяції можна вважати спонтанними. Утворення спонтанних популяцій полягає в повному закріпленні акліматизованого виду (інтродуценту, чужорідного чи адвентивного виду, іммігранту, антропофіту) у новому для нього регіоні, повне входження до нової, раніше чужорідної екосистеми, з опануванням властивої йому флористичної ніші. Для чужорідного виду необхідним є певний час для адаптації до місцевих умов і набуття певного критичного обсягу гено- та фенотипової мінливості, формування репродуктивної здатності та інших властивостей. Це явище вважають звичним у процесі міграції чужорідних видів [3].

У багатьох наукових джерелах європейських країн та США питання інтродукції рослин розглядається переважно в сенсі аналізу глобальних загроз біологічному різноманіттю, зокрема через вторгнення інвазійних видів. Аналіз поширення таких видів дає можливість дослідити біологію популяцій, а також генетичні процеси, які в них відбуваються, що має важливе значення для розвитку синтетичної теорії еволюції, оскільки саме популяція є одиницею еволюції [38–41].

Найважливішою властивістю існування інтродукційної популяції, на відміну від природної, є антропогенно сформовані вихідні та надалі підконтрольні їй основні параметри [25]. Штучні рослинні угруповання, що створюються за участі людини, визначаються поняттями "культу́рфітоценоз" та "агрофітоценоз". Обґрунтовуючи поняття "культу́рфітоценоз", Ю. Бялович [5] визначав його як сукупність культурних рослин, що характеризується певними взаєминами рослин між собою, із середовищем, на які накладаються реакції ландшафту та комплекси цілеспрямованих рослинницьких заходів людини. Водночас М. Камишев доводить, що посіви культурних рослин є своєрідними рослинними угрупованнями або агрофітоценозами і визначаються як штучно створені та підтримувані людиною рослинні угруповання у

вигляді посівів чи насаджень культур [16]. У більшості випадків обов'язковими компонентами агрофітоценозу є бур'яни, що обумовлює застосування агротехнічних заходів, які визначають взаємозв'язок між рослинами та ґрунтово-екологічними умовами їхнього росту.

Особливістю практично більшості видів культурних рослин є їхня низька конкурентна стійкість і висока вимогливість до умов зростання. Внаслідок цього популяції культурних рослин зазвичай нестабільні і можуть існувати лише за рахунок підтримуючих заходів, що здійснюються людиною. Уразливими популяції культурних рослин робить монокомпонентність, одночасність проходження ними етапів онтогенезу й одноярусність. В агрофітоценозі завжди залишаються вільні екологічні ніші, що займають бур'яни. Міжвидові відносини рослин є самостійною проблемою фітоценології, що вивчає їх на рівні видів рослин. У ценопопуляційних дослідженнях завдання інше – встановити значення між популяційних відносин для стану особин рослин й особливостей популяцій.

У практичній селекції під популяцією розуміють групу особин, що мають спадкові відмінності [11]. Досить часто сорт рослин розглядають як штучно відібрану групу рослин (клон, лінія, гібрид першого покоління, популяція), що може траплятися в межах одного й того самого ботанічного таксону із притаманними їм біологічними ознаками та властивостями, які зазвичай характеризують їхню генетичну спадковість [8, 15, 28]. Зокрема, сорт-популяція – це сорт самозапилювальної чи перехреснозапилювальної культури, що отримана шляхом масового відбору і є сукупністю спадково-неоднорідних рослин. Сорт-популяція є основою популяційного сортоведення – використання місцевих диких популяцій виду (екотипів, кліматипів, виділених у географічних культурах, популяцій форм, перевірених за нащадками популяцій плюсових насаджень, а також інтродуцентів) як сортів, зокрема, при лісорозведенні. Складну гібридну популяцію рослин із перехресним запиленням, що вирощується у виробництві, називають синтетичним сортом (потомством багатолінійного гібриду, що отриманий на основі 4–10 і більше простих гібридів) [20, 11]. У деяких роботах під інтродукційною популяцією розуміють колекцію генотипів одного виду рослин (зокрема, плодкових культур чи декоративних), які є основою для подальшої селекції [6, 12, 32, 36].

Існування популяцій гібридів та їхніх нащадків у культу́рфітоценозах є об'єктивною реальністю, оскільки в умовах інтродукції великої кількості споріднених рослин різних видів і форм на обмеженій території створюються "гібридні зони" і важко уникнути вільного схрещування особин, або таке схрещування є метою інтродукції з подальшою селекцією культиварів за бажаною ознакою. Гібридні популяції, отримані внаслідок гібридизації, є вихідним матеріалом для селекціонерів. Отже, групи споріднених особин, що мають найбільшу фенотипову і генотипову схожість, вільно схрещуються між собою та дають нащадків тривалий час в умовах *ex situ*, можна вважати популяціями.

Результати та їхнє обговорення. Аналізуючи процес формування інтродукційних популяцій рослин, базуючись на загальних закономірностях популяційної біології та даних літературних джерел, усвідомлюючи, що популяція є елементарною одиницею існування виду, пропонуємо для опису груп рослин *ex situ*, утворення яких пов'язане із цілеспрямованою діяльністю людини, використовувати такі означення (наводимо також їхні близькі англомовні відповідники):

"Вихідна популяція" (*initial population, parent population, founding population*) – популяція, що є джерелом, вихідним матеріалом для досліджень, зокрема селекційних.

Така популяція може бути однорідною (фрагментом однієї локальної природної популяції), або гетерогенною (складеною особинами різного походження).

"Локальна популяція" (*local population, dem*) – популяція, сформована невеликою кількістю екземплярів, відносно ізольованих від інших особин виду, для яких характерне вільне схрещування. Такі групи можуть бути нащадками кількох особин. Окремі локальні популяції відрізняються одна від одної за певними морфологічними ознаками і є динамічними.

"Інтродукційна популяція" (*managed population, introductive population*) – сукупність інтродукованих особин одного виду (форми, сорту, культури) на певній території, що здатна до самостійного відтворення (як статевого, так і безстатевого), яка утворила *ex situ* два та більше поколінь.

"Інтродукційна ценопопуляція" (*seminatural population, introductive coenotic population*) – сукупність інтродукованих особин одного виду на певній території в межах одного й того самого синтаксону (напівприродна, інтродукційна популяція в межах напівкультурного чи окультуреного культурфітоценозу).

"Інтродукована популяція" (*introduced population*) – модель природної популяції, що штучно сформована з різних особин (за походженням, фенотипом, віком тощо) одного ботанічного виду (таксону) та їхніми нащадками, подібна за структурою (віковою, онтогенетичною, статевою) до природних популяцій, або перенесена людиною в інші умови природна популяція.

"Культурна популяція" (*cultivated populations*) – сукупність особин одного виду (таксону), яка тривалий час вирощується як багаторічна монокультура (польова культура), що самостійно або за втручання людини багаторазово відтворюється та розмножується.

"Культивована популяція" або **"агропопуляція"** (*cultivatedfield population, agro population*) – популяція культурної рослини, бур'яну в межах однорідної ділянки агроєкосистеми, що характеризується розміром (чисельністю, щільністю, ступенем диференціації особин). Щільність агропопуляції формують з таким розрахунком, щоб підтримувати режим конкуренції, сприятливий для культурних рослин.

"Гібридна популяція" (*hybrid population*) – сукупність генетично різних (спадково відмінних) особин, отриманих внаслідок схрещування батьківських форм (гібридизації).

"Штучна популяція" (*artificial population*) – група особин, сформована у штучних (лабораторних чи інших) умовах для будь-яких експериментів.

"Експериментальна популяція" (*experimental population*) – реальна група особин, серед яких проводиться випробування, або здійснюється штучний вплив, що модифікує її розмір, генетичну чи вікову структуру, а також біотичне чи абіотичне середовище існування.

"Спонтанна популяція" (*spontaneous population*) – група особин, що утворилась внаслідок спонтанного поширення, не пов'язаного із цілеспрямованою діяльністю людини. Утворення спонтанних популяцій полягає в повній натуралізації акліматизованих рослин у новому для нього регіоні, входження до нової, раніше чужорідної екосистеми, з опануванням властивої йому флористичної ніші.

Для створення популяцій інтродукованих рослин користуються методами моделювання (висаджують особини, моделюючи найпростішу чи типову вікову та просторову структуру ценопопуляції виду у природі), формування (залучають особини однієї-двох вікових груп або їхні частини, здатні до переселення), або копіювання (перенесення цілої або частини природної популяції зі

збереженням її структури). Синтетичний метод формування передбачає інтродукцію виду у формі чисельних зразків із різних природних популяцій.

Популяції інтродукованих рослин можуть розвиватись самостійно без впливу людини (спонтанно поширюватись самосівом чи вегетативно) або формуватись штучно (шляхом посадки, підсадки чи підсіву особин). Умовою успішного розвитку таких популяцій є підбір близьких до оптимальних умов зростання та дотримання заходів спеціального догляду за ними.

Отже, популяції інтродукованих рослин можуть поділятися:

- за ступенем генетичної цілісності: панміктичні, клональні, клонально-панміктичні або гібридні;
- за здатністю до самовідтворення: постійні (гомеостатичні), тимчасові, або псевдопопуляції (не здатні до самовідтворення);
- за тривалістю існування: тривалі, короточасні, тимчасові.
- за площею: карликові (мікропопуляції), середні, великі, надвеликі;
- за чисельністю: нечисленні, численні;
- за етапом розвитку: молоді (складаються переважно із вихідної популяції та її нащадків), зрілі (гомеостатичні, є багаторічне самопідтримання), старіючі (знижена здатність до самопідтримання, переважають постгенеративні особини);
- за стилем формування вихідної популяції: насадження (плантації трав'янистих рослин, лісові культури, сади), посіви, змішані.

Висновки. Опрацювання теоретичних основ інтродукції, зокрема встановлення закономірностей формування стійких груп інтродуцентів, є важливим напрямом діяльності ботанічних садів і дендропарків, оскільки створює передумови для успішної практичної інтродукції, формування стійких рослинних угруповань та поліпшення якості і тривалості існування зелених насаджень. Інтродукція дає можливість вивчення рослин *ex situ*, передбачає пошук нових сільськогосподарських, декоративних, лікарських, плодових та інших рослин з метою оцінки їхньої подальшої перспективності використання та введення в культуру, або селекції для створення нових адаптивних і високопродуктивних гібридів і сортів, а також можливостей широкого вирощування природних видів рослин з метою їхнього збереження.

Популяції рослин *ex situ* можуть бути різноманітними і відрізнятися за ступенем генетичної цілісності, здатністю до самовідтворення, тривалістю існування, розмірами, етапом розвитку, місцем і способом формування вихідної популяції тощо. Такі популяції є наслідком цілеспрямованої діяльності людини з інтродукції та культивування рослин. Вони можуть утворюватися і розвиватись самостійно, або формуватись штучно, але зазвичай лишаються під антропічним впливом і залежні від нього. Антропозалежність є головною дистинктивною ознакою, що відрізняє їх від природних. Дослідження структури та динаміки популяцій рослин *ex situ* є необхідною умовою прогнозування й оцінки успішності інтродукції та запобігання загроз спонтанного поширення рослин-інтродуцентів і неконтрольованої їхньої натуралізації у нових умовах зростання.

Розкриття змісту інтродукції рослин як науки, що використовує дані багатьох біологічних, аграрних і лісівничих дисциплін, потребує подальшого уточнення та деталізації з метою формування методологічних основ інтродукційних досліджень та чіткого застосування понять і термінів у цій галузі.

Список використаних джерел:

- Байрак О. М. Ефемероїди: природні та культивовані популяції / О. М. Байрак, І. А. Грицай // Жива Україна. 2009. – № 1–2. – С. 7–13.
- Беклемишев В. Н. Пространственная и функциональная структура популяций / В. Н. Беклемишев // Бюллетень МОИП. Отд. биол. – 1960. – Т. 65, № 2, С. 41–50.
- Бурда Р. И. Интродукция растений: окультуривание и натурализация / Р. И. Бурда // Промышленная ботаника. – 2013. – Вып. 13. – С. 3–15.
- Бяллович Ю. П. Введение в культурфитоценологию / Ю. П. Бяллович // Советская ботаника. – 1936. – № 2. – С. 21–36.
- Бяллович Ю. П. К теории фитокультурных ландшафтов / Ю. П. Бяллович // Известия ГГО. – 1939. – № 4–5. – С. 559–587.
- Володько И. К. Новые сорта рододендронов селекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси / И. К. Володько, В. Л. Филиппеня, Ж. Д. Альферович // Hortusbot. – 2016. – Т. 11. – С. 50–56.
- Галоненко Н. Б. Формирование интродукционных популяций растений как способ сохранения редкого флорифонда / Н. Б. Галоненко, А. Н. Гнатюк // Бюллетень Ботанического сада-института ДВО РАН (Бюлл. БСИ). – 2016. – Вып. 15. – С. 13–15.
- Горнісевич А. Правова охорона сортів рослин в Україні / А. Горнісевич // Інтелектуальна власність. – 2002. – № 7–8. – С. 10–17.
- Гриценко В. В. Интродукційні ценопопуляції раритетних видів рослин, внесених до Червоної книги України, в степовому культурфитоценозі / В. В. Гриценко // Флорологія та фітосоціологія. – 2014. – Т. 3–4. – С. 276–281.
- Гродзинский А. М. Популяционный подход при интродукции растений / А. М. Гродзинский // Бюллетень Главного бот. сада АН СССР. – 1986. – Вып. 140. – С. 29–33.
- Гуляев Г. В. Словарь терминов по генетике, цитологии, селекции, семеноводству и семеноведению / Г. В. Гуляев, В. В. Мальченко. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Россельхозиздат, 1983. – 240 с.
- Злобин Ю. А. Популяционная экология растений: современное состояние, точки роста: монограф. – Сумы : Университетская книга, 2009. – 263 с.
- Ігнатюк О. А. Основні екологічні принципи та концепції / О. А. Ігнатюк. – К. : НТУУ КПІ, 2006. – 268 с.
- Калашнікова Л. В. Моніторингові дослідження інтродукційної популяції *Staphylea pinnata* L. у фітоценотичних умовах дендропарку "Олександрія" / Л. В. Калашнікова // Науковий вісник НЛТУ України. – 2016. – № 26 (3). – С. 81–87.
- Камелин Р. В. Биотехнологическое разнообразие и интродукция растений / Р. В. Камелин // Растительные ресурсы. – 1997. – Т. 33. – Вып. 3. – С. 1–11.
- Камышев Н. С. Пашенные сочетания как фитоценозы / Н. С. Камышев // Труды Воронеж. ун-та. Ботан. отдел. – 1939. – Т. 11. – Вып. 2. – С. 33–62.
- Коршиков И. И. Популяционно-генетические проблемы дендротехногенной интродукции / И. И. Коршиков, Н. С. Терлыга, С. А. Бычков. – Донецк, 2002. – 328 с.
- Кушнір Н. В. Стан інтродукційних популяцій видів роду *Crocus* L. (Iridaceae) флори України в умовах Києва" / Н. В. Кушнір // Флорологія та фітосоціологія. – К. : Фітон, 2014. – Т. 3–4. – С. 89–93.
- Левченко В. И. Правовая охрана селекционных достижений / В. И. Левченко. – М. : Наука, 1983. – 168 с.
- Любавская А. Я. Лесная селекция и генетика: учеб. / А. Я. Любавская. – М. : Лесная промышленность, 1982. – 285 с.
- Моделювання інтродукційних популяцій як метод охорони рідких видів рослин *ex situ* / В. І. Мельник, В. В. Гриценко, Н. В. Кушнір, Ю. М. Неграш // Доповіді Національної академії наук України. – 2018. – № 8. – С. 91–97.
- Миркин Б. М. Современная наука о растительности: учеб. / Б. М. Миркин, Л. Г. Наумова, А. И. Соломещ. – М. : Логос, 2001. – 264 с.
- Некрасов В. И. Некоторые теоретические вопросы формирования интродукционных популяций лесных древесных пород / В. И. Некрасов // Лесоведение. – 1971. – № 5. – С. 26–31.
- Основи еволюційної теорії: навч. посіб. з дисципліни "Біологія розвитку та основи еволюційної теорії" для студ. спец. 162 – Біотехнології та біоінженерія спеціалізації "Промислова біотехнологія" / укл.: О. Ю. Галкін, Л. О. Тітова. – К. : КПІ імені Ігоря Сікорського, 2018. – 121 с. (електрон. вид.).
- Остапко В. М. Интродукционная популяция как объект исследования / В. М. Остапко, А. И. Хархота // Интродукция и акклиматизация растений. – 1995. – Вып. 22. – С. 9–13.
- Павлова М. А. Формирование интродукционных популяций некоторых видов рода *Ornithogalum* L. / М. А. Павлова // Промышленная ботаника. – 2010. – Вып. 10. – С. 90–95.
- Пельтихина Р. И. Интродукционные популяции цветочно-декоративных растений в экспозиции донецкого ботанического сада "Скальный сад" / Р. И. Пельтихина, Т. Г. Орлова // Промышленная ботаника. – 2002. – Вып. 2. – С. 81–86.
- Підпригора О. А. Проблеми цивільно-правового захисту права інтелект власності / О. А. Підпригора // Інтелект. Капітал. – 2002. – № 2. – С. 4–9.
- Работнов Т. А. Фитоценология // Т. А. Работнов. – 2-е изд. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1983. – 296 с.
- Рахметов Д. Б. Теоретичні та прикладні аспекти інтродукції рослин в Україні: монограф. / Д. Б. Рахметов. – К. : "Аграр Медіа Груп", 2011. – 398 с.
- Уранов А. А. Растения и среда / А. А. Уранов // Жизнь растений. – М. : Изд. "Просвещение", 1974. – Т. 1. – С. 58–86.
- Формирование устойчивых интродукционных популяций. Абрикос, черешня, черемуха, жимолость, смородина, арония: к 60-летию Глав. ботан. сада им. Н. В. Цицина РАН / А. К. Скворцов [и др.]; отв. ред. А. С. Демидов; РАН, Глав. ботан. сад им. Н. В. Цицина. – М. : Наука, 2005. – 186 с.
- Царик Й. В. Популяційна екологія – здобутки й перспективи / Й. В. Царик // Біологічні студії / *Studia Biologica*. – 2011. – № 3. – С. 171–182.
- Шварц С. С. Эволюционная экология животных / С. С. Шварц. – Свердловск: АН СССР, 1969. – 200 с.
- Шиндер О. І. Інтродукційні популяції *Scopolia carniolica* Jacq. (Solanaceae) різного географічного походження у Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України / О. І. Шиндер, Ю. М. Неграш, О. Р. Баранський // Інтродукція рослин. – 2014. – № 3. – С. 15–21.
- Шумик М. І. Інтродукційна популяція як головний елемент у формуванні ботанічних експозицій та оптимізації урбанізованих екосистем / М. І. Шумик // Науковий вісник НЛТУ України. – 2016. – Вип. 26.3. – С. 208–216.
- Яблоков А. В. Популяционная биология / А. В. Яблоков. – М. : Высш. школа, 1987. – 303 с.
- Allendorf Fred W. Introduction: Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species / Allendorf Fred W., Lundquist Laura L. – Conservation Biology, 2003. – Vol. 17. – No. 1. – P. 24–30.
- Invasions: the trail behind, the path ahead, and a test of a disturbing idea / A. T. Moles, H. Flores-Moreno, S. P. Bonser et al. // *Journal of Ecology*. – 2012. – No. 100. – P. 116–127.
- Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States / D. Pimentel, L. Lach, R. Zuniga, D. Morrison // *BioScience*. – 2000. – Vol. 50, No. 1. – P. 53–65.
- Walker B. An overview of the implications of global change for natural and managed terrestrial ecosystems / B. Walker, W. Steffen // *Conservation Ecology*. – 1997. – 1(2). – P. 1–14.

References:

- Bayrak O. M., Grytsai I. A. Ephemeroids: Natural and Cultivated Populations. Live Ukraine, 2009; 1–2: 7–13.
- Beklemishev V. N. Spatial and functional structure of population. MOIP Bulletin. Department of Biology. 1960; 2 (65): 41–50.
- Burda R. I. Plant introduction: cultivation and naturalization. Industrial Botany. 2013; 13: 3–15.
- Byalovich Yu. P. Introduction to cultural phytocenology. Soviet botany. 1936; 2: 21–36.
- Byalovich Yu. P. Theory of fitokulturny landscapes. Proceedings of GGO. 1939; 4–5: 559–587.
- Volodko I. K., Filipenko V. L., Alferovich J. D. New Rhododendron varieties of Selection of the Central Botanical Garden of the NAS of Belarus. Hortusbotanicus. 2016; 11, doi: 10.15393/4.art.2016.3422
- Gaponenko N. B., Gnatyuk A. N. Formirovaniie ntroduktsionnyih populyatsiy rasteniy kak sposob sohraneniya raritetnogo florfonda. Byulleten Botanicheskogo sada-instituta DVO RAN (Byull. BSI). 2016; 15: 13–15.
- Gornisevich A. Legal protection of plant varieties in Ukraine. Intellectual property. 2002; 7–8: 10–17.
- Gritsenko V. V. Introduced cenopopulations of the rare species of plants, brought in the Red Data Book of Ukraine, in steppe culturphytocoenose. Phlorology and phytosoology. 2014; 3–4: 276–281.
- Grodzinskiy A. M. A population-based approach to plant introduction. Bulletin of the Main Botanical Garden of the USSR Academy of Sciences. 1986; 140: 29–33.
- Gulyaev G. V., Malchenko V. V. Dictionary of terms in genetics, cytology, breeding, seed production and seed science. M. : Rosselkhoizdat. 1983. 240 p.
- Zlobin Yu. A. Populyatsionnaya ekologiya rasteniy: sovremennoe sostoyanie, tochki rosta: monografiya. Sumyi; Universitetskaya kniga, 2009. 263 p.
- Ignatyuk O. A. Basic environmental principles and concepts. K.: NTUU "KPI", 2006. 268 p.
- Kalashnikova L. Monitoring studies of introduction of *Staphylea pinnata* L. population in phytocoenotic conditions in Alexandria Dendropark. Scientific Bulletin of UNFU. 2016; 26 (3): 81–87.
- Kamelin R. V. Biotechnologicheskoe raznoobrazie introduktsiya rasteniy. Rastitelnyie resursy. 1997; 33(3): 1–11.
- Kamyshchev N. S. Pashennyye sochetaniya kak fitocenozy. Trudy Voronezh. un-ta. Botan. otdel. 1939; 11 (2): 33–62.
- Korshikov I. I., Terlyga N. S., Bykov S. A. Population-genetic problems of dendrotechnogenic introduction. Donetsk: OOO "Lebed", 2002. 328 p.
- Kushnir N. V. The status of introductory populations of species of the genus *Crocus* L. (Iridaceae) of the flora of Ukraine in Kyiv. Phlorology and Phytosoology. 2014; 3–4: 89–93.
- Levchenko V. I. Pravovaya ohrana selektsionnyh dostizheniy. M. : Nauka, 1983. 168 p.
- Lyubavskaya A. Ya. Forest breeding and genetics. M. : Lesnaja promishlennost, 1982. 285 p.
- Melnik V. I., Gritsenko V. V., Kushnir N. V., Negrash Yu. M. Modeling of introduction populations as a method of ex situ protection of rare

species of plants. Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2018; 8: 91–97.

22. Mirkin B. M., Naumova L. G., Solomesch A. I. Modern science of vegetation: a textbook. M.: Logos, 2001. 264 p.

23. Nekrasov V. I. Some theoretical foundations of the formation of introduction populations of forest woody plants. Forestry. 1971; 26–30.

24. Galkin O. Ju., Titova L. O. Fundamentals of Evolutionary Theory: Textbook of the subject "Biology of Development and Fundamentals of Evolutionary Theory" for students of specialty 162. Biotechnology and Bioengineering specialization "Industrial Biotechnology". K.: Igor Sikorsky KPI, 2018. 121 p.

25. Ostapko V. M., Harhota A. I. Introduction population as an object of study. Introduction and acclimatization of plants. 1995; 22:9–13.

26. Pavlova M. A. The formation of introduction populations of some species of the genus *Ornithogalum* L. Industrial botany. 2010; 10: 90–95.

27. Peltikhina R. I., Orlova T. G. Introduction populations of flower ornamental plants in the exposition of the Donetsk Botanical Garden "Rock Garden". Industrial Botany. 2002; 2: 81–86.

28. Pidoprigora O. A. Problems of Civil Defense of Intellectual Property Law. Intellect. Capital. 2002; 2: 4–9.

29. Rabotnov T. A. Fitocenologiya. Moskva, 1983. 296 p.

30. Rakhmetov D. B. Theoretical and applied aspects of plant introduction in Ukraine: monograph. K.: Agrar Media Group, 2011. 398 p.

31. Uranov A. A. Plants and environment. Plant life. 1. M.: "Enlightenment". 1974. P. 58–86.

32. The formation of sustainable introduction populations. Apricot, cherry, bird cherry, honeysuckle, currant, chokeberry: to the 60th anniversary of the N. V. Tsitsin Main Botanical Garden]. RAS A. K. Skvortsov et al.; open ed. A. S. Demidov; RAS, Head. nerd. garden them. N. V. Tsitsina. M.: Nauka. 2005. 186 p.

33. Tsarik Y. V. Population Ecology – Achievements and Prospects. Studia Biologica. 2011; 5(3): 171–182.

34. Schwartz S. S. The evolutionary ecology of animals. Sverdlovsk: Academy of Sciences of the USSR. 1969. 200 p.

35. Shinder O. I., Negrash Yu. M., Baransky O. R. Introductory populations of *Scopolia carniolica* Jacq. (Solanaceae) of different geographical origin in the M. M. Gryshko National Botanical Garden. NAS of Ukraine. Plant introduction. 2014; 3: 15–21.

36. Shumik M. I. Introductory population as a major element in the formation of botanical exposures and optimization of urban ecosystems. Scientific Bulletin of NLTU Ukraine. 2016; 26(3): 208–216.

37. Yablokov A. V. Population biology. M.: Higher. school. 1987. 303 p.

38. Allendorf F. W., Lundquist L. L. Introduction: Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species Conservation Biology. 2003; 17(1): 24–30.

39. Moles A. T., Flores-Moreno H., Bonser S. P. et al. Invasions: the trail behind, the path ahead, and a test of a disturbing idea. Journal of Ecology. 2012; 100:116–127.

40. Pimentel D. L., Zuniga L. R., Morrison D. Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. BioScience. 2000. Vol. 50, No.1. P. 53–65.

41. Walker B., Steffen W. An overview of the implications of global change for natural and managed terrestrial ecosystems. Conservation Ecology. 1997; 1(2):1–14.

Надійшла до редколегії 10.04.2020
Отримано виправлений варіант 11.05.2020
Підписано до друку 11.05.2020

Received in the editorial 10.04.2020
Received a revised version on 11.05.2020
Signed in the press on 11.05.2020

М. Гапоненко, канд. биол. наук,
А. Гнатюк, канд. биол. наук,

Д. Рахметов д-р с.-г. наук

Национальный ботанический сад имени Н. Н. Гришко НАН Украины, Киев, Украина

ДИСТИНКТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ РАСТЕНИЙ EX SITU

К дистинктивным особенностям популяций растений *ex situ* (вне природных мест обитаний) отнесены их отличительные признаки, проявляющиеся во время формирования и развития групп особей преимущественно в процессе их интродукции и акклиматизации. Проанализированы опыт и практика употребления терминов, относящихся к характеристике популяций растений *ex situ*. Обобщены сведения, касающиеся искусственно созданных групп растений. Приведены результаты анализа употребления термина "популяция растений *ex situ*" в отношении интродуцированных растений. Перечислены дефиниции понятий, используемых для описания популяций растений в культурфитоценозах, в частности: "исходная популяция", "интродукционная популяция", "интродуцированная популяция", "интродукционная ценопопуляция", "культурная популяция", "культивируемая популяция", "агропопуляция", "гибридная популяция", "искусственная популяция", "экспериментальная популяция", "спонтанная популяция". Отмечено, что для образования популяций растений *ex situ* используются методы моделирования, формирования и копирования. Отмечено, что популяции растений *ex situ* могут образовываться и развиваться самостоятельно, либо формироваться искусственно. Предложена схема распределения популяций растений *ex situ* по степени генетической целостности, способности к самовоспроизведению, продолжительности существования, размеру, этапам развития, местом и стилем формирования исходной популяции. Отмечено, что группы генетически однородных особей растений искусственных группировок, которые свободно скрещиваются между собой и длительное время воспроизводят потомков, можно характеризовать как популяции растений *ex situ*. Такие популяции являются следствием целенаправленной деятельности человека по интродукции и культивированию растений и как правило зависят от антропогенного воздействия. Исследование их структуры и динамики – необходимое условие прогнозирования и оценки успешности интродукции и предупреждения угроз спонтанного распространения и неконтролируемой, нежелательной натурализации растений в новых условиях произрастания.

Ключевые слова: интродукция, популяция растений *ex situ*, интродукционная популяция, дистинктивные особенности, культурфитоценозы.

M. Gaponenko, Ph. D.,

A. Gnatiuk, Ph. D.,

D. Rakhmetov Dr. Sci.

M. M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

DISTINCTIVE FEATURES OF EX SITU PLANT POPULATIONS

Distinctive features of *ex situ* plant populations (outside natural habitats) are manifested during the formation and development of groups of individuals mainly in the process of their introduction and acclimatization. The experience and practice of using terms for *ex situ* plant populations has been analyzed. Information about artificially created plant groups is generalized. The results of the analysis concerning the definition of the term "ex situ plant population" and its use in relation to introduced plants are presented. The list of definitions for the following terms are given: "initial population", "introductory population", "introductory coenotic population", "introduced population", "cultivated populations", "agro population", "cultural population", "hybrid population", "artificial population", "experimental population", "spontaneous population". It has been stated that modeling, forming and copying methods are used to form *ex situ* plant populations. It has been noted that *ex situ* plant populations can be formed and developed independently or artificially formed. The scheme of distribution of *ex situ* plant populations by the degree of genetic integrity, ability to reproduce, duration of existence, size and stage of development, place and style of formation of the initial population is proposed. It has been established that groups of genetically homogeneous individuals of artificial plant groups that freely cross each other and for a long time reproduce offsprings can be characterized as populations. Such populations are the result of purposeful human activity on the introduction and cultivation of plants, and are largely dependent on anthropic influence. The study of their structure and dynamics is a prerequisite for predicting and evaluating the success of introductions and preventing threats of spontaneous propagation and uncontrolled, unwanted naturalization of plants under new growth conditions.

Keywords: introduction, plant population *ex situ*, introductory population, distinctive features, cultivar phytocenosis.

УДК 598.244

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.11-17

В. Казанник, пров. фах.,
О. Мартюшева, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
Н. Миленко, наук. співроб.
Національний природний парк "Пирятинський", Пирятин, Україна

РЕЗУЛЬТАТИ ОБЛІКІВ ЛЕЛЕКИ БІЛОГО (*CICONIA CICONIA* L.) У НАЦІОНАЛЬНОМУ ПРИРОДНОМУ ПАРКУ "ПИРЯТИНСЬКИЙ" ТА НА ПРИЛЕГЛІЙ ТЕРИТОРІЇ

Представлено результати моніторингу стану популяції лелеки білого (*Ciconia ciconia* L.), що був здійснений у національному природному парку "Пирятинський" та на прилеглій території протягом 2014–2019 рр. Було проведено облік гнізд у регіоні та досліджено їхній розподіл за типом розміщення, а також успішність розмноження. У різні роки нараховували від 86 до 102 гнізд, зайнятих лелеками. За шестирічний період спостережень середня кількість літніх пташенят на пару, що розмножувалась (JZa), склала $2,43 \pm 0,04$ ($n = 570$), а середня кількість літніх пташенят на успішну пару (JZm) – $2,75 \pm 0,04$ ($n = 502$). Частка неуспішних пар у середньому становила 10,07 % (% НРр). У різні роки успішність гніздування (частка пар, у яких виростили пташенята) коливалась від 78,43 % у 2017 р. до 98,94 % у 2015 р. Найбільшою є частка виводків із трьох (36,92 %) і двох (34,93 %) пташенят із гнізда, разом це становить 71,85 % виводків. Виводки із п'яти пташенят, що є максимальною величиною для досліджуваної території, зустрічаються нечасто і не щороку. Загалом за шість років таких гнізд було всього 4,44 % від загальної кількості. Протягом 2015–2016 рр. лелеки вивели меншу кількість пташенят, але набагато більш успішно виростили їх, ніж у попередній 2014 і наступні 2018–2019 рр. 2017 р. став найбільш несприятливим для розмноження лелек у регіоні парку – птахи виростили найменшу кількість пташенят, а частка неуспішних пар була найбільшою за роки спостережень. Усі знайдені гнізда лелеки білого розміщені поодинокі у межах населених пунктів. Птахи надають перевагу побудові гнізд на бетонних опорах ЛЕП (69,29 % від загальної кількості гнізд), інші типи розміщення менш поширені (деревя, бетонні опори ЛЕП, будівлі різних типів, водонапірні башти та штучні гніздовілі). По 10 і більше гнізд лелек зафіксовано у селах, які розташовані у заплаві р. Удай: Дейманівка, Повестин, Антонівка, Усівка та Каплинци. Середня щільність гнізд на населений пункт досягає $1,7 \pm 0,3$ на км².

Ключові слова: лелека білий, *Ciconia ciconia*, моніторинг, успішність розмноження, виводок, стан популяції, розміщення гнізд, національний природний парк "Пирятинський".

Вступ. Чисельність лелеки білого (*Ciconia ciconia* L.) протягом ХХ ст. практично повсюди у Європі скорочувалась, але у кінці 1980-х – на початку 1990-х рр. почалося її швидке зростання [9, 13, 15]. Цей же тренд спостерігають останніми десятиліттями в Україні – чисельність лелеки білого збільшується, проте швидкість цього зростання падає [5].

Довготермінові дослідження популяційної динаміки білого лелеки демонструють досить значні флуктуації чисельності, коли навіть довгі періоди її стабільності або зростання змінюються різким зменшенням на певних територіях [1, 12]. Також останнім часом відмічають зміни в уподобаннях птахів під час вибору місць розташування гнізд [10, 11]. Успішність гніздування лелек також змінюється в широких межах і корелює із кліматичними умовами, як на територіях гніздування, так й, особливо, на територіях зимівлі [8, 9].

Отже, моніторинг чисельності є дуже важливим для контролю за станом популяції та розробки заходів з охорони лелек, а з огляду на те, що лелека білий як вид відповідає ряду критеріїв виду-індикатора, важливого значення набувають моніторингові дослідження стану популяції навіть на невеликих ділянках території.

Національний природний парк "Пирятинський", що розташований у зоні помірного зволоження та характеризується великою різноманітністю природних оселищ, має ряд особливостей, що робить його цікавою та зручною територією для дослідження популяції лелеки білого. Він має розділену структуру та складається зі зближених кластерів (відстань між якими до 1 км), розташованих у долині р. Удай. Таке розміщення у поєднанні з чисельними населеними пунктами в оточенні природоохоронних ділянок забезпечує наявність та більш-менш рівномірний розподіл як кормових угідь, так і місць гніздування білого лелеки. Таким чином, створюються умови, сприятливі для успішного розмноження і відтворення його популяції, що дає можливість використання

даних багаторічних обліків для моніторингу та порівняння змін у природних та перетворених біотопах.

Метою дослідження є вивчення стану популяції лелеки білого в національному природному парку "Пирятинський" та на прилеглій території, аналіз особливостей гніздування та оцінка успішності розмноження на основі даних моніторингу, здійсненого протягом 2014–2019 рр.

Матеріали та методи. Повні обліки чисельності лелеки білого в національному природному парку "Пирятинський" та на прилеглій території (далі – НПП "Пирятинський") проводили щорічно у 2014–2019 рр. у 19 селах Пирятинського р-ну та в м. Пирятин, у с. Скибинці Чорнухинського р-ну та в с. Антонівка Варвинського р-ну Чернігівської обл., у заплавах річок Удай і Перевод. Удай – права притока р. Сула (басейн р. Дніпро) – є найбільшою рікою парку. Перевод – найбільша права притока Удаю. Усього у спостереженнях брали участь 22 обліковці – працівники відділу державної охорони НПП "Пирятинський", відповідно до кількості населених пунктів, на території яких проводили облік гнізд (рис. 1). Сумарна площа, на якій проводили облік, становить близько 870 км².

Відповідно до районування, що було запропоноване В. М. Грищенком, досліджувана нами територія розташована на межі таких великих регіонів, як Північно-Східна Україна та Середнє Придніпров'я [2, 3, 4], а загалом простягається на території лівобережної ділянки центральної частини лісостепової зони України [5].

Для проведення обліків було обрано методику, що застосовується під час Міжнародного обліку чисельності лелеки білого [16]: визначали кількість гнізд, зайнятих лелеками (кількість гніздових пар), кількість пташенят у них, а також кількість гнізд, у яких пташенята не виростили, що дає можливість визначати репродуктивні показники. Згідно із зазначеною методикою, гніздо вважається зайнятим, якщо пара лелек трималася біля нього хоча б місяць, незалежно від результату гніздування. Кількість пташенят найкраще підраховувати у другій половині червня – першій половині липня, коли вони вже підросли,

що зменшує похибку недообліку [7]. Щоб частина з них не залишилася непоміченою, краще дочекатися прильоту дорослих птахів, тоді всі пташенята піднімаються на ноги. Додатково відмічали терміни весняної міграції

та розмноження (ці матеріали не ввійшли до публікації). Для реєстрації отриманої інформації використовували бланк анкети, розробленої В. М. Грищенком [1].

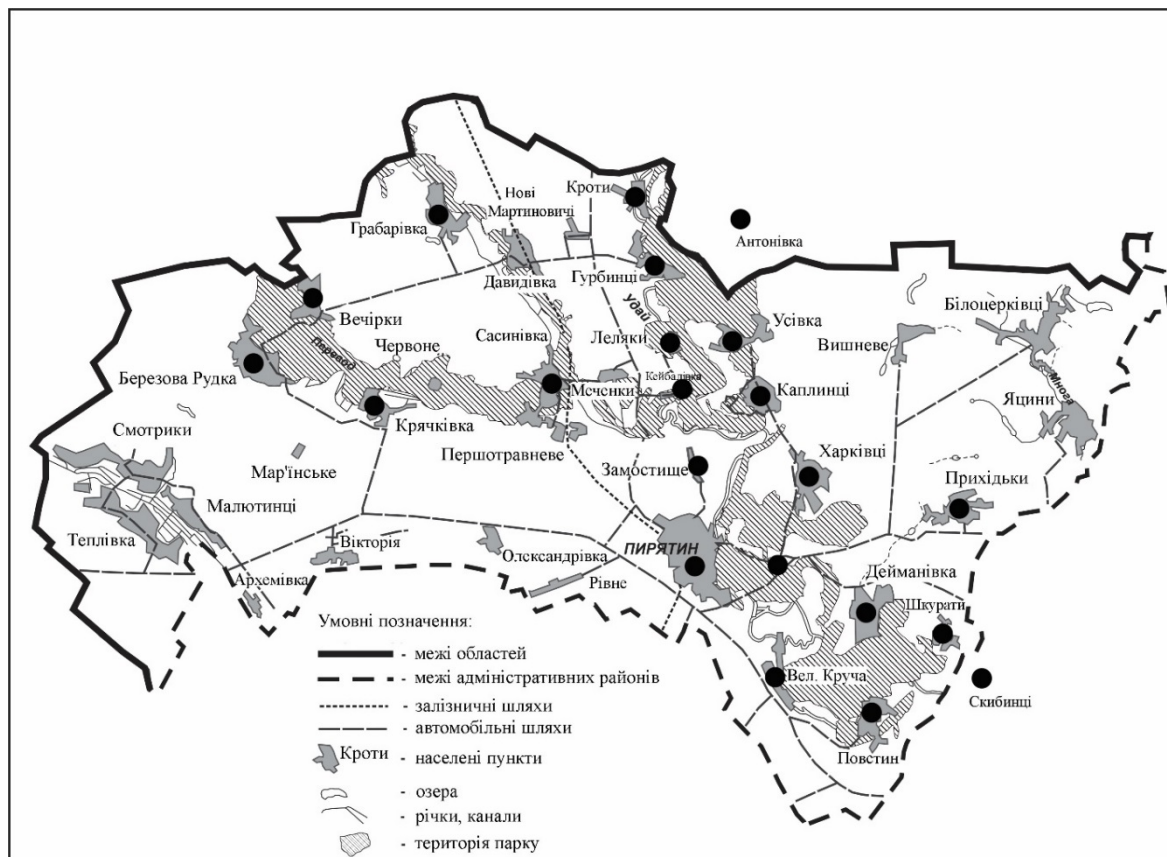


Рис. 1. Розміщення моніторингових точок спостереження за лелекою білим протягом 2014–2019 рр. у Пирятинському р-ні та на суміжних територіях Полтавської та Чернігівської обл.

У статті застосовано позначення, що традиційно використовують у роботах стосовно лелеки білого [6, 17]:

JZa – середня кількість літніх пташенят на пару, що розмножувалась;

JZm – середня кількість літніх пташенят на успішну пару;

$\%HPo$ – частка неуспішних пар у відсотках.

Результати та їхнє обговорення

Успішність розмноження. Протягом шести років досліджень у Пирятинському р-ні та на зазначених вище прилеглих територіях обліковували від 86 до 102 гнізд, зайнятих лелеками. У різні роки успішність гніздування (частка пар, у яких виросли пташенята) коливалась від 78,43 % у 2017 р. до 98,94 % у 2015 р. 2017 р. загалом став найбільш несприятливим для розмноження лелек у регіоні парку. У середньому частка успішних пар досягла 88,67 %, частка неуспішних пар – 10,07 %, для 1,26 % пар результати гніздування з'ясувати не вдалося. Середня кількість літніх пташенят на пару, що розмножувалась (JZa) становила $2,43 \pm 0,04$ ($n = 570$), на успішну пару (JZm) – $2,75 \pm 0,04$ ($n = 502$) (рис. 2).

Отримані нами в перший рік спостережень репродуктивні показники JZa $2,71 \pm 0,11$ і JZm $3,17 \pm 0,11$ достовірно не відрізняються від загальних репродуктивних показників для Середнього Придніпров'я ($3,00 \pm 0,12$ і $3,24 \pm 0,10$ відповідно [4]), та від показника JZm $3,43 \pm 0,08$ для Північно-Східної України [4] за попередній 2013 р. Достовірно є лише різниця між кількістю літніх пташенят на пару, що розмножувалась (JZa), для досліджуваної нами території та для Північно-Східної України ($3,27 \pm 0,08$ [4]) при $p < 0,001$. Частка неуспішних

пар для Пирятинського р-ну та прилеглих територій становила 14,58 %. Порівнюючи отримані показники з репродуктивним успіхом лелек на всій території України, видно, що наші дані перебувають у межах середнього по країні за 2013 р. Проте слід зважати на те, що продуктивність розмноження білого лелеки в Україні у 2013 р. була дуже високою, показники середньої кількості пташенят належать до найкращих із 2000 р., а частка неуспішних пар виявилась найменшою за 22 роки моніторингових досліджень [4].

Однак, як показали результати обліків у наступні роки, після доволі успішного для лелек 2014 р. продуктивність розмноження почала знижуватись: 2015 р. став значно менш успішним для птахів (падіння JZa на 12,9 % при $p < 0,05$, JZm на 24,6 % при $p < 0,001$), у 2016 р. падіння репродуктивних показників дещо загальмувалось і вони достовірно не відрізнялись від попереднього року, а у 2017 р. – суттєво прискорилось: до JZa $1,78 \pm 0,07$ і JZm $2,28 \pm 0,08$ (порівняно із 2014 р. падіння JZa на 34,3 % при $p < 0,001$, JZm на 28,1 % при $p < 0,001$) (рис. 2). Отримані нами у 2017 р. результати фактично збігаються і достовірно не відрізняються від показників Середнього Придніпров'я (JZa $1,87 \pm 0,10$ і JZm $2,21 \pm 0,07$, [2]), проте статистично достовірно поступаються таким для Північно-Східної України

($JZa\ 2,20 \pm 0,07$ і $JZm\ 2,55 \pm 0,09$, [2]) ($p < 0,001$ і $p < 0,05$). Частка неуспішних пар також сягнула найбільшого за шість років значення – 18,63 % і достовірно не відрізнялась від %HPo загалом для регіону [2, 5]. Цікаво, що протягом 2015–2016 рр. лелеки хоч і вивели меншу кількість пташенят, але набагато успішніше виростили їх, ніж у попередній 2014 і 2018–2019 рр. (рис. 3).

Отримані нами результати репродуктивного успіху лелеки білого в НПП "Пирятинський" та на прилеглий території порівняльні та достовірно не відрізняються від результатів масштабного обліку лелек, проведеного в центральній частині лісостепової зони України у 2014–2017 рр. [5]: результативність розмноження наших птахів падала з року в рік і так само сягнула мінімуму у 2017 р. (порівняння по лівобережній ділянці,

наші матеріали, відповідно, за 2014–2017 рр.). Достовірно не відрізняється і частка неуспішних пар (10,07 %) порівняно з %HPo на лівобережній ділянці Центрального Лісостепу (17,3%) [5].

Після найбільш кризового для лелек 2017 р., протягом наступних 2018–2019 рр. у птахів парку та його околиць показники успішності розмноження не лише стабілізувались, але й зросли настільки, що достовірно не відрізнялись від показників 2014 р., частка неуспішних пар за два роки становила 8,43 % (рис. 2). У 2018 р. успішність розмноження у лелек зростає як у Середньому Придніпров'ї та в північно-східній частині країни, так і по всій території України [3].

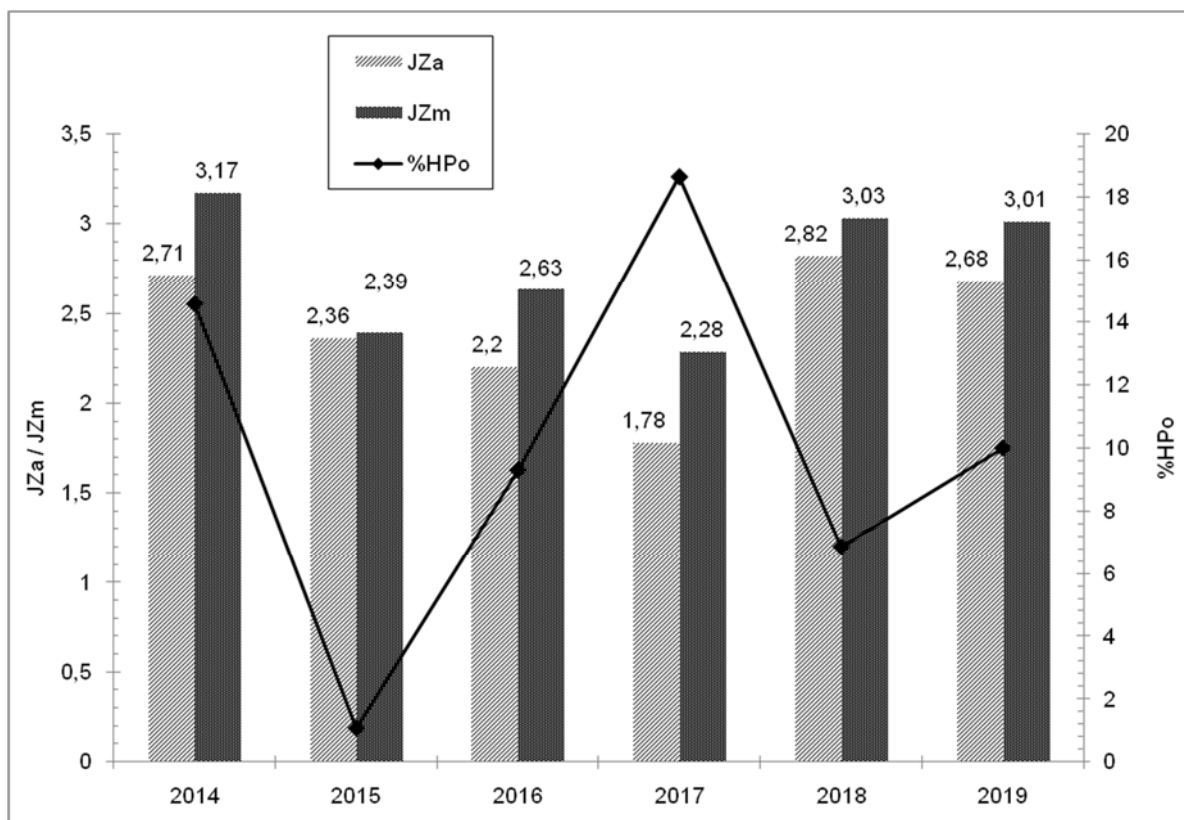


Рис. 2. Успішність розмноження лелеки білого у 2014–2019 рр.

Найбільшу частку склали виводки із трьох (36,92 %) і двох (34,93 %) пташенят із гнізда, разом це становить 71,85 % виводків (рис. 3). Загалом на моніторингових ділянках Лівобережного Лісостепу за 2014–2017 рр. по троє пташенят вивелось у 41,3 % гнізд [5]. У 2014 р. у регіоні парку переважали виводки із трьох (34,15 %) і навіть чотирьох пташенят (31,71 %), але протягом 2015–2016 рр. кількісно почали переважати виводки із двох пташенят (44,09 і 36,11 %, відповідно), що частково підтверджено також літературними даними по Лівобережному Лісостепу (41,0 % у 2015 і 2017 рр.) [5]. Приблизно таку ж частку мали виводки із трьох лелеченят (40,86 і 33,33 %, відповідно). Проте 2017 р. став ще більш неуспішним для лелек: понад половину всіх виводків (56,25 %) становило лише по двоє пташенят, частка виводків по троє лелеченят ще зменшилась – до 31,25 %, а гнізд із чотирма і п'ятьма пташенятами було лише по одному. Такі ж величини виводків були характерними для всього Середнього Придніпров'я, у Північно-Східній

Україні кількість виводків по двоє і троє пташенят була приблизно однаковою і трималась на рівні близько 40% [2]. Проте в наступні два роки ситуація значно поліпшилась і знову почали домінувати виводки із трьох пташенят: 43,16 % у 2018 р. і 38,75 % у 2019 р. Незначною є частка виводків по чотири пташенят – 16,17 %. Виводки із п'яти пташенят зустрічаються нечасто і не щороку. Наприклад, у 2014 р. їхня частка становила 8,54 %, у 2016 і 2017 рр. – усього лиш 1,39 % і 1,25 %, відповідно, у 2018 р. – 4,21 %, а у 2019 р. – 11,25 %; у 2015 р. таких виводків взагалі не було, як і фактично на всіх моніторингових ділянках Лівобережного Лісостепу (виявлено всього одне гніздо із п'ятьма пташенятами) [5]. Разом за шість років таких гнізд було всього 4,44 % від загальної кількості, що зіставне із середньорічним показником по Україні (3,5 %) за період 1992–2017 рр. [3]. Частка гнізд, у яких виросло всього по одному пташеняті за шість років, становить 7,54 % (рис. 3), що відповідає багаторічній нормі по всій Україні – 7,8 % [3].

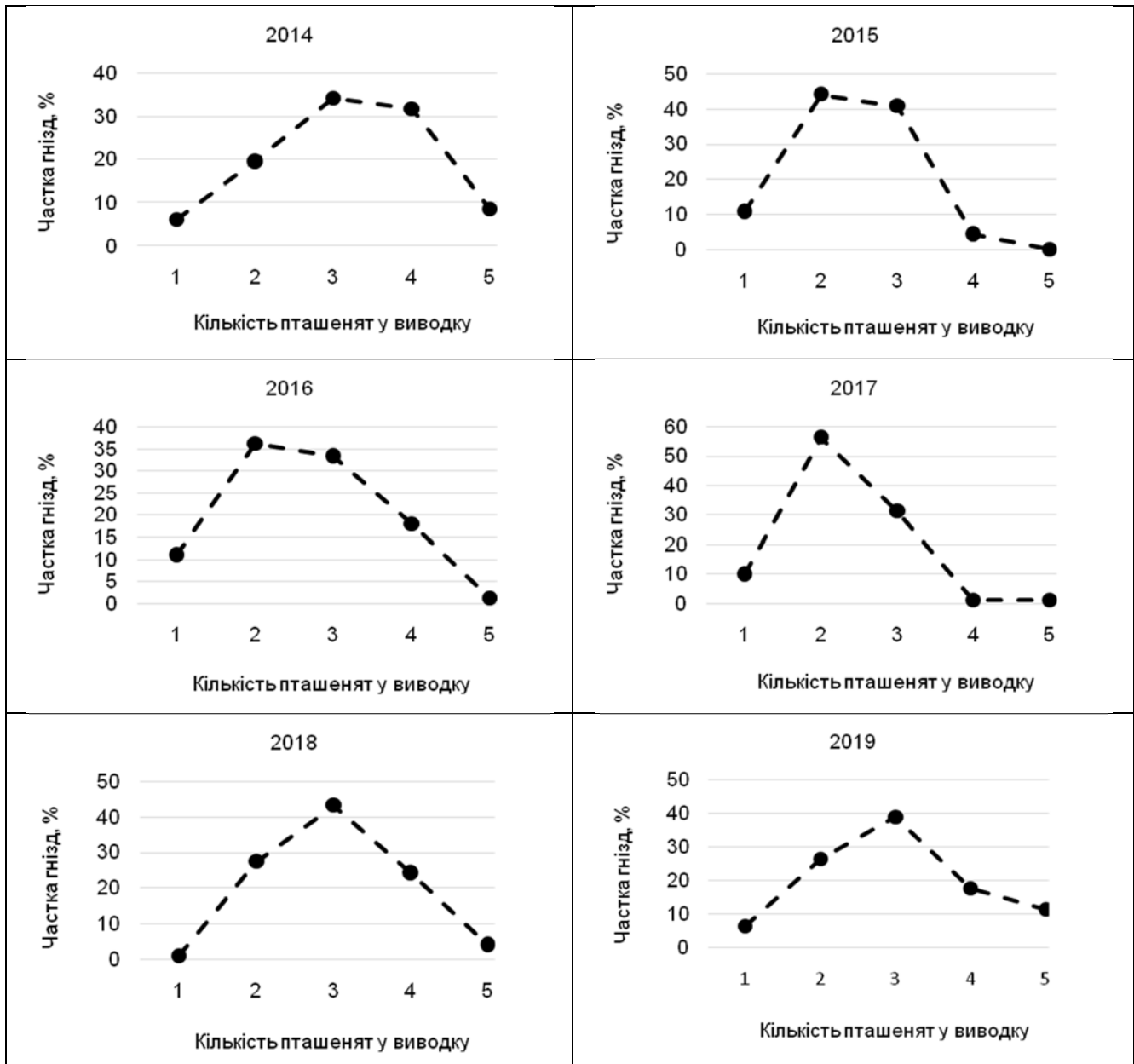


Рис. 3. Розподіл кількості літніх пташенят лелеки білого у виводках 2014–2019 рр.

Раніше вже було відмічено, що на стан популяції лелеки білого суттєво впливають кліматичні умови та ступінь зволоженості території [8, 9, 14]. На місцях гніздування до таких важливих кліматичних факторів належить кількість опадів під час гніздового періоду, висота весняної повені і пов'язане з нею подальше обводнення кормових угідь лелек. Саме висока повінь 2013 р. стала причиною високої продуктивності розмноження птахів і найменшої частки неуспішних пар лелек в Україні за останні два десятиліття [4]. Однак у наступні роки ситуація з обводненням значно погіршилась. У 2014 р. на р. Удай та його притоках ще була невелика весняна повінь, до того ж збереглась певна інерція демографічних показників лелек із попереднього успішного року. Та подальше зниження водності р. Удай у 2015–2017 рр., досить прохолодна та нестійка погода у травні-липні 2016 р., значні нічні заморозки у травні та навіть на початку червня 2017 р., очевидно, вплинули на ємність кормової бази лелек, а, отже, і на кількість пташенят у гніздах. Улітку лелеки частіше, ніж зазвичай, жились не

на луках, а на сільських грядках, не влаштовували вечірні скупчення на верхівках сухих тополь. До всього ще додалася загальна по всій території України низька кількість опадів, що фактично призвело до посухи у весняний та літній періоди. Згідно з даними Українського гідрометцентру, 2017 р. був ще теплішим і сухішим, ніж попередні три роки [18]. Зважаючи на це, загальне зниження водності кормових угідь лелек у регіоні парку, ймовірно, призвело до падіння репродуктивних показників та збільшення частки неуспішних пар. Проте, згідно з даними найближчого до парку метеопосту у м. Прилуки (Чернігівська обл.), протягом березня-липня 2015-2016 рр. випало більше атмосферних опадів, ніж в інші роки наших спостережень [19], що могло дещо згладити негативний вплив маловодності на кормову базу лелек на досліджуваній території. Однак протягом березня-липня наступного 2017 р., згідно з даними метеопосту, випала значно менша кількість опадів, що, разом зі згаданими вище несприятливими умовами, очевидно, остаточно підірвало кормову базу лелек і суттєво зменшило репродуктивні показники.

Стабілізацію і навіть зростання показників розмноження протягом 2018–2019 рр. частково можна пояснити певною адаптацією лелек до маловодних років і пошуком корму в інших, менш звичних місцях – на полях, городах тощо. Повеней, як і раніше, на річках Пирятинського р-ну не було, але кількість опадів зросла, порівняно з кризовим 2017 р. До того ж, весна у 2018 та у 2019 рр. була теплою, без різких коливань температури і заморозків, що також сприяло розмноженню лелек і виживанню пташенят.

Місця розташування гнізд. Під час обліків лелек проводили фіксацію розташування гнізд за такою спрощеною класифікацією: дерева, бетонні опори ЛЕП, будівлі різних типів, водонапірні башти та штучні гніздівлі. Найбільше гнізд традиційно розміщено на опорах ЛЕП – їхня частка становить у середньому 69,29 %, що загалом відповідає і достовірно не відрізняється від показників у лівобережній ділянці Центрального Лісостепу (72,6 %) [5]. Друге й третє місця за значимістю для лелек парку та прилеглої території займають водонапірні башти – 14,81 % та дерева – 12,9 %. Приблизно така ж картина,

без достовірних відмінностей, спостерігається і на лівобережній ділянці Центрального Лісостепу: башти – 12,0 %, дерева – 13,5 % [5]. Частка дерев у ролі опор для гнізд із роками зменшується, адже птахам непросто знайти придатне для побудови гнізда дерево. Частка дахів будівель у ролі опор для гнізд становить усього 1,94 % і відповідає такій для лівобережної ділянки Центрального Лісостепу (1,4 %) [5]. Також одне діюче гніздо розміщене на повністю штучній гніздівлі у с. Харківці (акацієвий стовп із помостом для гнізда, встановлений близько 15 років тому). Середнім значенням загалом відповідають і щорічні дані щодо розташування гнізд на досліджуваній території, суттєвих відхилень відмічено не було, проте статистично достовірною була різниця між відносною кількістю гнізд на опорах ЛЕП у 2015 і 2017 рр. ($z = 1,96$; $p = 0,05$). Це можна пояснити перерозподілом місць гніздування: у 2015 р. порівняно з іншими роками спостережень зменшилась майже до мінімальної абсолютна кількість гнізд на опорах ЛЕП і збільшилась до максимуму кількість гнізд на деревах, а у 2017 р. відбувся зворотний процес (рис. 4).

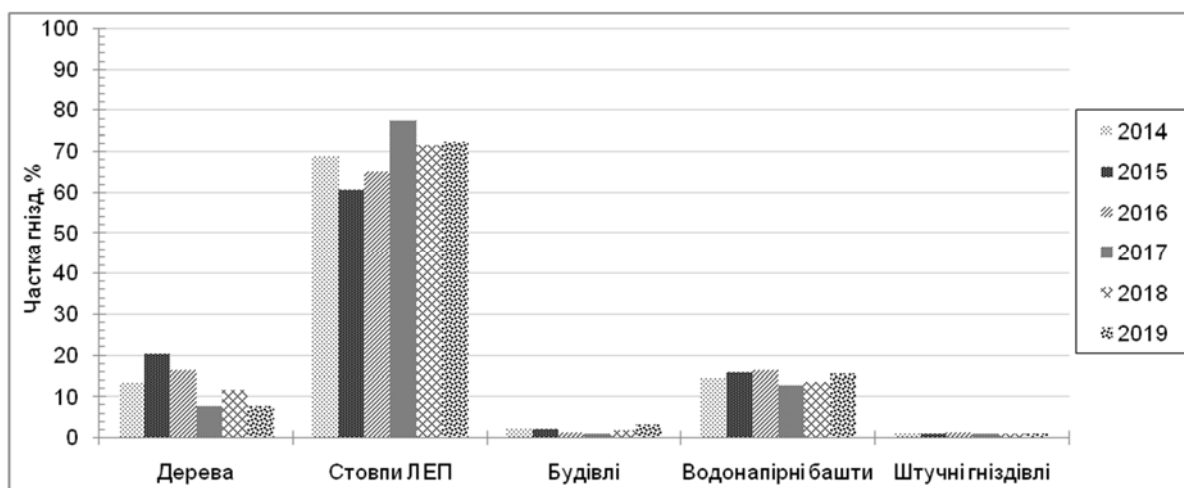


Рис. 4. Місця розташування гнізд лелеки білого у 2014–2019 рр.

Усі гнізда лелек розміщені в межах населених пунктів або в безпосередній близькості до них. Гнізд поза населеними пунктами не виявлено. Немає і колоніальних поселень птахів, усі гнізда розміщені поодинокі. Мінімальна кількість – лише по одному заселеному гнізду – виявлена у шести селах, максимальна кількість сягала 20 гнізд у с. Дейманівка у 2014–2015 рр. Понад 10 гнізд (у різні роки) зафіксовано у п'яти селах: окрім с. Дейманівка, у селах Каплинці – 18, Повстин – 14, Антонівка – 12, Усівка – 11 гнізд. У чотирьох селах відмічено максимум по 5–7 гнізд. В інших 10 населених пунктах у різні роки було максимум по 2–4 гнізда. Середня кількість заселених гнізд на населений пункт за шість років склала $4,2 \pm 0,8$ ($Lim\ 1,0–15,7$).

Протягом 2018–2019 рр. було проведено картування гнізд білих лелек (зокрема і встановлених різноманітних штучних платформ та гніздівель) у сільських населених пунктах Пирятинського р-ну та в м. Пирятин, що розміщується безпосередньо біля меж НПП "Пирятинський". Усього обліками було охоплено 19 сіл: Високе, Харківці, Каплинці, Усівка, Кроти, Гурбинці, Лесяки, Кейбалівка, Замостище, Калинів Міст, Першотравневе, Меченки, Сасинівка, Крячківка, Березова Рудка, Дейманівка, Повстин, Вечірки, Олександрівка та м. Пирятин (у кількох селах обліки пташенят не проводили, лише проведено картування). З використанням геоінформаційних систем було знято координати зі 106 гнізд та штучних платформ

і гніздівель, як зі збудованими на них гніздами, так і без них. Працівникам парку також допомагали волонтери WWF в Україні та волонтери компанії EY. З обстежених сіл не виявлено гнізд лише у с. Верхоярівка.

Під час обліків лелек встановлено, що найбільша кількість гнізд цих птахів у селах, що розташовані у заплаві р. Удай, з рівнинним рельєфом, прилеглими відкритими водно-болотними комплексами і малою середньою висотою над рівнем моря. Це вже згадувані вище села Дейманівка (96 м), Повстин (98 м), Антонівка (102 м), Усівка (102 м) та Каплинці (103 м). А от у "найвищих" селах: Березова Рудка (119 м), Крячківка (119 м), Вечірки (128 м) та Прихидьки (145 м) відмічено тільки по 1–3 гнізда. У селах Кейбалівка, Сасинівка, Харківці, Велика Круча, м. Пирятин лелеки оселяються неохоче, хоча ці населені пункти розташовані вздовж р. Удай, де кормова база достатня. Отримані результати підтверджені попередніми дослідженнями популяції лелек у зазначеному регіоні [5].

Під час наших спостережень обліки лелек проводили у більшості, але не в усіх населених пунктах території дослідження. З огляду на це, спираючись на отримані дані, можемо оперувати не загальною щільністю населення птахів, а щільністю пар (заселених гнізд) на населений пункт. Отже, нами було пораховано середню за період 2014–2019 рр. щільність заселених лелечих гнізд

для 24 сіл та м. Пирятин і проведено порівняння щільності залежно від середньої висоти населеного пункту над рівнем моря. У підсумку було виявлено помітний, але

статистично незначимий зворотний зв'язок ($r = -0,59$; $p > 0,05$) між середньою висотою населеного пункту над рівнем моря та середньою щільністю гнізд у ньому (рис. 5).

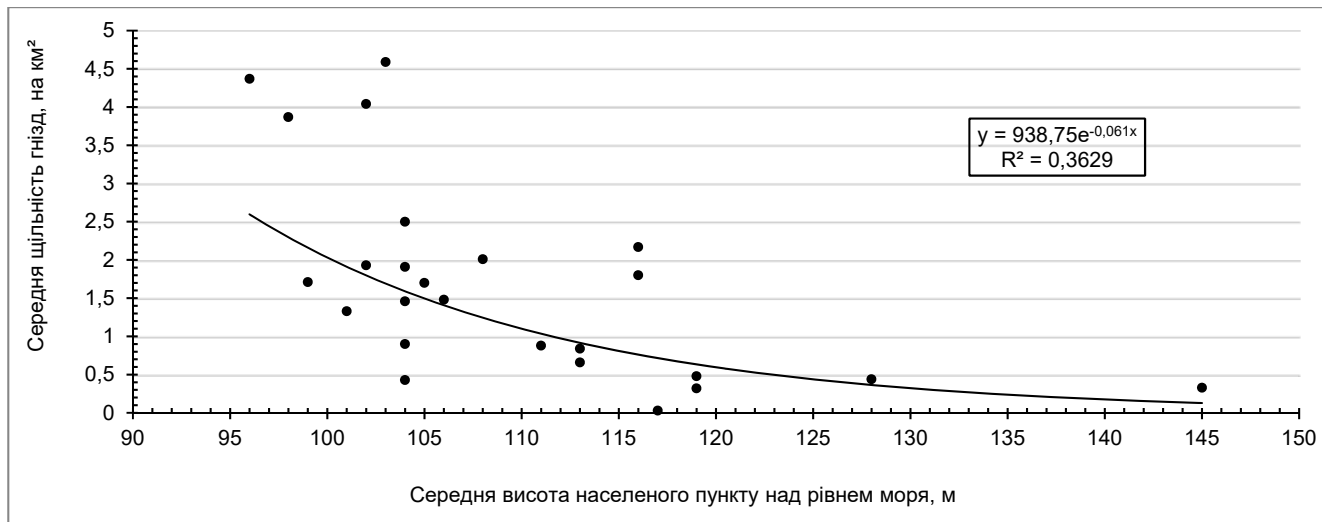


Рис. 5. Зв'язок між середньою висотою населеного пункту над рівнем моря та середньою щільністю гнізд лелеки білого

Розрахована нами середня щільність гнізд на населений пункт на території дослідження досягла $1,7 \pm 0,3$ на km^2 ($\text{Lim } 0,03\text{--}4,59$). Найменша (середня та максимальна) щільність населення лелек у м. Пирятин, найбільша (середня та максимальна) – у с. Каплинці. Різке падіння щільності на графіку для м. Пирятин можна пояснити тим, що місто має значну площу ($72,28 \text{ km}^2$, що на порядок більше за площу будь-якого села району) і всього одне заселене нині лелече гніздо, незважаючи на наявну велику кількість місць, придатних для побудови гнізда, і близькість потенційних кормових угідь для лелек на північному сході та сході від міста у заплаві р. Удай (рис. 5).

Висновки:

- Територія національного природного парку "Пирятинський" та його околиць характеризується сприятливими умовами існування для лелеки білого, про що свідчать достатньо високі середні показники успішності розмноження: $JZa = 2,43 \pm 0,04$, $JZm = 2,75 \pm 0,04$.
- Середня за шість років успішність розмноження лелеки білого на досліджуваній території досягла 88,67 %.
- Найбільшу частку становлять виводки із трьох (36,92 %) та двох (34,93 %) пташенят у гнізді, що разом становить 71,85 % виводків. Ці значення загалом відповідають загальним показникам Середнього Придніпров'я і Центрального Лісостепу України. У сприятливіші роки збільшується частка гнізд, у яких виростає по четверо пташенят.
- 3-поміж різних типів розташування гнізд значно переважає розміщення на бетонних опорах ЛЕП (69,29 % від загальної кількості гнізд), що загалом відповідає показникам у Центральному Лісостепу.
- Усі гнізда лелек розміщені поодинокі та знаходяться в межах населених пунктів або в безпосередній близькості від них. Середня щільність гнізд у населеному пункті, заселеному лелеками, становить $1,7 \pm 0,3$ на km^2 .
- Було виявлено помітний, але статистично незначимий зворотний зв'язок ($r = -0,59$; $p > 0,05$) між середньою висотою населеного пункту над рівнем моря та середньою щільністю гнізд на його території.

Список використаних джерел:

1. Грищенко В. Н. Динамика численности белого аиста в Украине в 1994–2003 гг. / В. Н. Грищенко // Беркут. – 2004. – Т. 13, вип. 1. – С. 38–61.
2. Грищенко В. Н. Популяция белого аиста (*Ciconia ciconia*) в Украине в 2017 г.: продолжение кризиса / В. Н. Грищенко, Е. Д. Яблоновская-Грищенко // Беркут. – 2017. – Т. 26, вип. 2. – С. 112–124.
3. Грищенко В. Н. Популяция белого аиста (*Ciconia ciconia*) в Украине в 2018 г.: год контрастов / В. Н. Грищенко, Е. Д. Яблоновская-Грищенко // Беркут. – 2018. – Т. 27, вип. 2. – С. 81–93.
4. Грищенко В. Н. Состояние популяции белого аиста (*Ciconia ciconia*) в Украине в 2013 г. / В. Н. Грищенко, Е. Д. Яблоновская-Грищенко // Беркут. – 2013. – Т. 22, вип. 2. – С. 90–103.
5. Грищенко В. М. Чисельність і розподіл гнізд білого лелеки (*Ciconia ciconia*) в центральній частині лісостепу України у 2014–2017 рр. / В. М. Грищенко, Е. Д. Яблоновська-Грищенко // Беркут. – 2017. – Т. 26, вип. 1. – С. 11–42.
6. Якубец З. Международная методика учета аистов и замечания о программе и направлениях дальнейших исследований / З. Якубец, И. Самусенко // Аисты: Распространение, экология, охрана: мат. II Всесоюз. совещ. Рабочей группы по аистам Всесоюз. орнитол. о-ва. Минск: Навука і тэхніка. – 1992. – С. 164–172.
7. Aguirre J. I. Census methods for White stork (*Ciconia ciconia*): bias in sampling effort related to the frequency and date of nest visits / J. I. Aguirre, P. Vergara // J. Ornithol. – 2009. – Vol. 150. – P. 147–153.
8. Cuadrado M. Reproductive data and analysis of recoveries in a population of white stork, *Ciconia ciconia*, in southern Spain: a 24-year study / M. Cuadrado, I. Sánchez, M. Barcell, M. Armario // Animal Biodiversity and Conservation. – 2017. – Vol. 39, 1. – P. 37–44.
9. Dallinga J. H. Regional Decrease in the Number of White Storks (*Ciconia c. ciconia*) in Relation to Food Resources / J. H. Dallinga, S. Schoenmakers // Colonial Waterbirds. – 1987. – Vol. 10, No. 2. – P. 167–177.
10. Denac D. Gnezditvena biologija, fenologija in razširjenost bele štoklje *Ciconia ciconia* v Sloveniji / D. Denac // Acrocephalus. – 2001. – Vol. 22 (106–107). – P. 89–103.
11. Gyalus A. Changes in the nest sites of White Stork / A. Gyalus, Z. Végvári, T. Csörgő // Ornis Hungarica. – 2018. – Vol. 26 (1). – P. 65–88.
12. Kopij G. Changes in the number of nesting pairs and breeding success of the White Stork *Ciconia ciconia* in a large city and a neighbouring rural area in South-West Poland / G. Kopij // Ornis Hungarica. – 2017. – Vol. 25 (2). – P. 109–115.
13. Molina B. La Cigüeña blanca en España. VI Censo inter-nacional (2004) / B. Molina, J. C. del Moral. – Madrid, 2005. – 237 p.
14. Nowakowski J. J. Habitat structure and breeding parameters of the White Stork *Ciconia ciconia* in the Kolno Upland (NE Poland) / J. J. Nowakowski // Acta Ornithol. – 2003. – Vol. 38. – P. 39–46.
15. Ots M. The white stork (*Ciconia ciconia*) in Estonia till year 2008 / M. Ots // Hirundo. – 2009. – Vol. 22. – P. 32–43.
16. Schulz H. The 5th International White Stork Census 1994/95 – Preparation, realisation and methods / H. Schulz // Weißstorch im Auwind? [White Stork on the up?] Proceedings Internat. Symp. on the White Stork, Hamburg 1996. NABU (Naturschutzbund Deutschland e.V.). – Bonn, 1999. – P. 39–48.
17. Schüz E. Zur Methode der Storchforschung / E. Schüz // Beitr. Vogelkunde. – 1952. – Vol. 2. – P. 287–298.

18. [Electronic source]. – Access mode : <https://meteo.gov.ua>.
 19. [Electronic source]. – Access mode : <https://meteopost.com/weather/climate>.

References:

- Grishchenko V. N. Number dynamics of the White Stork in Ukraine in 1994-2003. *Berkut*. 2004; 13(1): 38–61.
- Grishchenko V. N., Yablonovska-Grishchenko E. D. Population of the White Stork (*Ciconia ciconia*) in Ukraine in 2017: the continuation of the crisis. *Berkut*. 2017; 26(2): 112–124.
- Grishchenko V. N., Yablonovska-Grishchenko E. D. Population of the White Stork (*Ciconia ciconia*) in Ukraine in 2018: the year of contrasts. *Berkut*. 2018; 27(2): 81–93.
- Grishchenko V. N., Yablonovska-Grishchenko E. D. State of the White Stork (*Ciconia ciconia*) population in Ukraine in 2013. *Berkut*. 2013; 22(2): 90–103.
- Grishchenko V. N., Yablonovska-Grishchenko E. D. Number and distribution of the White Stork (*Ciconia ciconia*) nests in the central part of the Forest-Steppe zone of Ukraine in 2014-2017. *Berkut*. 2017; 26(1): 11–42.
- Yakubets Z., Samusenko I. International methodology for stork accounting and comments on the program and areas for further research. *Storks: Distribution, ecology, conservation*. 1992: 164–172.
- Aguirre J. I., Vergara P. Census methods for White stork (*Ciconia ciconia*): bias in sampling effort related to the frequency and date of nest visits. *J. Ornithol.* 2009; 150: 147–153.
- Cuadrado M., Sánchez I., Barcell M., Armario M. Reproductive data and analysis of recoveries in a population of white stork, *Ciconia ciconia*, in southern Spain: a 24-year study. *Animal Biodiversity and Conservation*. 2017; 39(1): 37–44.
- Dallinga J. H., Schoenmakers S. Regional Decrease in the Number of White Storks (*Ciconia c. ciconia*) in Relation to Food Resources. *Colonial Waterbirds*. 1987; 10(2): 167–177.

- Denac D. Gnezditvena biologija, fenologija in razširjenost bele štoklje *Ciconia ciconia* v Sloveniji. *Acrocephalus*. 2001; 22(106-107): 89–103. Slovenian.
- Gyalus A., Végvári Z., Csörgő T. Changes in the nest sites of White Stork. *Ornis Hungarica*. 2018; 26(1): 65–88.
- Kopij G. Changes in the number of nesting pairs and breeding success of the White Stork *Ciconia ciconia* in a large city and a neighbouring rural area in South-West Poland. *Ornis Hungarica*. 2017; 25(2): 109–115.
- Molina B., del Moral J. C. La Cigüeña blanca en España. VI Censo inter-nacional (2004). Madrid: SEO/BirdLife; 2005. 237 p. Spanish.
- Nowakowski J. J. Habitat structure and breeding parameters of the White Stork *Ciconia ciconia* in the Kolno Upland (NE Poland). *Acta Ornithol.* 2003; 38: 39–46.
- Ots M. The white stork (*Ciconia ciconia*) in Estonia till year 2008. *Hirundo*. 2009; 22: 32–43.
- Schulz H. The 5th International White Stork Census 1994/95 – Preparation, realisation and methods. *Weißstorch im Aufwind? [White Stork on the up?]. Proceedings Internat. Symp. on the White Stork, Hamburg 1996*. NABU (Naturschutzbund Deutschland e.V.). Bonn. 1999: 39–48.
- Schütz E. Zur Methode der Storchforschung. *Beitr. Vogelkunde*. 1952; 2: 287–298. German.
- [Electronic source]. – Access mode : <https://meteo.gov.ua>.
- [Electronic source]. – Access mode : <https://meteopost.com/weather/climate>.

Надійшла до редколегії 10.04.2020
 Отримано виправлений варіант 11.05.2020
 Підписано до друку 11.05.2020

Received in the editorial 10.04.2020
 Received a revised version on 11.05.2020
 Signed in the press on 11.05.2020

В. Казанник, вед. спец.,
 А. Мартюшева, канд. биол. наук
 Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
 Н. Миленко, науч. сотруд.
 Национальный природный парк "Пирятинский", Пирятин, Украина

РЕЗУЛЬТАТЫ УЧЕТОВ БЕЛОГО АИСТА (*CICONIA CICONIA* L.) В НАЦИОНАЛЬНОМ ПРИРОДНОМ ПАРКЕ "ПИРЯТИНСКИЙ" И НА СОПРЕДЕЛЬНОЙ ТЕРРИТОРИИ

Представлены результаты мониторинга состояния популяции белого аиста (*Ciconia ciconia* L.), проводившегося в национальном природном парке "Пирятинский" и на прилегающей территории в течение 2014–2019 гг. В регионе был проведен учет гнезд и исследовано распределение типовых размещений. Также проанализирована успешность размножения. В разные годы насчитывалось от 86 до 102 гнезд, занятых аистами. За шестилетний период исследований среднее количество летных птенцов на пару, которая размножалась (JZa), составило $2,43 \pm 0,04$ ($n = 570$), а среднее количество летных птенцов на успешную пару (JZm) – $2,75 \pm 0,04$ ($n = 502$). Доля неуспешных пар в среднем составила 10,07 % (%HPo). В разные годы успешность гнездования (доля пар, в которых выросли птенцы) колебалась от 78,43 % в 2017 г. до 98,94 % в 2015 г. Наибольшей является доля выводков из трех (36,92 %) и двух (34,93 %) птенцов из гнезда, вместе это составляет 71,85 % выводков. Выводки из пяти птенцов, что является максимальной величиной для исследуемой территории, встречаются нечасто и не каждый год. Всего за шесть лет таких гнезд было выявлено лишь 4,44 % от общего количества. В течение 2015–2016 гг. аисты вывели меньшее количество птенцов, но гораздо более успешно вырастили их, чем в предыдущий 2014 и последующие 2018–2019 гг. 2017 г. стал самым неблагоприятным для размножения аистов в регионе парка – птицы вырастили наименьшее количество птенцов, а доля неуспешных пар была самой большой за годы наблюдений. Все обнаруженные гнезда белого аиста размещены одиночно в пределах населенных пунктов. Птицы предпочитают располагать гнезда на бетонных опорах ЛЭП (69,29 % от общего количества гнезд), другие типы размещения менее распространены (деревья, здания различных типов, водонапорные башни и искусственные гнездовья). По 10 и более гнезд аистов зафиксировано в селах, расположенных в пойме р. Удай: Деймановка, Повстин, Антоновка, Усовка и Каплинцы. Средняя плотность гнезд на населенный пункт составляет $1,7 \pm 0,3$ на км².

Ключевые слова: белый аист, *Ciconia ciconia*, мониторинг, успешность размножения, выводок, состояние популяции, размещение гнезд, национальный природный парк "Пирятинский".

V. Kazannyk, lead employee,
 O. Martiusheva, Ph. D.
 Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
 N. Mylenko, Researcher
 National Nature Park "Pyriatynskyi", Pyriatyn, Ukraine

RESULTS OF THE WHITE STORK'S COUNTS (*CICONIA CICONIA* L.) IN NATIONAL NATURE PARK "PYRIATYNSKYI" AND SURROUNDING AREA

The monitoring of population state of White Stork (*Ciconia ciconia* L.) in the National Nature Park "Pyriatynskyi" and surrounding area was carried out in 2014–2019. The number of nests in the area was counted and the nest site selection were investigated. A breeding success analysis was also conducted. There were from 86 to 102 nests occupied by storks observed for a six-year study period. The mean number of fledglings in relation to all nest occupying breeding pairs (JZa) was $2,43 \pm 0,04$ ($n = 570$), and in relation to breeding pairs with nestlings (JZm) was $2,75 \pm 0,04$ ($n = 502$). The percentage of unsuccessful pairs was 10,07 % (%HPo). In different years, breeding success (the proportion of successful pairs with fledglings) ranged from 78,43 % in 2017 to 98,94 % in 2015. The majority of pairs fledged 2 (34,93 %) or 3 (36,92 %) young, that makes 71,85 % of broods for total. Broods of 5 nestlings, which is the maximum value for the study area, are rare and registered not every year. Only 4,44 % of the total number of such nests was identified for six years. During 2015–2016 storks hatched a smaller number of nestlings, but far more successfully fledged them than in the previous year 2014 and subsequent 2018–2019 years. The year 2017 became the most unfavorable for stork breeding in the region of the park – birds raised the smallest number of fledglings, and the proportion of unsuccessful pairs was the largest for the years of observation. All found nests of a White Stork are located singly within the boundaries of settlements. The preferred nest site is on poles (69,29 % of the total nest number), other types of placement are less common (trees, buildings of various types, water towers and artificial nests). 10 or more nests of storks were recorded in the villages Deimanivka, Povstyn, Antonivka, Usivka and Kaplyntsi located in the floodplain of the Udai river. The average density of nests per settlement was $1,7 \pm 0,3$ km².

Keywords: White Stork, *Ciconia ciconia*, monitoring, breeding success, brood, population state, nest sites, National Nature Park "Pyriatynskyi".

УДК: 615.099.036.2
DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.18-21

А. Сербін, студ.,
Т. Коваль, канд. біол. наук,
О. Харченко, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ПРОТЕОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Нині проблема алкоголізму є досить актуальною в усьому світі. Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) зловживання алкоголем входить до трійки причин, що викликають передчасну смерть, та належить до основних етіологічних факторів, які спричиняють розвиток хронічних захворювань не тільки печінки, а й інших органів. Тяжкість клініки і прогноз подальшої динаміки, триваючої алкогольної інтоксикації можна вивчати за допомогою дослідження складу білків у тканинах, оскільки відомо, що за зазначеної патології спостерігається виражена білкова дистрофія та активний протеоліз. Хоча на тепер багато відомо про вплив алкоголю на протеолітичні системи, багато питань ще потрібно вивчити, оскільки протеомні дослідження можуть бути використані для пошуку біомаркерів та терапевтичних мішеней за зловживання етанолом. Досліджено протеолітичну активність плазми крові та печінки щурів за хронічної алкогольної інтоксикації на 11 та 21 добу експерименту. Щурам – самцям вагою 180–200 г моделювали хронічну алкогольну інтоксикацію шляхом внутрішньошлункового введення 30-відсоткового розчину етилового спирту протягом 10 діб натщесерце, з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини. Загальну протеолітичну активність, активність металопротеїназ і серинових протеїназ з'ясували методом визначення казеїнолітичної активності. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Встановлено, що на 11 добу від початку введення етанолу щурам, відбувалося підвищення загальної протеолітичної активності й активності металопротеїназ, як у плазмі крові, так й у печінці.

Ключові слова: хронічна алкогольна інтоксикація, протеолітична активність, металопротеїнази, серинові протеїнази.

Вступ. За даними ВООЗ, алкоголізм є однією з перших причин, що призводять до загального погіршення здоров'я населення загалом. Летальність серед осіб, що зловживають алкоголем, у 2–4 рази вища за аналогічний показник для іншого населення. Високий показник смертності пов'язаний не тільки з високим травматизмом у стані алкогольного сп'яніння, а й із захворюваннями, зумовленими надмірним уживанням спиртних напоїв, насамперед це стосується хвороб серцево-судинної системи і шлунково-кишкового тракту. Крім того, алкоголізм є причиною таких хвороб, як алкогольний цироз печінки, алкогольна кардіоміопатія [1].

Зловживання етанолом та етанолумісними сполуками призводить до порушення функцій усіх органів і систем, та в майбутньому до розвитку хронічної алкогольної залежності. Поширеними патофізіологічними механізмами алкогольного ушкодження тканин й органів є запалення, підвищений окислювальний стрес, аномальні посттрансляційні модифікації білків, порушення шляхів передачі сигналів, активація катаболічних процесів і порушення регуляції метаболізму ліпідів [2].

Етанол також значно впливає на протеолітичні процеси в організмі. Зі свого боку, патологічна активація протеолізу є причиною запуску багатьох неспецифічних для нативного стану організму процесів [3]. З огляду на це дослідження механізмів появи дисфункціонування процесів протеолізу допоможе з'ясувати, які зміни відбуваються за хронічного вживання алкоголю та можуть бути основою для подальшого виявлення нових панелей біомаркерів і терапевтичних мішеней.

Отже, мета нашого дослідження – дослідити протеолітичну активність плазми крові та печінки щурів за хронічної алкогольної інтоксикації на 11 та 21 добу експерименту.

Об'єкт і методи досліджень. Досліди проводили на білих нелінійних щурах – самцях масою 180–200 г. У ро-

боті дотримувалися міжнародних рекомендацій Європейської конвенції щодо проведення медично-біологічних досліджень з використанням тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та інших наукових цілях.

Хронічну алкогольну інтоксикацію у піддослідних тварин відтворювали шляхом внутрішньошлункового введення 30-відсоткового розчину етилового спирту протягом 10 діб натщесерце. Контрольній групі тварин внутрішньошлунково вводили питну воду, яку використовували для розведення етанолу. Отримання матеріалу для біохімічних досліджень здійснювали через 11 та 21 добу від початку експерименту [4].

Сироватку та плазму крові і гомогенат печінки отримували загальноприйнятими методами, описаними В. Меньшиковим [5]. Активність АЛТ та АСТ у сироватці крові щурів визначали спектрофотометрично, за допомогою стандартних наборів фірми Elitech diagnostics (Франція) [6].

Загальну протеолітичну активність, активність металопротеїназ і серинових протеїназ визначали казеїнолітичним способом [7]. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Результати та їхнє обговорення. Згідно з літературними даними, як маркери зловживання алкоголем використовують дослідження печінкових ферментів АЛТ та АСТ, оскільки при пошкодженні чи руйнуванні гепатоцитів відбувається вихід із цитозолу зазначених ферментів у кров'яне русло [8].

Нами було досліджено активність АЛТ у сироватці крові щурів. Виявлено підвищення активності показника на 164 % відносно контрольних значень на 11 добу експерименту, (табл. 1). На 21 добу після початку введення етанолу, активність АЛТ була вищою за контрольні показники на 34 %.

Таблиця 1. Активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази у сироватці крові щурів у контролі та за алкогольної інтоксикації ($M \pm m$, $n = 8$).

Показник	контроль	11 доба	21 доба
АЛТ, од/л	30,2 $\pm$ 1,5	79,6 $\pm$ 3,9*	40,6 $\pm$ 2,0*
АСТ, од/л	146,2 $\pm$ 7,3	181,7 $\pm$ 9,1*	160,2 $\pm$ 8,0

Примітка: * – $P < 0,05$ відносно контролю.

При дослідженні активності АСТ (табл. 1) у сироватці крові на 11 добу експерименту ми спостерігали підвищення показника на 24 % відносно контролю. На 21 добу активність ферменту знижувалась майже до контрольних значень.

Отриманні результати узгоджуються із літературними даними. Підвищення активності АСТ пов'язують із глибоким пошкодженням гепатоцитів та накопиченням метаболіту етанолу – ацетальдегіду [9]. Деякі дослідники, наприклад, збільшення активності згаданих вище ферментів відмічають на 3–7 добу від початку вживання

алкоголю, а нормалізацію показників – на 2–4 тиждень з моменту припинення його вживання [10].

Отже, встановлені зміни біохімічних показників крові за умов алкогольної інтоксикації узгоджуються з особливостями клінічного перебігу досліджуваної патології і можуть служити доказом формування хронічної алкогольної інтоксикації у дослідних тварин.

Дослідження протеолітичної активності плазми крові за хронічної алкогольної інтоксикації виявило на 11 добу експерименту підвищення загальної протеолітичної активності на 38 % порівняно з контролем (рис. 1).

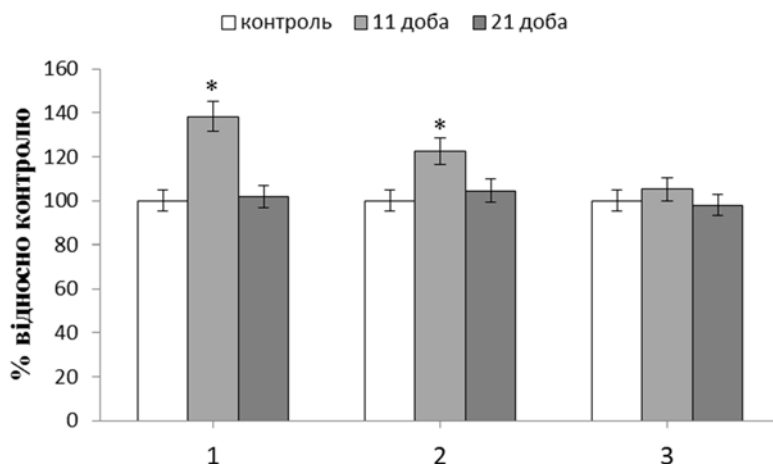


Рис. 1. Відносна загальна протеолітична активність (1), активність металопротеїназ (2) та серинових протеїназ (3) у плазмі крові щурів за хронічної алкогольної інтоксикації ($M \pm m$, $n = 8$)

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю

Активність металопротеїназ у цей термін була вищою контрольних значень на 23 %, а активність серинових протеїназ залишалась майже незмінною. На 21 добу експерименту спостерігалось зниження загальної протеолітичної активності й активності металопротеїназ до контрольних значень. А активність серинових протеїназ залишалася в межах контрольних показників.

При дослідженні показників у печінці (рис. 2) спостерігалася подібна тенденція, так було виявлено підвищення загальної протеолітичної активності й активності металопротеїназ відносно контрольних показників на 31 % та 20 %, відповідно, на 11 добу експерименту.

При визначенні протеолітичної активності серинових протеїназ на 11 та 21 добу експерименту ми не спостерігали значних змін відносно контрольних показників. Отримані результати узгоджуються з раніше одержаними даними [11]. Наприклад, при визначенні хроматографічним методом умісту трипсиноподібних ферментів, що належать до класу серинових протеїназ, спостерігалось підвищення вмісту трипсиноподібних протеїназ на більш ранніх етапах дослідження, на 3 та 7 добу – відтворення моделі хронічної алкогольної інтоксикації.

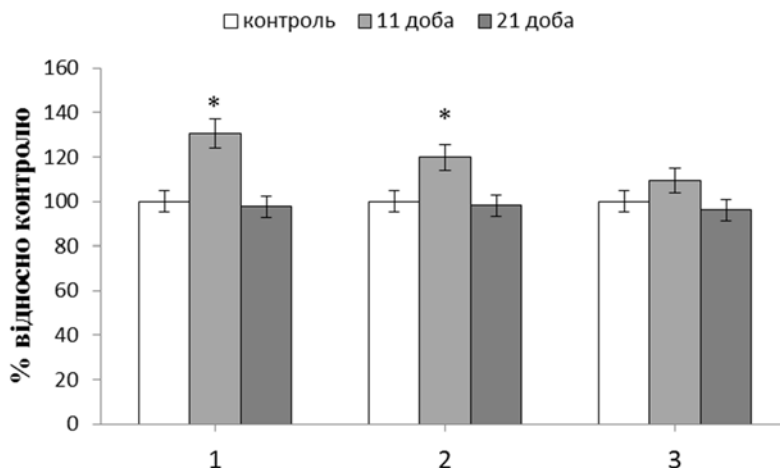


Рис. 2. Відносна загальна протеолітична активність (1), активність металопротеїназ (2) і серинових протеїназ (3) у печінці щурів за хронічної алкогольної інтоксикації ($M \pm m$, $n = 8$)

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю

Такі зміни на 11 добу експерименту можуть бути пов'язані з масовими тривалими порушеннями в організмі через алкогольну інтоксикацію та вироблення широкого спектру метаболітів, особливо білкового характеру. Згідно з літературними даними, підвищення активності металопротейнази може бути пов'язаним із розвитком фіброзу та може сприяти розвитку алкогольної кардіоміопатії. А. Касіні та інші вчені у своїх дослідженнях показали, що підвищення експресії металопротейнази-2 у тканині печінки за хронічної дії етанолу призводить до збільшення вмісту його метаболіту – ацетальдегіду [12]. Іншими авторами показано, що в сироватці крові людей, які зловживають алкоголем та мають виражений фіброз печінки, значно підвищується рівень металопротейнази-2 за 4 ступеня фіброзу і помірно підвищується за низького та нульового ступеня фіброзу [13]. Також підвищення протеолітичної активності може мати захисний характер, оскільки при цьому розщеплюються пошкоджені тканини до продуктів, які легко засвоюються або виводяться з організму.

Повернення протеолітичної активності до контрольного рівня на 21 добу експерименту може бути пов'язане з відновленням функції органів після припинення вживання етанолу. Отримані дані узгоджуються з літературними. Наприклад, при дослідженні загальної протеолітичної активності спостерігається поступове зниження показника в сироватці крові за хронічної алкогольної інтоксикації після припинення вживання етанолу [14].

Отже, за хронічної алкогольної інтоксикації нами виявлено підвищення загальної протеолітичної активності й активності металопротейнази у печінці та плазмі крові на 11 добу експерименту. Отримані результати можуть бути основою для подальшого більш детального дослідження особливостей механізмів протеолізу за хронічної алкогольної інтоксикації.

Список використаних джерел:

1. Torrente M. Protein biomarkers of alcohol abuse / M. Torrente, W. Freeman, K. Vrana // Expert. Rev. Proteomic. – 2012. – Vol. 9, № 4. – P. 425–436.
2. Physiological processes underlying organ injury in alcohol abuse / F. Souza-Smith, C. Lang, L. Nagy et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2016. – Vol. 311, № 3. – P. 605–619.
3. Kimball S. R. Mechanisms Underlying Muscle Protein Imbalance Induced by Alcohol / S. R. Kimball, C. H. Lang // Annu. Rev. Nutr. – 2018. – Vol. 38. – P. 197–217.
4. Халилов М. Х. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации / М. Х. Халилов, Ш. Я. Закирхорджаев // Вопросы клинической алкологии: сб. науч. тр. – Ташкент, 1983. – С. 38–41.
5. Меньшиков В. Лабораторные методы исследования в клинике / В. Меньшиков. – М.: "Медицина", 1987. – 310 с.
6. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques / X. J. Huang, Y. K. Choi, H. S. Im et al. // Sensors (Basel). – 2006. – Vol. 6, № 7. – P. 756–782.
7. Hummel B. C. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin / B. C. Hummel // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. – 1959. – Vol. 37, № 12. – P. 1393–1399.
8. Тарасова О. Современные лабораторные маркеры употребления алкоголя / О. Тарасова, Н. Мазурчик, П. Огурцов и др. // Клиническая фармакология и терапия. – 2007. – № 1. – С. 1–5.

А. Сербин, студ.,
Т. Коваль, канд. биол. наук,
О. Харченко, канд. биол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

На сегодня проблема алкоголизма является весьма актуальной во всем мире. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения злоупотребление алкоголем входит в тройку причин преждевременной смерти и относится к основным этиологическим факторам, вызывающим развитие хронических заболеваний не только печени, но и других органов. Тяжесть клиники и прогноз дальнейшей динамики, продолжающейся алкогольной интоксикации, можно изучать с помощью исследования состава белков в тканях, поскольку известно, что при указанной патологии наблюдается выраженная белковая дистрофия и активный протеолиз. Хотя сегодня много известно о влиянии алкоголя на протеолитические системы, многие вопросы еще нужно изучить, поскольку протеомные исследования могут быть использованы для поиска биомаркеров и терапевтических мишеней при злоупотреблении этанолом. Цель исследования – изучить протеолитическую активность плазмы крови и печени крыс при хронической алкогольной интоксикации на 11 и 21 сутки эксперимента. Крысам – самцам весом 180–200 г моделировали хроническую алкогольную интоксикацию путем внутрижелудочного введения 30-процентного этилового спирта в течение 10 дней натощак, из расчета 2 мл на 100 г массы животного. Общую протеолитическую активность, активность металлопротейназы и сериновых протеиназ определяли методом измерения казеинолитической активности.

9. Topic A. Diagnostic characteristics and application of alcohol biomarkers / A. Topic, M. Djukic // Clin. Lab. – 2013. – Vol. 59, № 3–4. – P. 233–245.

10. Jastrzębska I. Biomarkers of alcohol misuse: recent advances and future prospects / I. Jastrzębska, A. Zwolak, M. Szczurek et al. // Prz. Gastroenterol. – 2016. – Vol. 11, № 2. – P. 78–89.

11. Харченко О. Вміст трипсиноподібних ферментів і молекул середньої маси плазми крові як потенційні маркери хронічної алкогольної інтоксикації / О. Харченко // Вісник Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2015. – Т. 69, № 1. – С. 61–64.

12. Acetaldehyde regulates the gene expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 in human fat-storing cells / A. Casini, E. Ceni, R. Salzano et al. // Life Sci. – 1994. – Vol. 55. – P. 1311–1316.

13. Serum markers of fibrosis and endothelial dysfunction in patients with alcoholism, with varying degrees of liver fibrosis / L. Panchenko, N. Terebilina, S. Pyrozhkov et al. // Patol. Fiziol. Eksp. Ter. – 2015. – Vol. 55, № 3. – P. 18–27.

14. Ходос О. Особенности протеолиза в ткани головного мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации / О. Ходос, Г. Гидранович, М. Сачек // Вестник Витебского гос. мед. ун-та. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 24–31.

References:

1. Torrente M., Freeman W., Vrana K. Protein biomarkers of alcohol abuse. Expert Rev Proteomic. 2012; 9(4): 425–36.
2. Souza-Smith F., Lang C., Nagy L., Bailey S. Physiological processes underlying organ injury in alcohol abuse. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2016; 311(3): 605–19.
3. Kimball S. R., Lang C. H. Mechanisms Underlying Muscle Protein Imbalance Induced by Alcohol. Annu Rev Nutr. 2018 Aug 21; 38: 197–217.
4. Khalilov M. K., Zakikhordzhayev S. Y. On the characterization of certain pathochemical changes in the blood, liver and brain tissues during experimental alcohol intoxication. Problems of the alcoholism clinic: Col sci works, Tashkent. 1983: 38–41.
5. Menshikov V. Laboratory research methods in the clinic. M.: Medicine, 1987. 310 s.
6. Huang X. J., Choi Y. K., Im H. S. et al. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. Sensors (Basel). 2006 Jul 31; 6 (7): 756–82.
7. Hummel B. C. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1959; 37 (12): 1393–9.
8. Tarasova O., Mazurchik N., Ogurtsov P., Moiseev V. Modern laboratory markers of alcohol consumption. Clinical pharmacology and therapy. 2007; 1: 1–5.
9. Topic A., Djukic M. Diagnostic characteristics and application of alcohol biomarkers. Clin Lab. 2013; 59(3–4): 233–45.
10. Jastrzębska I., Zwolak A., Szczurek M. et al. Biomarkers of alcohol misuse: recent advances and future prospects. Prz Gastroenterol. 2016; 11 (2): 78–89.
11. Kharchenko O. Content of blood plasma trypsin-like enzymes and molecules of average mass as potential markers of the chronic alcoholic intoxication. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv – Biology 2015; 69 (1): 61–4.
12. Casini A., Ceni E., Salzano R. et al. Acetaldehyde regulates the gene expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 in human fat-storing cells. Life Sci. 1994; 55: 1311–6.
13. Panchenko L., Terebilina N., Pyrozhkov S. et al. Serum markers of fibrosis and endothelial dysfunction in patients with alcoholism, with varying degrees of liver fibrosis. Patol Fiziol Eksp Ter. 2015; 55(3): 18–27.
14. Hodos O., Gidranovich G., Sachek M. Features of proteolysis in rat brain tissue in chronic alcohol intoxication. Bulletin of Vitebsk State Medical University. 2008; 7(1): 24–31.

Надійшла до редколегії 10.04.2020
Отримано виправлений варіант 11.05.2020
Підписано до друку 11.05.2020

Received in the editorial 10.04.2020
Received a revised version on 11.05.2020
Signed in the press on 11.05.2020

Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда. Статистическую обработку результатов исследования проводили общепринятыми методами вариационной статистики.

Показано, что на 11 сутки от начала введения этанола крысам происходило повышение общей протеолитической активности и активности металопротеиназ, как в плазме крови, так и в печени.

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация, протеолитическая активность, металлопротеиназы, сериновые протеиназы.

A. Serbin, stud.,

T. Koval, Ph. D.,

O. Kharchenko, Ph. D.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

PROTEOLYTIC ACTIVITY OF RAT BLOOD PLASMA AND LIVER UNDER CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

Today, the problem of alcohol abuse is quite relevant around the world. According to the World Health Organization, alcohol abuse is one of the three causes of premature death and is one of the main etiological factors that cause the development of chronic diseases of the liver and other organs. The severity of clinical manifestations and the prognosis of ongoing alcohol intoxication can be investigated by studying the composition of proteins in tissues, as it is known that this pathology has a pronounced protein dystrophy and active proteolysis. Although much is known today about the effects of alcohol on proteolytic systems, many questions still need to be explored, as proteomic studies can be used to find biomarkers and therapeutic targets for ethanol abuse. The aim of the study was: to investigate the proteolytic activity of blood plasma and liver of rats in chronic alcohol intoxication at 11 and 21 days of the experiment. The model of chronic alcohol intoxication was modeled on male rats – weight 180-200g by intragastric administration of 30% ethyl alcohol solution for 10 days on an empty stomach, at the rate of 2 ml per 100 g of animal weight. Total proteolytic activity, activity of metalloproteinases and serine proteinases were determined by the method of determining caseinolytic activity. The protein concentration was determined by the Bradford method. Statistical processing of the study results was performed by conventional methods of variation statistics.

It was found that on the 11th day from the beginning of ethanol administration to rats, there was an increase in total proteolytic activity and activity of metalloproteinases in blood plasma and liver.

Keywords: chronic alcohol intoxication, proteolytic activity, metalloproteinases, serine proteinases.

УДК 612.82/83; 612.821

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.21-25

Г. Анцух, студ.,

Т. Куценко, канд. біол. наук,

Д. Наседкін, мол. наук. співроб.

А. Погребна, асп.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ДОСЛІДЖЕННЯ МІЖПІВКУЛЬНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ПОТЕНЦІАЛІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ ПОДІЯМИ

У дослідженні був використаний комбінований тест Струпа із залученням просторової ознаки. Подразники (слова "зелений", "червоний", "синій" та "жовтий", написані відповідним або невідповідним кольором), пред'являлися праворуч або ліворуч від центру екрана. У випадку збігу кольору слова і його семантичного значення потрібно було натиснути кнопку іпсилатеральною рукою (відповідь "так", конгруентний стимул), розбіжності – контралатеральною рукою (відповідь "ні", неконгруентний стимул). За отриманими раніше результатами було висловлено припущення про легше перенесення інформації із лівої півкулі у праву, ніж у зворотному напрямку, і домінуванні лівої півкулі при виконанні когнітивного завдання зазначеного типу. Для дослідження цієї гіпотези отримано записи потенціалів, пов'язаних із подіями (ППП) при виконанні обстежуваними цього тесту. Обстежуваними були сім чоловіків, правші, віком $20 \pm 1,13$ років. Найбільш інформативним виявилось відведення Cz, для якого отримані компоненти N450 й пізній позитивний комплекс (LPC) при стимулюванні неконгруентними стимулами із правого боку. Компонент N450 пов'язують з активністю передньої поясної кори і вважають надійним маркером конфлікту, що наявний в експериментальній парадигмі зазначеного тесту. LPC, імовірно, є компонентом, специфічним для завдання Струпа, і відповідає рівню конфлікту стимулів. Запис PPP із центрального відведення не дозволяє визначити в цьому випадку джерело їхнього походження. Проте порівняння PPP при неконгруентних стимуляціях справа і зліва свідчить про наявність відмінностей у реакції на стимули, що представлені із різних половин екрану. Поява зазначених компонентів для неконгруентних стимулів, експонованих із правого боку екрану, імовірно, означає їхню асоціацію із функціями лівої півкулі і підтверджує висунуту раніше гіпотезу про метаконтроль лівою півкулею при виконанні когнітивного завдання такого типу.

Ключові слова: комбінований тест Струпа, потенціали, пов'язані з подіями, міжпівкульна взаємодія, метаконтроль.

Вступ. Еволюційно мозок людини збільшувався, і паралельно знижувалася міжпівкульна зв'язаність із посиленням утворенням зв'язків усередині півкуль. Зниження швидкості транскалозального проведення є можливим механізмом поглиблення інтеграції процесів обробки всередині півкулі, і, як наслідок, латералізації мозку. Стійкі варіації в часі направлено перенесення інформації між півкулями зліва направо або навпаки можуть вважатися одним із виявів ступеня латералізації мозку. Одне з пояснень специфічної для напрямку відмінності у швидкості перенесення інформації полягає в тому, що права півкуля має більшу кількість мієлінізованих аксонів, що з'єднують кору. Однак аксони нейронів лівої півкулі можуть мати більшу варіабельність у швидкості, засновану на більшому їхньому різноманітті. Взаємодії між такими диференційованими механізмами можуть забезпечувати послідовну та паралельну обробку інформації, специфічно локалізуючи її в одній із півкуль, що

лежить в основі латералізації, яка спостерігається в людини. Інша модель пропонує еволюційно складену відмінність між півкулями. У ній ліва півкуля аналізує можливі варіанти майбутніх подій, а права – інтегрує інформаційні потоки із застосуванням їх до подій, які вже відбулися. Янус-модель передбачає таке розділення: ліва півкуля керується внутрішніми подіями, тому бере участь у плануванні та перевірці гіпотез, а права півкуля керується непередбачуваними подіями ззовні, тому вона зумовлює імпровізації та навчання методом проб і помилок. Зібрані за тривалий проміжок часу дані можуть застосовуватися до різних моделей латералізації мозку [1, 2, 3]. Дані нейровізуалізації вказують на активацію лівосторонньої префронтальної кори (ПФК) при виконанні завдання Струпа, а також на провідну роль лівої нижньої фронтальної кори порівняно з передньою поясною корою. Також є свідчення зв'язку збільшення активності лі-

вої дорсолатеральної префронтальної кори зі зменшенням впливу ефекту Струпа. Лівосторонні ділянки ПФК не тільки пов'язані з мовною обробкою, а також залучаються і до виконання тестів на перемикання завдань. Лівобічна ПФК виконує не лише процеси формування зв'язку "стимул-реакція", але і формує зв'язки між стимулами [4]. Відповідно до результатів, отриманих із даних щодо дослідження ППП, які реєстрували при виконанні завдання Струпа, можна зробити висновок, що збільшення активності ділянок передньої поясної кори (ППК) при неконгруентній стимуляції, про яку зазвичай повідомляють у різних дослідженнях ЕЕГ та візуалізації, не було пов'язане зі збільшенням амплітуди ППП, але привело до збільшення їхньої тривалості [5]. За результатами виконання складного тесту Струпа із залученням просторової ознаки було показано, що метаконтроль рухів і у правшів, й у лівшів, найімовірніше, міститься в лівій півкулі. Імовірно, був відкритий базовий механізм міжпівкульної взаємодії за умов такого когнітивного навантаження, а саме легше перенесення інформації із лівої півкулі у праву, ніж у зворотному напрямку [1]. Однак отримані результати потребують нейрофізіологічного підтвердження. У нашій роботі для дослідження цієї гіпотези, поки що лише у правшів, було проведене нейрофізіологічне дослідження із реєстрацією ППП.

Об'єкт та методи досліджень. В обстеженні взяли участь 10 добровольців. Усі учасники були чоловіками молодого віку ($M \pm \sigma = 20 \pm 1,13$). Домінантною для всіх вважалася права рука. Патології центральної нервової системи в учасників були відсутніми або невиявленими. Безпосередньо до аналізу ЕЕГ були внесені дані лише семи учасників. Виняток із дослідження даних зумовлено якістю записів та/або неможливістю їх проаналізувати. Усі тести, записи яких аналізувалися, були пройдені з використанням української мови. Програма для тестування написана для операційної системи MS Windows [2]. Стимули (слова "Зелений", "Червоний", "Синій", "Жовтий", написані відповідними або невідповідними кольорами) пред'являлись праворуч або ліворуч від центру екрана. У випадку конгруентності слова і його семантичного значення обстежувані повинні були натискати одну клавішу іпсилатеральною рукою, а в разі невідповідності – іншу клавішу контралатеральною рукою. Загальна кількість поданих стимулів дорівнює 400. Кількість пред'явлень зумовлена необхідністю досягнення такої кількості нейронних відповідей, що дозволяє провести їх усереднення з метою реєстрації та візуалізації ППП. Для реєстрації ЕЕГ та ППП використовували комплекс "Нейрон-Спектр-4/ВП" (НейроСофт, Росія). Запис ЕЕГ здійснювали монополярно, референтний електрод розміщували на потилиці вуха з кожного боку, частота дискретизації за-

пису дорівнювала 500 Гц. Використано мостикові посріблені електроди, які накладалися за міжнародною системою 10–20 % у 19 стандартних відведеннях. Аналіз даних, що були отримані в ході запису ЕЕГ, проводився за допомогою набору інструментів EEGLAB [6] у програмі MATLAB R2014a (The Mathworks, Inc.). Частота дискретизації неперервних даних була знижена від 500 Гц до 250 Гц. Завдяки цій операції, крім стиснення даних, досягається відсіювання інформації, що залишається на високих частотах, та полегшується розкладання сигналу на незалежні компоненти. Неперервні дані фільтруються за допомогою фільтру високих частот на частоті 1 Гц. Фільтрація неперервних даних перешкоджає появі артефактів фільтрації, що можуть з'являтися на межі розділених на епохи даних. Дані досліджень свідчать, що фільтрація верхніх частот на частоті 1–2 Гц є найбільш прийнятною для подальшого використання аналізу незалежних компонент (ICA) [7, 8]. Отримуються чотири типи стимулів: праві конгруентні, праві неконгруентні, ліві конгруентні та ліві неконгруентні. Для кожного типу стимулів виокремлювався окремий набір епох. У зазначеному випадку епохи виділялися за такими межами: до стимулу –1 с, й 2 с – після нього. Розділені на епохи дані підлягали декомпозиції за допомогою ICA. Для проведення аналізу використовувався алгоритм ICA, заснований на Infomax [9, 10]. Кожен ППП, записаний зі скальпу, є усередненим сигналом від окремих сигналів кожного із семи обстежених, записаних на зазначеному каналі. Усі дані були віднесені до однієї групи, оскільки стимуляцію для кожного суб'єкта можна вважати в деякому наближенні ідентичною. Потенціали для кожного стану стимуляції порівнювалися попарно. Для парних порівнянь використовувався непараметричний варіант t -критерію, що заснований на методі рандомізації. Останній також називають методом перестановок. У цьому випадку кількість перестановок дорівнювала 2000. Значення p отримані із застосуванням поправки на множинне порівняння методом середньої частки хибних відхилень (false discovery rate, FDR). Метод заснований на корекції Холма та використовує останнє p -значення із цієї корекції як скорегований поріг для всіх величин [11].

Результати та їхнє обговорення. Найбільш значимі відмінності вдалося отримати при порівнянні відмінностей потенціалів із каналів запису за місцем електроду Cz для таких станів стимуляції: права неконгруентна із правою конгруентною (ПН – ПК), ліва неконгруентна із правою неконгруентною (ЛН – ПН) та ліва конгруентна із правою неконгруентною (ЛК – ПН).

Порівняння потенціалів, викликаних конгруентними та неконгруентними стимулами, пред'явленими із правого боку екрана (рис. 1), виявило значимі ($p < 0,01$) відмінності в часовому ході потенціалу.

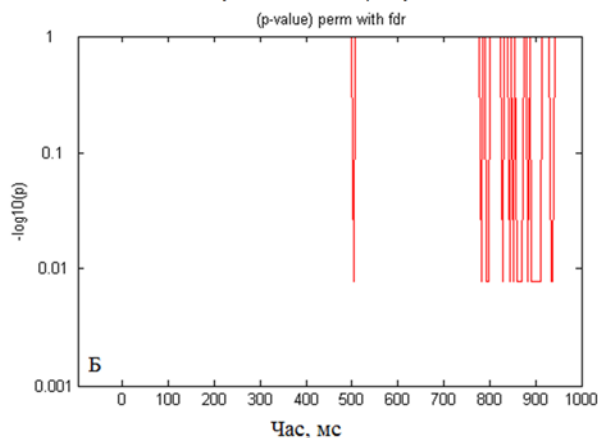
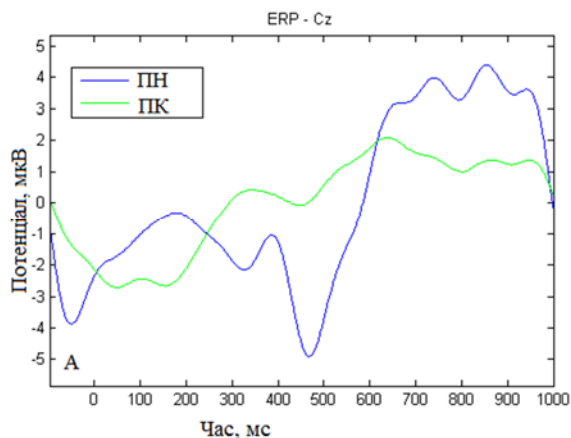


Рис. 1. А – ППП при правій неконгруентній (ПН) та правій конгруентній (ПК) стимуляції. Б – p -значення (значимість) відповідно до моменту часу

Перша відмінність спостерігається для латентності біля 500 мс від моменту стимуляції, де стимуляція неконгруентним подразником пов'язана із негативним (до -5мкВ) піком потенціалу. Характерна форма піку (порівняно різкий спад) дозволяє припустити його належність до компоненту N400. На користь можливої правильності цього припущення свідчать характеристики часу (зазвичай це проміжок 250–500 мс) й амплітуди (від -5мкВ до 5мкВ), які є атрибутами зазначеного компоненту [12].

На проміжку між 700 та 1000 мс наявна позитивна (приблизно до 4мкВ) хвиля, що значно відрізняється від

такої на зазначеному проміжку при конгруентній стимуляції. Цей пік за своїми характеристиками (зазвичай це позитивна хвиля між 400 та 800 мс) відповідає пізньому позитивному комплексу (late positive complex, LPC). Також за характеристиками та позицією відносно попереднього негативного компонента можлива наявність компоненту P600 [13].

Подібні відмінності спостерігалися і при порівнянні потенціалів при стимуляції неконгруентними стимулами із лівого та правого боку екрана окремо (рис. 2).

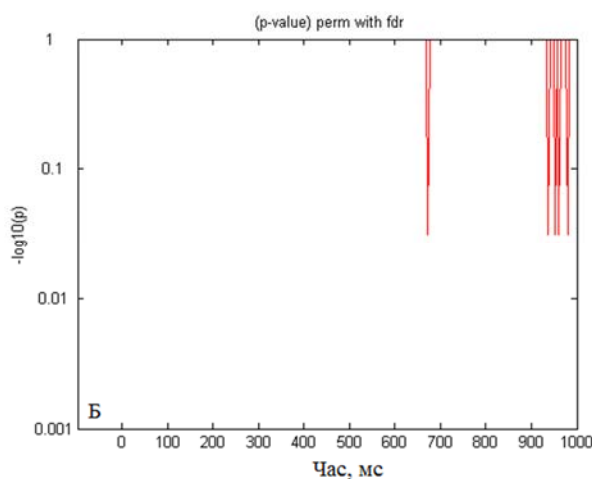
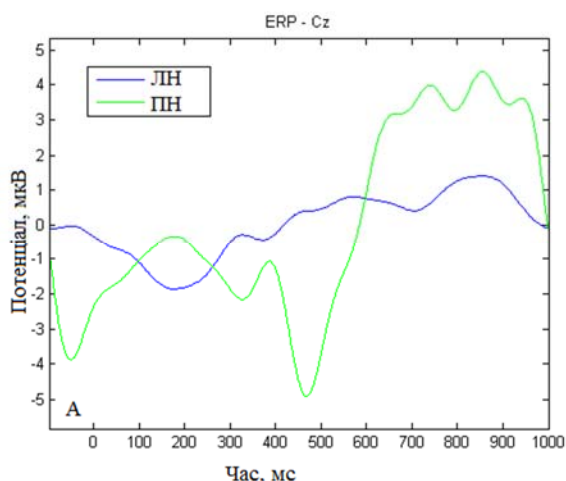


Рис. 2. А – ППП при неконгруентній стимуляції з лівого (ЛН) та правого (РН) боків.
Б – p -значення (значимість) відповідно до моменту часу

Статистична значимість ($p < 0,05$) цих відмінностей є нижчою, порівняно з випадком стимуляції неконгруентними та конгруентними стимулами із правого боку, але можна вважати, що спостерігається тенденція до порівняно кращого виокремлення компонент N400 та LPC при

подачі стимулу саме із правого боку екрана. Стимуляція конгруентними стимулами з лівого боку порівняно із неконгруентною стимуляцією із правого боку (рис. 3) виявляє більшу значимість при порівнянні ЛН – ПН, але меншу при порівнянні із ПН – ПК.

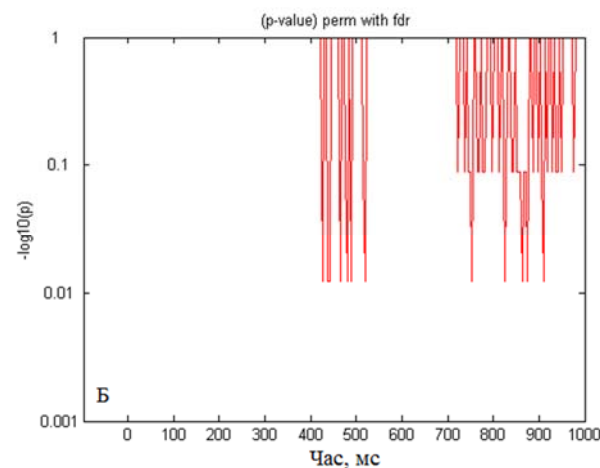
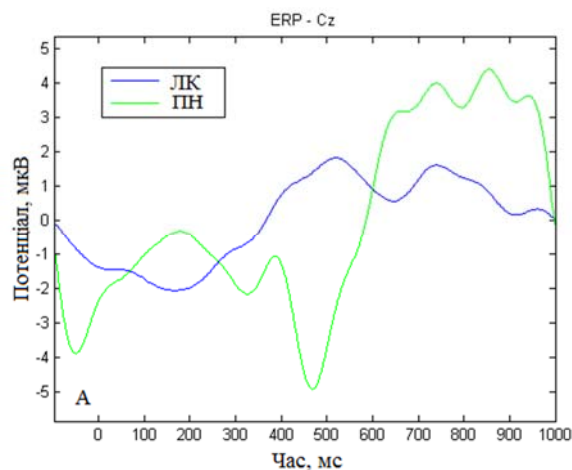


Рис. 3. А – ППП при неконгруентній (ПН) стимуляції із правого боку та конгруентній стимуляції з лівого (ЛК).
Б – p -значення (значимість) відповідно до моменту часу

Компонент, що записаний у проміжку між 400 та 500 мс, може бути уточнений за своїм положенням у часі як N450. Зазначений підтип цього компоненту був описаний у літературних джерелах як такий, що спостерігається тільки при виконанні завдання Струпа [6]. Другий значущий компонент, LPC, що виникає приблизно між 500 та 600 мс та продовжується до 1000 мс, як подано в літературі, може бути пов'язаним із двома процесами. Перший полягає в інтерпретації семантичного значення стимулу, а другий – у підвищенні активності регуляції уваги. Останнє має значення в дослідженнях із тестами, що містять конфлікт, та пов'язане з адаптацією до нього.

Також відмічалось, що LPC має тенденцію до виявлення в лівій частині скальпи, та може мати більшу амплітуду для неконгруентних стимулів [6]. У нашому випадку він був зареєстрований на тім'яному електроді (Cz). Проте за умов виконання надходження інформації про стимул із правого боку екрана в першу чергу до лівої зорової кори, цей компонент у цьому випадку можна асоціювати із лівою півкулею. На користь такого припущення може свідчити порівняння умов із неконгруентною стимуляцією (див. рис. 2), оскільки стимул, представлений з лівого боку екрана, не пов'язаний зі спостереженням виражених зазначених компонент потенціалу.

Для виявлення конкретніших відмінностей необхідно збільшити вибірку обстежених. Це надасть можливість використати для аналізу параметричні статистичні методи. Оскільки для корекції множинного порівняння використовувався метод середньої частки хибних відхилень (FDR), то зазначені статистичні відмінності можуть виявитися не такими суттєвими, як вони представлені в нашому дослідженні. Причиною останнього є збільшена потужність критерію, внаслідок чого збільшується кількість помилок першого роду.

Для майбутніх досліджень корисним буде застосування методів, що дозволяють локалізувати джерела сигналів у поєднанні з можливістю внесення змін у процедуру тестування, що засновані на варіабельності деяких показників, наприклад, часу пред'явлення стимулу. Додатково можливе застосування аналізу інших інформативних параметрів запису активності, зокрема тих, що засновані на аналізі частот коливань ЕЕГ.

Нами виявлені компоненти потенціалів, пов'язаних із подіями, зареєстрованими при пред'явленні стимулів на правій половині екрану. За умови виконання тахістоскопічного пред'явлення, це, ймовірно, означає їхню асоціацію із лівою півкулею. Для правшів це означає ймовірну локалізацію процесів, які відображають ці компоненти, у лівій півкулі. При цьому активність правої півкулі при виконанні завдання, та її характер, принаймні в аналізованому часовому проміжку, залишаються невідомими. Оскільки роль мозолистого тіла натеper залишається розкритою неповністю, то важко визначити характер взаємодії між лівою та правою півкулями у нашому дослідженні.

Висновки. Найбільш інформативним з отриманих записів ППГ виявилось відведення Cz, для якого отримані компоненти N450 й пізній позитивний комплекс (LPC) при стимулюванні неконгруентними стимулами із правого боку. Аналіз відмінностей вказує на появу зазначених компонентів для неконгруентних стимулів, експонованих із правого боку екрану, що, ймовірно, означає їхню асоціацію із функціями лівої півкулі. Отже, гіпотеза про домінування лівої півкулі при виконанні когнітивного завдання зазначеного типу певною мірою отримує своє підтвердження.

Список використаних джерел:

1. Куценко Т. В. Міжпівкульне перенесення інформації при виконанні складного тесту Струпа із залученням просторової ознаки у правшів і лівшів / Т. В. Куценко // Вісник Черкаського ун-ту. Сер.: Біологічні науки. – 2017. – № 1. – С. 37–47.
2. Куценко Т. В. Виконання комбінованого тесту із завданнями Струпа, Поффенберга, Сперрі у нав'язаному та довільному режимах / Т. В. Куценко, Д. Б. Наседкін // Вісник Черкаського ун-ту. Сер.: Біологічні науки. – 2018. – № 1. – С. 62–69.
3. Nowicka A. Transcallosal transfer of information and functional asymmetry of the human brain / A. Nowicka P. Tacikowski // Laterality: Asymmetries of Body, Brain and Cognition. – 2011. – 16 (1). – P. 35–74.
4. Vallesi A. Organisation of executive functions: Hemispheric asymmetries / A. Vallesi // Journal of Cognitive Psychology. – 2012. – 24 (4). – P. 367–386.
5. Ruggeri P. A fine-grained time course investigation of brain dynamics during conflict monitoring / P. Ruggeri, H. B. Mezziane, T. Koenig, C. Brandner // Scientific reports. – 2019. – 9 (1). – P. 3667.
6. Donohue S. E. The neural dynamics of stimulus and response conflict processing as a function of response complexity and task demands / S. E. Donohue, L. G. Appelbaum, C. C. McKay, M. G. Woldorff // Neuropsychologia. – 2016. – 84. – P. 14–28.

Г. Анцух, студ.,
Т. Куценко, канд. биол. наук,
Д. Наседкін, млад. науч. сотруд.,
А. Погребна, асп.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕЖПОЛУШАРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ПОТЕНЦИАЛОВ, СВЯЗАННЫХ С СОБЫТИЯМИ

В исследовании был использован комбинированный тест Струпа с привлечением пространственного признака. Раздражители (слова "зеленый", "красный", "синий" и "желтый", написанные соответствующим или несоответствующим цветом), предъявлялись справа или слева от центра экрана. В случае совпадения цвета слова и его семантического значения нужно было нажимать кнопку ипсилатерально рукой (ответ "да", конгруэнтный стимул), несовпадения – контралатерально рукой (ответ "нет", неконгруэнтный стимул). По полученным ранее результатам было высказано предположение о более легком переносе информации из левого полушария в правое, чем в обратном направлении, и доминировании левого полушария при выполнении данного типа когнитивного задания. Для

7. Delorme A. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis / A. Delorme, S. Makeig // Journal of neuroscience methods. – 2004. – 134 (1). – P. 9–21.
8. Winkler I. On the influence of high-pass filtering on ICA-based artifact reduction in EEG-ERP / I. Winkler, S. Debener, K. R. Müller, M. Tangermann // 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. – 2015. – DOI:10.1109/EMBC.2015.7319296.
9. Bell A. J. An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution / A. J. Bell, T. J. Sejnowski // Neural Comput. – 1995. – 7 (6). – P. 1129–59.
10. Nadal J. P. Sensory coding: information maximization and redundancy reduction / J.-P. Nadal, N. Parga // Neural Information Processing, G. Burdet, P. Combe and O. Parodi Eds. World Scientific Series in Mathematical Biology and Medicine. – 1999. – 7. – P. 164–171.
11. Benjamini Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing / Y. Benjamini, Y. Hochberg // Journal of the Royal Statistical Society. Series B. – 1995. – 57 (1). – P. 289–300.
12. Kutas M. Thirty years and counting: finding meaning in the N400 component of the event-related brain potential (ERP) / M. Kutas, K. Federmeier // Annual Review of Psychology. – 2011. – 62. – P. 621–647.
13. Fitz H. Language ERPs reflect learning through prediction error propagation / H. Fitz, Ch. F. Chang // Cognitive Psychology. – 2019. – 111. – P. 15–52.

References:

1. Kutsenko T. Mizhpivkul'ne perenesennya informatsiyi pry vykonanni skladnoho testu Strupa iz zaluchenniam prostorovoyi oznaki u pravshiv i livshiv [Interhemispheric transfer of information in performance of complex Stroop test involving spatial properties by right- and left-handers]. Bulletin of Cherkasy university. Biological Sciences Series. 2017; 1:P. 37–47.
2. Kutsenko T., Nasiedkin D. Vykonannya kombinovanoho testu z boku Strupy, Poffenberha, Sperry u spravi ta dovil'nomu rezhyim [Performance of the combined test with the tasks of Stroop, Poffenberger, Sperry in the forced and voluntary regimes]. Bulletin of Cherkasy university. Biological Sciences Series. 2018. № 1. P. 62–69.
3. Nowicka A, Tacikowski P. Transcallosal transfer of information and functional asymmetry of the human brain, Laterality: Asymmetries of Body, Brain and Cognition. 2011; 16: 1, 35–74.
4. Vallesi A. Organisation of executive functions: Hemispheric asymmetries/ Journal of Cognitive Psychology. 2012; 24:4, 367–386
5. Ruggeri P., Mezziane H. B., Koenig T. & Brandner C. A fine-grained time course investigation of brain dynamics during conflict monitoring. Scientific reports. 2019; 9(1), 3667.
6. Donohue S. E., Appelbaum L. G., McKay C. C. & Woldorff M. G. The neural dynamics of stimulus and response conflict processing as a function of response complexity and task demands. Neuropsychologia. 2016; 84, 14–28.
7. Delorme A., Makeig S. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. Journal of neuroscience methods. 2004; 134(1), 9–21.
8. Winkler I., Debener S., Müller K. R., Tangermann M. On the influence of high-pass filtering on ICA-based artifact reduction in EEG-ERP. 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 2015. DOI:10.1109/EMBC.2015.7319296.
9. Bell A. J., Sejnowski T. J. An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. Neural Comput. 1995; 7 (6): 1129–59.
10. Nadal J. P., Parga N. Sensory coding: information maximization and redundancy reduction. Neural Information Processing, G. Burdet, P. Combe and O. Parodi Eds., World Scientific Series in Mathematical Biology and Medicine. 1999; 7: 164–171.
11. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. Journal of the Royal Statistical Society, Series B. 1995; 57 (1): 289–300.
12. Kutas M., Federmeier K. Thirty Years and Counting: Finding Meaning in the N400 Component of the Event-Related Brain Potential (ERP). Annual Review of Psychology. 2011; 62: 621–647.
13. Fitz H., Chang F. Language ERPs reflect learning through prediction error propagation. Cognitive Psychology. 2019; 111: 15–52.

Надійшла до редакції 13.04.2020
Отримано виправлений варіант 14.05.2020
Підписано до друку 14.05.2020

Received in the editorial 13.04.2020
Received a revised version on 14.05.2020
Signed in the press on 14.05.2020

исследования этой гипотезы получены записи потенциалов, связанных с событиями (ПСС), при выполнении испытуемыми этого теста. Испытуемыми были семеро мужчин, правши, в возрасте $20 \pm 1,13$ лет. Наиболее информативным оказалось отведение Cz, для которого получены компоненты N450 и поздний позитивный комплекс (LPC) при стимулировании неконгруэнтными стимулами с правой стороны. Компонент N450 связывают с активностью передней поясной коры и считают надежным маркером конфликта, имеющегося в экспериментальной парадигме данного теста. LPC, вероятно, является компонентом, специфическим для задания Струпа, и соответствует уровню конфликта стимулов. Запись ПСС с центрального отведения не позволяет определить в данном случае источник их происхождения. Однако сопоставление ПСС при неконгруэнтных стимуляциях справа и слева указывает на наличие различий в реакции на стимулы, представленные из разных половин экрана. Появление данных компонентов для неконгруэнтных стимулов, представляемых с правой стороны экрана, вероятно, означает их ассоциацию с функциями левого полушария, и подтверждает выдвинутую ранее гипотезу о метаконтроле левым полушарием при выполнении данного типа когнитивной задачи.

Ключевые слова: комбинированный тест Струпа, потенциалы, связанные с событиями, межполушарное взаимодействие, метаконтроль.

G. Antsukh, stud.,
T. Kutsenko, Ph. D.,
D. Nasiedkin, junior researcher,
A. Pohrebna, Ph. D. stud.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

STUDY OF INTERHEMISPHERIC INTERACTION BY THE INDICES OF EVENT-RELATED POTENTIALS

The study used a combined Stroop test involving a spatial feature. Stimuli (the words "green", "red", "blue" and "yellow", written in relevant or irrelevant color) were presented to the right or left of the center of the screen. In the case of coincidence of the color of the word and its semantic meaning, it was necessary to press the button with the ipsilateral hand (answer "yes", congruent stimulus), discrepancies – with the contralateral hand (answer "no", incongruent stimulus).

According to the results obtained earlier, it was suggested that it is easier to transfer information from the left hemisphere to the right than in the opposite direction, and the dominance of the left hemisphere when performing this type of cognitive task. To study this hypothesis, records of event-related potentials (ERP) were obtained when subjects performed this test. The subjects were 7 men, right-handed, aged $20 \pm 1,13$ years. The most informative was the registration from Cz, for which the components N450 and late positive complex (LPC) were obtained when stimulated by incongruent stimuli from the right side. The N450 component is associated with anterior cingulate cortex activity and is considered a reliable marker of conflict present in the experimental paradigm of this test. LPC is probably a component specific to the Stroop task and corresponds to the level of conflict of stimuli. Recording ERPs from the central lead does not allow to determine in this case the source of their origin. However, a comparison of ERP of incongruent stimuli from the right and left indicates differences in response to stimuli from different halves of the screen. The appearance of these components for incongruent stimuli exposed on the right side of the screen probably means their association with the functions of the left hemisphere, and confirms the previous hypothesis of metacontrol by the left hemisphere in this type of cognitive task.

Keywords: combined Stroop test, event-related potentials, interhemispheric interaction, metacontrol.

УДК 577.122.8
DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.25-31

A. Stavnichuk, Ph. D. stud.,
O. Savchuk, Dr. Sc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
Abdul Hye Khan, Ph. D.,
Wojciech K. Jankiewicz, stud.,
John D. Imig, Ph. D.
The Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI, USA

A SORAFENIB INDUCED MODEL OF GLOMERULAR KIDNEY DISEASE

Glomerular damage and proteinuria are important pathophysiological signs of chronic kidney disease. This study provides data obtained using a model developed based on the use of the anti-cancer drug sorafenib. Sorafenib is a tyrosine kinase inhibitor that acts through the signaling pathway associated with vascular endothelial growth factor and is widely used to treat various types of cancer. Sorafenib, on the other hand, causes serious side effects in patients, including the development of chronic kidney disease. This study was aimed at using the nephrotoxic properties of sorafenib to model chronic kidney disease in rats. We showed that rats treated with sorafenib for 8 weeks along with a diet high in salt (8% NaCl) develop hypertension with high systolic blood pressure of 80 mmHg, proteinuria with an increase in protein content of 75% higher, and a 4-fold increase in glomerular damage compared to the control group. In case of damage to the renal glomeruli caused by sorafenib, the level of transcripts that are involved in the synthesis of key glomerular proteins such as nephrine, podocin, synaptopodin and subplanin is significantly reduced. Also, when studying this model, activation of the endothelial-mesenchymal transition is observed. In the group of rats treated with sorafenib, the mRNA level for the WT-1 endothelial cell marker was reduced by 20%, while the concentration of the Col III, FSP-1, α -SMA and vimentin mesenchymal cell markers increased by 2–3 times. Thus, we developed a preclinical model of chronic kidney disease, expressed in damage to the renal glomeruli. We also demonstrated that glomerular damage in this model is associated with decreased expression of key structural glomerular proteins and activation of the endothelial-mesenchymal transition of the kidneys.

Keywords: sorafenib, vascular endothelial growth factor, glomerular injury.

Introduction. Angiogenesis inhibition is a cancer chemotherapeutic approach utilizing either monotherapy or combination chemotherapy and has become a standard treatment for several types of cancers. Anti-angiogenic drugs are particularly effective against solid tumors, such as metastatic renal cell carcinoma (mRCC), non-small cell lung carcinoma, gastrointestinal stromal tumors (GIST), and colorectal carcinoma [20]. One of the main angiogenic growth factors that is targeted to treat cancer is vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors [6]. Several multi-targeted kinase inhibitors (MTKIs) sorafenib, sunitinib, and pazopanib were approved for the treatment of

metastatic renal cell carcinoma (mRCC) and several other cancers [14, 20]. MTKIs are small molecules that target the VEGF receptor VEGFR-2, the platelet-derived growth factor (PDGF) receptor, RAS, and c-KIT [4].

MTKI medications have expanded to many different solid tumors, with ongoing clinical trials with newer formulations [8]. Although very effective in treating mRCC, GIST and non-small cell carcinoma, the MTKIs such as sorafenib have several limiting serious side effects. The most common and serious side-effects of VEGF-targeted therapies are hypertension including salt-sensitive

hypertension, kidney dysfunction with proteinuria, glomerular and renal tubular injuries [4].

In the present study, we have investigated the MTKI sorafenib on the kidney and glomerulus. We demonstrate that sorafenib in combination with a high sodium diet (8% NaCl) causes marked glomerular injury that is associated with a decrease in key glomerular proteins essential for glomerular structure and function. Our data also demonstrate a critical contribution for endothelial-to-mesenchymal transition (EndoMT) in sorafenib-induced kidney and glomerular injury. We propose that sorafenib can be utilized as a glomerular kidney disease model to study pathophysiology during progressive chronic kidney disease.

Material and methods. All experiments in this study were approved and carried out according to the guidelines of the Institutional Animal Care and Use Committee, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA. Eight-twelve weeks old male Sprague–Dawley rats weighing 200–225 g (Charles River, MA, USA) received an 8% NaCl diet and administered vehicle or sorafenib (20mg/kg/d, p.o.) for 8 weeks. The sorafenib dose was chosen based on a previous rat study [21]. A schematic of the experimental protocol is shown in Figure 1.

Figure 1

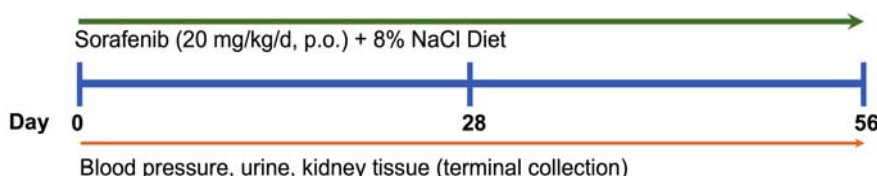


Figure 1. A schematic depicting the experimental protocol used in the study

Blood pressure and urine collection were done at baseline and then on days 28 and 56 of the experimental protocol. Urine samples were used for biochemical analysis to measure protein and creatinine. Blood and kidney tissues were collected at the end of the 56 day protocol. Kidney tissues were processed for histology and gene expression analysis. Systolic blood pressure measurements of vehicle and sorafenib administered rat groups were carried out by tail-cuff plethysmography (IITC Life Science Inc., Woodland Hills, CA, USA). Blood pressure measurement was done at baseline, day 28, and day 56 of the experimental protocol. Urine samples collected at baseline, day 28, and day 56 were used for protein measurement using a commercially available kit (Cayman, Ann Arbor, MI, USA). Creatinine levels in urine were measured using a commercially available kit from Cayman (Ann Arbor, MI, USA). Urinary protein and creatine values were used to calculate their urinary excretion over a 24-hour period. The ratio for urinary protein and creatinine excretion was calculated as a proteinuria index. At the end of the 8-week experimental protocol, rats were killed for kidney tissue collection. The kidney was removed, decapsulated, cut into sections and immersion fixed in 10% neutral buffered formalin for 48 hours. Fixed kidney samples were embedded in paraffin and cut into 4µm sections. Paraffin embedded kidney slices were finally de-paraffinized, rehydrated, and stained with Periodic Acid Schiff (PAS) staining. A semi-quantitative evaluation of glomerular injury was obtained from the PAS stained kidney sections. For each kidney sample, 100 glomeruli were examined to obtain the glomerular injury score as previously described [13]. Each glomerulus was graded from 1 to 4 as follows; grade 1, normal glomerulus identified by light microscopy; grade 2, involvement of sclerosis in up to 1/3 of the glomerulus; grade 3, involvement of sclerosis in 1/3 to 2/3 of the glomerulus; and grade 4, 2/3 involvement or global sclerosis. The extent of glomerular injury is expressed as glomerular injury index [13]. Kidney cortical mRNA expression for several glomerular proteins (nephrin, podocin, synaptopodin, and podoplanin) were carried out using Real Time-PCR (RT-PCR). RT-PCR was also used to determine the gene expression for endothelial cell marker

Wilms Tumor 1 (WT-1) and several mesenchymal markers fibronectin, collagen III (Col III), α -smooth muscle actin (α -SMA), fibroblast specific protein-1 (FSP-1) and vimentin. Messenger RNA (mRNA) was prepared from each kidney cortical sample using RNeasy Mini Kit (QIAGEN, CA, USA). The mRNA samples were quantified spectrophotometrically and cDNA was synthesized from 1µg of total RNA using iScript™ Select cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Gene expression was quantified by iScript One-Step RT-PCR Kit with SYBR green using the MyiQ™ Single Color RT-PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Dissociation curve analysis was carried out with iQ5 Optical System Software, Version 2.1 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA), and each amplified sample analyzed for homogeneity. During RT-PCR, the denaturation of the cDNA was done at 95°C for 2 min followed by 40 cycles used at 95°C for 10s and at 60°C for 30s. All mRNA samples were run in triplicate and fold change in gene expression was compared to controls determined by comparative threshold cycle (C_t) method. Expression levels of the gene of interest were determined by normalizing C_t values to two housekeeping genes. All data are expressed as mean $\pm$ S.E.M. GraphPad Prism® Version 4.0 software was utilized statistical analysis (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA). Two-tailed unpaired Student's t-test was applied to determine statistical significance between groups. P value of < 0.05 was deemed significant.

Results and discussion Hypertension is the most common cardiovascular event that occurs with VEGF-signaling pathway inhibitors [2]. Sorafenib induces hypertension in around one-quarter of the patients [27]. In agreement with this finding, data in the present study demonstrate that sorafenib treatment along with a high salt diet resulted in a marked hypertension. Systolic blood pressure increased by 80 mmHg in rats administered sorafenib compared to normal control-vehicle rats by the end of the 8-week protocol (Figure 2A).

Figure 2

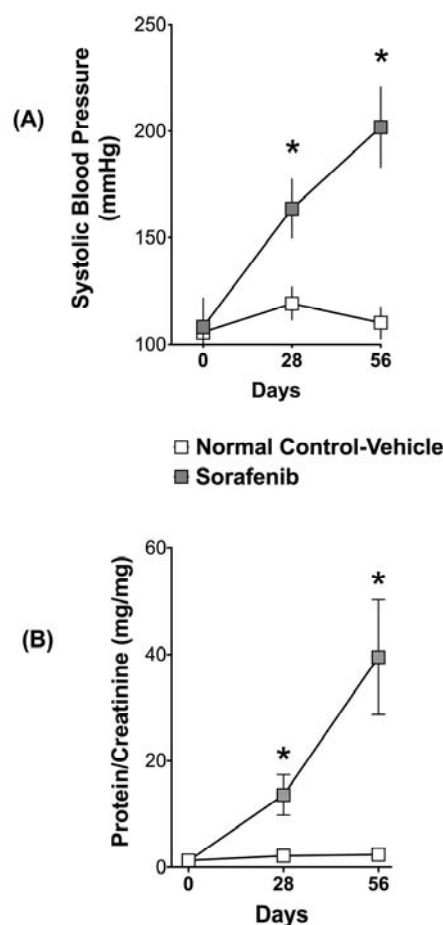


Figure 2. Systolic blood pressure in different experimental groups (A).
Proteinuria expressed as the ratio of urinary protein to creatinine excretion in different experimental groups (B)

*P vs. Normal Control-Vehicle. All data are expressed as mean $\pm$ SEM, N = 6

Evidence indicates that VEGF inhibition causes hypertension as a consequence of decreased nitric oxide production [11]. Another proposed mechanism by which VEGF-signaling pathway inhibition leads to hypertension is that inhibition of the VEGF-signaling pathway increases the production of endothelin-1, a potent vasoconstrictor [2]. It is important to note that sorafenib is known to cause salt-sensitivity [26], hence, it is very likely that the placing the sorafenib treated rats on high salt diet is also played an important pathophysiological role in the development of hypertension and kidney injury assessed from proteinuria. In relation a role of salt sensitivity in VEGF inhibition associated hypertension and kidney injury, in normotensive Sprague-Dawley (SD) rats, the tyrosine kinase inhibitor SU5416 induced salt-sensitive hypertension and kidney injury. In a study performed in normotensive Wistar-Kyoto rats exposed to a low dose of sunitinib, a similar VEGF inhibitor like sorafenib, it is found that a high salt diet augmented the rise in blood pressure and proteinuria [16]. Different mechanisms may account for the salt sensitive hypertension during VEGF inhibition.

As suggested by Gu et al, the VEGF inhibition-induced decrease in NO production by renal proximal tubular cells may impair the pressure-natriuresis response because of impaired vasodilatation in the vasa recta [10]. Additionally, it is suggested that the VEGF inhibition can activate endothelin system and contribute to salt-sensitive hypertension [19].

In the present study, our data demonstrate that the sorafenib treated rats develop marked proteinuria with a 40-fold higher urinary protein excretion compared to normal control-vehicle rats (Figure 2B). Like hypertension, development of proteinuria is another common side effect associated with VEGF inhibitors including sorafenib [5, 12]. Other findings substantiate that VEGF inhibition by drugs like sorafenib causes damage to the glomerular filtration system and leads to proteinuria [12]. In the present study, we demonstrate that rats administered sorafenib in combination to a high sodium diet develop marked 4-fold higher glomerular injury characterized by glomerular sclerosis, mesangiolysis, and glomerular capillary injury (Figure 3A, 3B).

Figure 3

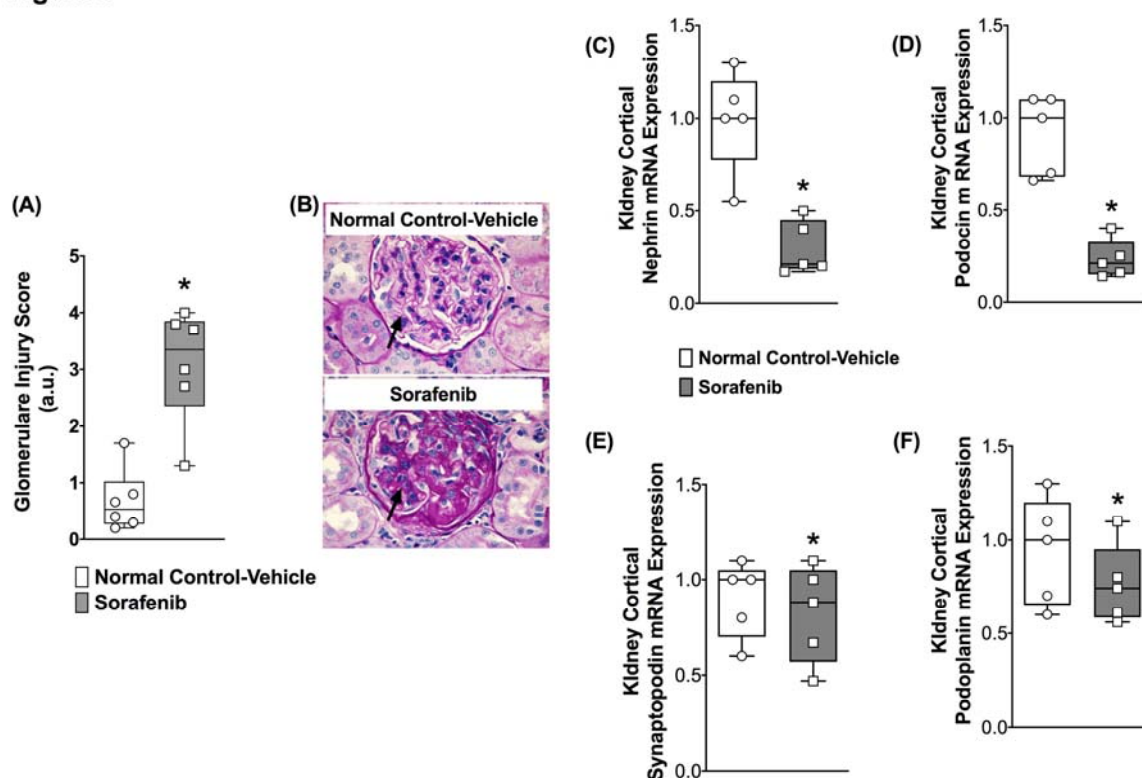


Figure 3. Glomerular injury index in different experimental groups (A).
A representative photomicrograph depicting glomerular injury in normal control-vehicle and rats administered sorafenib (B).
Kidney cortical expression of several glomerular proteins in different experimental groups (C-F)

*P vs. Normal Control-Vehicle. All data are expressed as mean $\pm$ SEM, N = 6

These findings corroborate those of several earlier studies that described glomerular injury during VEGF inhibition [3, 22]. Not only others, in an earlier study, we demonstrated that sorafenib treatment along with high salt diet caused marked glomerular injury in rats [21]. The glomerulus is a highly specialized filtration apparatus with selective permeability that allows free passage of water and solutes, but not protein. The permselectivity of the glomerular filtration barrier restricts protein passage into Bowman's space. Glomerular barrier breakdown and loss of permselectivity leads to proteinuria, which is common in renal diseases. The current study found increased urinary protein and glomerular barrier breakdown in rats administered sorafenib. Although the details of glomerular filtration permselectivity and barrier remain unknown, it is clear that the glomerular epithelial cell and podocyte are important glomerular filtration barrier components. Podocyte injury is frequently involved in the pathogenesis of glomerular diseases [24]. Podocyte damage can be the result of changes in individual podocyte-associated proteins including those that assemble and stabilize the slit diaphragm and those that anchor the foot process to the glomerular basement membrane. In the present study, we evaluated kidney cortical mRNA expression of these proteins including nephrin, podocin, synaptopodin, and podoplanin. Our findings demonstrate that in rats administered sorafenib there is 20-80% lower mRNA expression of glomerular proteins compared to normal control-vehicle rats (Figure 3C-F). It has been proposed that decreased expression of glomerular proteins could be linked to decreased VEGF signaling that occurs with sorafenib administration. Indeed, VEGF is crucial to the maintenance of normal renal function, and both VEGF over- and under-

expression can disrupt normal glomerular function. The interaction between VEGF generated by podocytes and VEGFR-2 on glomerular endothelial cells is necessary to maintain glomerular slit diaphragm barrier integrity [8, 9, 15]. Several studies underscored the importance of VEGF signaling in kidney health. Selective depletion of one VEGF allele in podocytes in mice leads to down regulation of the slit-diaphragm protein nephrin, resulting in proteinuria and structural and functional glomerular damages [7, 25].

Endothelial-to-mesenchymal transition (EndoMT) is a subtype of epithelial-mesenchymal transition. EndoMT is a novel source for myofibroblasts and contributes importantly to fibrosis and chronic kidney disease progression. During EndoMT, endothelial cell progressively changes their endothelial phenotype into a mesenchymal phenotype resulting in the loss of specific endothelial markers like WT-1 and gain in mesenchymal markers, such as α -SMA or FSP-1 [1, 23]. Previous findings indicate that EndoMT plays a critical role in glomerular injury and results in albuminuria during diabetic nephropathy. The findings described in this study and several other studies demonstrate a role EndoMT in causing podocyte damage leading to glomerular injury [17, 18, 28]. In the present study, we demonstrate that sorafenib administration caused proteinuria and glomerular injury in rats. Considering a role of EndoMT in glomerular injury we investigated if EndoMT contributes to sorafenib-induced glomerular injury. The current findings reveal that sorafenib administration to rats decreased renal cortical endothelial cell marker WT-1 mRNA expression by 20 % and increased mesenchymal marker Col III, FSP-1, α -SMA and vimentin mRNA expression by 2-3 fold when compared to normal control-vehicle rats (Figure 4 A-F).

Figure 4

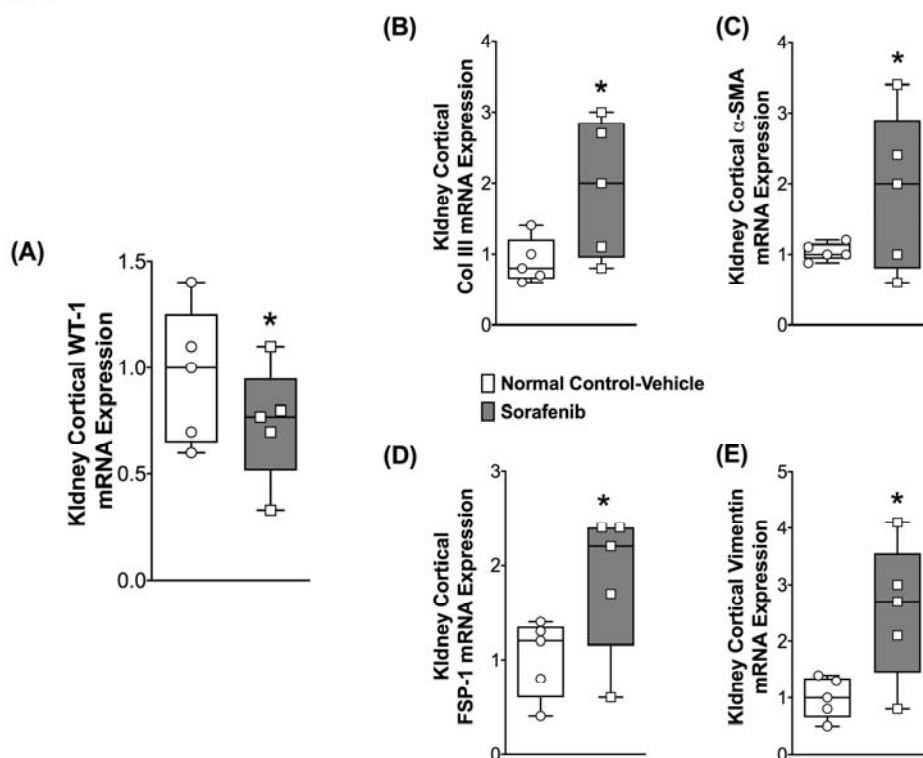


Figure 4. Kidney cortical expression of an endothelial cell marker, WT-1 (A), and several mesenchymal markers (Col III, α -SMA, FSP-1 and vimentin) in different experimental groups (B-E)
*P vs. Normal Control-Vehicle. All data are expressed as mean $\pm$ SEM, N = 6

These results indicate a potential contribution for EndoMT on glomerular endothelial cells to glomerular injury caused by sorafenib.

Conclusion. VEGF signaling inhibition by sorafenib administration resulted in hypertension and kidney injury. Sorafenib administration induced glomerular injury was associated with increased EndoMT and decreased glomerular barrier proteins. Accordingly, our findings establish sorafenib administration as a glomerular disease model in which glomerular injury is associated with decreased key glomerular structural proteins and activated kidney EndoMT.

References:

1. Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice / N. Asada, M. Takase, J. Nakamura et al. // *J Clin Invest.* – 2011. – Vol. 121, N 10. – P. 3981–3990.
2. Bair S.M. Cardiovascular complications associated with novel angiogenesis inhibitors: emerging evidence and evolving perspectives / S. M. Bair, T. K. Choueiri, J. Mosleh. // *Trends Cardiovasc Med.* – 2013. – Vol. 23, N 4. – P. 104–113.
3. Hypertension and VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) Receptor Tyrosine Kinase Inhibition: Effects on Renal Function / B. C. Boursiquot, E. C. Zabor, I. G. Glezerman et al. // *Hypertension.* – 2017. pii: HYPERTENSIONAHA.117.09275.
4. Broxterman H. J. Anticancer therapeutics: "Addictive" targets, multitargeted drugs, new drug combinations / H. J. Broxterman, N. H. Georgopapadakou // *Drug Resist Updat.* – 2005. – Vol. 8, N 4. – P. 183–197.
5. Donoviel D. B. Proteinuria and perinatal lethality in mice lacking NEPH1, a novel protein with homology to NEPHRIN / D. B. Donoviel, D. D. Freed, H. Vogel et al. // *Mol Cell Biol.* – 2001. – Vol. 21, N 14. – P. 4829–4836.
6. Eremina V. Biology of anti-angiogenic therapy-induced thrombotic microangiopathy / V. Eremina, S. E. Quaglin // *Seminars in nephrology.* – 2010. – Vol. 30, N 6. – P. 582–590.
7. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases / V. Eremina, M. Sood, J. Haigh et al. // *J. Clin Invest.* – 2003. – Vol. 111, N 5. – P. 707–716.
8. Eskens F. A. The clinical toxicity profile of vascular endothelial growth factor (VEGF) and vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) targeting angiogenesis inhibitors a review / F. A. Eskens, J. Verweij // *Eur J. Cancer.* – 2006. – Vol. 42, N 18. – P. 3127–3139.

9. Glomerular expression of nephrin and synaptopodin, but not podocin, is decreased in kidney sections from women with preeclampsia / V. D. Garovic, S. J. Wagner, L. M. Petrovic et al. // *Nephrol Dial Transplant.* – 2007. – Vol. 22, N 4. – P. 1136–1143.
10. Vascular endothelial growth factor receptor inhibitor enhances dietary salt induced hypertension in Sprague-Dawley rats / J. W. Gu, R. D. Jr. Manning, E. Young et al. // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2009. – Vol. 297, N 1. – P. 142–148.
11. Clinical risk factors for the development of hypertension in patients treated with inhibitors of the VEGF signaling pathway / O. P. Hamnvik, T. K. Choueiri, A. Turchin et al. // *Cancer.* – 2015. – Vol. 121, N 2. – P. 311–319.
12. VEGF inhibition, hypertension, and renal toxicity / S. R. Hayman, N. Leung, J. P. Grande et al. // *Curr Oncol Rep.* – 2012. – Vol. 14, N 4. – P. 285–294.
13. A novel dual PPAR- γ agonist/sEH inhibitor treats diabetic complications in a rat model of type 2 diabetes / M. A. Hye Khan, L. Kolb, M. Skibba et al. // *Diabetologia.* – 2018. – Vol. 61, N 10. – P. 2235–2246.
14. Jászai J. Trends and Challenges in Tumor Anti-Angiogenic Therapies / J. Jászai, M. H. Schmidt // *Cells.* – 2019. – Vol. 8, N 9. – P. 1102.
15. VEGF is an essential molecule for glomerular structuring / Y. Kitamoto, H. Tokunaga, K. Miyamoto et al. // *Nephrol Dial Transplant.* – 2002. – Vol. Suppl 9, N 17. – P. 25–27.
16. Effect of high salt diet on blood pressure and renal damage during vascular endothelial growth factor inhibition with sunitinib / S. Lankhorst, H. J. Baelde, M. C. Claassen-van Groningen et al. // *Nephrol Dial Transplant.* – 2016. – Vol. 31, N 6. – P. 914–921.
17. Melatonin Attenuates Endothelial-to-Mesenchymal Transition of Glomerular Endothelial Cells via Regulating miR-497/ROCK in Diabetic Nephropathy / F. Liu, S. Zhang, R. Xu et al. // *Kidney Blood Press Res.* – 2018. – Vol. 43, N 5. – P. 1425–1436.
18. Lovastatin Alleviates Endothelial-to-Mesenchymal Transition in Glomeruli via Suppression of Oxidative Stress and TGF- β 1 Signaling / Z. Ma, L. Zhu, Y. Liu et al. // *Front Pharmacol.* – 2017. – N 8:473.
19. Mononuclear phagocyte system depletion blocks interstitial tonicity-responsive enhancer binding protein/vascular endothelial growth factor C expression and induces salt-sensitive hypertension in rats / A. Machnik, A. Dahlmann, C. Kopp et al. // *Hypertension.* – 2010. – Vol. 55, N 3. – P. 55–61.
20. Mantia C. M. Vascular endothelial growth factor and programmed death-1 pathway inhibitors in renal cell carcinoma / C. M. Mantia, D. F. McDermott // *Cancer.* – 2019. – Vol. 125, N 23. – P. 4148–4157.
21. Captopril attenuates hypertension and renal injury induced by the vascular endothelial growth factor inhibitor sorafenib / T. Nagasawa, M. A. Hye Khan, J. D. Imig // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2012. – Vol. 39, N 5. – P. 454–461.
22. Ollero M. Inhibition of the VEGF signaling pathway and glomerular disorders / M. Ollero, D. Sahali // *Nephrol Dial Transplant.* – 2015. – Vol. 30, N 9. – P. 1449–1455.

23. Piere-Velazquez S. Role of endothelial-mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of fibrotic disorders / S. Piere-Velazquez, Z. Li, S. A. Jimenez // *Am J. Pathol.* – 2011. – Vol. 179, N 3. – P.1074–1080.
24. Shankland S. J. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis / S. J. Shankland // *Kidney Int.* – 2006. – Vol. 69, N 12. – P. 2131–2147.
25. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria / H. Sugimoto, Y. Hamano, D. Charytan et al. // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, N 15. – P.12605–12608.
26. Van den Meiracker A. H. Mechanisms of Hypertension and Renal Injury During Vascular Endothelial Growth Factor Signaling Inhibition / A. H. van den Meiracker, A. H. Danser // *Hypertension.* – 2016. – Vol. 68, N 1. – P. 17–23.
27. Incidence and risk of hypertension with sorafenib in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis / S. Wu, J. J. Chen, A. Kudelka et al. // *Lancet Oncol.* – 2008. – Vol. 9, N 2. – P. 117–123.
28. Serum response factor induces endothelial-mesenchymal transition in glomerular endothelial cells to aggravate proteinuria in diabetic nephropathy / L. Zhao, J. Zhao, X. Wang et al. // *Physiol Genomics.* – 2016. – Vol. 48, N 10. – P. 711–718.

References:

1. Asada N., Takase M., Nakamura J. et al. Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(10): 3981–90.
2. Bair S. M., Choueiri T. K., Moslehi J. Cardiovascular complications associated with novel angiogenesis inhibitors: emerging evidence and evolving perspectives. *Trends Cardiovasc Med.* 2013 May; 23(4): 104–13.
3. Boursiquot B. C., Zabor E. C., Glezerman I. G., Jaimies E. A. Hypertension and VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) Receptor Tyrosine Kinase Inhibition: Effects on Renal Function. *Hypertension.* 2017. Jul 24. pii: HYPERTENSIONAHA.117.09275.
4. Broxterman H. J., Georgopadakou N. H. Anticancer therapeutics: "Addictive" targets, multitargeted drugs, new drug combinations. *Drug Resist Updat.* 2005 Aug; 8(4): 183–197.
5. Donoviel D. B., Freed D. D., Vogel H. et al. Proteinuria and perinatal lethality in mice lacking NEPH1, a novel protein with homology to NEPHRIN. *Mol Cell Biol.* 2001; 21(14): 4829–4836.
6. Eremina V., Quaggin S. E. Biology of anti-angiogenic therapy-induced thrombotic microangiopathy. *Seminars in nephrology.* 2010; 30(6): 582–590.
7. Eremina V., Sood M., Haigh J. et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J. Clin Invest.* 2003; 111(5): 707–716.
8. Eskens F. A., Verweij J. The clinical toxicity profile of vascular endothelial growth factor (VEGF) and vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) targeting angiogenesis inhibitors a review. *Eur J Cancer.* 2006; 42(18): 3127–3139.
9. Garovic V. D., Wagner S. J., Petrovic L. M. et al. Glomerular expression of nephrin and synaptopodin, but not podocin, is decreased in kidney sections from women with preeclampsia. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22(4): 1136–1143.
10. Gu J. W., Manning R. D. Jr., Young E. et al. Vascular endothelial growth factor receptor inhibitor enhances dietary salt induced hypertension in Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009; 297(1): R142–R148.
11. Hamnvik O. P., Choueiri T. K., Turchin A. et al. Clinical risk factors for the development of hypertension in patients treated with inhibitors of the VEGF signaling pathway. *Cancer.* 2015 Jan 15; 121(2): 311–319.

12. Hayman S. R., Leung N., Grande J. P., Garovic V. D. VEGF inhibition, hypertension, and renal toxicity. *Curr Oncol Rep.* 2012 Aug; 14(4): 285–294.
13. Hye Khan M. A., Kolb L., Skibba M. et al. A novel dual PPAR- γ agonist/SEH inhibitor treats diabetic complications in a rat model of type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2018 Oct; 61(10): 2235–2246.
14. Jászai J., Schmidt M. H. H. Trends and Challenges in Tumor Anti-Angiogenic Therapies. *Cells.* 2019; 8(9): 1102.
15. Kitamoto Y., Tokunaga H., Miyamoto K., Tomita K. VEGF is an essential molecule for glomerular structuring. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17(Suppl 9): 25–27.
16. Lankhorst S., Baelde H. J., Claessen-van Groningen M. C. et al. Effect of high salt diet on blood pressure and renal damage during vascular endothelial growth factor inhibition with sunitinib. *Nephrol Dial Transplant.* 2016; 31(6): 914–921.
17. Liu F., Zhang S., Xu R. et al. Melatonin Attenuates Endothelial-to-Mesenchymal Transition of Glomerular Endothelial Cells via Regulating miR-497/ROCK in Diabetic Nephropathy. *Kidney Blood Press Res.* 2018; 43(5): 1425–1436.
18. Ma Z., Zhu L., Liu Y. et al. Lovastatin Alleviates Endothelial-to-Mesenchymal Transition in Glomeruli via Suppression of Oxidative Stress and TGF- β 1 Signaling. *Front Pharmacol.* 2017 Jul 18; 8: 473.
19. Machnik A., Dahlmann A., Kopp C. et al. Mononuclear phagocyte system depletion blocks interstitial toxicity-responsive enhancer binding protein/vascular endothelial growth factor C expression and induces salt-sensitive hypertension in rats. *Hypertension.* 2010; 55(3): 755–761.
20. Mantia C. M., McDermott D. F. Vascular endothelial growth factor and programmed death-1 pathway inhibitors in renal cell carcinoma. *Cancer.* 2019; 125(23): 4148–4157.
21. Nagasawa T., Hye Khan M. A., Imig J. D. Captopril attenuates hypertension and renal injury induced by the vascular endothelial growth factor inhibitor sorafenib. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012 May; 39(5): 454–461.
22. Ollero M., Sahali D. Inhibition of the VEGF signaling pathway and glomerular disorders. *Nephrol Dial Transplant.* 2015 Sep; 30(9): 1449–1455.
23. Piere-Velazquez S., Li Z., Jimenez S. A. Role of endothelial-mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of fibrotic disorders. *Am J Pathol.* 2011; 179: 1074–1080.
24. Shankland S. J. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int.* 2006 Jun; 69(12): 2131–2147.
25. Sugimoto H., Hamano Y., Charytan D., Cosgrove D., Kieran M., Sudhakar A., Kalluri R. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J Biol Chem.* 2003;278(15): 12605–12608.
26. Van den Meiracker A. H., Danser A. H. Mechanisms of Hypertension and Renal Injury During Vascular Endothelial Growth Factor Signaling Inhibition. *Hypertension.* 2016; 68(1): 17–23.
27. Wu S., Chen J. J., Kudelka A. et al. Incidence and risk of hypertension with sorafenib in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2008 Feb; 9(2): 117–123.
28. Zhao L., Zhao J., Wang X. et al. Serum response factor induces endothelial-mesenchymal transition in glomerular endothelial cells to aggravate proteinuria in diabetic nephropathy. *Physiol Genomics.* 2016 Oct 1; 48(10): 711–718.

Надійшла до редколегії 22.04.2020
Отримано виправлений варіант 25.05.2020
Підписано до друку 25.05.2020

Received in the editorial 22.04.2020
Received a revised version on 25.05.2020
Signed in the press on 25.05.2020

А. Ставнійчук, асп.,
О. Савчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
Абдул Хе Хан, д-р біол. наук,
Войцех К. Янкевіч, асп.,
Джон Д. Іміг, д-р біол. наук
Медичний коледж штату Вісконсин, Мілуокі, Вісконсин, США

МОДЕЛЬ КЛУБОЧКОВОЇ ХВОРОБИ НИРОК, ІНДУКОВАНА СОРАФЕНІБОМ

Пошкодження клубочків і протеїнурія є важливими патофізіологічними ознаками хронічного захворювання нирок. У статті надано дані, отримані з використанням моделі, розробленої на основі застосування антиракового препарату сорафеніб. Сорафеніб – інгібітор тирозинкінази, що діє через сигнальний шлях, пов'язаний із судинним ендотеліальним фактором росту і широко використовується для лікування різних видів раку. З іншого боку, сорафеніб викликає серйозні побічні ефекти в пацієнтів, серед яких і розвиток хронічного захворювання нирок. Зазначене дослідження було спрямоване на використання нефротоксичних властивостей сорафеніба для моделювання хронічного захворювання нирок у щурів. Показано, що у щурів, які отримували сорафеніб протягом 8 тижнів разом із дієтою з високим вмістом солі (8 % NaCl), розвивається гіпертонія з підвищеним артеріальним тиском систоли на 80 мм рт. ст., протеїнурія зі збільшенням вмісту білка на 75 %, і 4-кратним збільшенням гломерулярного пошкодження порівняно з контрольною групою. При пошкодженні ниркових клубочків, викликаних сорафенібом, значно знижується рівень транскриптів, що беруть участь у синтезі таких ключових гломерулярних білків, як нефрин, подоцин, синатподин і подопланін. Також при дослідженні цієї моделі спостерігається активація ендотеліально-мезенхімального переходу. У групі щурів, що отримували сорафеніб, рівень мРНК для маркера ендотеліальних клітин WT-1 був знижений на 20 % і водночас концентрація маркерів мезенхімальних клітин Col III, FSP-1, α -SMA і віментину збільшувалася у 2–3 рази. Отже, нами розроблено преклінічну модель хронічного захворювання нирок, що виражається в ушкодженні ниркових клубочків. Також продемонстровано, що пошкодження клубочків у цій моделі пов'язано зі зниженням експресії ключових структурних гломерулярних білків і активацією ендотеліально-мезенхімального переходу нирок.

Ключові слова: сорафеніб, фактор росту ендотеліальних судин, ушкодження клубочків.

А. Ставнийчук, асп.,
А. Савчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев, Украина,
Абдул Хе Хан, д-р биол. наук,
Войцех К. Янкевич, асп.,
Джон Д. Имиг, д-р биол. наук,
Медицинский колледж штата Висконсин, Милуоки, Висконсин, США

СОРАФЕНИБ-ИНДУЦИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ КЛУБОЧКОВОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Повреждение клубочков и протеинурия являются важными патофизиологическими признаками хронического заболевания почек. В статье представлены данные, полученные с использованием модели, разработанной на основе применения антиракового препарата сорафениб. Сорафениб – ингибитор тирозинкиназы, который действует через сигнальный путь, связанный с сосудистым эндотелиальным фактором роста и широко используется для лечения различных видов рака. С другой стороны, сорафениб вызывает серьезные побочные эффекты у пациентов, включая развитие хронического заболевания почек. Данное исследование было направлено на использование нефротоксических свойств сорафениба для моделирования хронического заболевания почек у крыс. Показано, что у крыс, получавших сорафениб в течение 8 недель вместе с диетой с высоким содержанием соли (8 % NaCl), развивается гипертония с повышенным систолическим артериальным давлением на 80 мм рт. ст., протеинурия с увеличением содержания белка на 75 %, и 4-кратным увеличением гломерулярного повреждения по сравнению с контрольной группой. При повреждении почечных клубочков, вызванных сорафенибом, значительно понижается уровень транскриптов, участвующих в синтезе таких ключевых гломерулярных белков, как нефрин, подоцин, синаптоподин и подоплазин. Также при исследовании этой модели наблюдается активация эндотелиально-мезенхимального перехода. В группе крыс, получивших сорафениб, уровень мРНК для маркера эндотелиальных клеток WT-1 был снижен на 20 % и одновременно содержание маркеров мезенхимальных клеток Col III, FSP-1, α -SMA и виментина увеличивалась в 2–3 раза. Таким образом, мы разработали преคลินิกую модель хронического заболевания почек, проявляющуюся в повреждении почечных клубочков. Мы также продемонстрировали, что повреждение клубочков в этой модели связано со снижением экспрессии ключевых структурных гломерулярных белков и активацией эндотелиально-мезенхимального перехода почек.

Ключевые слова: сорафениб, фактор роста эндотелия сосудов, повреждения клубочков.

УДК 579.64:633.11
DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.31-36

С. Гудзь, асп.,
Л. Сквіва, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОСОБЛИВОСТИ ФОРМУВАННЯ ЕУБАКТЕРІАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ РИЗОСФЕРИ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ (*TRITICUM DURUM*) ЗА РІЗНИХ СИСТЕМ УДОБРЕННЯ

Досліджено кількісний, якісний склад і таксономічну структуру еубактеріального комплексу у ризосфері пшениці озимої при застосуванні різних систем удобрення. Мікробіологічними методами визначали вміст у ризосфері пшениці озимої мікроорганізмів, а молекулярними – таксономічну структуру та метабіотичний комплекс мікроорганізмів. Встановлено, що на варіантах біологічної системи удобрення пшениці озимої зростала частка мікроорганізмів родини *Proteobacteria* до 80,3 %, а чисельність представників *Actinobacteria* зменшувалась до 12,4 %, аналогічні показники зростання були помічені і на варіанті екологічної системи удобрення. Аналіз родин ґрунтової мікробіоти показав, що на посівах пшениці озимої за застосування різних варіантів удобрення домінуючими є представники *Alcaligenaceae* та *Pseudomonadaceae*. За промислової системи удобрення частка представників родини *Alcaligenaceae* була найвищою, за застосування біологічної та екологічної систем – знижувалась одночасно зі зростанням частки представників родини *Pseudomonadaceae*. Застосування органічних добрив, порівняно з мінеральними, сприяло формуванню різноманіття бактерій. Найбільше значення індексу Шеннона було за біологічної системи удобрення – 4,82.

Встановлено, що застосування біологічної системи удобрення супроводжувалося збільшенням видового різноманіття ґрунтової мікробіоти за рахунок філ *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, використання екологічної системи удобрення – за рахунок представників *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*. Абсолютними домінантами в дослідженій ґрунтовій мікробіоті, незалежно від застосованої системи удобрення, були представники бактеріальних філ *Proteobacteria* – 79,1 % та *Actinobacteria* – 14,0 %.

Ключові слова: ґрунтова мікробіота, системи удобрення, метабіот, піросеквенування, ризосфера.

Вступ. Мікроорганізми ґрунту є головними факторами впливу на мінералізацію, синтез і накопичення органічної речовини в агроценозах усіх без винятку сільськогосподарських культур [1]. Збалансованість мікробіоти ґрунту визначає, передусім, підтримання екологічної рівноваги та збереження ґрунтових агроєкосистем [2]. Дослідження вітчизняних учених доводять: різноманіття мікроорганізмів ґрунту, їхня структурна організація та чисельність є головними факторами, що визначають особливості формування ґрунту, його структурних елементів і родючості [3]. Як наслідок – різні ґрунти характеризуються відмінностями у видовому різноманітті мікроорганізмів. Кількість функціонуючих у ґрунті мікробних популяцій, що мають приналежність до різних видів, може свідчити про різноманіття ґрунтової біоти та спрямованість перебігу мікробіологічних процесів у ньому [4, 5].

Важливим питанням вивчення ґрунтової мікробіоти залишається ідентифікація видів які є домінантними, адже переважання певних мікроорганізмів – визначальний показник для характеристики типу агроєкосистеми [6]. Варто окремо зауважити, що різноманіття ґрунтових

мікроорганізмів визначає гомеостаз агроценозу та певною мірою нівелює вплив антропогенного навантаження. Система, що перебуває під тиском антропогенного навантаження, зі свого боку, реагує за рахунок перерозподілу домінантних видів мікроорганізмів, що може бути індикативним показником екологічного стану ґрунту [7].

Класичні методи вивчення мікробіоти ґрунту мають свої обмеження та дозволяють ідентифікувати лише мікроорганізми, здатні рости на відповідних селективних середовищах. За різними підрахунками такі мікроорганізми становлять від 0,1 до 10 % загального різноманіття мікроорганізмів ґрунту [8, 9].

Застосування молекулярно-біологічних методів для вивчення комплексу мікроорганізмів ґрунту дозволяє визначити закономірності перебігу мікробіологічних процесів у багатокомпонентних екосистемах, незалежно від можливості культивування окремих видів мікроорганізмів [10]. Такий аналіз дозволяє доволі точно ідентифікувати, окрім головних, і міnorні філи мікробіоти, зокрема: *OD1*, *TM7*, *Thermi*, *WS3*, *WYO* та визначити кількісні показники поширеності певних таксонів [11].

Мета дослідження – визначення кількісного, якісного складу і таксономічної структури еубактеріального комплексу в ризосфері пшениці озимої при застосуванні різних систем удобрення.

Методика проведення досліджень. Дослідження еубактеріального комплексу ризосфери пшениці озимої (*Triticum durum*) проводили впродовж 2016–2019 рр. на Білоцерківській дослідно-селекційній станції Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України (БЦДСС), що розташована в Центральному Лісостепу України, у зоні нестійкого зволоження.

Схемою досліду передбачалося застосування різних систем удобрення культур короткоротаційної сівозміни. Як контрольний варіант застосовували промислову систему удобрення, що передбачає пріоритет застосування промислових добрив (переважно мінеральних). В екологічній системі удобрення використовували збалансоване поєднання мінеральних та органічних добрив в екологічно регламентованих нормах, за застосування біологічної системи для удобрення використовували лише сучасні органічні добрива, рослинні рештки та гумати (табл. 1).

Таблиця 1. Система удобрення пшениці озимої в короткоротаційній сівозміні

№ з/п	Варіант системи удобрення	Основне удобрення	Передпосівне удобрення	Удобрення по вегетації
1	Біологічна	поживні рештки сої (2–3 т/га) + Біогумус (вермикомпост) "ЕКОЧУДО" 500 кг/га	обробка насіння біодобривом Вермісол 10 л/т	Квантум – ГУМАТ, 0,7 л/га
2	Екологічна	поживні рештки сої (2–3 т/га) + N ₂₂ P ₂₂ K ₂₂	обробка насіння біодобривом Вермісол 10 л/т + під культивування N ₈ P ₈ K ₈	підживлення весною N _{16,5}
3	Промислова	N ₄₄ P ₄₄ K ₄₄	під культивування N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	підживлення весною N ₃₃

Для оцінки стану ґрунтової мікробіоти та перебігу основних мікробіологічних процесів використовували загальноприйняті у ґрунтовій мікробіології методи [12, 13].

Для мікробіологічних аналізів відбирали по 10 г ґрунту з кожного варіанту досліду, досліди проводили у трьох повторях. Наважки переміщували у стерильні ступки і диспергували мікроорганізми методом Д. Звягінцева.

Чисельність мікроорганізмів визначали методом висівання ґрунтової суспензії на агаризоване поживне середовище ГПА. Встановлення структури мікроорганізмів та їхнього якісного складу проводили за морфолого-культуральними властивостями за допомогою мікроскопіювання фіксованих препаратів [14].

Різноманіття мікробіоти ґрунту визначали за індексами різноманіття Шеннона та Сімсонаї насиченості Chaol (порівняння прогнозованої кількості операційних таксономічних одиниць (ОТО) за параметрів вибірки з кількістю експериментально виявлених у зразках) [15].

Для проведення аналізу таксономічної структури та метабеному виділяли нуклеїнові кислоти із мікроорганізмів ґрунту. Для аналізу використовували метод піросеквенування з такими етапами роботи: створення бібліотеки із флуоресцентними праймерами, подвійна очистка

ПЛР-продукту, піросеквенування, аналіз нуклеотидних послідовностей, визначення таксономічної структури та їхній порівняльний аналіз [16].

Обробку результатів досліджень виконували в комп'ютерних програмах Excel та Statistica – 10.0 [17].

Результати досліджень та їхнє обговорення. Проведені дослідження з вивчення особливостей формування еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої показали, що на всіх без винятку варіантах удобрення ідентифіковано представників філ: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Fibrobacteres*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Thermi*, *Verrucomicrobia*, а також архейних філ: *Euryarchaeota* та *Crenarchaeota*.

Якщо аналізувати в середньому представленість ідентифікованих філ, то їхня чисельність була доволі різною, а найпоширенішими були такі: *Proteobacteria* – 79,1 %; *Actinobacteria* – 14,0; *Gemmatimonadetes* – 1,7; *Chloroflexi* – 1,5; *Acidobacteria* – 1,1; *Firmicutes* – 0,8; *Planctomycetes* – 0,3; *Verrucomicrobia* – 0,6; *Bacteroidetes* – 0,4 %, а частка інших філ становила 0,5 % (рис. 1).

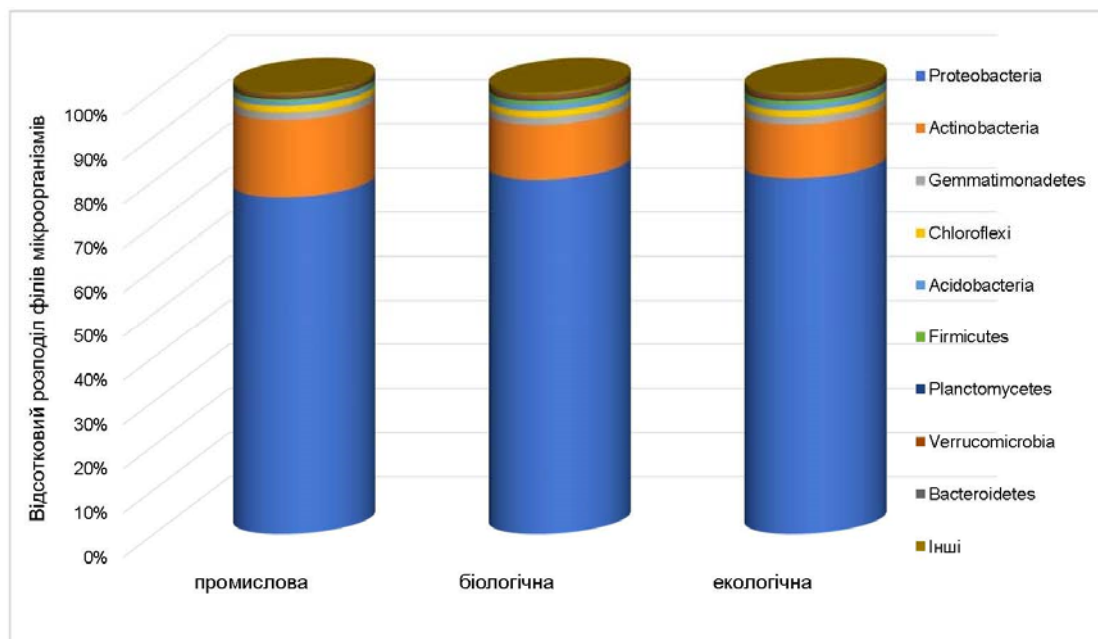


Рис. 1. Розподіл основних бактеріальних філ мікробного комплексу ризосфери пшениці озимої за різних систем удобрення

Застосування різних систем удобрення не впливало на якісний склад мікробіоти ґрунту, але відображалось зміною кількісних характеристики представників різних філ. Серед великих філ на варіантах біологічної системи удобрення, наприклад, зростала частка *Proteobacteria* до 80,3 %, а чисельність представників *Actinobacteria* зменшувалася до 12,4 % порівняно з контрольним варіантом, для якого ці показники становили 76,3 та 17,5 %, відповідно. Аналогічні результати зростання були відмічені нами і на варіанті екологічної системи удобрення.

Отримані дані узгоджуються з результатами дослідження М. Патики, С. Танчика та О. Колодяжного [2].

Вивчення метагеному прокариот ризосфери пшениці озимої за різних варіантів удобрення засвідчує домінування таких порядків, як *Burkholderiales* та *Pseudomonadales*. Відмінності у структурі домінуючих порядків залежно від системи удобрення пшениці озимої наведено на рис. 2.

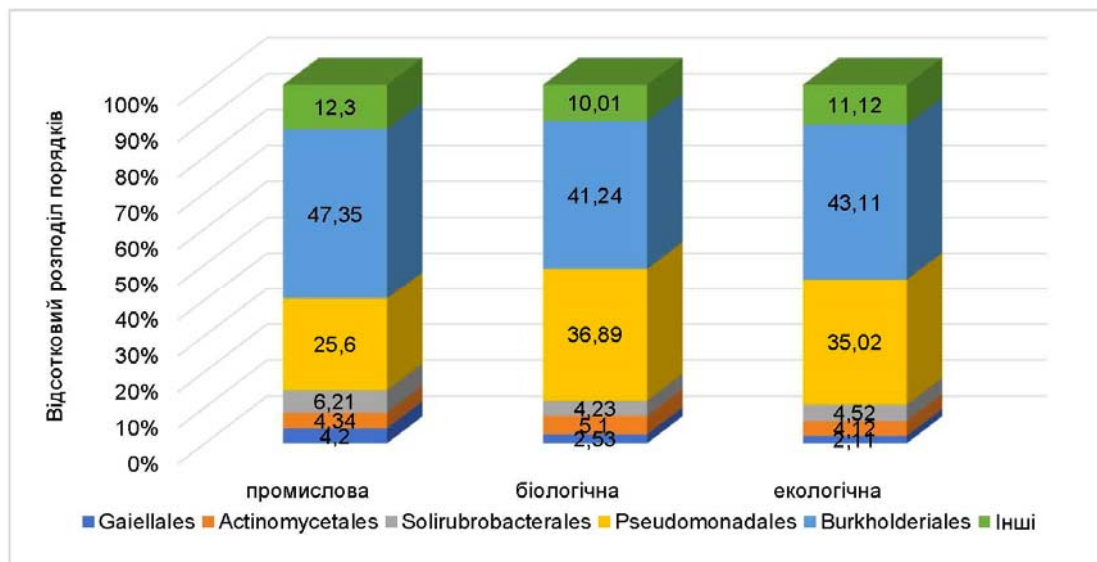


Рис. 2. Структура домінуючих порядків прокариот ризосфери пшениці озимої за різних систем удобрення

Застосування біологічної та екологічної систем удобрення сприяло зростанню чисельності представників порядку *Pseudomonadales* до 36,89 та 35,02 % одночасно

зі зниженням чисельності представників порядку *Burkholderiales* до 41,24 та 43,11 %.

Відмінності у структурі субдомінуючих порядків залежно від системи удобрення пшениці озимої наведено на рис. 3.

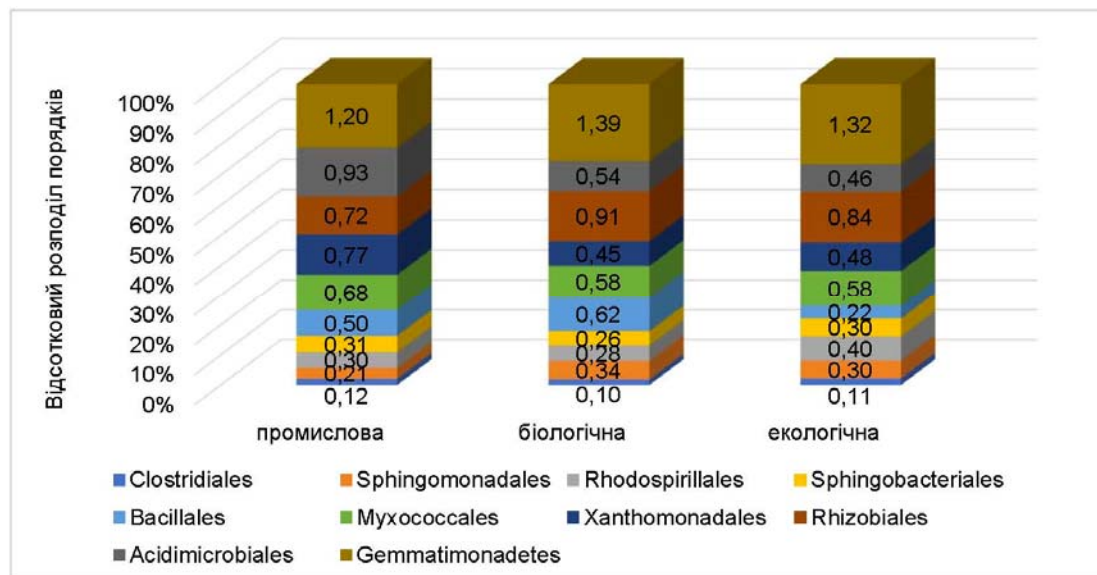


Рис. 3. Структура субдомінуючих порядків прокариот ризосфери пшениці озимої за різних систем удобрення

Найбільша чисельність серед субдомінуючих порядків була зареєстрована для представників *Gemmatimonadetes*. Встановлено, що за умови використання біологічної та екологічної систем удобрення чисельність представників зазначеного порядку зростала до 1,39 та 1,32 %, відповідно.

З'ясовано, що за використання промислової системи удобрення пшениці озимої порівняно з біологічною та

екологічними системами частка представників порядку *Acidimicrobiales*, *Myxococcales*, *Xanthomonadales* у структурі ґрунтової мікробіоти була вищою. Застосування екологічної та біологічної систем удобрення сприяло зростанню чисельності представників порядку *Rhizobiales*.

Результати вивчення поширеності родів еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої наведено в табл. 2.

Таблиця 2. Поширеність родин еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої, %

Родина	Промислова	Біологічна	Екологічна
<i>Alcaligenaceae</i>	45,87	38,08	41,01
<i>Pseudomonadaceae</i>	24,66	36,63	34,88
<i>Comamonadaceae</i>	0,18	0,34	0,25
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,24	0,41	0,18
<i>Gaiellaceae</i>	4,07	2,34	1,95
<i>Geodermatophilaceae</i>	0,35	0,53	0,37
<i>Intrasporangiaceae</i>	0,35	0,47	0,30
<i>Micrococcaceae</i>	1,05	1,04	0,96
<i>Nitrososphaeraceae</i>	0,89	1,17	1,17
<i>Nocardiodaceae</i>	1,07	1,14	0,76
<i>Rhodobiaceae</i>	0,31	0,27	0,39
<i>Sinobacteraceae</i>	0,21	0,15	0,08
<i>Solirubrobacteraceae</i>	6,21	3,89	4,26
<i>Streptomyetaceae</i>	0,70	0,66	0,63
<i>Xanthomonadaceae</i>	0,71	0,41	0,45
Інші	13,12	12,46	12,37

Встановлено, що на посівах пшениці озимої за застосування різних варіантів удобрення домінуючими виявились такі родини, як *Alcaligenaceae* та *Pseudomonadaceae*. Причому за промислової системи удобрення частка представників родини *Alcaligenaceae* була найвищою, а за застосування біологічної та екологічної систем знижувалась, тоді як частка представників родини *Pseudomonadaceae*, навпаки, зростала.

Окрім того, за застосування промислової системи удобрення пшениці озимої представники родин *Gaiellaceae* та *Solirubrobacteraceae* були максимально поширені, тоді як за біологічної та екологічної систем удобрення їхня частка знижувалась.

Загалом у межах родин еубактеріального комплексу такі порядки, як *Clostridiales*, *Sphingomonadales*,

Rhodospirillales, *Sphingobacteriales*, *Bacillales*, *Myxococcales*, *Acidimicrobiales* та *Gemmatimonadetes* були представлені різними родами, тому поширеність представників родин була меншою, ніж сукупна поширеність представників порядків.

З'ясовано, що за біологічної та екологічної систем удобрення відбувалося зниження чисельності представників *Sinobacteraceae*, *Streptomyetaceae* та *Xanthomonadaceae* і зростання кількості представників родин *Comamonadaceae* та *Nitrososphaeraceae*.

За результатами проведених досліджень вираховано індекси різноманіття еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої (табл. 3)

Таблиця 3. Різноманіття еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої

Система удобрення	Кількість ОТО	Індекс Chaol	Індекс Шеннона	Індекс Сімсона
Промислова	274	1123,04	3,90	0,83
Біологічна	342	1275,63	4,82	0,88
Екологічна	321	1207,05	4,75	0,85

Встановлено, що індекс насиченості Chaol був більшим від чисельності ідентифікованих операційних таксономічних одиниць (ОТО) та залежно від варіанту досліду перевищував цей показник від 3,7 до 4,1 раза. Такі розбіжності між індексом Chaol та ОТО засвідчують реально більші рівні біорізноманіття еубактеріального комплексу порівняно з ідентифікованим метабеномом.

Існує думка, що індекс Шеннона надає більшого значення рідкісним видам [6]. У наших дослідженнях встановлено, що найбільше різноманіття прокариотів за індексом Шеннона було за біологічної системи удобрення – 4,82, а найменше – за промислового варіанту удобрення пшениці озимої. Отже, застосування органічних добрив, порівняно з мінеральними, сприяло формуванню різноманіття бактерій.

Висновки. Проведені дослідження показали, що основу еубактеріального комплексу озимої пшениці формували представники філі *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Fibrobacteres*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Thermi*, *Verrucomicrobia*, а також архейних таких філі: *Euryarchaeota* та *Crenarchaeota*. Абсолютними домінантами були представники бактеріальних філі. *Proteobacteria* – 79,1 %, *Actinobacteria* – 14,0 %. Застосування молекулярних методів аналізу дозволило визначити, що в агроценозі пшениці озимої за різних систем удобрення переважне поширення мали представники родин

Alcaligenaceae, *Pseudomonadaceae*, *Comamonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Gaiellaceae*, *Geodermatophilaceae*, *Intrasporangiaceae*, *Micrococcaceae*, *Nitrososphaeraceae*, *Nocardiodaceae*, *Rhodobiaceae*, *Sinobacteraceae*, *Solirubrobacteraceae*, *Streptomyetaceae*, *Xanthomonadaceae*.

Застосування біологічної системи удобрення супроводжується збільшенням видового різноманіття мікробіоти ґрунту за рахунок філі *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, а застосування екологічної системи удобрення – за рахунок таких філі, як *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* та *Proteobacteria*.

Список використаних джерел:

- Оцінка метабеному у прокариотного комплексу чорнозему за аграрного використання / М. В. Пати́ка, О. Л. Тонха, Т. І. Пати́ка та ін. // Мікробіологічний журнал. – 2018. – Т. 80, № 6. – С. 109–122.
- Пати́ка М. В. Формування біорізноманіття та філотипової структури еубактеріального комплексу чорнозему типового при вирощуванні пшениці озимої / М. В. Пати́ка, С. П. Танчик, О. Ю. Колодажний // Доповіді НАН України. – 2012. – № 11. – С. 163–171.
- Пати́ка Н. В. Агробіологія мікроорганізмів: різноманітність, структурна організація і функціональні особливості / Н. В. Пати́ка, В. Ф. Пати́ка // Імунологія та алергологія: наука і практика. – 2014. – Дод. № 1. – С. 77–78.
- Nannipieri P. Microbial diversity and soil functions / P. Nannipieri, J. Ascher, M. Ceccherini // European Journal of Soil Science. – 2003. – Vol. 54, № 4. – P. 655–670.
- Impact of herbicides on soil biology and function / M. T. Rose, T. R. Cavagnaro, C. A. Scanlan et al. // Advances in Agronomy. – 2016. – Vol. 136. – P. 133–220.
- Дем'янюк О. С. Сучасні методичні підходи до оцінювання екологічного стану ґрунту за активністю мікробіоценозу / О. С. Дем'янюк,

Л. Ю. Симочко, О. В. Тертична // Питання біоіндикації та екології. – 2017. – Вип. 22, № 1. – С. 55–68.

7. Interaction of chiral herbicides with soil microorganisms, algae and vascular plants / M. Asad, U. Asad, M. Lavoie et al. // Science of The Total Environment. – 2017. – № 580. – P. 1287–1299.

8. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA / W. Liu, T. Marsh, H. Cheng, L. Forney // Environ. Microbiol. – 1997. – № 63. – P. 4516–4522.

9. Imfeld G. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review. / G. Imfeld, S. Vuilleumier // European Journal of Soil Biology. – 2012. – № 49. – P. 22–30.

10. Felske A. Response of a soil bacterial community to grassland succession as monitored by 16S rRNA levels of the predominant ribotypes / A. Felske, A. Wolterink, R. Van Lis // Applied and Environmental Microbiology. – 2000. – № 66. – P. 3998–4003.

11. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms / J. Handelsman // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2004. – Vol. 68, № 4. – P. 669–685.

12. Люта В. А. Практикум з мікробіології: навч. посіб. (ВНЗ I–III р. а.) / В. А. Люта, О. В. Кононов. – К.: "Медицина", 2018. – 184 с.

13. Іутинська Г. О. Мікробіотехнології для реалізації нової глобальної програми забезпечення сталого розвитку агросфери України / Г. О. Іутинська // Агроекологічний журнал. – 2017. – № 2. – С. 149–155.

14. Чурикова В. В. Морфологія і культивування мікроорганізмів: малий практикум по мікробіології / В. В. Чурикова, М. Ю. Гравович. – Воронеж: Воронежский гос. ун-т, 2003. – 55 с.

15. Kuczyński J. Using QIIME to analyze 16S rRNA gene sequences from Microbial Communities [Electronic source] / J. Kuczyński, J. Stombaugh, W. Anton Walters // CurrProtoc Bioinformatics. – 2012. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249058>.

16. Ronaghi M. Pyrosequencing: a tool for DNA sequencing analysis / M. Ronaghi // Methods of Molecular Biology. – 2004. – Vol. 255. – P. 211–219.

17. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних в пакеті Statistica 10.0 : метод. вказівки / О. І. Присяжнюк, Г. М. Каражбей, Н. В. Лещук та ін. – К.: "Нілан-ЛТД", 2016. – 54 с.

References:

1. Patyka M. V., Tonkha O. L., Patyka T. I. et al. Estimation of methagen of prokaryotic chemozem complex in agricultural use. Microbiological Journal, 2018, T. 80, № 6. P. 109–122.

2. Patyka M. V., Tanchyk S. P., Kolodiaznyh O. Yu. Formation of biodiversity and phylotypic structure of eubacterial complex of typical chemozem in winter wheat cultivation. Reports of the NAS of Ukraine. 2012. № 11. P. 163–171.

3. Patyka N. V., Patyka V. F. Agrobiology of microorganisms: diversity, structural organization and functional features. Immunology and allergology: science and practice. 2014. 1. P. 77–78.

4. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M. Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science. 2003. Vol. 54, № 4. P. 655–670.

5. Rose M. T., Cavagnaro T. R., Scanlan C. A. et al. Impact of herbicides on soil biology and function. et al. Advances in Agronomy. 2016. Vol. 136. P. 133–220.

6. Demyanyuk O. S., Symochko L. Yu., Tertychna O. V. Modern methodical approaches to evaluation the ecological condition of soil by microbial activity. Problems of Bioindications and Ecology. 2017. 22(1). P. 55–68.

7. Asad M., Asad U., Lavoie M. et al. Interaction of chiral herbicides with soil microorganisms, algae and vascular plants. Science of The Total Environment. 2017. № 580. P. 1287–1299.

8. Liu W., Marsh T., Cheng H., Forney L. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. Environ. Microbiol. 1997; 63: 4516–4522.

9. Imfeld G., Vuilleumier S. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review. European Journal of Soil Biology. 2012. 49. P. 22–30.

10. Felske A., Wolterink A., Van Lis R. Response of a soil bacterial community to grassland succession as monitored by 16S rRNA levels of the predominant ribotypes. Applied and Environmental Microbiology. 2000; 66:3998–4003.

11. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2004. Vol. 68, № 4. P. 669–685.

12. Liuta V. A., Kononov O. V. Workshop on Microbiology: Textbook (Higher Education Institutes I–III RA). K.: "Medicine", 2018. 184 p.

13. Iutynska H. O. Microbial biotechnology for the implementation of the new global program for sustainable development of the Ukrainian agrosphere. Agroecological Journal. 2017. № 2. P. 149–155.

14. Churikova V. V., Grabovich M. Ju. Morphology and cultivation of microorganisms: small workshop on microbiology. Voronezh: Voronezh State University, 2003. 55 p.

15. Kuczyński J., Stombaugh J., Anton Walters W. Using QIIME to analyze 16S rRNA gene sequences from Microbial Communities. CurrProtoc Bioinformatics. 2012. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249058>.

16. Ronaghi M. Pyrosequencing: a tool for DNA sequencing analysis. Methods of Molecular Biology. 2004. Vol. 255. P. 211–219.

17. Prisyazhniuk O. I., Karazhbei H. M., Leshchuk N. V. et al. Statistical analysis of agronomic research data package Statistica 10. Guidelines. Kyiv: Nilan-Ltd. 2016. 54 p.

Надійшла до редколегії 04.05.2020

Отримано виправлений варіант 05.06.2020

Підписано до друку 05.06.2020

Received in the editorial 04.05.2020

Received a revised version on 05.06.2020

Signed in the press on 05.06.2020

С. Гудзь, асп.,

Л. Сквіва, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭУБАКТЕРИАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА РИЗОСФЕРЫ ПШЕНИЦЫ ОЗИМОЙ (*TRITICUM DURUM*) ПРИ РАЗНЫХ СИСТЕМАХ УДОБРЕНИЯ

Исследовано количественный, качественный состав и таксономическую структуру эубактериального комплекса в ризосфере пшеницы озимой при применении различных систем удобрения. Микробиологическими методами определяли содержание в ризосфере пшеницы озимой микроорганизмов, а молекулярными – таксономическую структуру и метагеном эубактериальный комплекс микроорганизмов. Установлено, что среди крупных фил на вариантах биологической системы удобрения озимой пшеницы возросла доля *Proteobacteria* до 80,3 %, а численность *Actinobacteria* уменьшилась до 12,4 % по данным на контрольном варианте 76,3 и 17,5 %, аналогичные показатели роста были отмечены и на варианте экологической системы удобрения. Анализ семейств показывает, что на посевах озимой пшеницы при применении различных вариантов удобрения доминирующими оказались такие семейства, как *Alcaligenaceae* и *Pseudomonadaceae*. При применении промышленной системы удобрения доля семейства *Alcaligenaceae* была наиболее высокой, а вот при применении биологической и экологической систем – снижалась, в то время как распространенность семейства *Pseudomonadaceae* наоборот – росла. Применение органических удобрений, по сравнению с минеральными, способствовало формированию многообразия бактерий. Например, больше разнообразия прокариот по индексу Шеннона наблюдалось при биологической системе удобрения – 4,82, а меньше – при промышленном варианте удобрения озимой пшеницы. Установлено, что на варианте биологической системы удобрения увеличение видового разнообразия происходило за счет фил *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucimicrobia*, а при экологической системе удобрения – за счет таких фил, как: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и *Proteobacteria*. Абсолютными доминантами были представители бактериальных фил *Proteobacteria* – 79,1 %, *Actinobacteria* – 14,0 %.

Ключевые слова: прокариоты, микроорганизмы, метагеном, пироквенирование, многообразие, ризосфера.

S. Hudz, Ph. D. stud.,

Skivka, Dr. Sc.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

PECULIARITIES OF FORMATION OF THE EUBACTERIAL COMPLEX OF WINTER WHEAT RHYSOPHERE (*TRITICUM DURUM*) BY DIFFERENT FERTILIZATION SYSTEMS

The of the study was to determine the quantitative, qualitative composition and taxonomic structure of the eubacterial complex in the rhizosphere of winter wheat using different fertilizer systems. Methods. Microbiological methods were used to determine the content of winter microorganisms in the wheat rhizosphere, and molecular taxonomic structure and methane of the eubacterial complex of microorganisms were determined. Results. It was found that among large phyla on the variants of the biological system of winter wheat fertilizer the share of *Proteobacteria* increased to 80,3 %, and the number of *Actinobacteria* decreased to 12.4% according to the control variant 76,3 and 17,5 %, also similar growth rates were marked on the variant of the ecological fertilizer system. The analysis of families shows that such families as *Alcaligenaceae* and *Pseudomonadaceae* were dominant in winter wheat crops with the use of different fertilizer variants. Under the industrial fertilizer system, the share of the family *Alcaligenaceae* was the highest, but with the application of biological and ecological systems it decreased, while the prevalence of the family *Pseudomonadaceae* on the

contrary – increased. The use of organic fertilizers, compared with mineral, contributed to the formation of a variety of bacteria, so the greatest diversity of prokaryotes according to the Shannon index was in the biological fertilizer system – 4,82, and the least – in the industrial version of winter wheat fertilizer. Conclusions. It was found that in the variant of the biological fertilization system the increase of species diversity was due to the following phyla: Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Verrucomicrobia, and in the ecological fertilization system due to such phyla as: Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes and Proteobac. In general, according to the experiment, the absolute dominants were representatives of bacterial phyla Proteobacteria – 79,1 %, Actinobacteria – 14,0 %.

Keywords: prokaryotes, microorganisms, metagenome, pyrosequencing, diversity, rhizosphere.

УДК 578.864.3/856.1/862.1

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.36-42

Р. Совінська, асп.,
А. Дуніч, канд. біол. наук,
Л. Міщенко, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

УРАЖЕНІСТЬ РОСЛИН ГЛАДІОЛУСІВ ВІРУСОМ ЖОВТОЇ МОЗАЇКИ КВАСОЛІ, ВІРУСОМ ОГІРКОВОЇ МОЗАЇКИ ТА ВІРУСОМ КІЛЬЦЕВОЇ ПЛЯМИСТОСТІ ТЮТЮНУ НА ТЕРИТОРІЇ ДЕЯКИХ ПІВНІЧНИХ І ЦЕНТРАЛЬНИХ ОБЛАСТЕЙ УКРАЇНИ

Гладіолуси можуть уражуватися 15 видами вірусів, що завдають суттєвих економічних втрат як квітникарській галузі, так і сільському господарству. Найбільш поширеними і шкодочинними на гладіолусах є Bean yellow mosaic virus (BYMV) та Cucumber mosaic virus (CMV), що циркулюють на території України на овочевих, бобових та інших культурах, а також Tobacco ringspot virus (TRSV), що входить до Переліку регульованих шкідливих організмів України та підлягає суворому контролю.

Проведено тестування рослин гладіолусів на наявність симптомів вірусного ураження та здійснено їхнє тестування на ураженість найбільш поширеними і небезпечними вірусами, а саме: BYMV, CMV, TRSV. Для цього було застосовано метод візуальної діагностики, імуноферментний аналіз у модифікації DAS-ELISA, метод трансмісійної електронної мікроскопії, статистичні методи обробки даних. Результати досліджень показали відсутність TRSV у всіх досліджуваних зразках. Уперше в Україні встановлено, що гладіолуси уражуються вірусом жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК). Його циркуляція на рослинах гладіолуса зареєстрована в Полтавській, Київській та Сумській обл. Виявлено, що гладіолуси також уражені CMV або змішаною інфекцією цих патогенів. Ураженість гладіолусів BYMV і CMV у Київській обл. становить 88,2 і 93,8 %, у Полтавській – 69,2 і 55,5 %, у Сумській – 66,6 і 0 %, відповідно. Характерними симптомами на рослинах гладіолусів, що спричиняють ізоляти CMV і BYMV, є хлоротична штрихувата мозаїка на листках і зміна кольору квіток, рідше – крапчастість на листках і затримка росту рослин. Виявлено, що захворювання гладіолусів, викликане CMV і BYMV, може мати безсимптомний перебіг. Різноманітність, характер і перебіг вірусних інфекцій у рослин гладіолусів демонструє актуальність подальшого дослідження та їхнього моніторингу в Україні.

Ключові слова: гладіолус, вірус жовтої мозаїки квасолі, вірус огіркової мозаїки, вірус кільцевої плямистості тютуну, конфекція.

Вступ. Гладіолуси – популярні бульбоцибулинні рослини в ландшафтних композиціях, їх також вирощують задля красивих квітів, букетів, квіткових кошиків на продаж. Успішного поширення на всіх континентах ці представники родини Iridaceae досягнули завдяки своїм декоративним властивостям і відносно простій методиці виведення нових сортів. Нині у світі існує понад 5000 сортів гладіолусів, основні гібридні групи яких отримані шляхом схрещування чотирьох або п'яти видів роду *Gladiolus* з подальшим добром: 'Grandiflorus', 'Primulines' та 'Nanus' [30]. Через особливості розмноження гладіолусів наявність інфікованого рослинного матеріалу призводить до передавання вірусних патогенів із покоління в покоління, вирощування сортів і створення складнощів у селекційному добрі, а з посадковим матеріалом (бульбоцибулинами) віруси поширюються на нові території.

За даними світової наукової літератури рослини гладіолусів уражують 15 видів вірусів. Tomato aspermy virus (TAV) і tobacco rattle virus (TRV) ідентифіковані в Європі, а також Ізраїлі, Єгипті, Індії [25, 31, 37]. Ornithogalum mosaic virus (OrMV) та tomato ringspot virus (ToRSV) виявлені та території Сполучених Штатів Америки, Південної Кореї та Ірану [14, 19]. У Польщі в насадженнях гладіолусів був детектований tomato black ring virus (TBRV) [22]. На територіях Австралії, Сполучених Штатів Америки та Європи ідентифіковано tomato spotted wilt virus (TSWV) [16, 20, 21]. Tobacco necrosis virus (TNV) та tobacco ringspot virus (TRSV) був виявлений на гладіолусах у Литві [32]. В Італії та Ірані було виявлено arabis mosaic virus (ArMV) [11, 19]. Tobacco mosaic virus (TMV), tomato ringspot virus (ToRSV) і tobacco ringspot virus

(TRSV) детектовані у рослинах гладіолусів в Японії і Південній Кореї [17, 33]. У ході дослідження насаджень гладіолусів в Італії виявлені strawberry latent ringspot virus (SLRV), TRSV та tobacco streak virus (TSV) [12, 13].

Варто наголосити, що із них TRSV, TRV, а також ВЖМК (bean yellow mosaic virus, BYMV), вірус огіркової мозаїки (cucumber mosaic virus, CMV) [23, 24] уражають широкий спектр рослин, до яких належать й економічно важливі сільськогосподарські культури, а тому становлять особливу небезпеку. TRSV входить до Переліку регульованих шкідливих організмів України та підлягає суворому контролю у країні [9].

Вірус жовтої мозаїки квасолі та вірус огіркової мозаїки найчастіше детектуються у світі в насадженнях гладіолусів. Гладіолуси, інфіковані вірусом огіркової мозаїки, мають симптоми хлоротичної штрихуватості, мозаїки на листках, зміни кольору квітки. Інфікування на пізніх періодах вегетації вірусом огіркової мозаїки проходить у більшості випадків безсимптомно і може виявитись лише у зменшенні кількості квітів у колосі [26]. У насадженнях гладіолусів ВЖМК виявлений на всіх континентах [10, 18, 26, 31, 37, 38]. На рослинах гладіолусів симптоматика виявляється у вигляді темно-зеленої смугастості листків, деформації кольору квітів під дією хвороби. Вірус жовтої мозаїки квасолі також знижує відбруньковування бульбоцибулин гладіолусів на 33 %, інфіковані рослини мають менший період життя й більш чутливі до грибної інфекції [31].

В Україні у рослинах гладіолусів с. Ніжність із симптомами зеленої мозаїки, локальних некрозів та смугастої мозаїки на листках був детектований tomato aspermy virus

(TAV) [27]. Уперше у 2017 р. у Полтавській обл. був виявлений CMV у листках та бульбоцибулинах рослин гладіолусів із мозаїчними симптомами [3]. Вірус жовтої мозаїки квасолі був виявлений В. Г. Краєвим ще в 1966 р. при вивченні збудника інфекції кормових бобів, що викликав системні хлорози, жовто-зелену мозаїку та вкорочення міжвузлів. Згодом були ідентифіковані ізоляти вірусу на люпині (*Lupinus luteus*), конюшині лучній (*Trifolium pratense*), а також сої (*Glycine max*) і квасолі (*Phaseolus vulgaris*), що свідчить про циркуляцію цього вірусу у країні [1, 6, 29]. Утім, незважаючи на велику кількість останнім часом повідомлень про детекцію BYMV на гладіолусах у світі та циркуляцію вірусу в нашій країні, тестування рослин гладіолусу на наявність BYMV досі не проводилась.

З огляду на наведені вище дані та відсутність детального вивчення теми вірусних інфекцій гладіолусів в Україні, **мета дослідження** – здійснити перевірку рослин гладіолусів на наявність симптомів вірусного ураження на території деяких областей України та провести їхнє тестування на наявність найбільш поширених і шкочинних вірусів.

Матеріали і методи. Візуальну діагностику симптомів вірусного ураження на рослинах гладіолусів проводили на території Київської, Полтавської, Сумської обл. [7]. Для досліджень були відібрані сорти вітчизняної та закордонної селекції: Пам'ять, Легенда Києва, Леда, Стрілка, Примадонна, Вій, Сіянець Коричневий, Сільва, Авард, Веер, Нью Дей, Міраж, Мереживо та ін. Візуальна діагностика передбачала виявлення вірусоспецифічних симптомів на листках, квітах і бульбоцибулинах. Серед них – хлоротична штрихуватість і мозаїка на листках, розриви кольору на пелюстках квітки, зміна кількості квітів у квітконосі, зменшення кількості новоутворених бульбоцибулин на материнській рослині або їхня відсутність. Оскільки відомо, що візуальні симптоми можуть не виявлятися, нами також було відібрано зразки рослин, що не мали видимих ознак ураженості вірусом [26, 31]. Для оцінки небезпеки розповсюдженості вірусних патогенів на інші чутливі декоративні рослини були відібрані зразки сортових канн (*Canna sp.*) та ірисів (*Iris sp.*).

Для визначення наявності вірусних антигенів було використано метод твердофазного імуоферментного аналізу в модифікації подвійний сандвіч (DAS-ELISA). Аналіз відбувався з використанням комерційних тест-систем до bean yellow mosaic virus, cucumber mosaic virus

та tobacco ringspot virus виробництва Loewe (Німеччина) на полістиролових планшетах "Labsystems" у трьох повторностях. Для постановки реакції зразки рослин (листки) подрібнювали з додаванням 0,1M фосфатно-сольового буфера у співвідношенні 1 : 2 (m/V). Для звільнення від рослинних решток у гомогенатах проводили низькошвидкісне центрифугування, режим 3 тис. об./хв протягом 20 хв з наступним відбором надосаду, який і був використаний для аналізу [15]. Як позитивний контроль у реакції був застосований комерційний вірусний препарат (Loewe, Німеччина), негативний – здорові листки гладіолуса. Результати реакції реєстрували на рідері Termo Labsystems Odis MR (США) із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink при довжинах хвиль 405/630 нм. Достовірними вважали значення, що перевищували негативний контроль щонайменше у три рази.

Вивчення морфології вірусних часток було здійснено за допомогою методу трансмісійної електронної мікроскопії. Проведення досліджень здійснювалось із використанням обладнання Центру колективного користування при Інституті мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАНУ. Вірусний препарат наносили на сітки з міді, із плівкою-підкладкою, що складалась із 0,2 % розчину формвару на дихлоретані. Негативне контрастування препаратів проводили 2-відсотковим водним розчином фосфорно-вольфрамової кислоти протягом 2 хв [8].

Статистична обробка результатів ЕМ та ІФА відбувалася з урахуванням стандартного відхилення: $X = \bar{X} \pm \sigma$; $X = (X_1 + X_2 + \dots + X_n) / n$; $A = |X_{\max} - X| = |X_{\min} - X|$, де X – достовірне значення довжини віріона/значення оптичної густини рідера при довжини хвилі 405 нм; $\bar{X}$ – середнє арифметичне вимірюваних значень довжини віріона/ значення оптичної густини; $X_1 \dots X_n$; σ – стандартне відхилення [5].

Результати та їхнє обговорення. За літньо-осінній період 2019 р. було відібрано 63 зразки гладіолусів для подальшого дослідження. Візуальна діагностика насаджень показала присутність видимих симптомів вірусного ураження (хлоротичну штрихувату мозаїку, зміну рівномірності забарвлення пелюсток квітів, відсутність цвітіння) у значної кількості досліджуваних зразків із північно-центральної областей України (рис. 1). Зміни у кольорі квітки були помітні лише у сортів, що мають забарвлення, відмінне від білого.



Рис. 1. Симптоми вірусної інфекції на гладіолусах:

- а – мозаїка на листках та зміна забарвлення квітки на гладіолусі с. Сіянець коричневий (Київська обл.);
 б – зміна забарвлення квітки та штрихуватість на гладіолусі с. Нью Дей (Київська обл.);
 в – штрихувата хлоротична мозаїка на гладіолусі сорту Пам'ять (Полтавська обл.)

Рідше відмічалася затримка росту та цвітіння рослин (рис. 2А) та плямистість різної форми й інтенсивності на листках (рис. 2Б, 2В).



Рис. 2. Симптоми вірусної інфекції на гладіолусах:
А – затримка росту та хлоротична мозаїка (с. Пам'ять, Полтавська обл.);
Б, В – плямистість (с. Мереживо та с. Міраж, Київська обл.)

Рослини гладіолусів із перерахованими симптомами тестували на наявність вірусів методом ІФА. Зразки перевіряли на:

- BYMV, який є найбільш розповсюдженим вірусом гладіолусів у світі;
- BOM, що на гладіолусах часто детектується в ко-інфекції з BYMV);
- TRSV (типів для нього симптоми плямистості були виявлені на деяких зразках).

Для визначення присутності антигенів BYMV було досліджено всі відібрані зразки (усього 63 шт.): у Київській обл. – 34, у Полтавській – 26, у Сумській – 3. Антигени BYMV виявлені у 53 сортозразках: на території Київської обл. – у 30 рослинах, Полтавської обл. – у 18, Сумської обл. – у 2.

У ході роботи було також перевірено на наявність вірусних антигенів декоративні рослини (*Canna sp.*, *Iris sp.*), що зростали поблизу насаджень гладіолусів і є чутливими до bean yellow mosaic virus [28, 31]. Позитивний результат на наявність BYMV був отриманий у зразку досліджуваних ірисів (*Iris sp.*), що зростали поруч із

досліджуваними гладіолусами. У відібраних поблизу місць зростання гладіолусів сортових канн (*Canna sp.*) антигенів вірусу не було виявлено. Варто підкреслити, що ізоляти BYMV мають інший спектр рослин-хазяїв, які залежать від особливості кожного ізоляту. Ізоляти bean yellow mosaic virus, виділені із гладіолусів, мають вужче коло чутливих рослин і відмінні біологічні властивості порівняно з іншими штамми/ізолятами вірусу [2, 27].

Дослідження наявності CMV, проведене у 28 зразках гладіолусів. Антигени CMV виявлені у 8 з них: на території Київської обл. – у 15 (рис. 4 А), Полтавської обл. – у 5 (рис. 4 Б), Сумської – антигенів вірусу не виявлено.

Три зразки гладіолусів із Київської та чотири з Полтавської обл. було перевірено на наявність вірусу кільцевої плямистості тютюну (TRSV), який належить до Переліку регульованих карантинних організмів України [9]. Аналіз цих семи зразків гладіолусів не виявив їхнього ураження вірусом.

Отже, ураженість гладіолусів BYMV і CMV у Київській обл. становила 88,2 і 93,8 %, у Полтавській – 69,2 і 55,5 %, у Сумській – 66,6 і 0 %, відповідно (рис. 3).

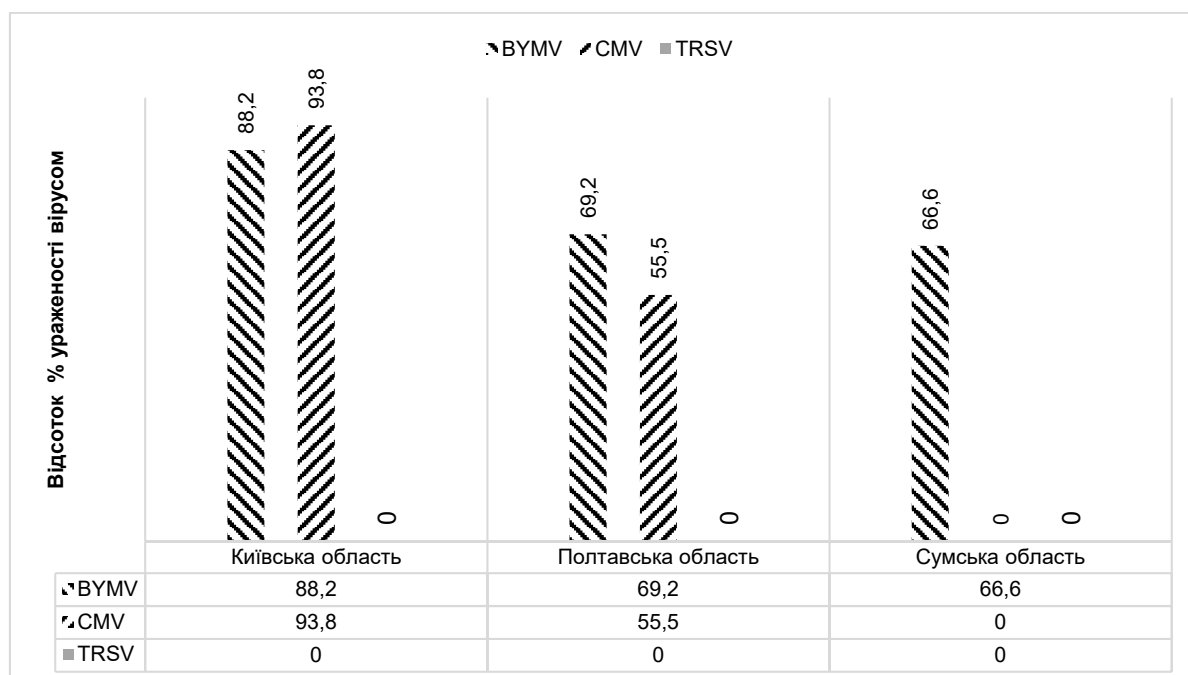


Рис. 3. Відсоток ураженості BYMV, CMV, TRSV досліджуваних зразках гладіолусів (*Gladiolus hybridus*)

Оскільки є дані про те, що CMV і BYMV можуть викликати безсимптомну інфекцію, тобто гладіолуси можуть не виявляти видимих ознак зараження, ми відібрали і перевірили на наявність цих вірусів 10 візуально здорових зразків. За даними імуноферментного аналізу шість із них виявилися вірусінфікованими: у трьох зразках було виявлено CMV+BYMV; у двох – CMV та в одному – BYMV. Відсутність візуальних симптомів ураження у гладіолусів при активній репродукції вірусу у клітині відзначається у рослинах, які були інфіковані у рік відбору зразків, а поява штрихуватої мозаїки спостерігається в наступний сезон росту рослин [31, 35]. Моноінфікування BYMV також відзначається слабким виявом симптомів або безсимптомною інфекцією [23].

У насадженнях гладіолусів вірус огіркової мозаїки найчастіше детектують у коінфекції з вірусом жовтої мозаїки квасолі [10, 31]. Коінфекція модулює розвиток симптомів двома способами. Наприклад, змішана інфекція вірусу огіркової мозаїки з вірусами з інших родів (*Crinivirus*, *Potexvirus*, *Potyvirus*, *Tobamovirus*) у випадку інфікування представників гарбузових або пасльонових

сприяє накопиченню вірусу огіркової мозаїки і пригнічення інших. Синергізм може спостерігатись у рослин, які є толерантними до одного із двох вірусів, або при відновленні дефектних функцій одного з вірусів [32]. Основну роль у синергізмі відіграє білок 2b CMV через його здатність пригнічувати механізм РНК-інтерференції. Вплив білка 2b був продемонстрований на трансгенних рослинах тютюну при коінфекції вірусом огіркової мозаїки та вірусом тютюнової мозаїки (TMV). Подальші дослідження показали, що стрімкий розвиток симптомів на молодих рослинах тютюну відбувався внаслідок спільної дії білка 2b CMV та реплікази TMV на механізм РНК-інтерференції, тобто в цій ситуації віруси підсилювали синтез один одного [34]. У випадку коінфікування вірусом огіркової мозаїки і ВЖМК відзначається інтенсивніший і стрімкіший розвиток симптомів [10]. Утім, механізм синергізму згаданих вірусів у гладіолусів на зазначений момент не досліджений.

За результатами імуноферментного аналізу, із 27 протестованих зразків на обидва віруси (BYMV та CMV), коінфекція підтверджена у 17 зразках (рис. 4).

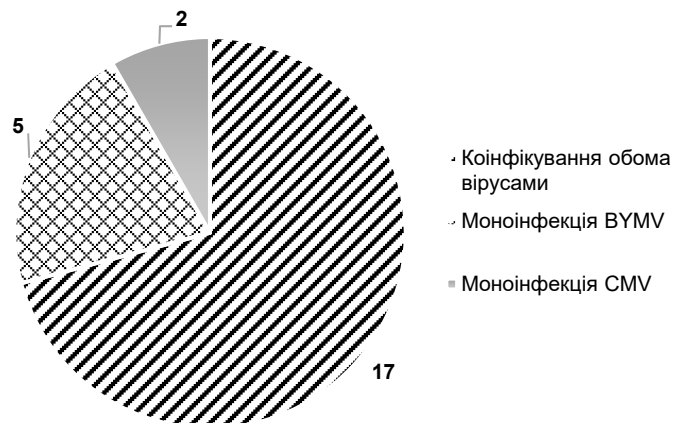


Рис. 4. Результати тестування рослин гладіолусів на наявність коінфікування CMV+BYMV

У ході дослідження морфології вірусних частинок у соці гладіолусів із симптомами штрихуватої мозаїки виявлені скупчення ниткоподібних віріонів довжиною 720–750 нм та діаметром близько 11–13 нм (рис. 5).

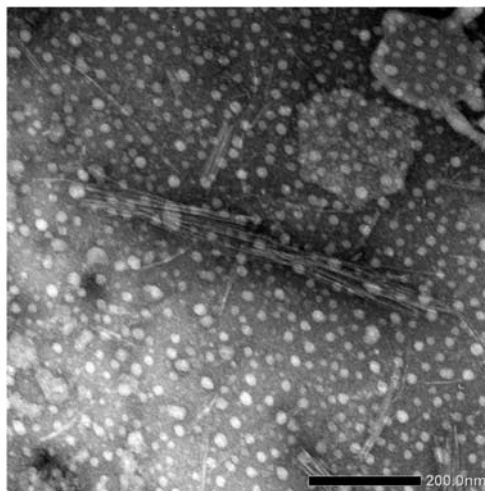


Рис. 5. Електронно-мікроскопічне зображення віріонів вірусу жовтої мозаїки квасолі у соці з листків гладіолусів, сорт Пам'ять, Київська обл., закритий ґрунт (лінійка – 200 нм, збільшення $\times 30\,000$)

Результати досліджень показали, що морфологія ізолату ВЖМК, виділеного із гладіолусу, є характерною та не відрізняється від інших потівірусів [39].

Необхідно розширити перелік досліджуваних областей, проаналізувати поширення вірусів у місцях зростання гладіолусів в різних агрокліматичних умовах, оскільки у статті проаналізовані лише насадження гладіолусів, що зростають на території України із м'яким, помірно-континентальним кліматом та зазвичай на чорноземних ґрунтах з оптимальним зволоженням [4].

Висновки. У ході дослідження була здійснена перевірка насаджень гладіолусів Київської, Сумської, Полтавської обл. на наявність вірусних інфекцій. Уперше в Україні встановлено, що гладіолуси уражені bean yellow mosaic virus. Його циркуляція на рослинах гладіолусу зареєстрована у Полтавській, Київській та Сумській обл. Виявлено, що гладіолуси також уражені cucumber mosaic virus, або змішаною інфекцією цих патогенів. Встановлено, що характерними симптомами на рослинах гладіолусів, які спричиняють ізоляти CMV+BYMV, є хлоротична штрихувата мозаїка та крапчастість на листках, також зміна кольору квіток і затримка в рості деяких рослин. Встановлено, що CMV і BYMV можуть спричинити безсимптомне захворювання гладіолусів. Показано відсутність антигенів вірусу кільцевої плямистості тютюну (tobacco ringspot virus) у всіх досліджуваних зразках.

Отримані результати демонструють високі показники ураження bean yellow mosaic virus та cucumber mosaic virus гладіолусів, що означає потенційну небезпеку для квітникарства та сільськогосподарства в цих місцевостях, а також демонструє актуальність подальшого дослідження вірусних інфекцій гладіолусів. Різноманітність, характер і перебіг вірусних інфекцій у насадженнях гладіолусів в інших кліматичних умовах може різнитись через відмінні умови зростання. Відсутність даних про наявність вірусів на гладіолусах в інших областях України та високі показники ураженості у вже досліджених спонукають на подальше вивчення зазначеної проблеми.

Список використаних джерел:

1. Баратова П. Ф. Про властивості ізолятів вірусу жовтої мозаїки квасолі, виділених з люпину жовтого / П. Ф. Баратова // Мікробіологічний журнал. – 1971. – С. 267–269.
2. Гнута Р. Вірус желтой мозаики фасоли – возбудитель заболевания декоративных культур / Р. Гнута, В. Толкач // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 5. – С. 96–102.
3. Коротеєва Г. В. Вірус огіркової мозаїки у насадженнях гладіолусів / Г. В. Коротеєва, Л. Т. Міщенко, М. С. Овезова та ін. // XV З'їзд товариства мікробіологів України, 11–15 вересня 2017 р.: зб. тез. – Одеса, 2017. – 303 с.
4. Купчик В. Ґрунти України. Властивості, генезис, менеджмент родючості / В. Купчик, В. Іваніна, Г. Нестеров. – К.: Кондор, 2010. – 414 с.
5. Лакін Г. Біометрія / Г. Лакін. – М.: Высшая школа, 1980. – 350 с.
6. Москоvecь С. М. Віруси і вірусні хвороби бобових в Україні / С. М. Москоvecь, В. Г. Краєв, Н. Б. Порембська. – К.: Наукова думка, 1971. – 134 с.
7. Пересипкін В. Ф. Практикум із основ наукових досліджень у захисті рослин / В. Ф. Пересипкін, І. Л. Марков, В. С. Шелестова. – К., 2000. – 164 с.
8. Салига Ю. Електронна мікроскопія біологічних об'єктів / Ю. Салига, В. Снітинський. – К.: Світ, 1999. – 152 с.
9. Про затвердження Переліку регульованих шкідливих організмів z1300-06 [Електронний ресурс] : наказ від 29.11.2006 № 716 ; чинний, поточна редакція – редакція від 03.09.2019, підстава – z0879-19. – Режим доступу : <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1300-06>.
10. Arneodo J. D. Detection of Bean yellow mosaic virus and Cucumber mosaic virus infecting gladiolus in Argentina / J. D. Arneodo, S. D. Breuil, S. L. Lenardon et al. // Agriscientia. – 2005. – № 22. – P. 87–89.
11. Bellardi M. G. Comparative studies on gladiolus isolates of Arabis mosaic virus (ArMV) / M. G. Bellardi, A. Canova, C. Gelli // Phytopathologia Mediterranea. – 1986. – № 25. – P. 85–91.
12. Bellardi M. G. Nepoviruses isolated from gladiolus in Italy / M. G. Bellardi, F. Marani // Acta Horticulturae. – 1985. – Vol. 164. – P. 297–308.
13. Bellardi M. G. Stunting of gladiolus flower spike associated with tobacco streak virus (TSV) / M. G. Bellardi, V. Vicchi, C. Gelli // Phytopathologia Mediterranea. – 1987. – № 26. – P. 73–80.

14. Cho S. Y. Complete genome sequence of *Ornithogalum mosaic virus* infecting *Gladiolus* spp. in South Korea / S. Y. Cho, S. Lim, H. Kim et al. // Genome Announcements. – 2016. – Vol. 4, № 4. – P. 16–18.
15. Crowther J. R. ELISA. Theory and practice / J. R. Crowther. – N. Y.: Humana Press, 1995. – 223 p.
16. Edwardson J. R. To spovirus. In: Virus infecting pepper and other solanaceous crops / J. R. Edwardson, R. G. Christie // University of Florida, Gainesville: Agricultural Experiment Station. – 1997. – Vol. 2. – P. 687–719.
17. Fukumoto F. Viruses isolated from *Gladiolus* in Japan / F. Fukumoto, Y. Ito, H. Tochiwara // Annals of the Phytopathological Society of Japan. – 1982. – № 48. – P. 68–71.
18. Gorter G. J. M. A. Index of plant pathogens and the diseases they cause in cultivated plants in South Africa / G. J. M. A. Gorter // Science Bulletin / Department of Agricultural Technical Services, Republic of South Africa. – 1977. – 177 p.
19. Ghotbi T. First report on incidence of arabis mosaic virus (ArMV, Nepovirus) on ornamental plants in Iran / T. Ghotbi, N. Shahraeen // Iranian Journal of Plant Pathology. – 2005. – Vol. 41, № 2. – P. 305.
20. Lee T. C. A serious disease of gladiolus in Australia caused by tomato spotted wilt virus / T. C. Lee, R. I. B. Francki, T. Hatta // Plant Disease Reporter. – 1979. – N 63. – P. 343–348.
21. Louro D. Detection and identification of tomato spotted wilt virus and impatiens necrotic spot virus in Portugal / D. Louro // Acta Horticulturae. – 1996. – Vol. 431. – P. 99–105.
22. Kamińska M. Some properties of isolates of tomato black ring virus / M. Kamińska // Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych. – 1978. – Vol. 214. – P. 109–117.
23. Katoch M. Status of bean yellow mosaic virus on *Gladiolus* / M. Katoch, M. Ram, A. A. Zaidi // Crop Protection. – 2002. – Vol. 21, N. 9. – P. 861–865.
24. Katoch M. First report of Tobacco ringspot virus occurring in gladiolus in India / M. Katoch, R. Ram, A. A. Zaidi // Plant Pathology. – 2003. – Vol. 52, N 6. – P. 789.
25. Katoch M. First report of Tobacco rattle virus occurring in gladiolus in India / M. Katoch, M. Z. Abidin, A. A. Zaidi // Plant Pathology. – 2004. – Vol. 53, N 2. – P. 236.
26. Katoch M. An overview of diagnostics for viruses infecting gladiolus / M. Katoch, R. Ram, M. Z. Abidin et al. // Crop Protection. – 2013. – Vol. 22. – P. 153–158.
27. Koroteyeva G. Identification of viruses affecting gladiolus in Kyiv region / G. Koroteyeva // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Biology. – 2013. – Vol. 3, N 65. – P. 35–37.
28. Kumari A. First Report of Bean yellow mosaic virus Causing a Mosaic Disease of *Canna* sp. in India [Electronic source] / A. Kumari, C. Kaur, S. Kumar // Plant Disease. – 2015. – Vol. 99, N 6. – P. 897. – Access mode : <https://www.researchgate.net>.
29. Kyrychenko A. M. Phylogenetic analysis of Ukrainian BYMV isolates from soybeans and beans / A. M. Kyrychenko, I. O. Antipov, K. V. Hrynchuk // Cytology and Genetics. – 2017. – Vol. 51, N 3. – P. 173–178.
30. Mujib A. Somatic Embryogenesis in Ornamentals and Its Applications / A. Mujib. – Springer, 2015. – 188 p.
31. Navalinskiene M. Virological evaluation of Lithuanian dahlia (*Dahlia Cav.*), gladiolus (*Gladiolus L.*), iris (*Iris L.*) and peony (*Paeonia L.*) cultivars and hybrids. / M. Navalinskiene, M. Samuitene // Biologija. – 2004. – N 3. – P. 57–63.
32. Palukaitis P. Cucumoviruses / P. Palukaitis, F. Garcia-Arenal // Advances in Virus Research. – 2003. – Vol. 62. – P. 242–323.
33. Park I. S. The viruses in *Gladiolus* hybrids cultivated in Korea. Broad bean wilt virus, cucumber mosaic virus and tobacco rattle virus [Electronic source] / I. S. Park // Korean Journal Plant Pathology. – 1998. – Vol. 14. – P. 83–91. – Access mode : <https://agris.fao.org>.
34. Pérez-González A. Systems Biology Application in Synthetic Biology / A. Pérez-González, E. Caro. – Springer, 2016. – P. 79–89.
35. Characterization of cucumber mosaic virus isolate infecting *Gladiolus* cultivars and comparative evaluation of serological and molecular methods for sensitive diagnosis / S. K. Raj, A. Srivastava, G. Chandra [et al.] // Current Science. – 2002. – Vol. 83, N 6. – P. 1132–1137.
36. Virus and Virus-like Diseases of Bulb and Flower Crops / A. Stein, G. Loebenstein, R. H. Lawson, A. A. Brunt. – N. Y.: Chichester, 1995. – 556 p.
37. Wada Y. Comparison of pathogenicity and nucleotide sequences of 3'-terminal regions of bean yellow mosaic virus isolates from gladiolus / Y. Wada, H. Iwai, Y. Ogawa // Journal of General Plant Pathology. – 2000. – Vol. 66. – P. 345–352.
38. Virus impact at the interface of an ancient ecosystem and a recent agroecosystem: studies on three legume-infecting potyviruses in the southwest Australian floristic region / C. G. Webster, B. A. Coutts, R. A. C. Jones et al. // Plant Pathology. – Vol. 56, N 5. – P. 729–742.
39. Potyvirus [Electronic source]. *ViralZone*, [online]. – 2018. – Access mode : <https://viralzone.expasy.org/> 50?outline=all_by_protein [Accessed 19 Des. 2019].

References:

1. Baratova P. F. Properties of yellow bean mosaic virus isolates isolated from yellow lupine. Microbiological Journal. 1971. P. 267–269.
2. Gnutova R. Tolkač V. The yellow bean mosaic virus – the causative agent of ornamental crops. Agricultural biology. 2008; (5): 96–102.
3. Cucumber mosaic virus in gladiolus / G. Koroteyeva, L. Mishchenko, M. Ovezova et al. Proceedings of the XV Congress of

Vynogradsk'kyj Society of Microbiologists of Ukraine. 2017/ 11–15 Sep; Odessa, Ukraine; 2017. 303 p.

4. Kupchik V., Ivanina V., Nesterov G. Soils of Ukraine. Properties, genesis, fertility management. Kyiv: Kondor, 2010. 414 p.

5. Lakin G. Biometrics. Moskva : Vysshaya shkola, 1980. 350 p.

6. Moskovets S. M., Krayev V. G., Porembka N. B. Viruses and viral diseases of legumes in Ukraine. Kyiv: Naukova dumka, 1971. 134 p.

7. Peresypkin V. F., Markov I. L., Shelestova V. S. Workshop on the basics of research in plant protection. Kyiv, 2000. 164 p.

8. Saliga Y., Snitinsky V. Electron microscopy of biological objects. 1999. Kyiv: Svit. 152 p. Ukrainian

9. Pro zatverdzhennia Pereliku reholovanykh shkidlyvykh orhanizmv z1300-06 : Nakaz vid 29.11.2006 № 716; chynnyi, potochna redaktsiia – red. vid 03.09.2019, pidstava – z0879-19. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1300-06>.

10. Arneodo J. D., Breuil S. D., Lenardon S. L. et al. Detection of Bean yellow mosaic virus and Cucumber mosaic virus infecting gladiolus in Argentina. Agriscientia. 2005; 22: 87–89.

11. Bellardi M. G., Canova A., Gelli C. Comparative studies on gladiolus isolates of Arabis mosaic virus (ArMV). Phytopathologia Mediterranea. 1986; 25: 85–91.

12. Bellardi M. G., Marani F. Nepoviruses isolated from gladiolus in Italy. Acta Horticulturae. 1985; 164: 297–308.

13. Bellardi M. G., Vicchi V., Gelli C. Stunting of gladiolus flower spike associated with tobacco streak virus (TSV). Phytopathologia Mediterranea. 1987; 26: 73–80.

14. Cho S. Y., Lim S., Kim H. et al. Complete genome sequence of Ornithogalum mosaic virus infecting *Gladiolus* spp. in South Korea. Genome Announcements. 2016; 4(4): 16.

15. Crowther J. R. ELISA. Theory and practice. New York : Humana Press, 1995. 223 p.

16. Edwardson J. R., Christie R. G. Toxoplasma. In: Virus infecting pepper and other solanaceous crops. University of Florida, Gainesville: Agricultural Experiment Station. 1997; 2: 687–719.

17. Fukumoto F., Ito Y., Tochiwara H. Viruses isolated from *Gladiolus* in Japan. Annals of the Phytopathological Society of Japan. 1982; 48: 68–71.

18. Gorter G. J. M. A. Index of plant pathogens and the diseases they cause in cultivated plants in South Africa. Science Bulletin, Department of Agricultural Technical Services, Republic of South Africa; 1977: 177.

19. Ghotbi T., Shahraeen N. First report on incidence of arabis mosaic virus (ArMV, Nepovirus) on ornamental plants in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology. 2005; 41(2): 305.

20. Lee T. C., Francki R. I. B., Hatta T. A serious disease of gladiolus in Australia caused by tomato spotted wilt virus. Plant Disease Reporter. 1979; 63: 343–348.

21. Louro D. Detection and identification of tomato spotted wilt virus and impatiens necrotic spot virus in Portugal. Acta Horticulturae. 1996; 431: 99–105.

22. Kamińska M. Some properties of isolates of tomato black ring virus. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych. 1978; 214: 109–117.

23. Katoch M., Ram M., Zaidi A. A. Status of bean yellow mosaic virus on Gladiolus. Crop Protection. 2002; 21(9):861–865.

24. Katoch, M., Ram R., Zaidi, A. A. First report of Tobacco ringspot virus occurring in gladiolus in India. Plant Pathology. 2003; 52(6): 789.

25. Katoch M., Abidin M. Z., Zaidi A. A. First report of Tobacco rattle virus occurring in gladiolus in India. Plant Pathology. – 2004; 53(2): 236.

26. Katoch M., Ram R., Abidin M. Z. et al. An overview of diagnostics for viruses infecting gladiolus. Crop Protection. 2013; 22: 153–158.

27. Koroteyeva G. Identification of viruses affecting gladiolus in Kyiv region. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Biology. 2013; 3(65): 35–37.

28. Kumari A., Kaur C., Kumar S. First Report of Bean yellow mosaic virus Causing a Mosaic Disease of Canna sp. in India. Plant Disease. 2015; 99(6): 897.

29. Kyrychenko A. M., Antipov I. O., Hrynchuk K. V. Phylogenetic analysis of Ukrainian BYMV isolates from soybeans and beans. Cytology and Genetics. 2017; 51(3): 173–178.

30. Mujib A. Somatic Embryogenesis in Ornamentals and Its Application. Springer, 2015. 188 p.

31. Navalinskiene M., Samuitene M. Virological evaluation of Lithuanian dahlia (*Dahlia Cav.*), gladiolus (*Gladiolus L.*), iris (*Iris L.*) and peony (*Paeonia L.*) cultivars and hybrids. Biologija. 2004; (3): 57–63.

32. Palukaitis P., Garcia-Arenal F. Cucumoviruses. Advances in Virus Research. 2003; 62: 242–323.

33. Park I. S. The viruses in Gladiolus hybrids cultivated in Korea. Broad bean wilt virus, cucumber mosaic virus and tobacco rattle virus. Korean Journal Plant Pathology. 1998; 14: 83–91.

34. Pérez-González A., Caro E. Systems Biology Application in Synthetic Biology. Springer, 2016: 79–89.

35. Raj S. K., Srivastava A., Chandra G. et al. Characterization of cucumber mosaic virus isolate infecting Gladiolus cultivars and comparative evaluation of serological and molecular methods for sensitive diagnosis. Current Science. 2002;83(6):1132–1137.

36. Stein A., Loebenstein G., Lawson R. H., Brunt A. A. Virus and Virus-like Diseases of Bulb and Flower Crops. 1995. New York: Chichester. 556 p.

37. Wada Y., Iwai H., Ogawa Y., Arai K. Comparison of pathogenicity and nucleotide sequences of 3'-terminal regions of bean yellow mosaic virus isolates from gladiolus. Journal of General Plant Pathology. 2000; 66: 345–352.

38. Webster C. G., Coutts B. A., Jones R. A. C. et al. Virus impact at the interface of an ancient ecosystem and a recent agroecosystem: studies on three legume-infecting potyviruses in the southwest Australian floristic region. Plant Pathology. 2007; 56(5): 729–742.

39. Potyvirus [Electronic source]. *ViralZone* [online]. 2018. Access mode : https://viralzone.expasy.org/50?outline=all_by_protein.

Надійшла до редколегії 11.05.2020

Отримано виправлений варіант 12.06.2020

Підписано до друку 12.06.2020

Received in the editorial 11.05.2020

Received a revised version on 12.06.2020

Signed in the press on 12.06.2020

Р. Совинская, асп.,
А. Дунич, канд. биол. наук,
Л. Мищенко, д-р биол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ПОРАЖЁННОСТЬ РАСТЕНИЙ ГЛАДИОЛУСОВ ВИРУСОМ ЖЕЛТОЙ МОЗАИКИ ФАСОЛИ, ВИРУСОМ ОГУРЕЧНОЙ МОЗАИКИ И ВИРУСОМ КОЛЬЦЕВОЙ ПЯТНИСТОСТИ ТАБАКА НА ТЕРРИТОРИИ НЕКОТОРЫХ СЕВЕРНЫХ И ЦЕНТРАЛЬНЫХ ОБЛАСТЕЙ УКРАИНЫ

Гладиолусы могут поражаться 15 видами вирусов, наносящих существенные экономические потери как цветочной отрасли, так и сельскому хозяйству. Наиболее распространенными и вредоносными на гладиолусах являются Bean yellow mosaic virus (BYMV) и Cucumber mosaic virus (CMV), циркулирующие на территории Украины на овощных, бобовых и других культурах, а также Tobacco ringspot virus (TRSV), входящий в Перечень регулируемых вредных организмов Украины и подлежащий строгому контролю.

Проведено тестирование растений гладиолусов на наличие симптомов поражения вирусами и на поражение наиболее распространенными и опасными вирусами, а именно: BYMV, CMV, TRSV. Применен метод визуальной диагностики, иммуноферментный анализ в модификации DAS-ELISA, метод трансмиссионной электронной микроскопии, статистические методы обработки данных. Результаты исследований показали отсутствие TRSV во всех исследуемых образцах. Впервые в Украине установлено, что гладиолусы поражаются вирусом желтой мозаики фасоли. Его циркуляция на растениях гладиолуса зарегистрирована в Полтавской, Киевской и Сумской обл. Выявлено, что гладиолусы также поражены CMV или смешанной инфекцией этих патогенов. Пораженность гладиолусов BYMV и CMV в Киевской обл. составляет 88,2 и 93,8 %, в Полтавской – 69,2 и 55,5 %, в Сумской – 66,6 и 0 %, соответственно. Характерными симптомами на растениях гладиолусов, которые вызывают изоляты CMV и BYMV, являются хлоротичная и штриховатая мозаика на листьях и изменение цвета цветков, реже – крапчатость на листьях и задержка роста растений. Выявлено, что заболевание гладиолусов, вызванное CMV и BYMV, может протекать бессимптомно. Разнообразие, характер и течение вирусных инфекций у растений гладиолусов демонстрирует актуальность дальнейшего исследования и их мониторинга в Украине.

Ключевые слова: гладиолус, вирус желтой мозаики фасоли, вирус огуречной мозаики, вирус кольцевой пятнистости табака, коинфекция.

R. Sovinska, Ph. D stud.,
A. Dunich, Ph. D,
L. Mishchenko, Dr. Sci., Prof.,
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

AFFECTION OF GLADIOLUS PLANTS WITH BEAN YELLOW MOSAIC VIRUS, CUCUMBER MOSAIC VIRUS AND TOBACCO RINGSPOT VIRUS IN SOME NORTHERN AND CENTRAL REGIONS OF UKRAINE

Gladioli can be affected with 15 species of viruses, which cause significant economic losses to both floriculture and agriculture. The most prevalent and harmful for gladioli are Bean yellow mosaic virus (BYMV) and Cucumber mosaic virus (CMV), circulating on the territory of Ukraine on vegetable, legume and other crops, and also Tobacco ringspot virus (TRSV), which is included into the List of regulated pests of Ukraine and is the subject to strict control.

The aim of the work was to conduct testing of gladiolus plants for the presence of viral infection symptoms and to test them for the affection with the most widespread and dangerous viruses, namely: BYMV, CMV, TRSV. Visual diagnostics, enzyme-linked immunosorbent assay in DAS-ELISA modification, transmission electron microscopy method and statistical data analysis were used in this research. The results of the studies showed absence of TRSV in all tested samples. For the first time in Ukraine, it has been established that gladioli are infected by Bean yellow mosaic virus. Its circulation on gladioli has been registered in Poltava, Kyiv and Sumy regions. Gladioli were also found to be affected by CMV or mixed infection of these pathogens. Gladioli infection by BYMV and CMV in Kyiv region is 88.2% and 93.8%, in Poltava – 69.2% and 55.5%, in Sumy – 66.6% and 0%, respectively. Typical symptoms on gladiolus plants caused by CMV and BYMV isolates are leaf chlorotic stripes and flower color break, less often – spotting on the leaves and plant stunting. It has been revealed that affection of gladioli by CMV and BYMV can be asymptomatic. The diversity, nature and course of viral infections in gladioli demonstrate the relevance of further research and their monitoring in Ukraine.

Keywords: gladiolus, bean yellow mosaic virus, cucumber mosaic virus, tobacco ring spot virus, coinfection.

УДК 796:616.7+159.942
DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.42-45

С. Федорчук, канд. біол. наук,
Є. Петрушевський, віцепрезидент Федерації гандболу України
Національний університет фізичного виховання і спорту України, Київ

СТАН ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ У ГАНДБОЛІСТОК ІЗ РІЗНИМ СТАЖЕМ СПОРТИВНОГО ТРЕНУВАННЯ

Здійснено порівняння стану психофізіологічних функцій спортсменок-гандболісток високої кваліфікації з різним стажем спортивного тренування (спеціальної підготовленості). Для визначення стану психофізіологічних функцій спортсменок використовували діагностичний комплекс "Діагност-1". Відповідно до мети дослідження у спортсменок вивчали властивості нервової системи (функціональна рухливість і сила нервових процесів), ефективність сенсомоторної діяльності і динамічність нервових процесів у режимі зворотного зв'язку, латентний період складної реакції вибору, точність реакції на рухливий об'єкт. Вищий психофізіологічний статус за показниками сили нервових процесів (як у режимі зворотного зв'язку, так і впродовж довготривалих сенсомоторних навантажень у режимі нав'язаного ритму) продемонстрували спортсменки старшої вікової групи з більшим стажем спортивного тренування. За рівнем функціональної рухливості нервових процесів і точності реакції на рухливий об'єкт спортсменки старшої і молодшої вікових груп не відрізнялись. З огляду на це можна припустити, що спортсменки з меншим стажем спортивного тренування за станом цих психофізіологічних функцій досягли рівня гравчинь старшої вікової групи, тобто рівня максимальної реалізації індивідуальних можливостей. Виявлені відмінності індивідуально-типологічних властивостей вищих відділів центральної нервової системи у спортсменок-гандболісток із різним спортивним стажем можуть мати прогностичну цінність і використовуватися для оптимізації спортивного вдосконалення в зазначеному виді спорту.

Ключові слова: спортсменки високої кваліфікації, стан психофізіологічних функцій, стаж спортивного тренування, гандбол.

Вступ. Моніторинг функціонального стану центральної нервової системи спортсменів у взаємозв'язку з їхніми індивідуально-типологічними характеристиками є одним із методів прогнозування надійності та успішності спортивної діяльності [1, 2, 3, 4]. За результатами багаторічних досліджень Б. Теплова, який вивчав психологічні та психофізіологічні особливості індивідуальних відмінностей між людьми, властивості нервової системи виявляють себе, насамперед і переважно, у динамічному аспекті поведінки (швидкість, темп, напруженість тощо) і в меншій мірі – у змістовних аспектах діяльності (наприклад – мотиви, цілі, знання) [5]. Відомо, що у спортсменів, які регулярно займалися одним з видів спорту, показники властивостей основних нервових процесів, психологічні характеристики різняться, що свідчить про узгодженість, адекватність розвитку властивостей основних нервових процесів, психологічних характеристик, характеру фізичних навантажень [2, 3, 6]. Доведено, що результативність у швидкісних, силових, швидкісно-силових та ігрових видах спорту залежить від швидкісних процесів у нервовій системі спортсменів, тоді як результативність у видах спорту на витривалість – насамперед від сили (працездатності головного мозку) нервових процесів [1, 7]. Проте знання про взаємозв'язки типологічних властивостей основних нервових процесів, психомоторних функцій з особливостями занять різними видами

спорту недостатні, не задовольняють практичні вимоги фахівців. Подальше дослідження особливостей формування нейродинамічних функцій, індивідуально-типологічних властивостей основних нервових процесів спортсменів, у взаємозв'язку з успішністю спортивної діяльності, рівнем адаптації до довготривалих специфічних фізичних навантажень, має не лише теоретичний інтерес, але й практичне значення [8, 9, 10].

Гандбол – один з ігрових видів спорту, який належить до ситуаційних видів і відзначається високим рівнем травматизму. Натепер особливого значення набуває комплексне вивчення психологічних і психофізіологічних характеристик гандболісток, використання комплексного підходу при оцінці загальної та спеціальної підготовленості з урахуванням специфіки функціональних можливостей і психофізіологічного стану спортсменок у передзмагальному періоді для розробки практичних рекомендацій для підвищення ефективності їхньої змагальної діяльності.

Мета дослідження – порівняння стану психофізіологічних функцій гандболісток високої кваліфікації з різним стажем спортивного тренування (спеціальної підготовленості).

Об'єкт і методи досліджень. У дослідженні як обстежувані брали участь 34 спортсменки високого класу (кандидати в майстри спорту (КМС), майстри спорту

(МС)) віком 16–35 років, вид спорту – гандбол. Для визначення стану психофізіологічних функцій спортсменок використовували діагностичний комплекс "Діагност-1" [11]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою методів непараметричної статистики.

При проведенні комплексних біологічних досліджень за участю спортсменів відповідно до принципів біоетики дотримувалися розробленої в лабораторії теорії і методики спортивної підготовки і резервних можливостей спортсменів НДІ НУФВСУ "Програми комплексного біологічного дослідження особливостей функціональних можливостей спортсменів", а також законодавства України про охорону здоров'я та Гельсінської декларації 2000 р., директиви Європейського товариства 86/609 щодо участі людей в медико-біологічних дослідженнях [10]. Робота виконана у НДІ НУФВСУ відповідно до держбюджетної науково-дослідної теми "Технологія оцінки ризику травматизму спортсменів за електронейроміографічними і психофізіологічними показниками" (номер держреєстрації – 0119U000307) Міністерства освіти і науки України.

Результати та їхнє обговорення. До групи обстежених увійшли спортсменки, які займаються ігровим видом спорту, що входить до ситуаційних видів спорту та характеризується переважанням динамічної швидко-силової роботи, високою емоційністю та травматичністю. Зазначений вид спорту вимагає високої сили і рухливості нервових процесів, стійкості центральної нервової системи (ЦНС) до перешкод в умовах значної нервово-емоційної напруженості, творчих здібностей та особливих вимог до розумової працездатності, пам'яті та уваги [7]. Учені вважають, що особлива здатність до нестандартних ситуаційних навантажень притаманна спортсменам із холеричним і сангвінічним типом темпераменту [7].

Відповідно до мети у спортсменок досліджували властивості нервової системи (зокрема і функціональну рухливість нервових процесів (ФРНП) і силу нервових процесів (СНП)), ефективність сенсомоторної діяльності (визначали за часом мінімальної експозиції сигналів у режимі зворотного зв'язку), динамічність нервових процесів (визначали за часом виходу на мінімальну експозицію в режимі зворотного зв'язку), латентний період складної реакції вибору, точність і середнє відхилення у реакції на рухомий об'єкт (РРО). Спортсменки були розподілені на дві групи: I група – спортсменки старшої вікової групи, віком 19–35 років ($n = 19$) II група – спортсменки молодшої вікової групи, віком 16–19 років ($n = 15$). Спортивний стаж у гандболі в обстежених спортсменок теж був різним (табл. 1): до I групи потрапили досвідченіші спортсменки ($p < 0,001$).

За результатами проведених досліджень виділені групи гандболісток за тестом Манна – Уїтні значимо не відрізнялися за показниками ФРНП, ефективності сенсомоторної діяльності, динамічності нервових процесів,

латентним періодом складної реакції вибору та показниками точності РРО (див. табл. 1).

Встановлено відмінності між виділеними групами спортсменок за показниками СНП як у режимі зворотного зв'язку, так і в режимі нав'язаного ритму ($p < 0,05$, $p < 0,001$). Серед спортсменок молодшої вікової групи виявлено переважання респонденток із низькою і нижче середньої силою нервових процесів. У спортсменок старшої вікової групи виявлено превалювання респонденток із вищими показниками СНП (що відповідають середньому і нижче середнім значенням), а саме – у тесті "5 хвилини" та в режимі нав'язаного ритму, що свідчить про вищу сенсомоторну витривалість, вищу працездатність головного мозку під час тривалих сенсомоторних навантажень у спортсменок I групи, що узгоджується з відомими літературними даними [1].

Слід зауважити, що латентні періоди складної реакції вибору можуть розглядатися як додаткові показники сили і функціональної рухливості нервових процесів [11]. Хоча відмінності між групами спортсменок в цьому випадку не набули рівня значущості, можна помітити тенденцію до зменшення латентного періоду складної реакції вибору у спортсменок старшої вікової групи, що додатково може свідчити про розвиток сенсомоторної витривалості у спортсменок I групи порівняно із II групою (див. табл. 1).

Час виходу на мінімальну експозицію в режимі зворотного зв'язку, тобто час впрацювання, з ускладненням умов тестування збільшується у спортсменок обох груп, але у групі спортсменок старшої вікової групи ці зміни були менш суттєві, що може свідчити про певною мірою вищу динамічність нервових процесів у зазначеній групі (див. табл. 1).

Для досягнення високих результатів в ігрових видах спорту велику роль відіграє рухливість нервових процесів [1, 2]. Відомо, що для ФРНП коефіцієнт Хольцингера (що характеризує ступінь генетичної обумовленості) досить високий – 0,61–0,86 [1]. Відсутність відмінностей за показниками ФРНП між виділеними групами гандболісток дає змогу припустити, що саме ця властивість ЦНС була тією основною професійно-важливою якістю, за якою спортсменок відібрали в обидві команди. За отриманими результатами переважна більшість спортсменок в обох групах характеризувалася середньою функціональною рухливістю нервових процесів. Обстежені спортсменки молодшої вікової групи відповідали спортсменкам старшої вікової групи за рівнем ФРНП, що свідчить про високий рівень розвитку цієї властивості у спортсменок II групи (17–19 років, етап підготовки до вищих досягнень) та відповідність спортивного відбору і тренувального процесу основним вимогам цього виду спорту. Зазвичай ФРНП у спортсменів досягає свого максимального розвитку у 20–25 років [1], що дає підстави сподіватися на подальший розвиток цієї властивості в обстежених гандболісток.

Таблиця 1. Показники стану психофізіологічних функцій гандболісток із різним стажем спортивного тренування ($n = 34$), Me [25 %, 75 %]

Показники	I група, $n = 19$	II група, $n = 15$
Латентний період складної реакції вибору (двох сигналів з трьох), мс	438,83 [424,00; 487,29]	476,24 [433,17; 507,32]
Показник функціональної рухливості нервових процесів, Т1, с	71,00 [69,00; 73,00]	71,00 [68,00; 75,00]
Мінімальний час експозиції сигналів, мс	180,00 [140,00; 200,00]	160,00 [120,00; 200,00]
Час виходу на мінімальну експозицію, с	48,00 [35,00; 56,00]	48,00 [39,00; 54,00]
Показник сили нервових процесів (тест 5 хв), загальна кількість оброблених сигналів	597,00 [573,00; 635,00]	567,00 [529,00; 614,00]
Показник сили нервових процесів (тест 5 хв), кількість оброблених сигналів в інтервалі 150–180 с	63,00 [58,00; 66,00]*	58,00 [55,00; 62,00]
Показник сили нервових процесів (тест 5 хв), кількість оброблених сигналів в інтервалі 180–210 с	61,00 [58,00; 64,00]*	55,00 [52,00; 59,00]

Закінчення табл. 1

Показники	I група, n = 19	II група, n = 15
Показник функціональної рухливості нервових процесів (тест 5 хв), T2, с	67,62 [66,29; 71,19]	70,59 [66,36; 74,00]
Мінімальний час експозиції сигналів (тест 5 хв), мс	100,00 [80,00; 140,00]	120,00 [100,00; 160,00]
Час виходу на мінімальну експозицію (тест 5 хв), с	119,00 [57,00; 194,00]	145,00 [79,00; 267,00]
Показник функціональної рухливості нервових процесів (режим нав'язаного ритму), сигн./хв.	100,00 [90,00; 110,00]	85,00 [75,00; 100,00]
Показник сили нервових процесів (режим нав'язаного ритму), % помилок	17,89 [14,50; 19,25]	22,15 [17,21; 28,96]
Кількість помилок (режим нав'язаного ритму), швидкість пред'явлення і переробки подразників 40 сигн./хв	0,00 [0,00; 0,00]*	0,00 [0,00; 0,50]
Кількість помилок (режим нав'язаного ритму), швидкість пред'явлення і переробки подразників 80 сигн./хв	1,00 [0,00; 1,00]*	2,00 [0,50; 4,50]
Кількість помилок (режим нав'язаного ритму), швидкість пред'явлення і переробки подразників 90 сигн./хв	1,00 [1,00; 2,00]***	5,50 [3,00; 7,00]
Показник точності реакції на рухомий об'єкт, кількість точних влучень	15,00 [12,00; 16,00]	14,00 [12,00; 15,00]
Середнє відхилення в реакції на рухомий об'єкт, мс	20,70 [17,90; 24,60]	23,60 [19,60; 25,80]
Вік, роки	24,00 [21,00; 29,00] ***	18,00 [18,00; 19,00]
Спеціальний спортивний стаж (гандбол), роки	15,00 [10,00; 19,00]***	8,00 [7,00; 9,00]
Загальний спортивний стаж, роки	17,00 [11,00; 19,00] ***	8,00 [7,00; 9,00]

Примітки: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$ – значущі різниці між I і II групами за тестом Манна – Уїтні

Аналогічна ситуація склалася з показниками точності РРО (див. табл. 1): можна припустити, що спортсменки молодшої вікової групи за вимірюваними показниками функціональної рухливості нервових процесів і реакції на рухомий об'єкт досягли рівня гравчинь старшої вікової групи, тобто рівня максимальної реалізації індивідуальних можливостей відповідно до сучасної стратегії багаторічної спортивної підготовки [12].

Загалом, за психофізіологічними показниками спортсменки I групи продемонстрували вищі результати, деякі відмінності досягли рівня значущості. Удосконалення спеціальної підготовленості обстежених гандболісток було пов'язане, насамперед, із розвитком сенсомоторної витривалості, сили нервових процесів. Відомо, що основні властивості нервової системи генетично обумовлені, але розвиваються й удосконалюються як в онтогенезі [1, 13, 14, 15], так і в процесі спортивної діяльності [1, 2, 3, 8]. З огляду на це можна стверджувати, що гандбол загалом сприяє розвитку, удосконаленню індивідуально-типологічних властивостей центральної нервової системи, що цілком узгоджується з відомими літературними даними про вплив фізичних навантажень і занять різними видами спорту на формування та стан цих властивостей [1].

Виявлені відмінності індивідуально-типологічних властивостей вищих відділів центральної нервової системи у спортсменок із різним стажем спортивного тренування, тобто різним рівнем спеціальної підготовленості в гандболі, можуть мати прогностичну цінність і використовуватися для оптимізації спортивного удосконалення в зазначеному виді спорту.

Висновки:

- Вищий психофізіологічний статус за показниками сили нервових процесів (як у режимі зворотного зв'язку так і впродовж довготривалих сенсомоторних навантажень, у режимі нав'язаного ритму) продемонстрували спортсменки старшої вікової групи з більшим стажем спортивного тренування.

- За рівнем функціональної рухливості нервових процесів і точності реакції на рухомий об'єкт спортсменки старшої і молодшої вікових груп не відрізнялись. Зважаючи на це, можна припустити, що спортсменки з меншим стажем спортивного тренування за станом цих психофізіологічних функцій досягли рівня гравчинь старшої вікової групи, тобто рівня максимальної реалізації індивідуальних можливостей.

- Виявлені відмінності індивідуально-типологічних властивостей вищих відділів центральної нервової системи у спортсменок із різним стажем спортивного тренування, тобто різним рівнем спеціальної підготовленості в гандболі, можуть мати прогностичну цінність і використовуватися для оптимізації спортивного удосконалення в цьому виді спорту.

Список використаних джерел:

- Макаренко М. В. Онтогенез психофізіологічних функцій людини / М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб. – Черкаси : Вертикаль, 2011. – 255 с.
- Макаренко Н. Формирование свойств нейродинамических функций у спортсменов / Н. Макаренко, В. Лизогуб, А. Безкопильный // Наука в олимпийском спорте. – 2005. – № 2. – С. 80–85.
- Лысенко Е. Н. Влияние на проявление нейродинамических свойств спортсменов полового диморфизма и напряженной физической работы / Е. Н. Лысенко, О. А. Шинкарук // Наука и спорт: современные тенденции. – 2015. – Т. 6, № 1. – С. 11–18.
- Shynkaruk O. Assessment of psycho-physiological characteristics of the representatives of cyclic sports / O. Shynkaruk, O. Lysenko, S. Fedorchuk // European Psychiatry, Elsevier. – 2019. – V. 56. – S. 679–680.
- Теплов Б. М. Психология и психофизиология индивидуальных различий / Б. М. Теплов. – М. : Педагогика, 1999. – 200 с.
- Индивидуально-психологические характеристики учащейся молодежи, занимающейся разными видами спорта / С. В. Тукаев, Е. Н. Долгова, Т. В. Вашека и др. // Спортивная медицина и физическая реабилитация. – 2017. – № 1. – С. 64–71.
- Солодков А. С. Физиология человека. Общая. Спортивная. Возрастная : учеб. / А. С. Солодков, Е. Б. Сологуб. – М.: Терра-Спорт, Олимпия Пресс, 2001. – 520 с.
- Fedorchuk S. Neurodynamic properties and psychological characteristics of high qualification sportships with different sports trainings [Electronic source] / S. Fedorchuk, O. Lysenko, V. Romanyuk // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv – Problems of Physiological Functions Regulation. – 2018. – 24 (1). – P. 27–31. – Access mode : http://dx.doi.org/10.17721/2616_6410.2018.24.27-31.
- Психофизиологическое состояние спортсменов с разным уровнем личностной и ситуативной тревожности в сложнокоординационных видах спорта / С. В. Федорчук, С. В. Тукаев, Е. Н. Лысенко и др. // Спортивная медицина и физическая реабилитация. – 2017. – № 1. – С. 26–32.
- Медико-біологічне забезпечення підготовки спортсменів збірних команд України з олімпійських видів спорту / О. А. Шинкарук, О. М. Лисенко, Л. М. Гуніна та ін.; за заг. ред. О. А. Шинкарук. – К. : Олімпійська літра, 2009. – 144 с.
- Макаренко М. В. Методичні вказівки до практикуму з диференціальної психофізіології та фізіології вищої нервової діяльності людини / М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб, О. П. Безкопильный. – К. ; Черкаси : Вертикаль, 2014. – 102 с.
- Платонов В. Современная стратегия многолетней спортивной подготовки / В. Платонов, К. Сахновский, М. Озимек // Наука в олимпийском спорте. – 2003. – № 1. – С. 3–13.
- Лизогуб В. С. Онтогенез нейродинамических функций людини / В. С. Лизогуб, Д. М. Харченко, С. М. Хоменко та ін. // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48 (2). – С. 123–124.
- Куценко Т. В. Стан психофізіологічних функцій у дітей молодшого шкільного віку : автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.13 / Т. В. Куценко. – К., 2000. – 18 с.
- Психофізіологія : навч. посіб. / М. Ю. Макачук, Т. В. Куценко, В. І. Кравченко, С. А. Данилов. – К. : ООО "Интерсервис", 2011. – 329 с.

References:

1. Makarenko M. V., Lyzohub V. S. Ontohenez psikhofiziologichnykh funktsiy lyudyny [Ontogenesis of psychophysiological functions of a person]. Cherkasy : Vertykal, 2011. – 255 c.
2. Makarenko N., Lizogub V., Bezokopyl'nyy A. Formirovaniye svoystv neyrodinamicheskikh funktsiy u sportsmenov [Formation of the properties of neurodynamic functions in athletes]. Science in the Olympic sport. 2005; № 2: 80–85.
3. Lysenko Ye. N., Shynkaruk O. A. Vliyaniye na proyavleniye neyrodinamicheskikh svoystv sportsmenov polovogo dimorfizma i napryazhennoy fizicheskoy raboty [Influence on the manifestation of neurodynamic properties of athletes of sexual dimorphism and strenuous physical work]. Science and Sport: Modern Trends. 2015; T. 6, № 1: 11–18.
4. Shynkaruk O., Lysenko O., Fedorchuk S. Assessment of psychophysiological characteristics of the representatives of cyclic sports. – European Psychiatry, Elsevier. 2019; V.56: S. 679–680.
5. Teplov B. M. Psikhologiya i psikhofiziologiya individual'nykh razlichiy [Psychology and psychophysiology of individual differences]. – M.: Pedagogika, 1999. – 200 s.
6. Individual'no-psikhologicheskiye kharakteristiki uchashcheyasya molodezhi, zanimayushcheyasya raznymi vidami sporta [Individual and psychological characteristics of students studying different sports] / S. V. Tukaiev, Ye. N. Dolgova, T. V. Vasheka et. al. Sports medicine and physical rehabilitation. 2017; 1: 64–71.
7. Solodkov A. S., Sologub Ye. B. Fiziologiya cheloveka. Obshchaya. Sportivnaya. Vozrastnaya: Uchebnik [Human physiology. The total. Sports. Age: the Textbook]. M.: Terra-Sport, Olimpiya Press, 2001. – 520 s.
8. Fedorchuk S., Lysenko O., Romanyuk V. Neurodynamic properties and psychological characteristics of high qualification sportships with different sports trainings. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv – Problems of Physiological Functions Regulation. 2018; 24 (1): 27–31. URL : http://dx.doi.org/10.17721/2616_6410.2018.24.27-31.
9. Fedorchuk S. V., Tukayev C. V., Lysenko Ye. N. et. al. Psikhofiziologicheskoye sostoyaniye sportsmenov s raznym urovнем lichnostnoy i situativnoy trevozhnosti v slozhnokoordinatsionnykh vidakh sporta [Psychophysiological status of athletes with different levels of personal and situational anxiety in complex coordination sports]. Sports medicine and physical rehabilitation. 2017; № 1: 26–32.
10. Shynkaruk O. A., Lysenko O. M., Hunina L. M. et al. Medyko-biologichne zabezpechennya pidhotovky sportsmeniv zbirnykh komand Ukrayiny z olimpiys'kykh vydiv sportu [Medico-biological support of training of athletes of national teams of Ukraine on Olympic sports] / O. A. Shynkaruk (ed.). K.: Olimpiiska lit, 2009. 144 s.
11. Makarenko M. V., Lyzohub V. S., Bezokopyl'nyy O. P. Metodichni vkazivky do praktykumu z dyferentsial'noyi psikhofiziologiyi ta fiziologiyi vyshchoyi nervovoyi diyal'nosti lyudyny [Methodical instructions to the practical works on differential psychophysiology and physiology of higher human nervous activity]. K.: Cherkasy : Vertykal, 2014. – 102 s.
12. Platonov V., Sakhnovskiy K., Ozimek M. Sovremennaya strategiya mnogoletney sportivnoy podgotovki [Modern strategy of long-term sports training]. Science in Olympic sports. 2003; № 1: 3–13.
13. Lyzohub V. S., Kharchenko D. M., Khomenko S. M. et al. Ontohenez neyrodinamichnykh funktsiy lyudyny [Ontogenesis of human neurodynamic functions]. Physiological journal. 2002; T. 48(2): 123–124.
14. Kutsenko T. V. Stan psikhofiziologichnykh funktsiy u ditei molodshoho shkilnoho viku [The state of primary school children's psychophysiological functions]. Extended abstract of candidate's thesis. K., 2000. 18 p.
15. Makarchuk M. Yu., Kutsenko T. V., Kravchenko V. I., Danylov S. A. Psikhofiziologiya: navchal'nyy posibnyk [Psychophysiology: textbook]. K.: OOO "Interservis", 2011. – 329 s.

Надійшла до редколегії 14.05.2020

Отримано виправлений варіант 16.06.2020

Підписано до друку 16.06.2020

Received in the editorial 14.05.2020

Received a revised version on 16.06.2020

Signed in the press on 16.06.2020

С. Федорчук, канд. биол. наук,

Е. Петрушевский, вице-президент Федерации гандбола Украины

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, Киев, Украина

СОСТОЯНИЕ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ У ГАНДБОЛИСТОК С РАЗНЫМ СТАЖЕМ СПОРТИВНОЙ ТРЕНИРОВКИ

Проведено сравнение состояния психофизиологических функций спортсменок-гандболисток высокой квалификации с разным стажем спортивной тренировки (уровнем специальной подготовленности). Для определения состояния психофизиологических функций спортсменок использовали диагностический комплекс "Диагност-1". В соответствии с целью исследования у спортсменок изучались свойства нервной системы (функциональная подвижность и сила нервных процессов), эффективность сенсомоторной деятельности и динамичность нервных процессов в режиме обратной связи, латентный период сложной реакции выбора, точность реакции на движущийся объект. Более высокий психофизиологический статус по показателям силы нервных процессов (как в режиме обратной связи так и при длительных сенсомоторных нагрузках в режиме навязанного ритма) продемонстрировали спортсменки старшей возрастной группы с большим стажем спортивной тренировки. По уровню функциональной подвижности нервных процессов и точности реакции на движущийся объект спортсменки старшей и младшей возрастных групп не отличались. Поэтому можно предположить, что спортсменки с меньшим стажем спортивной тренировки по состоянию данных психофизиологических функций достигли уровня спортсменок старшей возрастной группы, то есть уровня максимальной реализации индивидуальных возможностей. Выявленные различия индивидуально-типологических свойств высших отделов центральной нервной системы у спортсменок-гандболисток с различным спортивным стажем могут иметь прогностическую ценность и использоваться для оптимизации спортивного совершенствования в этом виде спорта.

Ключевые слова: спортсменки высокой квалификации, состояние психофизиологических функций, стаж спортивной тренировки, гандбол.

S. Fedorchuk, Ph. D.,

Ye. Petrushevskyi, Vice President of the Handball Federation of Ukraine

National University of Ukraine on Physical Education and Sport, Kyiv, Ukraine

THE STATE OF PSYCHOPHYSIOLOGICAL FUNCTIONS IN HANDBALL PLAYERS WITH DIFFERENT EXPERIENCE OF SPORTS TRAINING

The aim of the study was to compare the state of psychophysiological functions of highly qualified handball players with different experience of sports training (special training). To determine the state of psychophysiological functions of athletes diagnostic complex "Diagnostics-1" was used (MV Makarenko, VS Lyzohub). In accordance with the purpose of the work, we studied the properties of the nervous system (functional mobility and strength of nervous processes), the efficiency of sensorimotor activity and the dynamics of nervous processes in feedback, the latency of complex response reactions of choice, the accuracy of response to a moving object. Higher psychophysiological status in terms of the strength of nervous processes (both in the feedback mode and during long-term sensorimotor loads in the mode of imposed rhythm) was demonstrated by athletes of the older age group with more experience of sports training. Athletes of older and younger age groups did not differ in the level of functional mobility of nervous processes and accuracy of reaction to a moving object. Therefore, we can assume that athletes with less experience of sports training in the state of these psychophysiological functions have reached the level of athletes of the older age group, ie the level of maximum realization of individual capabilities. The identified differences in the individual-typological properties of the higher parts of the central nervous system in female handball players with different sports experience can have prognostic value and be used to optimize sports improvement in this sport.

Keywords: highly qualified sportswomen, state of psychophysiological functions, experience of sports training, handball.

АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ КАРРАГІНАН-ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ СУГЛОБУ ТА ПРОФІЛАКТИЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХОНДРОЇТИН СУЛЬФАТУ

Серед захворювань опорно-рухового апарату найбільш поширені хвороби суглобів. Важливим є проведення ефективною профілактики зазначених захворювань, щоб зупинити або пригальмувати розвиток патологічних змін в організмі. У зв'язку із цим набуває актуальності питання пошуку засобів для відновлення суглобів. У профілактиці та лікуванні захворювань суглобів має перспективи використання хондроїтин сульфату, який є природним компонентом міжклітинної речовини хряща.

Проаналізовано профілактичну дію хондроїтин сульфату на активність супероксиддисмутази та каталази у сироватці крові щурів за умов каррагінан-індукованого запалення суглобу.

Дослідження проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–240 г з дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Усіх тварин розділяли на чотири експериментальні групи. Перша група – контроль: тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl у задню праву кінцівку. Друга група – щурам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтина сульфату. Третя група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl у задню праву кінцівку та на 29 день моделювали запальний набряк кінцівки (тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 1-відсоткового розчину каррагінану у задню праву кінцівку). Четверта група – щурам щоденно, протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтина сульфату, після чого на 29 день моделювали запальний набряк кінцівки. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становила 40 особин. Супероксиддисмутази активність оцінювали за здатністю ферменту конкурувати із нітросинім тетразолієм за супероксидні радикали. Каталазу активність вимірювали за кількістю незруйнованого пероксиду водню у пробі. Уміст білка вимірювали за методом Лоурі.

Виявлено, що за умов каррагінан-індукованого запалення суглобу у сироватці крові порушується робота системи антиоксидантного захисту: активність супероксиддисмутази знижується в 1,5 раза, при цьому каталазна активність зростає в 2,1 раза порівняно з контролем. Профілактичне введення хондроїтин сульфату тваринам із каррагінан-індукованим запаленням суглобу сприяє відновленню показників антиоксидантної системи.

Ключові слова: запалення суглобу, хондроїтин сульфат, супероксиддисмутаза, каталаза, сироватка крові.

Вступ. Нині патології опорно-рухового апарату (ОРА) займають четверте місце за поширеністю після хвороб серцево-судинної системи, органів дихання та травлення. Серед захворювань ОРА провідні позиції посідають хвороби суглобів, які є однією з найбільш актуальних медико-соціальних світових проблем, що обумовлено їхнім значним впливом на працездатність, складність ранньої діагностики та лікування. За даними ВООЗ, з ними пов'язано 30 % випадків тимчасової непрацездатності і 10 % інвалідизації населення земної кулі. Значно збільшується захворюваність опорно-рухового апарату і в Україні, де щорічно реєструється до 350 тис. випадків первинних захворювань суглобів, з яких понад 60 % припадає на осіб працездатного віку [1, 2].

Оскільки захворювання опорно-рухового апарату, зокрема суглобів, мають прогресуючий характер, то необхідно своєчасно вживати заходів для того, щоб зупинити або пригальмувати розвиток патологічних змін в організмі. Важливим є проведення ефективної профілактики зазначених захворювань, особливо якщо спостерігається генетична схильність до розвитку хвороб суглобів, при професійній ймовірності перевантаження опорно-рухового апарату, а також у людей похилого віку.

У зв'язку із цим важливим питанням є пошук засобів для відновлення суглобів. Натепер встановлено, що дистрофічні зміни хрящової тканини пов'язані зі зниженням вмісту хондроїтин сульфату, який є природним компонентом міжклітинної речовини хряща поряд із гіалуроновою кислотою та глюкозаміном сульфатом [3, 4]. З огляду на це дослідження препаратів, основу яких утворює хондроїтин сульфат, є перспективним у профілактиці та лікуванні захворювань суглобів.

Розвиток значної частини захворювань суглобів відбувається внаслідок формування запальних процесів, які виявляються як місцево у самому суглобі, так і системно – в організмі загалом. Нині відомо, що важливу роль

у розвитку запалення відіграє порушення окисно-антиоксидантної рівноваги у бік активації вільнорадикальних процесів. Важливою ланкою в цій системі є стан ферментів системи антиоксидантного захисту [5].

У зв'язку із цим мета нашої роботи – дослідити профілактичну дію хондроїтин сульфату на активність супероксиддисмутази та каталази у сироватці крові щурів за умов каррагінан-індукованого запалення суглобу.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–240 г із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води.

Усіх тварин розділили на чотири експериментальні групи. Перша група – контроль: тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl у задню праву кінцівку. Друга група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтин сульфат (препарат "Драстоп", "WORLD MEDICINE", GREAT BRITAIN). Третя група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl у задню праву кінцівку та на 29 день моделювали запальний набряк кінцівки: тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 1-відсоткового розчину каррагінану в задню праву кінцівку [6]. Четверта група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтин сульфату, після чого щурам субплантарно вводили 0,1 мл 1-відсоткового розчину каррагінану в задню праву кінцівку. Тварин умертвляли через 3 год після ін'єкції розчину каррагінану згідно із протоколом етичного

комітету, після чого швидко робили забір крові для подальших досліджень. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становила 40 особин.

Супероксиддисмутазну активність оцінювали за здатністю ферменту конкурувати із нітросинім тетразолієм за супероксидні радикали [7]. Каталазну активність вимірювали за кількістю незруйнованого пероксиду водню у пробі, що при взаємодії із солями молібдену утворює стійкий забарвлений комплекс [8]. Визначення концентрації білка здійснювали за методом Лоурі, що базується на утворенні забарвлених продуктів ароматичних амінокислот із реактивом Фоліну у поєднанні з біуретовою реакцією на пептидні зв'язки [9]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Результати та їхнє обговорення. Важливим фактором, від якого залежить концентрація вільних радикалів в організмі, є кооперативна робота антирадикальних ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази та каталази, що регулюють рівень активних форм

кисню. Супероксиддисмутаза каталізує дисмутацію супероксидного радикалу кисню в пероксид водню, а каталаза каталізує процес розщеплення пероксиду водню до води. Послідовна робота цього ферментативного ланцюга антиоксидантної системи забезпечує підтримку стаціонарного рівня концентрації вільних радикалів.

При проведенні наших досліджень встановлено, що в сироватці крові щурів контрольної групи супероксиддисмутазна активність становила $0,22 \pm 0,02$ ум. од. $\times$ $\text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$ (рис. 1). При каррагінан-індукованому запаленні суглобу супероксиддисмутазна активність знижувалася в 1,5 раза порівняно з контролем. У групі з каррагінан-індукованим запаленням суглобу, що отримувала тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату супероксиддисмутазна активність частково відновлювалася і була більшою в 1,2 раза порівняно із групою тварин з експериментальним запаленням. Тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату контрольним щурам не призводило до статистично значимих змін супероксиддисмутасної активності в сироватці крові (рис. 1).

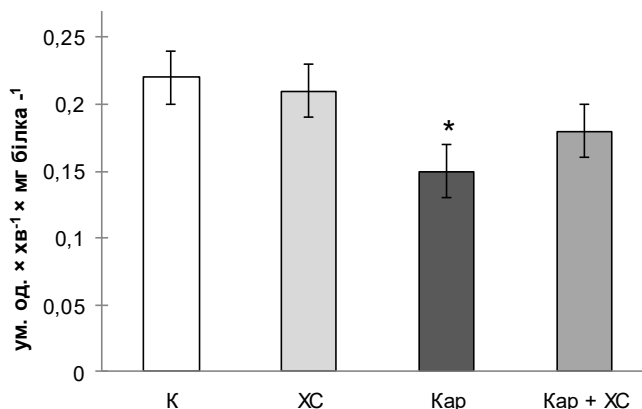


Рис. 1. Супероксиддисмутазна активність у сироватці крові щурів при каррагінан-індукованому запаленні та профілактичному введенні хондроїтин сульфату

(К – контроль, XC – хондроїтин сульфат, Кар – каррагінан, Кар + XC – каррагінан + хондроїтин сульфат), ($M \pm m$, $n = 10$)

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю

Встановлено, що у сироватці крові щурів контрольної групи каталазна активність становила $0,75 \pm 0,07$ нмоль $\times$ $\text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$ (рис. 2). При каррагінан-індукованому запаленні суглобу каталазна активність зростала в 2,1 раза порівняно з контрольною групою. У групі тварин із каррагінан-індукованим запаленням, що отримувала тривале

профілактичне введення хондроїтин сульфату, каталазна активність знижувалася в 1,3 раза порівняно із групою щурів з експериментальним запаленням суглобу. Тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату контрольним тваринам не призводило до статистично значимих змін каталазної активності у сироватці крові (рис. 2).

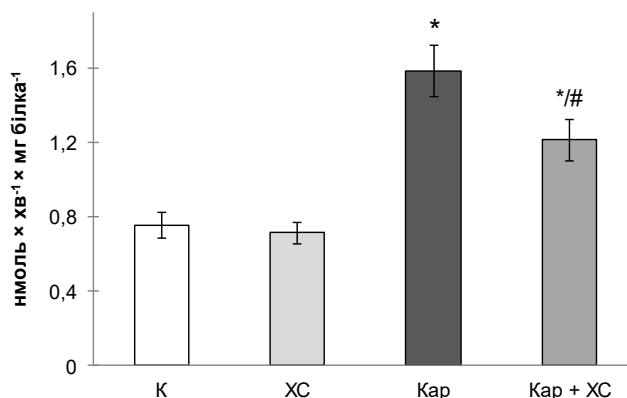


Рис. 2. Каталазна активність у сироватці крові щурів при каррагінан-індукованому запаленні та профілактичного введення хондроїтин сульфату

(К – контроль, XC – хондроїтин сульфат, Кар – каррагінан, Кар + XC – каррагінан + хондроїтин сульфат), ($M \pm m$, $n = 10$)

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю; # – $p < 0,05$ відносно групи тварин, яким вводили каррагінан.

Отже, з'ясовано, що у крові щурів за умов гострого запалення суглобу, викликаного розчином каррагінану, спостерігається порушення роботи антирадикальних ферментів, що свідчить про підвищення генерації активних форм кисню та відповідно інтенсифікацію вільнорадикальних процесів [10].

При профілактичному введенні хондроїтин сульфату у крові щурів активність супероксиддисмутази та каталази частково відновлюється порівняно із групою тварин із гострим запаленням суглобу. Отримані дані свідчать про корегувальний ефект досліджуваного хондропротектора на стан антирадикальних ферментів у крові щурів.

Встановлений корегуючий ефект пов'язаний як з антизапальними, так й антиоксидантними властивостями досліджуваного хондропротекторного препарату. У ряді досліджень *in vitro* та *in vivo* показано, що хондроїтин сульфат може зменшити біосинтез різних прозапальних молекул у клітинах, що стимулюються запаленням [11, 12].

Крім того, молекула хондроїтин сульфату володіє власною антиоксидантною активністю. Наприклад, у багатьох дослідженнях італійських учених [13, 14] показано здатність хондроїтин сульфату хелатувати іони переходних металів (залізо, мідь тощо), що беруть безпосередню участь в ініціюванні реакцій Фентона та Хабера – Вейса. Це призводить до зменшення утворення вільних радикалів. Хелатування відбувається за рахунок зв'язування металів із карбоксильною групою залишку глюкуронової кислоти та сульфатованою групою в положенні 4- або 6-амінокислотного залишку у протилежному боці карбонової групи молекули хондроїтин сульфату [15].

Висновки. Згідно з отриманими результатами експериментальних досліджень показано, що при карраганін-індукованому запаленні суглобу в сироватці крові щурів порушується робота антирадикальних ферментів: супероксиддисмутази та каталази, що свідчить про зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у прооксидантний бік. Тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату щурам з експериментальним запаленням суглобу сприяє відновленню активності досліджуваних ферментів у сироватці крові тварин.

Список використаних джерел:

- Hunter D. J. Osteoarthritis / D. J. Hunter, S. Bierma-Zeinstra // Lancet. – 2019. – Apr. 27; 393(10182). – P. 1745–1759.
- O'Neill T. W. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of osteoarthritis / T. W. O'Neill, P. S. McCabe, J. McBeth // Best Pract Res Clin Rheumatol. – 2018. – Apr.; 32(2). – P. 312–326.
- Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis / M. Bishnoi, A. Jain, P. Hurkat, S. K. Jain // Glycoconj. J. – 2016. – Vol. 33, № 5. – P. 693–705.
- Volpi N. Chondroitin Sulfate Safety and Quality / N. Volpi // Molecules. – 2019. – Apr. 12; 24(8). – P. 1447.
- Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis / S. Drevet, G. Gavazzi, L. Grange et al. // Exp. Gerontol. – 2018. – Vol. 111. – P. 107–117.
- Morris C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse / C. J. Morris // Methods Mol. Biol. – 2003. – Vol. 225. – P. 115–121.
- Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чабан, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
- Метод определения активности каталазы / М.А. Корольюк, Л. К. Иванова, И. Г. Майорова, В. А. Токарева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1988. – № (4). – С. 44–47.
- Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.

Л. Кот, канд. биол. наук,
Е. Юрченко, студ.,
А. Шепелева, студ.,
Е. Дворченко, д-р биол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ КАРРАГИНАН-ИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ СУСТАВА И ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ХОНДРОИТИН СУЛЬФАТА

Среди заболеваний опорно-двигательного аппарата ведущее место занимают болезни суставов. Важным является проведение эффективной профилактики данных заболеваний, чтобы остановить или притормозить развитие патологических изменений в организме. В связи с этим приобретает актуальность поиск средств для восстановления суставов. В профилактике и лечении заболеваний суставов имеет перспективу использование хондроитин сульфата, который является естественным компонентом межклеточного вещества хряща.

10. Вільнорадикальні процеси у сироватці крові щурів за умов карраганін-індукованого запалення задньої кінцівки та тривалого профілактичного введення хондроїтин сульфату / О. Блохіна, А. Драничина, Л. Кот та ін. // Вісник Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Сер.: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2018. – Вип. 1(25). – С. 6–9.

11. Canas N. Chondroitinsulfate inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in rat astrocytes by preventing nuclear factor kappa B activation / N. Canas, R. Gorina, A. M. Planas, J. Verges, E. Montell, A. G. Garcia & M. G. Lopez // Neuroscience. – 2010. – V. 167. – P. 872–879.

12. Chondroitin sulphate inhibits NF-κB activity induced by interaction of pathogenic and damage associated molecules / T. V. Stabler, Z. Huang, E. Montell et al. // Osteoarthritis Cartilage. – 2017. – Vol. 25(1). – P. 166–174.

13. Chondroitin sulphate: antioxidant properties and beneficial effects / G. M. Campo, A. Avenoso, S. Campo et al. // Mini Rev. Med. Chem. – 2006. – Vol. 6(12). – P. 1311–1320.

14. Rani A. Physicochemical, antioxidant and biocompatible properties of chondroitinsulphate isolated from chicken keel bone for potential biomedical applications / A. Rani, R. Baruah, A. Goyal // Carbohydr Polym. – 2017. – Mar 1; 159. – P. 11–19.

15. Effect of the chelation of metal cation on the antioxidant activity of chondroitin sulfates / K. Ajsaka, Y. Oyanagi, T. Miyazaki, Y. Suzuki // Biosci Biotechnol Biochem. – 2016. – Vol. 80(6). – P. 1179–1185.

References

- Hunter D. J., Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. Lancet. 2019 Apr. 27; 393(10182): 1745–1759.
- O'Neill T. W., McCabe P. S., McBeth J. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of osteoarthritis. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2018 Apr.; 32(2): 312–326.
- Bishnoi M., Jain A., Hurkat P., Jain S. K. Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis. Glycoconj. J. 2016. Vol. 33, № 5. P. 693–705.
- Volpi N. Chondroitin Sulfate Safety and Quality. Molecules. 2019 Apr. 12;24(8):1447.
- Drevet S., Gavazzi G., Grange L. et al. Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis. Exp. Gerontol. 2018. Vol. 111. P. 107–117.
- Morris C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. Methods Mol. Biol. 2003. Vol. 225. P. 115–121.
- Chevari S., Chaba I., Sekey Y. Rol superoksidismutazy i v oksidativnykh protsessakh kletki i metod opredeleniya ee v biologicheskikh materialakh. Lab. delo. 1985. # 11. S. 678–681.
- Korolyuk M. A., Ivanova L. K., Mayorova I. G., Tokareva V. A. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 1988; (4): 44–47.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–275.
- Blokhina O., Dranytsyna A., Kot L. et al. Vilnoradykalni protsesy u syrovatskiy kroviv shchuriv za umov karrahinan-indukovanoho zapalennia zadnoi kintsivky ta tryvaloho profilaktychnoho vvedennia khondroityna sulfatu. Visnyk Kyivskoho nats. un-tu imeni Tarasa Shevchenka, Ser.: Problemy rehulatsii fiziologichnykh funktsii. 2018. Vyp. 1 (25). S. 6–9.
- Canas N., Gorina R., Planas A. M. et al. Chondroitin sulfate _inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in rat astrocytes by preventing nuclear factor kappa B activation. Neuroscience. 2010; 167: 872–879.
- Stabler T. V., Huang Z., Montell E. et al. Chondroitin sulphate inhibits NF-κB activity induced by interaction of pathogenic and damage associated molecules. Osteoarthritis Cartilage. 2017. Vol. 25 (1). P. 166–174.
- Campo G. M., Avenoso A., Campo S. et al. Chondroitin sulphate: antioxidant properties and beneficial effects. Mini Rev. Med. Chem. 2006. Vol. 6 (12). P. 1311–1320.
- Rani A., Baruah R., Goyal A. Physicochemical, antioxidant and biocompatible properties of chondroitinsulphate isolated from chicken keel bone for potential biomedical applications. Carbohydr Polym. 2017 Mar. 1; 159: 11–19.
- Ajsaka K., Oyanagi Y., Miyazaki T., Suzuki Y. Effect of the chelation of metal cation on the antioxidant activity of chondroitin sulfates. Biosci Biotechnol Biochem. 2016. Vol. 80 (6). P. 1179–1185.

Надійшла до редколегії 14.05.2020
Отримано виправлений варіант 16.06.2020
Підписано до друку 16.06.2020

Received in the editorial 14.05.2020
Received a revised version on 16.06.2020
Signed in the press on 16.06.2020

Проаналізовано профілактичне действие хондроитин сульфата на активність супероксиддисмутази і каталази в сыворотке крови крыс в условиях каррагинан-індуцированного воспаления сустава.

Исследования проведены на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180–240 г с соблюдением общих этических принципов экспериментов на животных. Всех животных разделили на четыре экспериментальные группы. Первая группа – контроль: животным субплантарно вводили 0,1 мл 0,9-процентного раствора NaCl в заднюю правую конечность. Вторая группа – крысам ежедневно в течение 28 суток внутримышечно вводили терапевтическую дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроитин сульфата. Третья группа – животным ежедневно в течение 28 суток внутримышечно вводили 0,1 мл 0,9-процентного раствора NaCl в заднюю правую конечность и на 29 день моделировали воспалительный отек конечности (животным субплантарно вводили 0,1 мл 1-процентный раствор каррагинан в заднюю правую конечность). Четвертая группа – крысам ежедневно в течение 28 дней внутримышечно вводили терапевтическую дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроитин сульфата, после чего на 29 день моделировали воспалительный отек конечности. Общее количество животных, вовлеченных в экспериментальное исследование, составила 40 особей. Супероксиддисмутазную активность оценивали по способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные радикалы. Каталазную активность измеряли по количеству неразрушенной перекиси водорода в пробе. Содержание белка измеряли по методу Лоури.

Выявлено, что в условиях каррагинан-индуцированного воспаления сустава в сыворотке крови нарушается работа системы антиоксидантной защиты: активность супероксиддисмутази снижается в 1,5 раза, при этом каталазная активность возрастает в 2,1 раза по сравнению с контролем. Профилактическое введение хондроитин сульфата животным с каррагинан-индуцированным воспалением сустава способствует восстановлению показателей антиоксидантной системы.

Ключевые слова: воспаление сустава, хондроитин сульфат, супероксиддисмутаза, каталаза, сыворотка крови.

L. Kot, Ph. D.,
L. Yurchenko, stud. Ph. D.,
A. Shepeleva, stud. Ph. D.,
K. Dvorshchenko, Dr. Sc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN SERUM OF RATS UNDER CONDITIONS OF CARRAGEENAN-INDUCED JOINT INFLAMMATION AND PROPHYLACTIC ADMINISTRATION OF CHONDROITIN SULFATE

Among the diseases of the musculoskeletal system, the leading place is occupied by joint diseases. It is important to conduct effective prevention of these diseases in order to stop or slow down the development of pathological changes in the body. In this regard, an important issue is the search for means to restore joints. Promising in the prevention and treatment of joint diseases is the use of chondroitin sulfate, which is a natural component of the intercellular substance of cartilage.

The aim of this work was to investigate the prophylactic effect of chondroitin sulfate on the activity of superoxide dismutase and catalase in rat blood serum under conditions of carrageenan-induced joint inflammation.

The studies were conducted on white non-linear, sexually mature male rats weighing 180–240 g, in compliance with the general ethical principles of experiments on animals. All animals were divided into four experimental groups. The first group – control: animals sub-planar injected 0.1 ml of 0.9 % NaCl solution into the posterior right limb. The second group – animals received a therapeutic dose of 3 mg × kg⁻¹ chondroitin sulfate daily for 28 days daily. The third group – animals were infused intramuscularly with 0.1 ml of 0.9 % NaCl solution in the posterior right limb for 28 days and for 29 days inflammatory edema of the limb was stimulated (animals were sub-planar injected with 0.1 ml of 1 % carrageenan solution to the posterior right limb). The fourth group – for 28 days rats were daily intramuscularly injected with a therapeutic dose of 3 mg × kg⁻¹ chondroitin sulfate, after which on 29th day, inflammatory edema of the limb was stimulated. The total number of animals involved in experimental studies was 40 individuals. Superoxide dismutase activity was assessed by the ability of the enzyme to compete with nitro blue tetrazolium for superoxide radicals. Catalase activity was measured by the amount of intact hydrogen peroxide in the sample. Protein content was measured by the Lowry method.

It was revealed that under conditions of carrageenan-induced joint inflammation in the blood serum, the antioxidant defense system is disrupted: the activity of superoxide dismutase decreases by 1.5 times, while the catalase activity increases by 2.1 times compared to the control. Prophylactic administration of chondroitin sulfate to animals with carrageenan-induced joint inflammation contributes to the restoration of the antioxidant system.

Keywords: joint inflammation, chondroitin sulfate, superoxide dismutase, catalase, blood serum.

УДК 593.121
DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.49-54

М. Пацюк, канд. біол. наук
Житомирський державний університет імені Івана Франка, Житомир, Україна

ВИДОВИЙ СКЛАД ГОЛИХ АМЕБ В ЕПІФІТНИХ МОХАХ ЖИТОМИРСЬКОЇ ОБЛАСТІ

В епіфітних біотопах Житомирської обл. ідентифіковано 16 видів голих амеб. Це види: *Vahlkampfia* sp. (1), *Saccamoeba stagnicola* Page, 1974, *Saccamoeba* sp. (1), *Cashia limacoides* Page, 1974, *Korotnevella* sp. (1), *Vexillifera* sp., *Ripella platypodia* Smirnov, Nassonova, Chao et Cavalier-Smith, 2007, *Ripella* sp., *Cochliopodium* sp. (1), *Mayorella cantabrigiensis* Page, 1983, *Mayorella* sp., *Thecamoeba striata* Penard, 1890, *Thecamoeba* sp., *Stenamoeba stenopodia* (Page, 1969) Smirnov et al., 2007, *Acanthamoeba* sp. (1), *Stygamoeba polymorpha* Sawyer, 1975. Найбільш поширеними виявились амеби *Cochliopodium* sp., *Acanthamoeba* sp. (1), *S. stenopodia*, *Vexillifera* sp., найменш поширеними – *T. striata*, *R. platypodia*, *Mayorella* sp., *S. stagnicola*, *Saccamoeba* sp. (1), *S. polymorpha*. На видовий склад голих амеб в епіфітних біотопах Житомирської обл. впливає вологість субстрату: зі зменшенням вологості знижується видове багатство амеб. Встановлено зв'язок видового складу амеб із висотою над поверхнею землі: зі збільшенням висоти над землею зменшується видовий склад голих амеб. На рівнях 0–1,5 м зустрічаються найбільш поширені амеби (*S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1)), на висоті 1–1,5 м зникає більшість амеб і з'являється найменш поширений вид *Thecamoeba* sp. У вологих мохах переважають види *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (2), *R. platypodia*, *S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1), тоді як *C. limacoides*, *Korotnevella* sp. (1), *S. polymorpha* зустрічались лише в сухих епіфітах регіону дослідження. Найбільш гетерогенні комплекси із найвологіших біотопів, тоді як із сухих – досить однорідні. Усі ідентифіковані нами види можна вважати еврибіонтами, що зустрічаються як у мохах, так й у водних та ґрунтових біотопах.

Ключові слова: голі амеби, епіфіти, ґрунти, вологість, висота, Житомирська обл.

Вступ. Епіфіти – організми, що ростуть на інших рослинах і при цьому не отримують від них жодних поживних речовин. До епіфітів належать мохоподібні, лишай-

ники, представники Бромелієвих, їх можна знайти практично в усіх таксономічних групах рослин [1]. Епіфіти є середовищем існування для багатьох організмів [2, 8].

Дослідження видового складу безхребетних тварин в епіфітних біотопах спрямовані на з'ясування особливостей їхнього поширення від комлі до вершини дерева, ролі гетерогенності, розміру та вологості епіфітних біотопів у їхньому формуванні [26, 10, 11]. У деяких роботах зазначено, що подібність видового складу безхребетних тварин між епіфітними та наземними біотопами не перевищує 40 % [11, 31, 32].

Видові комплекси безхребетних, що населяють епіфітні біотопи, є частиною кронних харчових ланцюгів [25, 6]. Унаслідок вирубок лісів зменшується кількість епіфітних мохів, що призводить до зменшення мікро- та макробезхребетних, які мешкають на стовбурах дерев і птахів, що ними харчуються [12, 13].

Відома так звана "біотична погранична зона" ("the last biotic frontier" [7]), у якій показана велика різноманітність видів безхребетних у епіфітних й епілітних біотопах. Що стосується найпростіших, то існують лише фрагментарні дані щодо їхнього поширення в таких біотопах. Вони є першою ланкою в харчовому ланцюзі [3, 4, 5, 30]. Відомості про поширення аміб у епіфітних біотопах відсутні. З огляду на це, мета нашої роботи – з'ясувати поширення голих аміб в епіфітних мохах Житомирської обл.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження видового складу голих аміб в епіфітних мохах проводили в 2019 р. в межах лісових зон Житомирської обл. (мішані ліси Житомирського та Новоград-Волинського р-нів, хвойний ліс Олевського р-ну). Усього відібрано та проаналізовано 57 проб.

Для виявлення видового складу голих аміб 5 г досліджуваного субстрату поміщали в закрити колбу на 100 мл, заливали довільною кількістю води та залишали на 2–3 год. Згодом суміш струшували впродовж 10 хв. 5 мл відстояного розчину рівномірно розподіляли в чашці Петрі з агар-агаром. Розмноження аміб і підтримання їх у культурах здійснювали за методикою Пейджа [14, 15] в лабораторних умовах за температури + 20 °C.

Ідентифікація аміб проходила у два етапи – спочатку проводили визначення їхнього морфотипу за допомогою спеціальних праць [27–29], після цього (якщо дозволяли дані) використовували таксономічний визначник Пейджа [14, 15].

Спостереження за найпростішими та виготовлення мікрофотографій відбувалося за допомогою світлового мікроскопу Axio Imager M1 (Центр колективного користування науковими приладами "Animalia" Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена) із застосуванням диференційного інтерференційного контрасту.

Оскільки сучасні методи не дозволяють отримати дані щодо чисельності аміб, тому ми аналізували частоту трапляння аміб в епіфітних біотопах Житомирської обл. (частка проб, у яких були виявлені види, від загальної кількості проб).

Для порівняння списків голих аміб використано індекс Раупа – Кріка, побудову дендрограми та визначення її стабільності за допомогою Bootstrap-аналізу проводили з використанням програми PAST 1.18 [9].

Результати та їхнє обговорення. У регіоні дослідження в епіфітних біотопах ідентифіковано 16 видів голих аміб: *Vahlkampfia* sp. (1), *Saccamoeba stagnicola* Page, 1974, *Saccamoeba* sp. (1), *Cashia limacoides* Page, 1974, *Korotnevella* sp. (1), *Vexillifera* sp., *Ripella platypodia* Smirnov, Nassonova, Chao et Cavalier-Smith, 2007, *Ripella* sp., *Cochliopodium* sp. (1), *Mayorella cantabrigiensis* Page, 1983, *Mayorella* sp., *Thecamoeba striata* Penard, 1890, *Thecamoeba* sp., *Stenamoeba stenopodia* (Page, 1969) Smirnov et al., 2007, *Acanthamoeba* sp. (1), *Stygamoeba polymorpha* Sawyer, 1975.

За частотою трапляння найпоширенішими виявилися види *Cochliopodium* sp. (78 %), *Acanthamoeba* sp. (1) (78 %), *S. stenopodia* (67 %), *Vexillifera* sp. (56 %), найменш поширеними – *T. striata* (22 %), *R. platypodia* (22 %), *Mayorella* sp. (22 %), *S. stagnicola* (22 %), *Saccamoeba* sp. (1) (11 %), *S. polymorpha* (11 %). Інші п'ять видів аміб за частотою трапляння займають середнє положення (рис. 1).

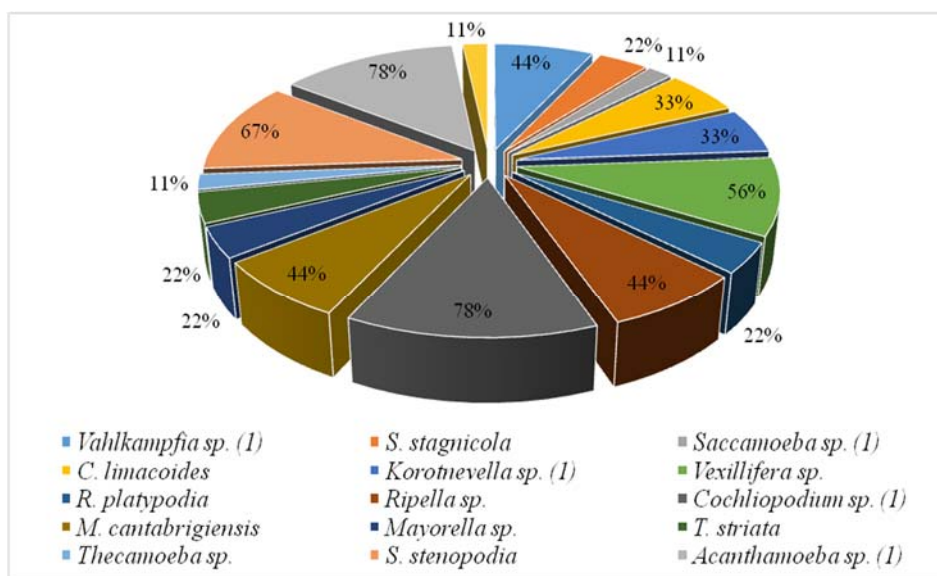


Рис. 1. Частота трапляння голих аміб в епіфітних мохах Житомирської обл.

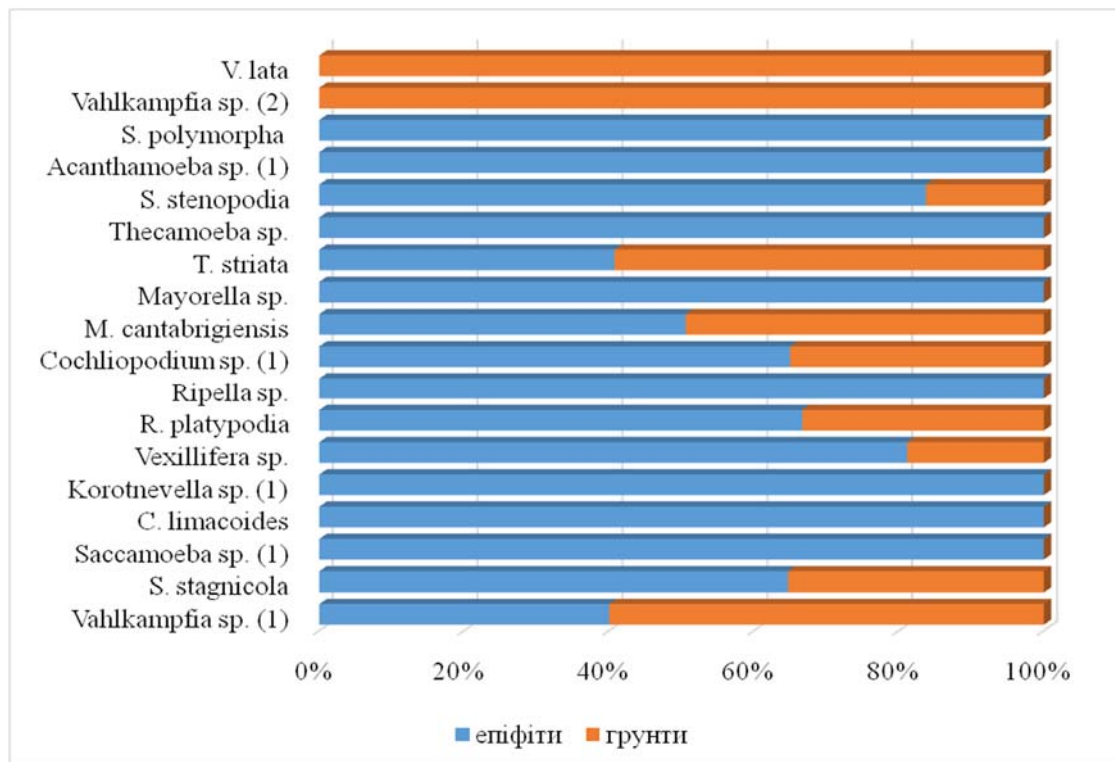


Рис. 2. Частота трапляння голих амеб в епіфітних мохах та ґрунтах регіонів дослідження

Найбільша кількість видів характерна для епіфітів Новоград-Волинського (12 видів) та Житомирського (11 видів) районів, найменша – для епіфітів Олевського р-ну (8 видів) (табл. 1).

За нашими дослідженнями на характеристики видових комплексів голих амеб в епіфітних біотопах Житомирської обл. впливає висота над поверхнею землі. Зі збільшенням висоти над землею зменшується видовий склад амеб (табл. 1).

Таблиця 1. Видовий склад голих амеб в епіфітних біотопах Житомирської обл.

№ п/п	Види амеб	Регіони досліджень								
		Житомирський р-н			Олевський р-н			Новоград-Волинський р-н		
		0 м	0–1 м	1–1,5 м	0 м	0–1 м	1–1,5 м	0 м	0–1 м	1–1,5 м
1.	<i>Vahlkampfia</i> sp. (1)	+	+	–	+	–	–	+	–	–
2.	<i>S. stagnicola</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	–
3.	<i>Saccamoeba</i> sp. (1)	–	–	–	+	–	–	–	–	–
4.	<i>C. limacoides</i>	+	+	–	–	–	–	+	–	–
5.	<i>Korotnevella</i> sp. (1)	+	–	–	–	–	–	+	+	–
6.	<i>Vexillifera</i> sp.	+	+	–	+	–	–	+	+	–
7.	<i>R. platypodia</i>	+	–	–	–	–	–	+	–	–
8.	<i>Ripella</i> sp.	–	–	–	+	+	–	+	+	–
9.	<i>Cochliopodium</i> sp. (1)	+	+	+	+	+	+	–	+	–
10.	<i>M. cantabrigiensis</i>	+	+	+	–	–	–	+	–	–
11.	<i>Mayorella</i> sp.	–	–	–	+	+	–	–	–	–
12.	<i>T. striata</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	–
13.	<i>Thecamoeba</i> sp.	–	–	+	–	–	–	–	–	–
14.	<i>S. stenopodia</i>	+	+	–	+	–	–	+	+	+
15.	<i>Acanthamoeba</i> sp. (1)	+	+	+	+	+	+	+	–	–
16.	<i>S. polymorpha</i>	–	+	–	–	–	–	–	–	–
Усього видів		9	8	4	8	4	2	11	7	1
		11			8			12		

На всіх рівнях зустрічаються найбільш поширені види *S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1), що становить 25 % від усіх ідентифікованих нами видів. У прикомле- вій частині (до 1 м) зустрічаються *Vahlkampfia* sp. (1), *C. limacoides*, *T. striata*, *Mayorella* sp., *Korotnevella* sp. (1),

S. stagnicola, *Ripella* sp., *Vexillifera* sp., *R. platypodia*, *S. polymorpha* (63 % від усіх знайдених видів). Найсут- тєвіші зміни відбуваються на висоті 1–1,5 м, де зникає більшість видів амеб (рис. 3; табл. 1) і з'являється най- менш поширений вид *Thecamoeba* sp.

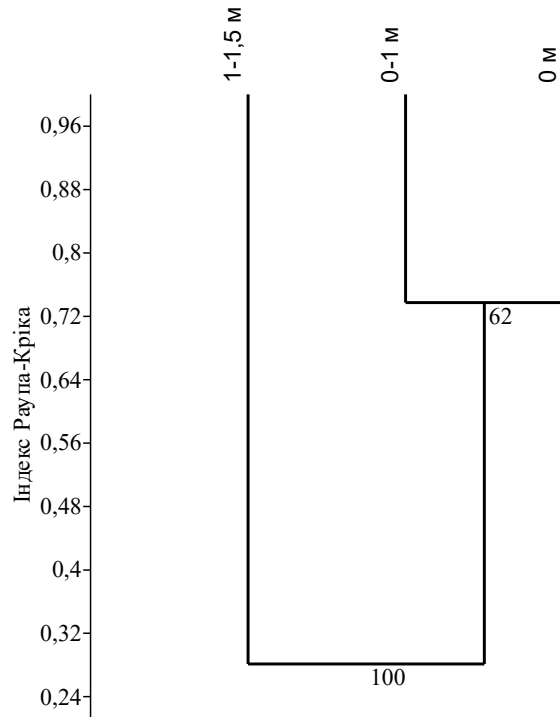


Рис. 3. Дендрограма видового складу голих амєб за результатами кластерного аналізу з епіфітних мохів на різній висоті над поверхнею землі в лісах Житомирської обл.

Ми з'ясували вплив вологості на видовий склад амєб. Дослідження проводили у мішаному лісі Житомирського р-ну. На модельній ділянці у напрямку від заболоченої водойми вглиб лісу поступово зменшується вологість мохів. Моховий покрив порівняно незмінний (*Sphagnum* sp.). Ми аналізували закономірності зміни складу амєб при переході від зануреного у воду моху до мохів, що ростуть

на комлях дерев (до 1 м над рівнем землі). Вологість зануреного у воду моху становить 98 %, сухого моху – 10 %. Зі зменшенням вологості знижується видове багатство амєб. За видовим складом найбільш гетерогенні комплекси з найвологіших біотопів (Б1–Б5), тоді як із сухих (Б6–Б10) – досить однорідні (рис. 4).

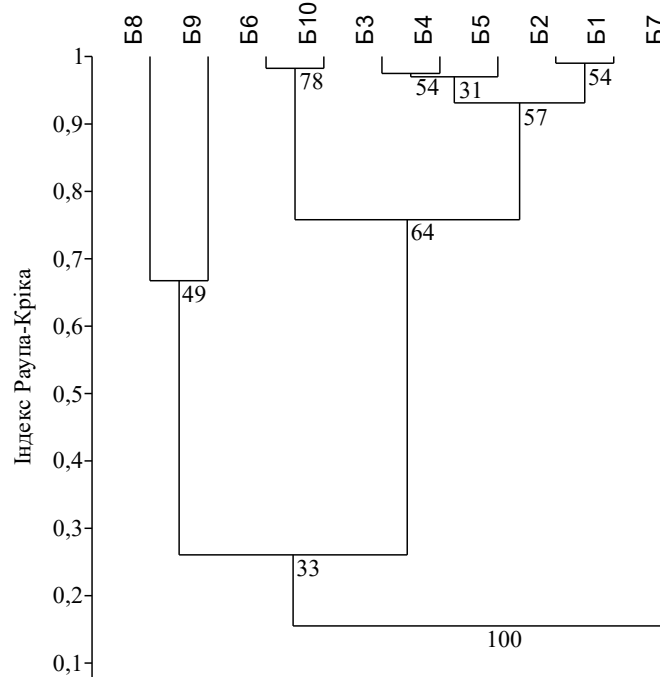


Рис. 4. Дендрограма видового складу голих амєб за результатами кластерного аналізу з епіфітних мохів уздовж градієнту вологості в Житомирській обл. (Б1–Б10 – біотопи, що розміщені по мірі зменшення вологості)

У вологих мохах переважають види *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (2), *R. platypodia*, *S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1), тоді як *C. limacoides*, *Korotnevelia* sp. (1), *S. polymorpha* зустрічались лише в сухих епіфітах регіону дослідження. Усі інші види амеб зустрічались як у вологих, так і в сухих біотопах.

Ми спробували порівняти отриманий під час роботи видовий склад амеб, що формується в мохових біотопах з результатами аналізу складу ґрунтових видів амеб у досліджуваних лісових масивах. У ґрунтах досліджуваних регіонів було знайдено 10 видів амеб (рис. 2).

За частотою трапляння найпоширенішим виявився вид *Vahlkampfia* sp. (1) (66 %), найменш поширеними – *S. stenopodia* (13 %), *Vexillifera* sp. (13 %), *S. stagnosticola* (12 %), *Vannella lata* Page, 1988 (12 %), *R. platypodia* (11 %). *M. cantabrigiensis* (43 %), *Cochliopodium* sp. (1) (42 %), *Vahlkampfia* sp. (2) (35 %), *T. striata* (32 %) за частотою трапляння займають середнє місце. Крім того, за проведеннями дослідженнями видового складу ґрунтових видів амеб Житомирської обл. встановлено, що на формування їхніх видових комплексів впливає температура, кислотність і вологість ґрунтів [24].

У складі населення відсутні специфічні види, що характерні лише для епіфітних мохів Житомирської обл.: усі знайдені види можна вважати еврибіонтами, які можуть зустрічатися як у мохах, так й у водних та ґрунтових біотопах [16–24]. Лише *V. lata* у наших дослідженнях не зустрічалась в епіфітних мохах Житомирської обл.

Висновки. Отже, в епіфітних біотопах Житомирської обл. нами ідентифіковано 16 видів голих амеб. Зі збільшенням висоти над землею та зі зниженням вологості зменшується видове багатство голих амеб. Більш різноманітне за складом поширення у вологих біотопах. Усі ідентифіковані нами види можна вважати еврибіонтами: зустрічаються як у мохах, так і в ґрунтах та водоймах.

Список використаних джерел:

1. Краснова Е. Д. Акробаты мира флоры / Е. Д. Краснова // Вокруг света. – 2007. – № 4. – С. 14–22.
2. Barbuto M. Moss inhabiting nematodes: influence of the moss substratum and geographical distribution in Europe / M. Barbuto, Z. Aldo // Nematology. – 2006. – V. 8, № 4. – P. 575–582.
3. Bartos E. Rhizopoden einiger moosproben aus Java / E. Bartos // Acta Universitatis Carolinae, Biologica. – 1963. – P. 119–190.
4. Beyens L. Testate amoebae populations from moss and lichen habitats in the Arctic / L. Beyens, D. Chardez, R. de Landtsheer et al. // Polar Biology. – 1986. – P. 165–173.
5. Chattopadhyay P. Morphology, morphometry and ecology of moss dwelling testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) of north-east India / P. Chattopadhyay, A. K. Das // Zoological Survey of India. – 2003. – P. 1–113.
6. Chen B. Response of forest floor fungivores to experimental food enhancement / B. Chen, D. H. Wisse // Pedobiologia. – 1997. – V. 41. – P. 240–250.
7. Erwin T. L. Tropical forests: their richness in Coleoptera and other arthropod species / T. L. Erwin // Coleopt. Bull. – 1982. – V. 36. – P. 74–75.
8. Foissner W. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): A combined molecular, and ecological study / W. Foissner, M. Strader-Kypke, H. Seung-Yeo et al. // Eur. J. Protistol. – 2003. – V. 38. – P. 365–372.
9. Hammer O. PAST: Palaeontological statistics software package for education and data analysis / O. Hammer, D. A. T. Harper, P. D. Ryan // Palaeontol. electronica. – 2001. – Vol. 4, Iss. 1, Art. 4. – P. 1–9.
10. Lindo Z. Nested patterns of community assembly in the colonisation of artificial canopy habitats by oribatid mites / Z. Lindo, N. Winchester, R. Didham // Oikos. – 2008. – V. 117. – P. 1856–1864.
11. Lindo Z. A comparison of microarthropod assemblages with emphasis on oribatid mites in canopy suspended soils and forest floors associated with ancient western redcedar trees / Z. Lindo, N. N. Winchester // Pedobiologia. – 2006. – V. 50. – P. 31–41.
12. Miller K. Arboreal arthropod associations with epiphytes following gap harvesting in the Acadian forest of Maine / K. Miller, R. Wagner, S. Woods // The Bryologist. – 2008. – V. 111. – P. 424–434.

13. Miller K. Effect of gap harvesting on epiphytes and bark-dwelling arthropods in the Acadian forest of central Maine / K. Miller, R. Wagner, S. Woods // Can. J. For. Res. – 2007. – V. 37. – P. 2175–2187.

14. Page F. C. A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae / F. C. Page // Freshwater Biological Association, Ambleside, Cumbria, UK. – 1988. – 122 p.

15. Page F. C. Nackte Rhizopoda und Heliozoa (Protozoenfauna Band 2) / F. C. Page, F. J. Siemensma // Gustav Fischer Verlag. – Stuttgart; N. Y., 1991. – P. 3–170.

16. Patcyuk M. K. Biotopic distribution of naked amoebae (Protista) in Ukrainian Polissya area / M. K. Patcyuk, I. V. Dovgal // Vestnik Zoologii. – 2012. – Vol. 46 (4). – P. 355–360.

17. Patsyuk M. K. Morphotypes in Naked Amoebae (Protista): Distribution in Water Bodies of Zhytomyr and Volyn Polissia (Ukraine) and Possible Ecological Significance / M. K. Patsyuk // Vestnik Zoologii. – 2014. – Vol. 48 (6). – P. 547–552.

18. Patsyuk M. K. Species of naked amoebae (Protista) new for the fauna of Ukraine / M. K. Patsyuk // Vestnik zoologii. – 2015. – Vol. 5 (49). – P. 387–392.

19. Patsyuk M. K. New Finds of Naked Amoebae (Protista) in Water Reservoirs of Ukraine / M. K. Patsyuk // Vestnik Zoologii. – 2016. – Vol. 50 (4). – P. 291–300.

20. Patsyuk M. Parasitic amoebae found in water bodies of Ukraine / M. Patsyuk // Experimental Parasitology. – 2017. – Vol. 183. – P. 81–84.

21. Patsyuk M. K. Peculiarities of the Spatial Distribution of Naked Amoebae in Sandy Bottom Sediments of a Small River / M. K. Patsyuk // Hydrobiological Journal. – 2018. – Vol. 54 (5). – P. 102–111.

22. Patsyuk M. K. Diversity and Distribution of Naked Amoebae in Water Bodies of Sumy Region (Ukraine) / M. K. Patsyuk, I. P. Onyshchuk // Vestnik Zoologii. – 2019. – Vol. 53 (3). – P. 177–186.

23. Patsyuk M. Changed species composition of naked amoebae in soils of forest-and-steppe zone of Ukraine / M. Patsyuk // Acta Biologica. – 2019. – Vol. 26. – P. 57–64.

24. Patsyuk M. Diversity of Naked Amoebae in Soils of Forest Areas of Zhytomyr Region (Ukraine) / M. Patsyuk // Zootaxa. – 2020. – Vol. 4743 (2). – P. 257–265.

25. Patterson D. J. Heterotrophic flagellates from coastal marine and hypersaline sediments in Western Australia / D. J. Patterson, A. G. B. Simpson // Eur. J. Protistol. – 1996. – V. 32. – P. 423–448.

26. Prinzing A. J. Corticolous arthropods under climatic fluctuations: Compensation is more important than migration / A. J. Prinzing // Ecography. – 2005. – V. 28. – P. 17–28.

27. Smirnov A. Amoebas, Lobose / A. Smirnov // Encyclopedia of Microbiology. M. Schaechter (ed.). – Oxford: Elsevier, 2008. – P. 558–577.

28. Smirnov A. A Revised Classification of Naked Lobose Amoebae (Amoebozoa: Lobosa) / A. Smirnov, E. Chao, E. Nasonova et al. // Protist. – 2011. – Vol. 162. – P. 545–570.

29. Smirnov A. An illustrated list of basic morphotypes of Gymnamoebae (Rhizopoda, Lobosea) / A. Smirnov, A. Goodkov // Protistology. – 1999. – Vol. 1. – P. 20–29.

30. Tórák J. Study on moss-dwelling testate amoebae / J. Tórák // Opus. Zool. – 1993. – V. 26. – P. 95–104.

31. Winchester N. N. Arboreal specificity, diversity and abundance of canopy-dwelling oribatid mites (Acari: Oribatida) / N. N. Winchester, V. M. Behan-Pelletier, R. R. Ring // Pedobiologia. – 1999. – V. 43. – P. 391–400.

32. Wunderle I. Arboreal and edaphic oribatids (Acari) in the lowland rain-forest of Panguana, Peru, Amazoniana / I. Wunderle. – 1992. – P. 119–142.

References:

1. Krasnova E. D. Akrobatiy mira floryi. Vokrug sveta. 2007. № 4. S. 14–22.
2. Barbuto M., Aldo Z. Moss inhabiting nematodes: influence of the moss substratum and geographical distribution in Europe. Nematology. 2006. V. 8, № 4. P. 575–582.
3. Bartos E. Rhizopoden einiger moosproben aus Java. Acta Universitatis Carolinae, Biologica. 1963. P. 119–190.
4. Beyens L. Chardez D., Landtsheer R. de et al. Testate amoebae populations from moss and lichen habitats in the Arctic. Polar Biology. 1986. P. 165–173.
5. Chattopadhyay P., Das A. K. Morphology, morphometry and ecology of moss dwelling testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) of north-east India. Zoological Survey of India. 2003. P. 1–113.
6. Chen B., Wisse D. H. Response of forest floor fungivores to experimental food enhancement. Pedobiologia. 1997. V. 41. P. 240–250.
7. Erwin T. L. Tropical forests: their richness in Coleoptera and other arthropod species. Coleopt. Bull. 1982. V. 36. P. 74–75.
8. Foissner W., Strader-Kypke M., Seung-Yeo H. et al. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): A combined molecular, and ecological study. Eur. J. Protistol. 2003. V. 38. P. 365–372.
9. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Palaeontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontol. electronica. 2001. Vol. 4, Iss. 1, Art. 4. P. 1–9.

10. Lindo Z., Winchester N., Didham R. Nested patterns of community assembly in the colonisation of artificial canopy habitats by oribatid mites. *Oikos*. 2008. V. 117. P. 1856–1864.
11. Lindo Z., Winchester N. A comparison of microarthropod assemblages with emphasis on oribatid mites in canopy suspended soils and forest floors associated with ancient western redcedar trees. *Pedobiologia*. 2006. V. 50. P. 31–41.
12. Miller K., Wagner R., Woods S. Arboreal arthropod associations with epiphytes following gap harvesting in the Acadian forest of Maine. *The bryologist*. 2008. V. 111. P. 424–434.
13. Miller K., Wagner R., Woods S. Effect of gap harvesting on epiphytes and bark-dwelling arthropods in the Acadian forest of central Maine. *Can. J. For. Res.* 2007. V. 37. P. 2175–2187.
14. Page F. C. A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae. Freshwater Biological Association, Ambleside, Cumbria, UK. 1988. 122 p.
15. Page F. C., Siemmensma F. J. Nackte Rhizopoda und Heliozoa (Protozoenfauna Band 2). Gustav Fischer Verlag. Stuttgart ; N. Y., 1991. P. 3–170.
16. Patsyuk M. K., Dovgal I. V. Biotopic distribution of naked amoebae (Protista) in Ukrainian Polissya area. *Vestnik Zoologii*. 2012. Vol. 46 (4). P. 355–360.
17. Patsyuk M. K. Morphotypes in Naked Amoebas (Protista): Distribution in Water Bodies of Zhytomyr and Volyn Polissia (Ukraine) and Possible Ecological Significance. *Vestnik Zoologii*. 2014. Vol. 48 (6). P. 547–552.
18. Patsyuk M. K. Species of naked amoebae (Protista) new for the fauna of Ukraine. *Vestnik zoologii*. 2015. Vol. 5 (49). P. 387–392.
19. Patsyuk M. K. New Finds of Naked Amoebae (Protista) in Water Reservoirs of Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 2016. Vol. 50 (4). P. 291–300.
20. Patsyuk M. Parasitic amoebae found in water bodies of Ukraine. *Experimental Parasitology*. 2017. Vol. 183. P. 81–84.
21. Patsyuk M. K. Peculiarities of the Spatial Distribution of Naked Amoebas in Sandy Bottom Sediments of a Small River. *Hydrobiological Journal*. 2018. Vol. 54 (5). P. 102–111.
22. Patsyuk M. K., Onyshchuk I. P. Diversity and Distribution of Naked Amoebae in Water Bodies of Sumy Region (Ukraine). *Vestnik Zoologii*. 2019. Vol. 53 (3). P. 177–186.
23. Patsyuk M. Changed species composition of naked amoebae in soils of forest-and-steppe zone of Ukraine. *Acta Biologica*. 2019. Vol. 26. P. 57–64.
24. Patsyuk M. Diversity of Naked Amoebae in Soils of Forest Areas of Zhytomyr Region (Ukraine). *Zootaxa*. 2020. Vol. 4743 (2). P. 257–265.
25. Patterson D. J., Simpson A. G. B. Heterotrophic flagellates from coastal marine and hypersaline sediments in Western Australia. *Eur. J. Protistol.* 1996. V. 32. P. 423–448.
26. Prinzing A. J. Corticolous arthropods under climatic fluctuations: Compensation is more important than migration. *Ecography*. 2005. V. 28. P. 17–28.
27. Smirnov A. Amoebas, Lobose. *Encyclopedia of Microbiology* / M. Schaechter (ed.). Oxford: Elsevier, 2008. P. 558–577.
28. Smirnov A., Chao E., Nassanova E. et al. A Revised Classification of Naked Lobose Amoebae (Amoebozoa: Lobosa). 2011. Vol. 162. P. 545–570.
29. Smirnov A., Goodkov A. An illustrated list of basic morphotypes of Gymnamoebae (Rhizopoda, Lobosea). *Protistology*. 1999. Vol. 1. P. 20–29.
30. Tórk J. Study on moss-dwelling testate amoebae. *Opus. Zool.* 1993. V. 26. P. 95–104.
31. Winchester N. N., Behan-Pelletier V. M., Ring R. R. Arboreal specificity, diversity and abundance of canopy-dwelling oribatid mites (Acari: Oribatida). *Pedobiologia*. 1999. V. 43. P. 391–400.
32. Wunderle I. Arboricolous and edaphic oribatids (Acari) in the lowland rain-forest of Panguana, Peru, Amazoniana. 1992. P. 119–142.

Надійшла до редколегії 14.05.2020
Отримано виправлений варіант 16.06.2020
Підписано до друку 16.06.2020

Received in the editorial 14.05.2020
Received a revised version on 16.06.2020
Signed in the press on 16.06.2020

M. Patsyuk, Ph. D.

Zhytomyr Ivan Franko State University, Zhytomyr, Ukraine

THE SPECIES COMPOSITION OF NAKED AMOEBA IN EPIPHYTIC MOSSES OF THE ZHYTOMYR REGION

From epiphytic habitats of Zhytomyr region we identified 16 species of naked amoebae. This species: *Vahlkampfia* sp. (1), *Saccamoeba stagnicola* Page, 1974, *Saccamoeba* sp. (1), *Cashia limacoides* Page, 1974, *Korotnevella* sp. (1), *Vexillifera* sp., *Ripella platypodia* Smirnov, Nassanova, Chao et Cavalier-Smith, 2007, *Ripella* sp., *Cochliopodium* sp. (1), *Mayorella cantabrigiensis* Page, 1983, *Mayorella* sp., *Thecamoeba striata* Penard, 1890, *Thecamoeba* sp., *Stenamoeba stenopodia* (Page, 1969) Smirnov et al., 2007, *Acanthamoeba* sp. (1), *Stygamoeba polymorpha* Sawyer, 1975. The most common were the amoebae *Cochliopodium* sp., *Acanthamoeba* sp. (1), *S. stenopodia*, *Vexillifera* sp., the least common – *T. striata*, *R. platypodia*, *Mayorella* sp., *S. stagnicola*, *Saccamoeba* sp. (1), *S. polymorpha*. On the species composition of the naked amoebae in epiphytic habitats Zhytomyr region is affected by the humidity of the substrate: a decrease in humidity reduced the species richness of amoebae. The connection of the species composition of amoebae with height above the ground with increasing height above the ground decreases the species composition of amoebae. At the levels of 0–1,5 m, the most common amoeba occur (*S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1)), at a height of 1–1,5 m, most amoeba disappear and the least appears common view of *Thecamoeba* sp. In wet mosses dominating species *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (2), *R. platypodia*, *S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1), dry epiphytes of the study area met *C. limacoides*, *Korotnevella* sp. (1), *S. polymorpha*. The most heterogeneous complexes of the wet habitats, while dry – fairly uniform. We identified all species can be considered everybody, meet as in mosses and aquatic and soil habitats.

Keywords: naked amoebae, epiphytes, soil, humidity, altitude, Zhytomyr region.

М. Пацюк, канд. биол. наук

Житомирский государственный университет имени Ивана Франко, Житомир, Украина

ВИДОВОЙ СОСТАВ ГОЛЫХ АМЕБ В ЭПИФИТНЫХ МХАХ ЖИТОМИРСКОЙ ОБЛАСТИ

В эпифитных биотопах Житомирской обл. идентифицировано 16 видов голых амёб. Это виды: *Vahlkampfia* sp. (1), *Saccamoeba stagnicola* Page, 1974, *Saccamoeba* sp. (1), *Cashia limacoides* Page, 1974, *Korotnevella* sp. (1), *Vexillifera* sp., *Ripella platypodia* Smirnov, Nassanova, Chao et Cavalier-Smith, 2007, *Ripella* sp., *Cochliopodium* sp. (1), *Mayorella cantabrigiensis* Page, 1983, *Mayorella* sp., *Thecamoeba striata* Penard, 1890, *Thecamoeba* sp., *Stenamoeba stenopodia* (Page, 1969) Smirnov et al., 2007, *Acanthamoeba* sp. (1), *Stygamoeba polymorpha* Sawyer, 1975. Наиболее распространенными оказались виды *Cochliopodium* sp., *Acanthamoeba* sp. (1), *S. stenopodia*, *Vexillifera* sp., наименее распространенными – *T. striata*, *R. platypodia*, *Mayorella* sp., *S. stagnicola*, *Saccamoeba* sp. (1), *S. polymorpha*. На видовой состав голых амёб в эпифитных биотопах Житомирской обл. влияет влажность субстрата: с уменьшением влажности снижается видовое богатство амёб. Установлена связь видового состава амёб с высотой над поверхностью земли: с увеличением высоты над землей уменьшается видовой состав амёб. На уровнях 0–1,5 м встречаются наиболее распространенные амёбы (*S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1)), на высоте 1–1,5 м исчезает большинство амёб и появляется наименее распространенный вид *Thecamoeba* sp. Во влажных мхах преобладают виды *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (2), *R. platypodia*, *S. stenopodia*, *Cochliopodium* sp. (1), *M. cantabrigiensis*, *Acanthamoeba* sp. (1), в сухих эпифитах региона исследования встречались *C. limacoides*, *Korotnevella* sp. (1), *S. polymorpha*. Наиболее гетерогенные комплексы из самых влажных биотопов, тогда как из сухих – достаточно однородные. Все идентифицированные нами виды можно считать эврибионтами, они встречаются как в мхах, так и в водных и почвенных биотопах.

Ключевые слова: голые амёбы, эпифиты, почвы, влажность, высота, Житомирская обл.

УДК 577.122.8

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.55-59

Д. Креницька, студ.,
Н. Ракша, канд. біол. наук,
О. Савчук, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

АНАЛІЗ ПЕПТИДНОЇ СКЛАДОВОЇ ТКАНИН ЗА РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ

Ожиріння характеризується певним патологічним дисбалансом у механізмах протеолізу, наслідком чого є зростання у тканинах кількості деградованих білкових молекул, їхніх фрагментів та пептидного пулу. Незважаючи на значну кількість літературних джерел стосовно проблеми біохімії розвитку ожиріння, питання участі протеолітичних процесів у патогенезі ожиріння, їхніх особливостей та потенційних впливів на метаболізм вивчене недостатньо. Водночас поява у кровотоці атипових молекул білкової природи може бути важливою складовою зазначеної патології. Вивчення процесів утворення згаданих молекул може бути досить корисним при плануванні стратегій корекції розвитку ожиріння. Результатами дослідження є виявлення змін кількісного та якісного складу пептидної складової фракції молекул середньої маси у тканинах щурів за умов експериментального ожиріння. Методом хроматографії, що поділяє за розмірами, показано зміни в кількості піків та молекулярній масі пептидних молекул у гомогенатах тканин щурів з ожирінням. Отримані результати свідчать про певний дисбаланс у системі протеолізу за розвитку ожиріння, спричиненого споживанням висококалорійної дієти, що може бути потенційною причиною появи певних нефізіологічних механізмів у функціонуванні метаболізму за зазначеної патології. Це, зі свого боку, може бути тригером розвитку супутніх патологій та ускладнювати корекцію метаболічного профілю за розвитку ожиріння. Подальші дослідження особливостей змін пептидного пулу у тканинах щурів сприятимуть кращому розумінню біохімічних процесів за умов цієї патології, що є важливим для розроблення підходів діагностики та лікування ожиріння. Вивчення потенційних механізмів розвитку дисфункціонування системи протеолізу та методів їхньої корекції може бути успішно застосовано при розробці стратегій лікування різноманітних патологічних станів організму, де відбувається певний дисбаланс у функціонуванні цієї системи.

Ключові слова: молекули середньої маси, ожиріння, висококалорійна дієта, пептидний пул

Вступ. Ожиріння є однією з найпоширеніших світових проблем нашого часу. Крім того, ця патологія слугує базою для розвитку супутніх захворювань та ускладнень, що часто стають причиною ранньої інвалідності та смерті. Виявлення ранніх маркерів розвитку ожиріння може поліпшити контроль кількості пацієнтів на початкових етапах зазначеної патології та сприятиме окремим зменшенням численних факторів ризику, зокрема і факторів ризику способу життя [1].

Відомо, що одним із синдромів, що супроводжує патологічні процеси, серед яких й ожиріння та метаболічний синдром, є ендогенна інтоксикація (EI), наявність якої, насамперед, визначається за вмістом молекул середньої маси (МСМ) [2–4]. При патологічних процесах, які супроводжуються ендогенною інтоксикацією, у біологічних рідинах організму накопичується значна кількість продуктів метаболізму, більшість із яких входить до молекули середньої маси, тобто речовин із молекулярною масою від 300 до 5000 Да. Більшу частину пулу МСМ формують пептиди, глікопептиди, ендорфіни, аміноцукри, поліаміни, інсулін, глюкагон, адренотропний гормон, вазопресин, окситоцин, ангіотензин, ліпофусцин, атерогенно окислені ліпопротеїди, нуклеотиди, продукти деградації фібриногену, альбуміну, тромбіну, фрагменти колагену, а також похідні ліпідів, фосфоліпідів тощо. Зазначений показник використовується як маркер ендотоксемії різного генезу для оцінки ступеня тяжкості патологічного процесу та можливих ускладнень [5]. Останнім часом накопичився масив даних, на основі яких постулюється участь тканино-специфічних пептидних пулів у підтриманні гомеостазу, зокрема, встановлено їхню здатність регулювати процеси проліферації, диференціювання та загибелі клітин.

Мета дослідження – дослідити кількісний і якісний склад пептидної складової молекул середньої маси у тканинах щурів за розвитку ожиріння, викликаного споживанням висококалорійної дієти.

Матеріали і методи. Досліди проводилися на білих нелінійних щурах-самцях із початковою масою 115–150 г. Упродовж першого тижня експерименту всі тварини одержували стандартний корм "Purinarodentchow"

та воду *adlibitum*. На восьмий день експерименту тварини були рандомізовано поділені на дві групи. Щури першої групи ("Контроль") продовжували отримувати стандартний корм упродовж наступних 10 тижнів. Тварини другої групи ("ВКД") перебували на висококалорійній дієті, що складалася зі стандартної їжі (60 %), свинячого жиру (10), курячих яєць (10), сахарози (9), арахісу (5), сухого молока (5) та рослинної олії (1 %) та мали вільний доступ до води.

МСМ отримували відповідно до методу Ніколайчука [6]. Усі маніпуляції проводили на льоду, на кожному етапі проби витримували впродовж 15 хв при +4° С. Для осадження білків до проб додавали 1,2 М HClO₄ у співвідношенні 1:1, після чого центрифугували 20 хв при 5000 g. Надоосадову рідину нейтралізували 5 н КОН до pH 7,0 та центрифугували повторно. До одержаної на цьому етапі надоосадової рідини додавали 60-відсотковий етиловий спирт у співвідношенні 1:5 та центрифугували 15 хв при 2500 g. Концентрацію МСМ вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 254 нм. Отримані зразки МСМ ліофілізували, після чого розчиняли в 1 мл 0,05 М трис-HCl, pH 7,4, що містить 0,13 М NaCl.

Якісний склад пептидної складової фракції МСМ досліджували за допомогою хроматографії, що поділяє за розмірами на колонці із сефадексом G 15. Швидкість хроматографічного процесу становила 18 мл/год. Хроматографічна колонка була відкалібрована із застосуванням стандартних маркерів, таких як: лізоцим (14,3 кДа), інсулін (5,7 кДа) та вітамін B12 (1,35 кДа).

Експериментальні роботи зі щурами проводили в умовах віварію Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проведення експерименту здійснювалось із дотриманням принципів біоетики, що викладені у Гельсинській декларації Всесвітньої медичної асоціації про гуманне ставлення до тварин, а також згідно із Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 15.12.2009 р. № 1759-VI та "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Київ, 2001).

Результати досліджень та їхнє обговорення.

Ендогенна інтоксикація – це складний багатокомпонентний процес, зумовлений патологічною біологічною активністю ендогенних продуктів та/або дисфункцією систем детоксикації. "Пептидний пул" або "пептидний комплекс тканини" є специфічним для кожного органу як за компонентним складом, так і за вмістом окремих пептидів. Компоненти пептидного пулу здійснюють моделюючий вплив на функціонування нервової, ендокринної, імунної, серцево-судинної та інших систем організму. Характерно, що зазначений вплив реалізується всім ансамблем пептидів. З огляду на існування

залежності між концентрацією пептидного пулу та важкістю стану хворих саме накопичення цих молекул може служити інтегральним й об'єктивним показником розвитку синдрому ендогенної інтоксикації незалежно від патогенетичних особливостей того чи іншого захворювання.

З метою ранньої діагностики стану ендогенної інтоксикації, а також для визначення важкості стану хворих рекомендується оцінювати метаболічний статус організму за вмістом у тканинах пептидів [7]. Отримані дані представлено на рис. 1.

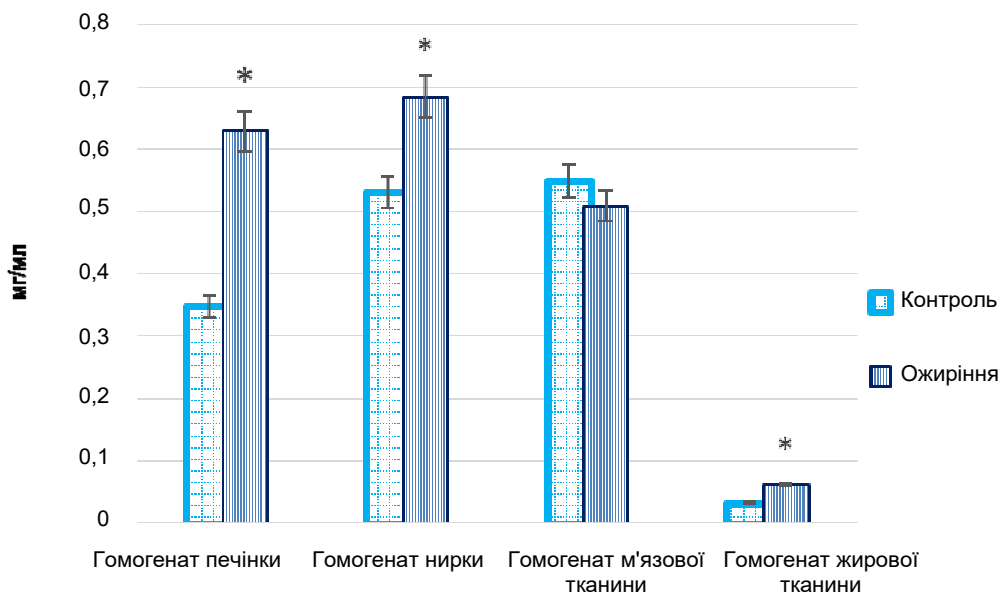


Рис. 1. Концентрація пептидної складової молекул середньої маси у гомогенатах тканин щурів з ожирінням ($M \pm m$, $n = 5$)

Примітка: * – $p < 0,05$ – різниця достовірна щодо контролю

Показано підвищення концентрації пептидів у гомогенатах печінки, нирок у жировій тканині в 1,8, 1,3 та 1,9 раза, відповідно, порівняно з контролем. Отже, накопичення пептидних молекул у тканинах організму свідчить про патологічне порушення гомеостазу, що виникає при ураженні організму. Підвищення рівня МСМ в організмі пов'язано з порушення їхньої елімінації, посиленням утворенням у тканинах, або поєднанням обох механізмів. Підвищені показники можуть характеризувати стан ендогенної інтоксикації та гострої ниркової недостатності. Вважають, що накопичення молекул пептидної природи є результатом посиленої активності протеолітичних ферментів (зокрема, плазміну, матричних металопротеїназ, лейкоцитарних і лізосомальних протеолітичних ферментів тощо) або недостатньої активності екзопептидаз, які в нормі відповідають за деградацію пептидів у крові [8–9]. Було встановлено, що "пептидні пули" утворюються не тільки зі спеціалізованих білків-попередників, як це має місце для більшості відомих нейропептидів, а й внаслідок процесингу функціональних білків (ферментів, структурних, транспортних, захисних білків).

Ураховуючи подане вище, наступний етап роботи передбачав проведення дослідження якісного складу пептидного пулу тканин щурів за розвитку ожиріння, викликаного споживанням висококалорійної дієти. Дослідження якісного складу пептидного пулу проводили з використанням хроматографії, що поділяє за розмірами на колонці з сефадексом G 15. Зазначений методичний підхід дозволяє розподілити молекули згідно з їхніми розмірами або, якщо точніше, згідно з різницею гідродинамічних діаметрів та/або об'ємів останніх. У цьому випадку сорбент є пористою полімерною гідрофільною речовиною. Отже, у ході розділення менші молекули дослідної суміші можуть входити в пори, і, таким чином, вилучаються з рухомої фази. Середній час перебування молекул у порах сорбенту залежить від розмірів перших. Ті з молекул дослідної суміші, які є більшими за розміри пор, майже не затримуються на сорбенті і вимиваються із системи у перших фракціях. Одержані нами результати наведено на рис. 2.

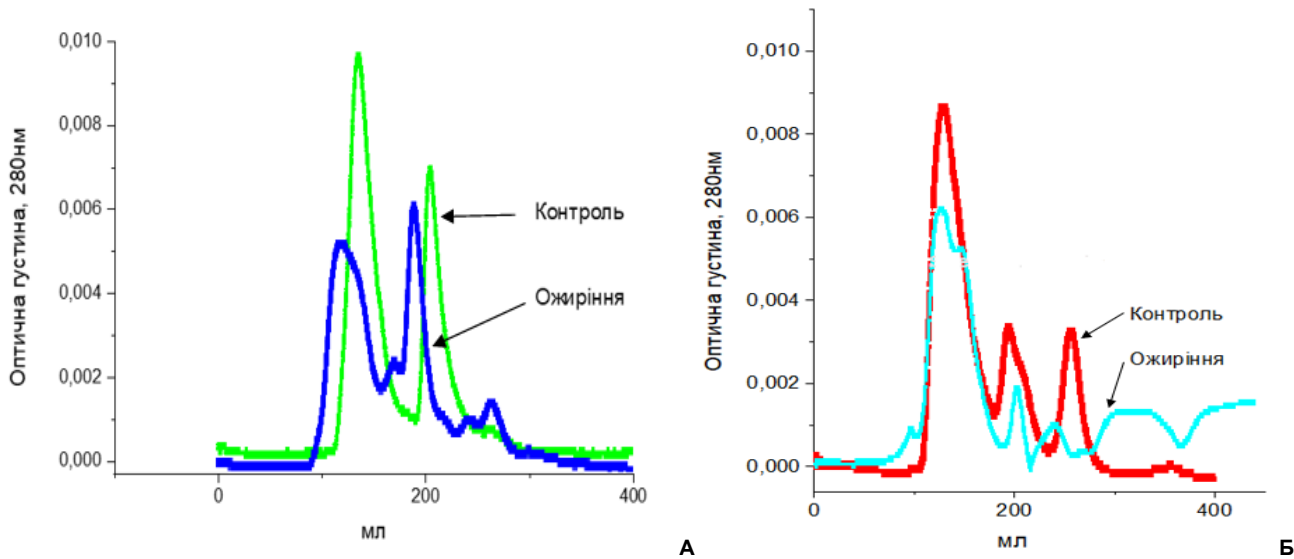


Рис 2. Типова хроматограма розділення пептидного пулу гомогенатів м'язової тканини (А) та печінки (Б) щурів з ожирінням

Представлені хроматограми є типовими для всіх тканин, які було проаналізовано в ході дослідження, і різниця полягає лише в кількості та параметрах хроматографічних піків, що були отримані при розділенні пептидної фракції на окремі складові. Для кількісного обрахунку

отриманих хроматограм було використано маркери молекулярної маси, які дозволили кількісно охарактеризувати кожен пік (табл. 1).

Таблиця 1. Характеристика якісного складу пептидної фракції в гомогенатах тканин щурів з ожирінням

Тканина	Кількість піків	Молекулярна маса (Да)
Печінкова тканина інтактних тварин	1	1739,1
	2	1107,3
	3	863,2
	4	750,3
Печінкова тканина тварин з ожирінням	1	1752,4
	2	614,4
	3	509,2
	4	438,2
Ниркова тканина інтактних тварин	1	1243,4
	2	1067,9
	3	795,3
	4	755,0
Ниркова тканина тварин з ожирінням	1	1047,7
	2	724,2
	3	710,6
М'язова тканина інтактних тварин	1	1184,8
	2	1065,5
	3	889,0
	4	772,5
	5	729,5
М'язова тканина тварин з ожирінням	1	1384,4
	2	1186,2
	3	874,9
	4	829,7
	5	649,9
	6	597,4
Жирова тканина інтактних тварин	1	1216,9
	2	988,5
	3	731,7
	4	715,3
	5	594,8
Жирова тканина тварин з ожирінням	1	1207,9
	2	985,0
	3	712,1
	4	572,2

Показано зміни кількості піків та молекулярних мас окремих пептидних фракцій у загальному пептидному пулі, що було нанесено на хроматографічну колонку. Ураховуючи, що кожний пік – це пептиди в діапазоні певних молекулярних мас, то зміна кількості піків у групі

інтактних тварин і щурів з ожирінням показує зміни в загальній кількості пептидів у зразку. Отже, у гомогенатах тканин тварин з ожирінням відбувається зростання кількості піків та збільшення варіювання молекулярних мас пептидів. Отримані дані свідчать про те, що за розвитку

ожиріння спостерігається патологічне дисфункціонування систем протеолізу, наслідком чого є певна можливість зростання кількості деградованих білкових молекул, їхніх фрагментів і пептидного пулу у тканинах.

Висновки. У ході проведеного дослідження було проаналізовано кількісний і якісний склад пептидної складової фракції молекул середньої маси у тканинах щурів за умов експериментального ожиріння. Показано зміни у кількостях піків та молекулярних мас пептидів у дослідних зразках гомогенатів тканин щурів з ожирінням. Отримані результати свідчать про певний дисбаланс у системі протеолізу за розвитку ожиріння, спричиненого споживанням висококалорійної дієти. Подальші дослідження особливостей змін пептидного пулу тканин щурів сприятимуть кращому розумінню біохімічних процесів за умов зазначеної патології, що є важливим для розроблення підходів діагностики та лікування ожиріння.

Список використаних джерел:

1. Harmonizing the metabolic syndrome: a jointinterimstatement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention / K. G. Alberti, R. H. Eckel, S. M. Grundy, P. Z. Zimmet ; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Associationfor the Study of Obesity. – Circulation, 2009. – 120. – P. 1640–1645.
2. Hromashevskaja L. L. Metabolic intoxication in the pathogenesis and diagnosis of pathological processes / L. L. Hromashevskaja // Laboratory diagnosis. – 2006. – 1 (35). – P. 3–13.
3. Matveev S. B. Assessment of endogenous intoxication in terms of middle molecules in case of emergency / S. B. Matveev, N. V. Fiedorova, M. A. Godkov // Clinical Laboratory diagnostics. – 2009. – 5. – P. 16–18.
4. Fiedorova A. A. Indicators of endogenous intoxication and detoxification system of erythrocytes in acute burn injury / A. A. Fiedorova, B. H. Borzenko // Theissue of Experimental and Clinical Medicine. – 2010. – 2 (14). – P. 343–347.
5. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму : Методичні рекомендації МОЗ України / М. А. Андрейчин, М. Д. Бех, В. В. Дем'яненко та ін. – К., 1998. – С. 1–31.
6. "Средние молекулы" – образование и способы определения / В. В. Николайчик, В. В. Кирковский, В. М. Моин и др. // Лабораторное дело. – 1989. – № 8. – С. 31–33.
7. Громашевская Л. Л. Средние молекулы как один из показателей метаболической интоксикации в организме / Л. Л. Громашевская // Лабораторная диагностика. – 1997. – № 1. – С. 11–16.
8. Vincent H. Biomarkers and potential mechanisms of obesityinduced oxidant stress in humans / H. Vincent, A. Taylor // International Journal of Obesity. – 2006. – Vol. 30. – P. 400–418.
9. "Middle molecules" – Endotoxins of peptide nature / S. Galaktionov, V. Nikolaichik, V. Tseitin, L. Mikhneva // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 1983. – Vol. 17, № 11. – P. 759–765.
10. Афанасьева А. Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп / А. Н. Афанасьева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 6. – С. 11–12.

Д. Креницкая, студ.,
Н. Ракша, канд. биол. наук,
О. Савчук, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

АНАЛИЗ ПЕПТИДНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ТКАНЕЙ ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРЕНИЯ У КРЫС

Ожирение характеризуется определенным патологическим дисбалансом в механизмах протеолиза, следствием чего является рост в тканях количества деградированных белковых молекул, их фрагментов и пептидного пула. Несмотря на значительное количество литературных источников по проблеме биохимии развития ожирения, вопрос участия протеолитических процессов в патогенезе ожирения, их особенностей и потенциальных воздействий на метаболизм изучен недостаточно. В то же время появление в кровотоке атипичных молекул белковой природы может быть важной составляющей данной патологии. Изучение процессов образования этих молекул может быть весьма полезным при планировании стратегий коррекции развития этого патологического состояния, а охарактеризованные молекулы могут быть использованы как маркерные молекулы развития ожирения. Результатами данной работы является выявление изменений количественного и качественного состава пептидной составляющей фракции молекул средней массы в тканях крыс в условиях экспериментального ожирения. Методом хроматографии, которая разделяет по размерам, показано изменения в количестве пиков и молекулярной массе пептидных молекул в гомогенатах тканей крыс с ожирением. Полученные результаты свидетельствуют об определенном дисбалансе в системе протеолиза при развитии ожирения, вызванного потреблением высококалорийной диеты, что может быть потенциальной причиной появления определенных нефизиологических механизмов в функционировании метаболизма при данной патологии. Это, в свою очередь, может быть триггером развития сопутствующей патологии и усложнять коррекцию метаболического профиля при развитии ожирения. Дальнейшие исследования особенностей изменений пептидного пула в тканях крыс могут способствовать лучшему пониманию биохимических процессов в условиях данной патологии, что является важным для разработки подходов диагностики и лечения ожирения. Изучение потенциальных механизмов развития дисфункционирования системы протеолиза и методов его коррекции может быть успешно применено при отработке стратегий лечения различных патологических состояний организма, где происходит определенный дисбаланс в функционировании данной системы.

Ключевые слова: молекулы средней массы, ожирение, высококалорийная диета, пептидный пул.

11. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.
12. Малахова М. Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме / М. Я. Малахова // Эфферентная терапия. – 2000. – Т. 6. – № 4. – С. 3–14.

References:

1. Alberti K. G., Eckel R. H., Grundy S. M., Zimmet P. Z. Harmonizing the metabolic syndrome: a jointinterimstatement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention / National Heart, Lung and BloodInstitute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Associationfor the Study of Obesity. Circulation 2009; 120: 1640–5.
2. Hromashevskaja L. L. Metabolic intoxication in the pathogenesis and diagnosis of pathological processes. Laboratory diagnosis. 2006; 1(35): 3–13.
3. Matveev S. B., Fiedorova N. V., Godkov M. A. Assessment of endogenous intoxication in terms of middle molecules in case of emergency. Clinical Laboratory diagnostics. 2009; 5: 16–18.
4. Fiedorova A. A., Borzenko B. H. Indicators of endogenous intoxication and detoxification system of erythrocytes in acute burn injury. Theissue of Experimental and Clinical Medicine. 2010; 2(14): 343–347.
5. Andreichyn M. A., Bekh M. D., Demianenko V. V. et al. Metody doslidzhennia endohennoi intoksykatsii orhanizmu. Metodychni rekomendatsii MOZ Ukrainy. Kyiv, 1998. S. 1–31.
6. Nikolaychik V. V., Kirovskiy V. V., Moyn V. M. v soavt. "Srednie molekuly" – obrazovanie i sposoby op-reedeleniya. Laboratornoe delo. 1989. № 8. S. 31–33.
7. Gromashevskaya L. L. Srednie molekuly kak odin iz pokazateley metabolicheskoy intoksykatsii v organizme. Laboratornaya diagnostika. 1997. №1. S. 11–16.
8. Vincent H., Taylor A. Biomarkers and potential mechanisms of obesityinduced oxidant stress in humans. InternationalJournal of Obesity. 2006. Vol. 30. P. 400–418.
9. Galaktionov S., Nikolaichik V., Tseitin V., Mikhneva L. "Middle molecules" – Endotoxins of peptide nature. Pharmaceutical Chemistry Journal. 1983. Vol. 17, № 11. P. 759–765.
10. Afanaseva A. N. Sravnitel'naya otsenka urovnya endogennoy intoksykatsii u lits raznykh vozrastnykh grupp. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2004. № 6. S. 11–12.
11. Karyakina E. V., Belova S. V. Molekuly sredney massy kak integralniypokazatel metabolicheskikh narusheniy (obzor literatury). Klinicheskayalaboratornaya diagnostika. 2004. № 3. S. 3–8.
12. Malahova M. Ya. Endogennaya intoksykatsiya kak otrazhenie kompensatornoyeperestroyki obmennyyh protsessov v organizme. Efferentnaya terapiya. 2000. T. 6. № 4. S. 3–14.

Надійшла до редколегії 18.05.2020
Отримано виправлений варіант 19.06.2020
Підписано до друку 19.06.2020

Received in the editorial 18.05.2020
Received a revised version on 19.06.2020
Signed in the press on 19.06.2020

D. Krenytska, stud.,
N. Raksha, Ph. D.,
O. Savchuk, Dr. Sc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

ANALYSIS OF PEPTIDE COMPONENT OF TISSUES UNDER THE CONDITION OF EXPERIMENTAL OBESITY IN RATS

Obesity is characterized by a certain pathological imbalance in the mechanisms of proteolysis, which results in an increase in the number of degraded protein molecules, their fragments and the peptide pool in the tissues. Despite a significant number of literature on the biochemistry of obesity, the issue of the participation of proteolytic processes in the pathogenesis of obesity, their features and potential effects on metabolism is not well understood. At the same time, the appearance in the bloodstream of atypical protein molecules can be an important component of this pathology. Studying the processes of formation of these molecules can be very useful in planning strategies for correcting the development of this pathological condition, and the molecules described can be used as marker molecules for the development of obesity. The results of this work are the identification of changes in the quantitative and qualitative composition of the peptide component of the fraction of medium-weight molecules in rat tissues under experimental obesity. Chromatography, which separates by size, shows changes in the number of peaks and molecular weight of the peptide molecules in homogenates of obese rat tissue. The results indicate a certain imbalance in the proteolysis system with the development of obesity caused by the consumption of high-calorie diets, which in turn can be a potential cause of the appearance of certain non-physiological mechanisms in the functioning of metabolism in this pathology. This, in turn, can be triggers for the development of concomitant pathology and complicate the correction of the metabolic profile in the development of obesity. Further studies of the characteristics of changes in the peptide pool in rat tissues can contribute to a better understanding of biochemical processes in the context of this pathology, which is important for the development of approaches for the diagnosis and treatment of obesity. The study of potential mechanisms for the development of a dysfunction of the proteolysis system and methods for its correction can be successfully applied when working out strategies for treating various pathological conditions of the body, where a certain imbalance in the functioning of this system occurs.

Keywords: medium weight molecules, obesity, high-calorie diet, peptide pool.

УДК:612.741 + 612.816

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.59-63

О. Колосова, здобувач

Національний університет фізичного виховання та спорту України, Київ, Україна

МОДУЛЯЦІЙНІ ВПЛИВИ СТОМЛЕННЯ НА Н-РЕФЛЕКС КАМБАЛОПОДІБНОГО М'ЯЗА В УМОВАХ ПАРНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ВЕЛИКОГОМІЛКОВОГО НЕРВА В НЕТРЕНОВАНИХ ТА ТРЕНОВАНИХ ЛЮДЕЙ

Зміни параметрів спинального моносинаптичного Н-рефлексу, пов'язані з адаптацією до довготривалого фізичного навантаження, можуть доповнити інформацію щодо механізмів пластичності нервової системи людини. У статті досліджено модуляційні впливи стомлення на Н-рефлекс камбалоподібного м'яза в умовах парної стимуляції великогомілкового нерва з міжімпульсним інтервалом 500 мс у групах нетренираних людей (10 осіб, середній вік $25,3 \pm 1,6$ років) та кваліфікованих спортсменів, тренуваних до фізичного навантаження (10 осіб, середній вік $20,5 \pm 0,5$ років). Реєструвалися тестові Н-відповіді (на стимуляцію першим імпульсом із пари) та кондиційовані Н-відповіді (на стимуляцію другим імпульсом із пари) у стані спокою: до та після періоду розвитку стомлюючого статичного скорочення триголового м'язу литки, що становило 75 % максимального довільного скорочення, тривалістю 6–9 хв. Гомосинаптична постактиваційна депресія (ГПАД), пов'язана з парною стимуляцією великогомілкового нерва, призводила до пригнічення Н-рефлексу на 56 % у нетренираних та на 51 % у тренуваних осіб у стані спокою. Після стомлення амплітуда як тестового, так і кондиційованого Н-рефлексу істотно знижувалася (імовірно, внаслідок активації аферентних волокон груп III і IV, викликані метаболічними і механічними змінами у м'язі), а надалі поступово поверталася до початкового рівня, при цьому у тренуваних осіб відновлення відбувалося швидше. Спостерігалось збільшення інтенсивності гальмування Н-рефлексу під впливом ГПАД, на 20 % у нетренираних та на 15 % у тренуваних осіб, через 90 с після періоду стомлюючого зусилля. Показано, що сукупний вплив стомлення та гомосинаптичної постактиваційної депресії більше виражений у нетренираних осіб порівняно із тренуваними, що може бути пов'язаним з адаптацією спортсменів до тривалого фізичного навантаження.

Ключові слова: Н-рефлекс, стомлення, гомосинаптична постактиваційна депресія, адаптація до фізичного навантаження.

Вступ. Пластичність центральної нервової системи організму людини залучена у виникненні та закріпленні біологічно корисних змін структурно-функціональної та метаболічної організації під впливом тривалого фізичного навантаження [13]. Такі морфофункціональні зміни забезпечують розширення функціональних можливостей, збільшення працездатності спортсмена [1]. З іншого боку, відомо, що стомлення, яке виникає внаслідок навантаження, може обмежувати дієздатність людини; однак нині механізми цього феномена є недостатньо дослідженими. Р. Енока та інші вчені вважають, що це значною мірою пов'язано з неспроможністю сучасної термінології описати велику кількість факторів, які супроводжують стомлення, а також із нестачею дієвих експериментальних моделей [8].

Дослідження динаміки спинального моносинаптичного Н-рефлексу під впливом стомлення дозволяє визначити індивідуальну організацію гальмівних і збуджувальних процесів внутрішньосегментарних систем і характер низхідних впливів із вищих відділів центральної

нервової системи на мотонейронний пул [5]. У літературі повідомлялося про зменшення амплітуди Н-рефлексу, що відводиться від камбалоподібного м'яза (*m. soleus*) людини, впродовж стомлення, що виникало внаслідок переривчастого довільного м'язового скорочення невеликої інтенсивності [14]. Однак при цьому не було отримано детальної характеристики часового перебігу змін Н-рефлексу у відновлювальному періоді після стомлення. Попередні дослідження парної стимуляції камбалоподібного м'яза показали, що міжстимульний інтервал має значний ефект на амплітуду другого Н-рефлексу, нормовану відносно першого; другий Н-рефлекс пригнічувався майже повністю при інтервалі в кілька мілісекунд, а потім поступово відновлювався, досягаючи контрольної амплітуди через 10–12 с [6, 11]. Механізмом такої довготривалої гомосинаптичної постактиваційної депресії Н-рефлексу (ГПАД) прийнято вважати зниження ймовірності вивільнення медіатора синаптичної передачі з аферентних нервових волокон,

пов'язане з їхньою попередньою активацією [9]. У наших попередніх роботах була детально досліджена динаміка відновлення Н-рефлексу після стомлюючого скорочення камбалоподібного м'яза людини у нетрених та тренуваних людей [3], а також вплив стомлення на динаміку Н-рефлексу в умовах парної стимуляції великогомілкового нерва (*n. tibialis*) у здорових нетрених осіб [4]. Однак при цьому не був досліджений вплив м'язового стомлення на реалізацію гальмівних процесів, що модулювали амплітудні показники Н-рефлексу, у нетрених та тренуваних людей. А зміни параметрів Н-рефлексу, пов'язані з адаптацією до довготривалого фізичного навантаження, можуть доповнити інформацію щодо механізмів пластичності нервової системи людини.

Мета дослідження – детальне вивчення впливу стомлення, викликаного тривалим довільним скороченням камбалоподібного м'яза, на динаміку Н-рефлексу в умовах парної стимуляції великогомілкового нерва у нетрених та тренуваних людей.

Матеріали і методи. Дослідження було проведено за участю 20 обстежуваних обох статей, без ознак неврологічної патології на момент обстеження. Усі учасники були ознайомлені із процедурою тестів і дали інформовану згоду. Обстежуваних розділили на дві

групи: нетрених (10 осіб, середній вік $25,3 \pm 1,6$ років) та тренуваних особи (кваліфіковані спортсмени, кандидати в майстри спорту з легкої атлетики, 10 осіб, середній вік $20,5 \pm 0,5$ років).

У дослідженні було використано методику Н-рефлексометрії камбалоподібного м'яза литки (*m. soleus*), що детально описана в нашій попередній роботі [3]. Обстежуваний перебував у положенні сидячи, поставивши праву ступню на закріплену педаль, тензометричний датчик якої реєстрував зусилля, що розвивалося при довільному статичному скороченні триголового м'яза литки (*m. m. gastrocnemius-soleus*) із силою, рівною 75 % від максимальної, упродовж 6–9 хв до появи в обстежуваного об'єктивних ознак втоми (нездатність підтримувати необхідний стабільний рівень зусилля, тремор досліджуваного м'яза). Н-рефлекс викликали біполярною черезшкірною стимуляцією *n. tibialis* у підколінній ямці (поодиноким імпульсом тривалістю 1 мс) та відводили парною стандартних поверхневих електродів за допомогою нейродіагностичного комплексу Nicolet Biomedical Viking Select (Viasys Health care, USA). Парну стимуляцію *n. tibialis* здійснювали з інтервалом 500 мс між тестовим (першим із пари) та кондиційованим (другим із пари) імпульсами (рис. 1).

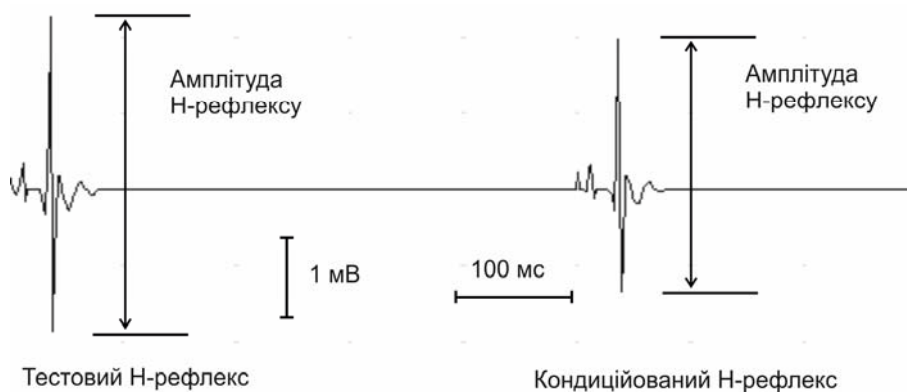


Рис. 1. Реєстрація тестового та кондиційованого Н-рефлексу камбалоподібного м'яза в умовах парної стимуляції великогомілкового нерва

Реєстрацію Н-рефлексу проводили у вихідному стані (до розвитку стомлюючого зусилля), безпосередньо після періоду цього зусилля (0 с), через 45 с, 90 с, 135 с, а також через 5 хв та 10 хв після його закінчення. У певному стані для кожної особи отримували Н-відповіді на 10–12 стимулів (у періоді 0–135 с – відповіді на три стимули), що пред'являли з інтервалом 15 с. Амплітуди Н-відповідей нормували для кожного тестованого, розраховуючи у відсотках відносно індивідуальних показників у стані спокою. Для оцінки впливу умов тесту на досліджувані показники проводили дисперсійний аналіз з повторними вибірками після підтвердження нормальності розподілу даних; для оцінки відмінності показників між їхніми парами в певних умовах тесту проводили аналіз post-hoc на основі тесту Bonferroni за допомогою програми SPSS 17.0.

Результати та їхнє обговорення. Аналіз отриманих даних засвідчив, що гомосинаптична постактиваційна депресія (пов'язана із парною стимуляцією *n. tibialis*, а саме стимуляцією другим імпульсом із пари) викликала гальмування Н-рефлексу *m. soleus* у стані спокою приблизно на 56 % у нетрених та на 51 % у тренуваних осіб. Після періоду розвитку зусилля, що стомлювало

м'яз, амплітуда як тестового, так і кондиційованого Н-рефлексу знижувалася порівняно з відповідним показником у вихідному стані, а надалі поступово поверталася до початкового рівня.

Для того, щоб оцінити сукупні гальмуючі впливи ГПАД та стомлення на Н-рефлекс, амплітуди як тестового, так і кондиційованого Н-рефлексу були виражені у відсотках від контрольної амплітуди тестового Н-рефлексу у стані спокою, до періоду розвитку зусилля, що стомлювало м'яз (рис. 2). Для оцінки впливу умов тесту на досліджувані показники (амплітуду тестової та кондиційованої Н-відповіді) проводили трифакторний дисперсійний аналіз із повторними вибірками (внутрішньогруповий фактор F_1 – час реєстрації, що відображав вплив стомлення; внутрішньогруповий фактор F_2 – кондиціювання, що відображав вплив ГПАД; міжгруповий фактор F_3 – тренуваність). На його підставі було виявлено, що стомлення та ГПАД мали статистично значущий вплив на зазначені вище показники ($F_1 = 55,705$, $p = 0,000$, $F_2 = 261,232$, $p = 0,000$), взаємодія факторів часу та кондиціювання була також статистично значущою ($F_1 \cdot F_2 = 88,111$, $p = 0,000$). Значення міжгрупового фактора $F_3 = 1,736$, $p = 0,195$, тобто тренуваність

не мала статистично значущого впливу на досліджувані показники, проте взаємодія факторів часу та тренуваності, а також часу, кондиціонування та тренуваності

були також статистично значущими ($F1 \cdot F3 = 791,723$, $p = 0,026$, $F1 \cdot F2 \cdot F3 = 1186,791$, $p = 0,008$).

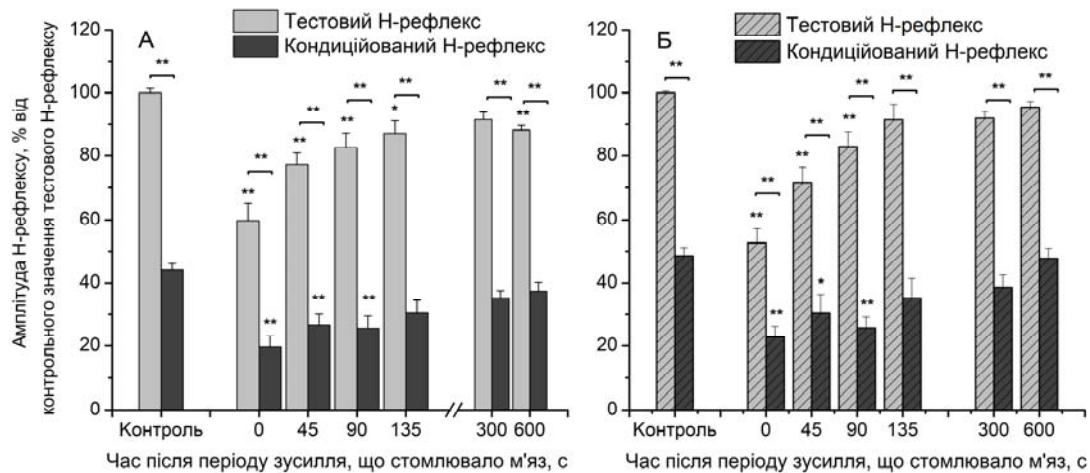


Рис. 2. Зміни тестового та кондиційованого Н-рефлексу камбалоподібного м'язу в умовах парної стимуляції великогомілкового нерва після довготривалого стомлюючого зусилля

Примітки: А – група нетренованих осіб; Б – група тренуваних осіб; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з відповідним контрольним значенням Н-рефлексу; ** з дужкою – $p < 0,01$ при порівнянні поточних значень тестового та кондиційованого Н-рефлексу.

Можна зауважити, що динаміка амплітуд тестового і кондиційованого Н-рефлексу виявилася подібною в групах нетренованих і тренуваних людей. Це загалом узгоджується з результатами Racinais Setal, що досліджували температурнозалежні зміни відновлення Н-рефлексу камбалоподібного м'язу людини при збільшенні міжстимульних інтервалів в умовах ГПАД; автори виявили, що, хоча амплітуда Н-рефлексу знижується під впливом підвищення температури середовища, час відновлення Н-рефлексу та співвідношення кондиційованого Н-рефлексу до тестового залишалися незмінними [12]. Потрібно підкреслити, що у групі тренуваних осіб амплітуда тестового Н-рефлексу вже через 135 с після закінчення періоду стомлюючого зусилля не мала значущої різниці з контрольним показником, тоді як амплітуда тестового Н-рефлексу у групі нетренованих осіб навіть через 10 хв після закінчення періоду стомлюючого зусилля ще не відновилися і була відмінною від контрольного значення. Це узгоджується з нашими попередніми дослідженнями, за результатами яких у групі осіб, тренуваних до фізичного навантаження, гальмування Н-рефлексу під впливом стомлення було меншим і за амплітудою, і за часом, на відміну від групи нетренованих [3]. Вважається, що активація аферентів груп III і IV, викликана метаболічними і механічними змінами внаслідок фізичного навантаження та стомлення, може бути причиною істотного пригнічення Н-рефлексу (імовірно, шляхом пресинаптичного гальмування передачі від аферентів Ia) [7, 10]. Ураховуючи, що при виконанні стандартного фізичного навантаження нижча концентрація лактату у крові свідчить про вищий рівень тренуваності спортсмена [2], можна

припустити, що менш виражене пригнічення Н-рефлексу у групі тренуваних осіб пов'язане з меншим накопиченням і швидшою нейтралізацією метаболітів після м'язового стомлення внаслідок адаптації до тривалого фізичного навантаження.

Для оцінки інтенсивності гальмування Н-рефлексу під впливом ГПАД обчислювали коефіцієнт інтенсивності гальмування, $K_i = (H_m - H_k)/H_m$, де H_m і H_k – значення амплітуд тестового і кондиційованого Н-рефлексів, відповідно (рис. 3). Показники K_i в різні моменти часу нормували відносно контрольного стану. Проводили двофакторний дисперсійний аналіз з повторними вибірками (внутрішньогруповий фактор $F1$ – час реєстрації; міжгруповий фактор $F2$ – тренуваність). На його підставі було виявлено, що інтенсивність гальмування під впливом ГПАД статистично значуще змінювалася в часі ($F1 = 2,738$, $p = 0,001$). Значення міжгрупового фактора $F = 2,805$, $p = 0,103$, тобто тренуваність не мала статистично значущого впливу на інтенсивність ГПАД, проте взаємодія факторів часу та тренуваності була статистично значущою ($F1 \cdot F2 = 1,976$, $p = 0,025$). Різниця значень K_i через 90 с після періоду стомлення щодо контрольного показника була статистично значущою у групі нетренованих осіб ($p = 0,020$) та близькою до значущості у групі тренуваних осіб ($p = 0,087$) за критерієм Dunnett. Окрім цього, безпосередньо після закінчення періоду стомлюючого зусилля величина K_i у нетренованих осіб була більше статистично значущою, ніж у тренуваних ($p < 0,05$). Такі зміни K_i можуть свідчити про збільшення інтенсивності ГПАД після періоду розвитку стомлюючого зусилля, більше виражене у нетренованих осіб порівняно із тренуваними.

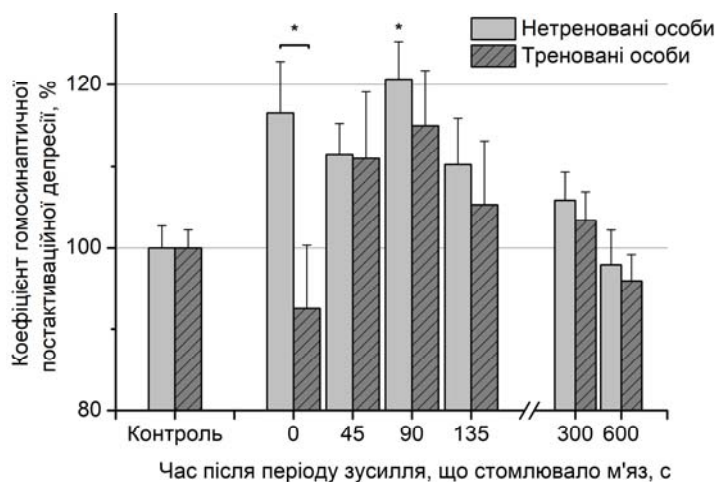


Рис. 3. Зміни інтенсивності пригнічення Н-рефлексу, викликаного парною стимуляцією великогомілкового нерва, після довготривалого стомлюючого зусилля

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з відповідним контрольним значенням коефіцієнта ГПАД; * з дужкою – $p < 0,05$ при порівнянні поточних значень коефіцієнта ГПАД у нетренованих і тренуваних осіб.

Отже, за результатами наших досліджень, у кваліфікованих спортсменів, тренуваних до довготривалого фізичного навантаження, гальмування Н-рефлексу внаслідок комплексної дії стомлення та гомосинаптичної постактиваційної депресії в умовах парної стимуляції великогомілкового нерва є менше вираженням порівняно з нетренованими людьми, що може бути пов'язаним із виявом адаптаційних реакцій нервової та м'язової систем до фізичного навантаження. Отримані результати можуть допомогти у розкритті механізмів регуляції м'язової діяльності при стомленні та відновленні після стомлюючого зусилля у м'язі, супрасегментарних структурах і сегменті спинного мозку, а також механізмів пластичності нервової системи людини.

Висновки:

- Гомосинаптична постактиваційна депресія, викликана парною стимуляцією великогомілкового нерва, призводила до пригнічення Н-рефлексу камбалоподібного м'яза у стані спокою у нетренованих та тренуваних людей.
- У групі тренуваних осіб відновлення тестового (першого з пари) Н-рефлексу, загальмованого під впливом стомлення, було швидшим порівняно із групою нетренованих, що може бути пов'язаним з адаптацією спортсменів до тривалого фізичного навантаження.
- Динаміка амплітуд тестового і кондиційованого (другого з пари) Н-рефлексу під впливом м'язового стомлення була подібною, однак спостерігалось збільшення інтенсивності гальмування Н-рефлексу під впливом ГПАД, найбільш виражене у нетренованих осіб через 90 с після періоду стомлюючого зусилля.
- Показано, що сукупний вплив стомлення та гомосинаптичної постактиваційної депресії більш виражений у нетренованих осіб порівняно з тренуваними.

Передбачається проведення подальшого дослідження гальмівних нервових процесів, що відбуваються на рівні спинного мозку при м'язовому стомленні, зокрема і пресинаптичного гальмування, викликаного стимуляцією малоомілкового нерва у нетренованих осіб та тренуваних осіб із різним рівнем адаптації до фізичного навантаження.

Список використаних джерел:

- Андріянова Е. Ю. Механізми дигитальної пластичності спинномозгових нервних ґанґліїв на фоні довготривалої адаптації до спортивної діяльності / Е. Ю. Андріянова, О. В. Ланська // Физиология человека. – 2014. – Т. 40, № 3. – С. 73–85.
- Запорожанов В. А. Контроль в спортивной тренировке / В. А. Запорожанов. – Киев: Здоров'я, 1988. – 139 с.
- Колосова О. В. Взаємозв'язок змін Н-рефлексу камбалоподібного м'яза людини, викликаних стомленням, та рівня адаптації до фізичного навантаження / О. В. Колосова // Вісник Черкаського університету. – 2016. – № 1. – С. 59–66.
- Колосова О. В. Модуляція Н-рефлексу камбалоподібного м'яза людини, пов'язана зі стомленням, за умов гомосинаптичної постактиваційної депресії при парній стимуляції великогомілкового нерву / О. В. Колосова // Вісник Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Сер.: Біологія. – 2017. – Т. 74, № 2. – С. 55–59.
- Команцев В. Н. Методические основы клинической электромиографии / В. Н. Команцев. – СПб, 2006. – 349 с.
- Crone C. Methodological implications of the post activation depression of the soleus H-reflex in man / C. Crone, J. Nielsen // Exp Brain Res. – 1989. – Vol. 78. – P. 28–32.
- Dercherchi P. Role of metabosensitive afferent fibers in neuromuscular adaptive mechanisms / P. Dercherchi, E. Dousset // Can. J. Neurol. Sci. – 2003. – Vol. 30, N 2. – P. 91–97.
- Enoka R. M. Translating Fatigue to Human Performance / R. M. Enoka, J. Duchateau // Med Sci Sports Exerc. – 2016. – Vol. 48, N 11. – P. 2228–2238.
- On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subjects / H. Hultborn, M. Illert, J. Nielsen et al. // Exp. Brain Res. – 1996. – Vol. 108. – P. 450–462.
- Laurin J. Modulation of the Spinal Excitability by Muscle Metabosensitive Afferent Fibers / J. Laurin, E. Dousset, P. Decherchi // J Neurosci Res. – 2010. – Vol. 88, N 12. – P. 2755–64. doi: 10.1002/jnr.22432
- Magladery J. W. Some mechanisms in man suppressing spinal motoneuron excitability / J. W. Magladery, R. D. Teasdale, A. M. Park // Trans. Am. Neurol. Assoc. – 1952. – № 56. – P. 100–105.
- Racinais S. Temperature affects maximum H-reflex amplitude but not homosynaptic postactivation depression / S. Racinais, A. G. Cresswell // Physiol Rep. – 2013. – Vol. 1, N 2. – P. 1–7. doi:10.1002/phy2.19
- Tahayori B. Activity-dependent plasticity of spinal circuits in the developing and mature spinal cord / B. Tahayori, D. M. Walton, R. A. Kuchinad, T. D. Ivanova, S. J. Garland // Eur J Appl Physiol. – 2002. – Vol. 87. – P. 462–468. doi: 10.1007/s00421-002-0670-9
- Walton D. M. Reflex inhibition during muscle fatigue in endurance-trained and sedentary individuals / D. M. Walton, R. A. Kuchinad, T. D. Ivanova, S. J. Garland // Eur J Appl Physiol. – 2002. – Vol. 87. – P. 462–468. doi: 10.1007/s00421-002-0670-9

References:

- Andriyanova E. Yu., Lanskaya O. V. Motor plasticity mechanisms of spinal cord nervous chains in conditions of longterm adaptation for sport performance. Human Physiology. 2014; 40(3): 73–85.
- Zaporozhanov V. A. Control in sport training. Kiev: Zdorovya; 1988. 139 p.

3. Kolosova O. V. The relationship of fatigue-induced changes of human soleus Hoffmann reflex and level of adaptation to physical exercise. *Bulletin of Cherkasy University*. 2016; 1: 59–66.
4. Kolosova O. V. Fatigue-induced modulation of human soleus Hoffmann reflex under conditions of homosynaptic post activation depression due to pair tibial nerve stimulation. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*. 2017; 74(2): 55–9.
5. Komantsev V. N. Methodical bases of clinical electromyography. Saint Petersburg; 2006. 349 p.
6. Crone C., Nielsen J. Methodological implications of the post activation depression of the soleus H-reflex in man. *Exp Brain Res*. 1989; 78: 28–32.
7. Dercherchi P., Dousset E. Role of metabosensitive afferent fibers in neuromuscular adaptive mechanisms. *Can. J. Neurol. Sci.* 2003; 30(2): 91–7.
8. Enoka R. M., Duchateau J. Translating Fatigue to Human Performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2016 Nov.; 48(11): 2228–2238.
9. On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subjects / H. Hultborn, M. Illert, J. Nielsen et al. *Exp. Brain Res*. 1996; 108: 450–462.
10. Laurin J., Dousset E., Decherchi P. Modulation of the Spinal Excitability by Muscle Metabosensitive Afferent Fibers *J Neurosci Res*. 2010 Sep.; 88(12): 2755–2764. doi: 10.1002/jnr.22432.

11. Magladery Jw., Teasdale Rd., Park Am., Languth Hw. Some mechanisms in man suppressing spinal motoneuron excitability. *Trans Am Neurol Assoc*. 1952; 56: 100–105.
12. Racinais S., Cresswell A. G. Temperature affects maximum H-reflex amplitude but not homosynaptic postactivation depression. *Physiol Rep*. 2013; 1(2): 1–7. doi:10.1002/phy2.19.
13. Tahayori B., Koceja D. M. Activity-dependent plasticity of spinal circuits in the developing and mature spinal cord. *Neural Plast*. 2012; 2012: 1–12. doi: 10.1155/2012/964843.
14. Walton D. M., Kuchinad R. A., Ivanova T. D., Garland S. J. Reflex inhibition during muscle fatigue in endurance-trained and sedentary individuals. *Eur J Appl Physiol*. 2002; 87: 462–8. doi: 10.1007/s00421-002-0670-9.

Надійшла до редколегії 18.05.2020
Отримано виправлений варіант 19.06.2020
Підписано до друку 19.06.2020

Received in the editorial 18.05.2020
Received a revised version on 19.06.2020
Signed in the press on 19.06.2020

Е. Колосова, соискатель

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, Киев, Украина

МОДУЛЯЦИОННЫЕ ВЛИЯНИЯ УТОМЛЕНИЯ НА Н-РЕФЛЕКС КАМБАЛОВОИДНОЙ МЫШЦЫ В УСЛОВИЯХ ПАРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ БОЛЬШЕБЕРЦОВОГО НЕРВА У НЕТРЕНИРОВАННЫХ И ТРЕНИРОВАННЫХ ЛЮДЕЙ

Изменения параметров спинального моносинаптического Н-рефлекса, связанные с адаптацией к длительной физической нагрузке, могут дополнить информацию о механизмах пластичности нервной системы человека. Цель работы – исследование модуляционных влияний утомления на Н-рефлекс камбаловидной мышцы в условиях парной стимуляции большеберцового нерва с межимпульсным интервалом 500 мс в группах нетренированных людей (10 человек, средний возраст $25,3 \pm 1,6$ лет) и квалифицированных спортсменов, тренируемых к физической нагрузке (10 человек, средний возраст $20,5 \pm 0,5$ лет). Регистрировались тестовые Н-ответы (на стимуляцию первым импульсом из пары) и кондиционированные Н-ответы (на стимуляцию вторым импульсом из пары) в состоянии покоя: до и после периода развития утомляющего статического сокращения трехглавой мышцы голени с усилием, составляющим 75 % максимального произвольного сокращения, длительностью 6–9 мин. Гомосинаптическая постактивационная депрессия (ГПАД), связанная с парной стимуляцией большеберцового нерва, приводила к подавлению Н-рефлекса на 56 % у нетренированных и на 51 % у тренированных участников в состоянии покоя. После утомления амплитуда как тестового, так и кондиционированного Н-рефлекса значительно снижалась (вероятно, вследствие активации афферентных волокон групп III и IV, вызванной метаболическими и механическими изменениями в мышце), а далее постепенно возвращалась к исходному уровню, при этом у тренированных людей восстановление происходило быстрее. Наблюдалось увеличение интенсивности торможения Н-рефлекса под влиянием ГПАД на 20 % у нетренированных и на 15 % у тренированных людей, через 90 с после периода утомляющего усилия. Показано, что комплексное влияние утомления и гомосинаптической постактивационной депрессии больше выражено у нетренированных людей по сравнению с тренированными, что может быть связано с адаптацией спортсменов к длительной физической нагрузке.

Ключевые слова: Н-рефлекс, утомление, гомосинаптическая постактивационная депрессия, адаптация к физической нагрузке.

O. Kolosova, Ph. D. stud.

National University of Ukraine on Physical Education and Sport, Kyiv, Ukraine

FATIGUE-INDUCED MODULATION OF HUMAN SOLEUS H-REFLEX IN CONDITIONS OF PAIR TIBIAL NERVE STIMULATION IN UNTRAINED AND TRAINED PEOPLE

Monosynaptic reflex indices peculiarities, concerned with adaptative reactions to the long-term physical exercise, might add new data about mechanisms of human nervous system plasticity. The objective of the research was to investigate the influence of fatigue on human soleus H (Hoffmann) reflex in conditions of pair stimulation of tibial nerve with inter stimulus interval 500 m sin tenun trained people (age: $M = 25,3$, $SE = 1,6$ years) and ten trained athletes (age: $M = 20,5$, $SE = 0,5$ years). H-reflex study was performed using neurodiagnostic complex Nicolet Biomedical Viking Select (Viasys Health care, USA) at rest: before and after long-lasting isometric voluntary contraction of calf muscle, which caused the soleus muscle fatigue; the muscle force was equal to 75 % of maximal voluntary contraction. Test and conditioned responses (by means of stimulation with first and second impulses from pair) were registered. Homosynaptic postactivation depression (HPAD), associated with pair stimulation of tibial nerve, led to 56 % and 51 % inhibition of H-reflex in untrained and trained people at rest, respectively ($p < 0,05$). After fatiguing voluntary contraction the amplitudes of test and conditioned soleus H-reflex were both reduced approximately in half. Then both H-reflex amplitudes subsequently recovered, more rapidly in trained people. Soleus H-reflex inhibition might be due to the activation of the groups III and IV afferent nerves under the influence of mechanical and metabolic changes in the muscle. It was also found that HPAD H-reflex inhibition intensity increased by 20 % in untrained people and by 15 % in trained ones at 90 s after fatiguing voluntary contraction ($p < 0,05$). It is assumed that complex influence of fatigue and homosynaptic postactivation depression was more pronounced in untrained people in comparison with trained ones. It can be ascribed to athletes adaptation to the long-term physical exercise.

Keywords: Hoffmann reflex, fatigue, homosynaptic post activation depression, adaptation to physical exercise.

УДК 616.72-002: 577.122.8
DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.64-68

О. Короткий, канд. біол. наук,
Л. Кот, канд. біол. наук,
К. Дворщенко, д-р біол. наук,
Л. Остапченко, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРИТУ ТА СУМІСНОГО ВВЕДЕННЯ ХОНДРОПРОТЕКТОРА ТА МУЛЬТИПРОБІОТИКА

Однією з актуальних проблем сучасної медицини є захворювання суглобів. Серед них важливе місце займають остеоартрити. Формування остеоартритів супроводжується розвитком запалення, що призводить до пошкодження всіх структур суглобу. Важливу роль у запальних процесах відіграє інтенсифікація вільнорадикальних процесів. По мірі розвитку захворювання суглоби втрачають рухливість, що призводить до зниження якості життя хворих та розвитку інвалідності. У зв'язку із цим актуальним є пошук препаратів, які б мали регенераційні, протизапальні й антирадикальні властивості.

Проаналізовано сумісну дію хондроїтин сульфату та мультипробіотика на вміст продуктів окисної модифікації білків і рівень сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів за умов моноіодацетат-індукованого остеоартриту.

Дослідження проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–240 г із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Модель експериментального остеоартриту створювали шляхом введення в колінну зв'язку 1 мг моноіодацетату натрію. У ролі терапевтичних агентів використовували хондроїтин сульфат та мультипробіотик. Уміст продуктів окисної модифікації білків визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном. Рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних груп вимірювали за методом Елмана.

Встановлено, що при моноіодацетат-індукованому остеоартриті у сироватці крові щурів зростає вміст продуктів окисної модифікації білків. Зростає рівень нейтральних альдегідних продуктів ($E_{\text{max}} = 356$ нм) – у 2,5 раза та нейтральних кетонних продуктів ($E_{\text{max}} = 370$ нм) відповідно – в 2,1 раза порівняно з контролем. За тих же умов експерименту у сироватці крові кількість основних альдегідних продуктів ($E_{\text{max}} = 430$ нм) збільшується в 1,9 раза, при цьому вміст основних кетонних продуктів ($E_{\text{max}} = 530$ нм) зростає в 1,7 раза порівняно з показниками контрольної групи. При експериментальному остеоартриті у сироватці крові вміст сульфгідрильних груп знижується: небілкових SH-груп – в 1,5 раза, білкових і загальних SH-груп – в 1,7 раза відносно контролю. Це свідчить про порушення окисно-антиоксидантної рівноваги та розвиток окисного стресу в організмі при експериментальному остеоартриті. Показано, що при сумісному введенні хондроїтин сульфату та мультипробіотика тваринам з експериментальним остеоартритом зазначені вище показники частково відновлювалися.

Ключові слова: експериментальний остеоартрит, хондроїтин сульфат, мультипробіотик, окисна модифікація білків, сироватка крові.

Вступ. Нині патологія суглобів є однією з актуальних проблем сучасної медицини, а профілактика та лікування має першочергове значення для збереження фізичної активності та дієздатності хворих. Захворювання суглобів мають важливе соціальне значення, оскільки вони роблять найбільший внесок у погіршення загального стану здоров'я та зниження працездатності населення. Наслідком цих змін є системні ускладнення, прогресуюча інвалідність, що загальноспричинює високі соціально-економічні витрати [1, 2]. Серед захворювань суглобів важливе місце займають остеоартрити, які є гетерогенною групою захворювань різної етіології (вікові зміни, механічні травми, інфекційні захворювання, метаболічні порушення тощо), але з подібними біологічними, морфологічними і клінічними наслідками, за яких до патологічного процесу залучаються всі структури суглоба [3–5].

Розвиток і прогресування остеоартриту пов'язані із запальними процесами та дистрофічними змінами хрящової тканини, що призводить до деформації кісткової тканини й атрофії м'язів ураженого суглобу. Пошкодження хряща пов'язано зі зниженням вмісту хондроїтин сульфату, який є одним з основних компонентів екстрацелюлярного матриксу хрящової тканини. Він входить до складу протеогліканових комплексів основної речовини хряща та виконує важливу роль у підтримці його пружності та щільності [6–8]. З огляду на це дослідження препаратів, в основі яких хондроїтин сульфат, є перспективним у профілактиці та лікуванні захворювань суглобів [9].

Серед досліджень останніх років з'являються дані про потенціальний взаємозв'язок між розвитком остеоартритів та станом мікрофлори травної системи [10–13]. Відомо, що дисбіоз кишкової мікробіоти тісно пов'язаний

із патогенезом низки метаболічних і запальних захворювань, тому, відповідно, він може бути задіяний у розвитку остеоартритів. Зважаючи на це, актуальним питанням є дослідження участі кишкової мікрофлори у розвитку захворювань суглобів.

Аналіз літературних даних й отримані нами результати свідчать, що мультипробіотичний препарат "Симбітер®" здатен підтримувати та відновлювати нормобіоз шлунково-кишкового тракту (ШКТ) на різних експериментальних моделях [14, 15]. Здатність мультипробіотика ліквідувати колонізацію ШКТ умовно-патогенною мікрофлорою запобігає утворенню джерел запалення. Відповідно, цікавим є вивчення дії зазначеного мультипробіотика на розвиток остеоартриту, механізми формування якого пов'язані із запальними процесами.

Мета дослідження – проаналізувати сумісну дію хондроїтин сульфату та мультипробіотика на вміст продуктів окисної модифікації білків і рівень сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів за умов моноіодацетат-індукованого остеоартриту.

Об'єкт та методи досліджень. Усіх тварин розділили на п'ять експериментальних груп. Перша група – контроль: тваринам у перший день вводили в колінну зв'язку 0,05 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl та щоденно протягом 14 діб з 8-ої по 22-гу добу вводили пергастрально 1 мл питної води в перерахунку на 1 кг маси тіла тварини. Друга група – хондроїтин сульфат (контроль на введення препарату): вводили внутрішньом'язово препарат "Драстоп" ("УОРЛД МЕДИЦИН ЛІМІТЕД", Велика Британія), основною складовою якого є хондроїтин сульфат натрію, 1 раз на добу протягом 25 діб. Третя група – мультипробіотик (контроль на введення препарату): тваринам у перший день вводили в колінну зв'язку

0,05 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl та щоденно протягом 14 діб, з 8-ої по 22-гу добу вводили пергастрально мультипробіотик "Симбітер®" ("Пролісок", Україна) у дозі 140 мг/кг, розведений в 1 мл питної води на 1 кг маси тварини. Четверта група – модель остеоартриту: щурам у перший день вводили в колінну зв'язку 1 мг моноіодацетат натрію (МІА), розчиненого у 0,05 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl [16] та щоденно протягом 14 діб вводили пергастрально 1 мл питної води в перерахунок на 1 кг маси тварини. П'ята група – остеоартрит + хондроїтин сульфат + мультипробіотик: тваринам вводили в перший день в колінну зв'язку 1 мг моноіодацетат натрію, розчиненого у 0,05 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl, вводили внутрішньом'язово хондроїтин сульфат 1 раз на добу протягом 25 діб та пергастрально мультипробіотик у дозі 140 мг/кг, розведений в 1 мл питної води на 1 кг маси тварини. Тварин умертвляли на 30 добу після початку експерименту згідно із протоколом етичного комітету, після чого швидко робили забір крові. Кров інкубували в термостаті при 37°C протягом 30 хв, після чого центрифугували 1000 g протягом 15 хв. Сироватку відбирали у пластикові мікропробірки та зберігали при –71°C не більше трьох місяців до початку подальших досліджень. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становила 50 особин.

Уміст продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [17]. Рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгидрильних груп вимірювали за методом Елмана [18]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Результати та їхнє обговорення. Невід'ємною складовою формування запалення є розвиток окисного стресу, що виникає внаслідок порушення окисно-антиоксидантної рівноваги. Зазначений процес може бути наслідком як нестачі системи антиоксидантного захисту, так і надмірного утворення вільних радикалів [19]. Наприклад, при розвитку та прогресуванні запалення у суглобах розвивається окисний стрес, що виникає внаслідок постійної генерації вільних радикалів активованими фагоцитами та за рахунок гіпоксичних процесів при роботі суглобів, що призводить до пошкодження всіх структурних елементів суглобу (хрящової, кісткової, присуглобової тканини, синовіальної рідини) [20, 21].

Найбільш ранній індикатор окисного стресу – окисна деструкція білків, які є основними мішенями для радикалів та двохелектронних окислювачів у біологічних системах [22, 23]. Вільні радикали атакують білки по всій довжині поліпептидного ланцюга, порушуючи не тільки первинну, але і вторинну та третинну їхню структуру, що призводить до агрегації або фрагментації білкової молекули. Інтенсивність окисної модифікації білків визначається особливостями їхнього амінокислотного складу.

Акцепторними групами, що здатні перехоплювати електрони, взаємодіючи з активними формами кисню й утворювати аніон-радикали, можуть бути дисульфідні, сульфгидрильні, карбонільні, карбоксильні й аміногрупи білків. Модифікація білків може призвести до підвищення гідрофільності бічного ланцюга, фрагментації бічного й основного ланцюга, агрегації за рахунок ковалентних поперечних зв'язків або гідрофобних взаємодій, розгортанню білка та зміни конформації, до змінених взаємодій з біологічними партнерами та зміненого обертання. Утворення та накопичення таких модифікованих білків порушує їхнє функціонування, що призводить до розвитку різних патологічних станів та формування захворювань [24]. Згідно з даними літератури, окисно-модифіковані білки можуть перебувати в живих організмах досить тривалий час (години, дні та навіть роки (наприклад ліпофусцин)), тоді як вільні радикали, продукти перекисного окиснення ліпідів існують у вільному стані набагато коротший період. У зв'язку із цим окисно-модифіковані білки є відносно стабільним діагностичним параметром їхнього структурно-функціонального стану та можуть відігравати роль маркерів формування патологічних процесів як на локальному рівні, так і на рівні цілого організму.

У ході проведених експериментальних досліджень встановлено, що у щурів при моноіодацетат-індукованому остеоартриті у сироватці крові вміст продуктів окисної модифікації білків зростає (табл. 1). Зокрема, збільшується рівень нейтральних альдегідних продуктів ($E_{\max} = 356$ нм) – в 2,5 раза та нейтральних кетонних продуктів ($E_{\max} = 370$ нм) відповідно – в 2,1 раза порівняно з контролем. За тих же умов експерименту у сироватці крові кількість основних альдегідних продуктів ($E_{\max} = 430$ нм) збільшується в 1,9 раза відносно контрольної групи тварин, при цьому вміст основних кетонних продуктів ($E_{\max} = 530$ нм) зростає в 1,7 раза порівняно з показниками контрольної групи тварин (табл. 1).

Показано, що при сумісному введенні хондроїтин сульфату та мультипробіотика щурам з експериментальним остеоартритом у сироватці крові зменшується рівень окисної модифікації білків: нейтральних альдегідних продуктів ($E_{\max} = 356$ нм) – в 1,8 раза та нейтральних кетонних продуктів ($E_{\max} = 370$ нм) відповідно – в 1,7 раза відносно параметрів групи тварин з патологією (табл. 1). За тих же умов експерименту у сироватці крові кількість основних альдегідних продуктів ($E_{\max} = 430$ нм) знижується в 1,5 раза, при цьому вміст основних кетонних продуктів ($E_{\max} = 530$ нм) зменшується в 1,4 раза відносно значень групи тварин з експериментальним остеоартритом (табл. 1).

Виявлено, що введення щурам як хондроїтин сульфату, так і мультипробіотика не впливає на вміст продуктів окисної модифікації білків у сироватці крові контрольної групи щурів (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст продуктів окисної модифікації білків у сироватці крові щурів при експериментальному остеоартриті, ум. од. $\times$ мг білка⁻¹ ($M \pm m$, $n = 10$)

Показник	Продукти нейтрального характеру		Продукти основного характеру	
	356 нм, альдопохідні	370 нм, кетопохідні	430 нм, альдопохідні	530 нм, кетопохідні
Групи тварин				
Контроль	0,143 $\pm$ 0,013	0,115 $\pm$ 0,011	0,072 $\pm$ 0,006	0,042 $\pm$ 0,004
Хондроїтин сульфат	0,145 $\pm$ 0,014	0,112 $\pm$ 0,011	0,071 $\pm$ 0,007	0,041 $\pm$ 0,004
Мультипробіотик	0,138 $\pm$ 0,013	0,103 $\pm$ 0,009	0,069 $\pm$ 0,006	0,039 $\pm$ 0,003
Остеоартрит	0,347 $\pm$ 0,033*	0,238 $\pm$ 0,021*	0,134 $\pm$ 0,012*	0,073 $\pm$ 0,006
Остеоартрит + хондроїтин сульфат + мультипробіотик	0,193 $\pm$ 0,018**	0,139 $\pm$ 0,013**	0,088 $\pm$ 0,008#	0,053 $\pm$ 0,004**

Примітки: * – $p < 0,05$ відносно контролю; # – $p < 0,05$ відносно групи тварин з остеоартритом

Показником білкової модифікації є окиснення їхніх сульфгідрильних груп, яке може відбуватись як прямим, так і ферментативним шляхом за участі ферменту глутатіонпероксидази та гідроперекисей ліпідів [25]. Насамперед окисненню піддаються саме сульфгідрильні групи білків, що оберігає від окиснення інші функціональні групи та молекули. Сульфгідрильні групи входять до складу як високомолекулярних білків (білок-зв'язані SH-групи), так і до низькомолекулярних пептидів (небілкові SH-групи), переважно у складі цистеїнових залишків.

Виявлено, що у щурів при моноіодацетат-індукованому остеоартриті у сироватці крові вміст сульфгідрильних груп знижується: небілкових SH-груп – в 1,5 раза, білкових і загальних SH-груп – в 1,7 раза щодо контролю (табл. 2). Встановлене зниження вмісту сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів за умов експериментального остеоартрити свідчить про накопичення ковалентних зв'язків за участі цистеїну та метіоніну, а також про окиснення SH-груп.

Таблиця 2. Вміст сульфгідрильних (SH-) груп у сироватці крові щурів при експериментальному остеоартриті, мкмоль × мг білка⁻¹ ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи тварин	Показник	небілкові SH-групи	білкові SH-групи	загальні SH-групи
Контроль		0,25 ± 0,02	4,37 ± 0,41	4,62 ± 0,43
Хондроїтин сульфат		0,27 ± 0,02	4,32 ± 0,39	4,59 ± 0,41
Мультипробіотик		0,33 ± 0,03*	4,21 ± 0,38	4,53 ± 0,42
Остеоартрит		0,17 ± 0,01*	2,51 ± 0,22*	2,68 ± 0,23*
Остеоартрит + хондроїтин сульфат + мультипробіотик		0,23 ± 0,02#	3,68 ± 0,29#	3,91 ± 0,34#

Примітки: * – $p < 0,05$ відносно контролю; # – $p < 0,05$ відносно групи тварин з остеоартритом.

При сумісному введенні хондроїтин сульфату та мультипробіотика тваринам з експериментальним остеоартритом у сироватці крові спостерігається часткове відновлення рівня сульфгідрильних груп: зростає вміст небілкових груп – в 1,4 раза, білкових і загальних SH-груп – в 1,5 раза відносно групи щурів з патологією (табл. 2).

Показано, що при введенні тваринам контрольної групи хондроїтин сульфату рівень сульфгідрильних груп у сироватці крові залишається в межах контрольних значень. Виявлено, що введення щурам мультипробіотика призводить до зростання у сироватці крові вмісту небілкових сульфгідрильних груп в 1,3 раза порівняно із значенням показником контрольної групи тварин (табл. 2). Це пов'язано зі здатністю мікроорганізмів, що входять до складу досліджуваного мультипробіотика, утворювати попередник відновленого глутатіону (γ -глутамілцистеїн). Крім того, певні штами бактерій (*Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis* тощо) можуть безпосередньо синтезувати відновлений глутатіон [26–28].

Отже, згідно з отриманими нами результатами встановлено, що при моноіодацетат-індукованому остеоартриті у сироватці крові щурів активуються вільнорадикальні процеси. Оскільки білки є високочутливими до вільнорадикального окиснення, то рівень їхнього окиснення відображає про-/антиоксидантний баланс в організмі. Відповідно, виявлене нами зростання вмісту продуктів окисної модифікації білків може викликати низку негативних наслідків: порушення структурної організації білків, зміни заряду білкової молекули, трансформації чутливості до протеолізу, що може призвести до порушення або втрати функціональної активності білкових молекул (структурної, каталітичної, регуляторної, транспортної, сигнальної, рецепторної тощо). Крім того, утворений пул модифікованих білків робить їх чутливішими до протеолізу, що сприяє подальшій інтенсифікації деструктивних процесів. Окиснені білки здатні відігравати роль джерела вільних радикалів, виснажувати запаси антиоксидантів (глутатіон, аскорбінова кислота). У молекулярних механізмах вільнорадикальних процесів окиснення білків може спричинити деструкцію інших молекул (ліпіди, ДНК), що сприятиме прогресуванню патологічних станів та розвитку захворювань [29, 30].

Виявлене зниження утворення окиснених білкових молекул у сироватці крові при сумісному введенні хонд-

роїтин сульфату та мультипробіотика щурам при експериментальному остеоартриті пов'язано із широким спектром біологічної активності досліджуваних препаратів. Наприклад, хондроїтин сульфат володіє вираженою гідрофільністю за рахунок наявності карбоксильної та сульфатної груп, що сприяє нормальному функціонуванню хряща та збереженню його еластичності. Він активує анаболічні процеси за рахунок стимуляції синтезу протеогліканів і колагену, а також пригнічує синтез ферментів деструкції хряща, що загалом сприяє відновленню структурно-функціонального стану хрящової тканини. Крім того, хондроїтин сульфат характеризується антизапальними (зменшує біосинтез різних прозапальних молекул) й антиоксидантними властивостями (здатність хелатувати іони перехідних металів, що беруть безпосередню участь в ініціюванні реакцій Фентона та Хабер – Вейса) [31, 32].

Механізм дії мультипробіотика "Симбітер®" базується на його здатності ефективно ліквідовувати мікроекологічні порушення за рахунок високої антагоністичної активності щодо широкого спектра патогенних й умовно-патогенних мікроорганізмів та зменшувати запальні процеси на локальному та системному рівнях організму. Зазначений мультипробіотик містить штами бактерій родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* та *Propionibacterium*, що мають різні механізми біологічної активності та створюють умови для формування взаємовигідних симбіотичних відносин між окремими бактеріальними компонентами. Крім того, бактеріальні штами у складі мультипробіотика "Симбітер®" є активними продуцентами біологічно активних метаболітів: вітамінів, полісахаридів, коротколанцюгових жирних кислот, глікопептидів, антиоксидантів, імуномодуляторів, травних ферментів, а також вони беруть участь у деградації токсинів, алергенів, що розширює спектр біологічної активності препарату [33, 34].

Висновки. Встановлено, що при експериментальному остеоартриті у сироватці крові щурів зростає вміст продуктів окисної модифікації білків, що свідчить про зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у прооксидантний бік. При сумісному введенні хондроїтин сульфату та мультипробіотика щурам з експериментальним остеоартритом відбувається часткове зниження вмісту продуктів окиснення білкових молекул у сироватці крові тварин.

Список використаних джерел:

1. The Link Between Inflammaging and Degenerative Joint Diseases / E. Rezus, A. Cardoneanu, A. Burlui et al. // *Int J Mol Sci.* – 2019 Jan. 31. – 20(3). – P. 614.
2. Abramoff B. Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options / B. Abramoff, F. E. Caldera // *Med Clin North Am.* – 2020 Mar. – 104(2). – P. 293–311.
3. Man G. S. Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint / G. S. Man, G. Mologhianu // *J. Med. Life.* – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 37–41.
4. O'Neill T. W. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of osteoarthritis / T. W. O'Neill, P. S. McCabe, J. McBeth // *Best Pract Res Clin Rheumatol.* – 2018 Apr. – 32(2). – P. 312–326.
5. Hunter D. J. Osteoarthritis / D. J. Hunter, S. Bierma-Zeinstra // *Lancet.* – 2019 Apr. 27. – 393(10182). – P. 1745–1759.
6. Martel-Pelletier J. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate / J. Martel-Pelletier, A. Farran, E. Montell et al. // *Molecules.* – 2015. – Vol. 20, № 3. – P. 4277–4289.
7. Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis / M. Bishnoi, A. Jain, P. Hurkat, S. K. Jain // *Glycoconj. J.* – 2016. – Vol. 33, № 5. – P. 693–705.
8. Theocharis AD. The extracellular matrix as a multitasking player in disease / A. D. Theocharis, D. Manou, N. K. Karamanos // *FEBS J.* – 2019 Aug. – 286(15). – P. 2830–2869.
9. Honvo G. Update on the role of pharmaceutical-grade chondroitin sulfate in the symptomatic management of knee osteoarthritis / G. Honvo, O. Bruyère, J. Y. Reginster // *Aging Clin Exp Res.* – 2019 Aug. – 31(8). – 1163–1167.
10. Vitetta L. The gastrointestinal microbiome and musculoskeletal diseases: a beneficial role for probiotics and prebiotics / L. Vitetta, S. Coulson, A. W. Linnane, H. Butt // *Pathogens.* – 2013. – Nov. 14. – 2(4). – P. 606–626.
11. Bravo-Blas A. Microbiota and arthritis: correlations or cause? / A. Bravo-Blas, H. Wessel, S. Milling // *Curr. Opin. Rheumatol.* – 2016. – Vol. 28(2). – P. 161–167.
12. Breban M. Gut microbiota and inflammatory joint diseases / M. Breban // *Joint Bone Spine.* – 2016 Dec. – 83(6). – P. 645–649.
13. Biver E. Gut microbiota and osteoarthritis management: An expert consensus of the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases (ESCEO) / E. Biver, F. Berenbaum, A. M. Valdes, Araujo de Carvalho I et al. // *Ageing Res Rev.* – 2019 Nov. – 55. – 100946.
14. Вплив окисного стресу на рівень експресії генів *TGF-β* і *HGF* у печінці щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоридрії та за введення мультіпробіотику Симбітер / К. О. Дворченко та ін. // *Укр. біохім. журн.* – 2013. – Т. 85, № 5. – С. 114–123.
15. Абдулахад К. Ф. А. Дослідження впливу мультіпробіотиків групи "Симбітер" на секреторну функцію шлунка у щурів в умовах тривалої гіперастринемії: автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.13 / Кусай Ф. Абдулахад Абдулахад ; Київський нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. – К., 2012. – 20 с.
16. Baragi V. M. A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: Evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models / V. M. Baragi, G. Becher, A. M. Bendele et al. // *Arthritis. Rheum.* – 2009. – Vol. 60(7). – P. 2008–2018.
17. Окислительные модификации белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Поротов // *Вопросы медицинской химии.* – 1995. – № 1. – С. 24–26.
18. Ellman G. Tissue sulphydryl groups / G. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82, №1. – P. 70–77.
19. Lauridsen C. From oxidative stress to inflammation: redox balance and immune system / C. Lauridsen // *Poult Sci.* – 2019 Oct. 1. – 98(10). – P. 4240–4246.
20. Drevet S. Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis / S. Drevet, G. Gavazzi, L. Grange et al. // *Exp. Gerontol.* – 2018. – Vol. 111. – P. 107–117.
21. The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis / O. M. Zahan, O. Serban, C. Gherman, D. Fodor // *Med Pharm Rep.* – 2020 Jan. – 93(1). – P. 12–22.
22. Hawkins C. L. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications / C. L. Hawkins, M. J. Davies // *J Biol Chem.* – 2019 Dec. 20. – 294(51). – P. 19683–19708.
23. Causative Links between Protein Aggregation and Oxidative Stress: A Review / E. Lévy, El. Banna N., D. Baille et al. // *Int J Mol Sci.* – 2019 Aug. 9. – 20(16). – P. 3896.
24. Sánchez-Rodríguez M. A. Oxidative Stress Indexes for Diagnosis of Health or Disease in Humans / M. A. Sánchez-Rodríguez, V. M. Mendoza-Núñez // *Oxid Med Cell Longev.* – 2019 Nov. 25; 2019: 4128.
25. Baba S. P. Role of thiols in oxidative stress / S. P. Baba, A. Bhatnagar // *Curr Opin Toxicol.* – 2018 Feb. – 7. – P. 133–139.
26. The gut microbiota modulates host amino acid and glutathione metabolism in mice / A. Mardinoglu, S. Shoaib, M. Bergentall et al. // *Mol Syst Biol.* – 2015 Oct. 16. – 11(10). – P. 834.
27. Schmach M. Microbial production of glutathione / M. Schmach, E. Lorenz, M. Senz // *World J Microbiol Biotechnol.* – 2017 Jun. – 33(6). – P. 106.
28. Metabolic engineering of *Lactococcus lactis* for high level accumulation of glutathione and S-adenosyl-L-methionine / C. Xu, Z. Shi, J. Shao et al. // *World J. Microbiol Biotechnol.* – 2019 Nov. 14. – 35(12). – P. 185.
29. Lipoxidation adducts with peptides and proteins: deleterious modifications or signaling mechanisms? / R. M. Domingues, P. Domingues, T. Melo et al. // *J. Proteomics.* – 2013. – Vol. 92. – P. 110–131.
30. Davies M. J. Protein oxidation and peroxidation / M. J. Davies // *Biochem. J.* – 2016 Apr. 1. – 473(Pt 7). – P. 805–825.
31. Effect of the chelation of metal cation on the antioxidant activity of chondroitin sulfates / K. Ajsaka, Y. Oyanagi, T. Miyazaki, Y. Suzuki // *Biosci Biotechnol Biochem.* – 2016. – Vol. 80(6). – P. 1179–1185.
32. Chondroitin sulphate inhibits NF-κB activity induced by interaction of pathogenic and damage associated molecules / T. V. Stabler, Z. Huang, E. Montell et al. // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2017. – Vol. 25(1). – P. 166–174.
33. Янковський Д. С. Інноваційні технології оздоровлення мікробіому людини / Д. С. Янковський, В. П. Ширококов, Г. С. Димент // *Nauka innov.* – 2018. – 14(6). – С. 5–17.
34. How Probiotics Affect the Microbiota / G. Wieërs, L. Belkhir, R. Enaud et al. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32010640> // *Front Cell Infect. Microbiol.* – 2020 Jan. 15. – 9. – P. 454.

References:

1. Rezus E., Cardoneanu A., Burlui A. et al. The Link Between Inflammaging and Degenerative Joint Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019 Jan. 31; 20(3): 614.
2. Abramoff B., Caldera F. E. Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options. *Med Clin North Am.* 2020 Mar.; 104(2): 293–311.
3. Man G. S., Mologhianu G. Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint. *J. Med. Life.* 2014. Vol. 7, № 1. P. 37–41.
4. O'Neill T. W., McCabe P. S., McBeth J. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018 Apr.; 32(2): 312–326.
5. Hunter D. J., Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet.* 2019 Apr. 27; 393(10182): 1745–1759.
6. Martel-Pelletier J., Farran A., Montell E. et al. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate. *Molecules.* 2015. Vol. 20, № 3. P. 4277–4289.
7. Bishnoi M., Jain A., Hurkat P., Jain S. K. Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis. *Glycoconj. J.* 2016. Vol. 33, № 5. P. 693–705.
8. Theocharis A. D., Manou D., Karamanos N. K. The extracellular matrix as a multitasking player in disease. *FEBS J.* 2019 Aug.; 286(15): 2830–2869.
9. Honvo G., Bruyère O., Reginster J. Y. Update on the role of pharmaceutical-grade chondroitin sulfate in the symptomatic management of knee osteoarthritis. *Aging Clin Exp Res.* 2019 Aug.; 31(8): 1163–1167.
10. Vitetta L., Coulson S., Linnane A. W., Butt H. The gastrointestinal microbiome and musculoskeletal diseases: a beneficial role for probiotics and prebiotics. *Pathogens.* 2013 Nov. 14; 2(4): 606–626.
11. Bravo-Blas A., Wessel H., Milling S. Microbiota and arthritis: correlations or cause? *Curr. Opin. Rheumatol.* 2016. Vol. 28(2). P. 161–167.
12. Breban M. Gut microbiota and inflammatory joint diseases. *Joint Bone Spine.* 2016 Dec.; 83(6): 645–649.
13. Biver E., Berenbaum F., Valdes A. M. et al. Gut microbiota and osteoarthritis management: An expert consensus of the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases (ESCEO). *Ageing Res Rev.* 2019 Nov.; 55: 100946.
14. Vplyv oksynohu stresu na riven ekspresii geniv *TGF-β* i *HGF* u pechintsi shchuriv v umovakh tryvaloi shlunkovoi hipokhlordirii ta za vvedennia multyprobiotyky Cymbiter / K. O. Dvorshchenko ta in. *Ukr. biokhim. zhurn.* 2013. T. 85, № 5. S. 114–123.
15. Abdulakhad K. F. A. Doslidzhennia vplyvu multyprobiotykyv hrupy "Symbiter" na sekretornu funktsiu shlunka u shchuriv v umovakh tryvaloi hiperastrynemii: avtoref. dys. ...kand. biol. nauk: 03.00.13 / Kusi F. Abdulakhad Abdulakhad ; Kyivs. nats. un-t im. Tarasa Shevchenka. Kyiv, 2012. 20 s.
16. Baragi V. M., Becher G., Bendele A. M. et al. A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: Evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models. *Arthritis. Rheum.* 2009. Vol. 60(7). P. 2008–2018.
17. Dubinina E. E., Burmistrov S. O., Hodov D. A., Porotov I. G. Okislitelnye modifikatsii belkov syvorotki krovi cheloveka, metod ee opredeleniya. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 1995. # 1. S. 24–26.
18. Ellman G. Tissue sulphydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. Vol. 82, № 1. P. 70–77.
19. Lauridsen C. From oxidative stress to inflammation: redox balance and immune system. *Poult Sci.* 2019 Oct. 1; 98(10): 4240–4246.
20. Drevet S., Gavazzi G., Grange L. et al. Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis. *Exp. Gerontol.* 2018. Vol. 111. P. 107–117.
21. Zahan O. M., Serban O., Gherman C., Fodor D. The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis. *Med Pharm Rep.* 2020 Jan.; 93(1): 12–22.
22. Hawkins C. L., Davies M. J. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *J Biol Chem.* 2019 Dec. 20; 294(51): 19683–19708.
23. Lévy E., El Banna N., Baille D. et al. Causative Links between Protein Aggregation and Oxidative Stress: A Review. *Int J Mol Sci.* 2019 Aug. 9; 20(16): 3896.

23. Sánchez-Rodríguez M. A., Mendoza-Núñez V. M. Oxidative Stress Indexes for Diagnosis of Health or Disease in Humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Nov. 25; 2019: 4128.
24. Baba S. P. and Bhatnagar A. Role of thiols in oxidative stress. *Curr Opin Toxicol*. 2018 Feb.; 7: 133–139.
25. Mardinoglu A., Shoaie S., Bergentall M., Ghaffari P. et al. The gut microbiota modulates host amino acid and glutathione metabolism in mice. *Mol Syst Biol*. 2015 Oct. 16; 11(10): 834.
26. Schmacht M., Lorenz E., Senz M. Microbial production of glutathione. *World J Microbiol Biotechnol*. 2017 Jun;33(6):106.
27. Xu C., Shi Z., Shao J. et al. Metabolic engineering of *Lactococcus lactis* for high level accumulation of glutathione and S-adenosyl-L-methionine // *World J Microbiol Biotechnol*. 2019 Nov. 14; 35(12): 185.
28. Domingues R. M., Domingues P., Melo T. et al. Lipoxidation adducts with peptides and proteins: deleterious modifications or signaling mechanisms? *J. Proteomics*. 2013. Vol. 92. P. 110–131.
29. Davies M. J. Protein oxidation and peroxidation. *Biochem. J*. 2016 Apr. 1; 473(Pt 7): 805–825.

30. Ajsaka K., Oyanagi Y., Miyazaki T., Suzuki Y. Effect of the chelation of metal cation on the antioxidant activity of chondroitin sulfates // *Biosci Biotechnol Biochem*. 2016. Vol. 80(6). P. 1179–1185.
31. Stabler T. V., Huang Z., Montell E. et al. Chondroitin sulphate inhibits NF- κ B activity induced by interaction of pathogenic and damage associated molecules. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017. Vol. 25(1). P. 166–174.
32. Iankovsky D. S., Shyrobokov V. P., Dymant H. S. Innovatsiini tekhnologii ozdorovlennia mikrobiomu liudyny. *Nauka innov*. 2018, 14(6): 5–17.
33. Wieërs G., Belkhir L., Enaud R. et al. How Probiotics Affect the Microbiota. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32010640> *Front Cell Infect. Microbiol*. 2020 Jan. 15; 9: 454.

Надійшла до редколегії 18.05.2020
Отримано виправлений варіант 19.06.2020
Підписано до друку 19.06.2020

Received in the editorial 18.05.2020
Received a revised version on 19.06.2020
Signed in the press on 19.06.2020

А. Короткий, канд. биол. наук,
Л. Кот, канд. биол. наук,
Е. Дворщенко, д-р биол. наук,
Л. Остапченко, д-р биол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРИТА И СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ХОНДРОПРОТЕКТОРА И МУЛЬТИПРОБИОТИКА

Одной из актуальных проблем современной медицины является заболевания суставов. Среди них важное место занимают остеоартриты. Формирование остеоартритов сопровождается развитием воспаления, что приводит к повреждению всех структур сустава. Важную роль в воспалительных процессах играет интенсификация свободнорадикальных процессов. По мере развития заболевания суставы теряют подвижность, что приводит к снижению качества жизни больных и развитию инвалидности. В связи с этим актуальным является поиск препаратов, обладающих регенерационными, противовоспалительными и антирадикальными свойствами.

Цель работы – исследовать совместное действие хондроитин сульфата и мультипробиотика на содержание продуктов окислительной модификации белков и уровень сульфгидрильных групп в сыворотке крови крыс в условиях моноиодоацетат-индуцированного остеоартрита.

Исследования проведены на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180–240 г с соблюдением общих этических принципов экспериментов на животных. Модель экспериментального остеоартрита создавали путем введения в коленную связку 1 мг моноиодоацетата натрия. В качестве терапевтических агентов использовали хондроитин сульфат и мультипробиотик. Содержание продуктов окислительной модификации белков определяли по уровню карбонильных производных, проявляющихся в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином. Уровень общих, белок-связанных и небелковых сульфгидрильных групп измеряли по методу Элмана.

Установлено, что при моноиодоацетат-индуцированном остеоартрите в сыворотке крови крыс возрастает содержание продуктов окислительной модификации белков. Увеличивается уровень нейтральных альдегидных продуктов ($E_{\text{max}} = 356 \text{ nm}$) – в 2,5 раза и нейтральных кетонных продуктов ($E_{\text{max}} = 370 \text{ nm}$) соответственно – в 2,1 раза по сравнению с контролем. При тех же условиях эксперимента в сыворотке крови количество основных альдегидных продуктов ($E_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$) увеличивается в 1,9 раза, при этом содержание основных кетонных продуктов ($E_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$) возрастает в 1,7 раза по сравнению с показателями контрольной группы. При экспериментальном остеоартрите в сыворотке крови содержание сульфгидрильных групп снижается: небелковых SH-групп – в 1,5 раза, белковых и общих SH-групп – в 1,7 раза относительно контроля. Это свидетельствует о нарушении окислительно-антиоксидантного равновесия и развитии окислительного стресса в организме при экспериментальном остеоартрите. Показано, что при совместном введении хондроитин сульфата и мультипробиотика животным с экспериментальным остеоартритом вышеуказанные показатели частично восстанавливались.

Ключевые слова: экспериментальный остеоартрит, хондроитин сульфат, мультипробиотик, окислительная модификация белков, сыворотка крови.

O. Korotkyi, Ph. D.,
L. Kot, Ph. D.,
K. Dvorshchenko, Dr. Sci.,
L. Ostapchenko, Dr. Sci.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN RAT SERUM UNDER EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS AND JOINT ADMINISTRATION OF CHONDROPROTECTOR AND MULTIPROBIOTIC

One of the actual problems of modern medicine is joint disease. Among them, osteoarthritis occupies an important place. The formation of osteoarthritis is accompanied by the development of inflammation, which leads to damage to all structures of the joint. An important role in inflammatory processes is played by the intensification of free radical processes. As the disease develops, the joints lose their mobility, which leads to a decrease in the quality of life of patients and the development of disability. In this regard, it is important to search for drugs that have regenerative, anti-inflammatory and antiradical properties.

The aim of our study was to investigate the combined effect of chondroitin sulfate and multiprobiotic on the content of oxidative protein modification products and the level of sulfhydryl groups in rat blood serum under conditions of monoiodoacetate-induced osteoarthritis.

The study included participation of white male non-linear rats (weighing 180–240 g) adherence to the general ethical principles of animal experiments. An experimental osteoarthritis model was created by introducing 1 mg of sodium monoiodoacetate into the knee ligament. Chondroitin sulfate and multiprobiotic were used as therapeutic agents. The content of products of oxidative modification of proteins was determined by the level of carbonyl derivatives, which are manifested in the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine. The level of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups was measured by the Elman method.

It was found that under conditions of monoiodoacetate-induced osteoarthritis in the blood serum of rats, the content of products of oxidative modification of proteins increases. The level of neutral aldehyde products ($E_{\text{max}} = 356 \text{ nm}$) is increased by 2.5 times and neutral ketone products ($E_{\text{max}} = 370 \text{ nm}$), respectively, by 2.1 times compared to the control. Under the same experimental conditions in the blood serum, the amount of basic aldehyde products ($E_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$) increases by 1.9 times, while the content of the main ketone products ($E_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$) increases by 1.7 times compared to the control groups. In experimental osteoarthritis in the blood serum, the content of sulfhydryl groups decreases: non-protein SH-groups – 1.5 times, protein and general SH-groups – 1.7 times relative to the control. This indicates disturbance of the oxidative-antioxidant balance and the development of oxidative stress in the organism during experimental osteoarthritis. It was shown that the combined administration of chondroitin sulfate and multiprobiotics in animals with experimental osteoarthritis partially restored the above parameters.

Keywords: experimental osteoarthritis, chondroitin sulfate, multiprobiotic, oxidative modification of proteins, blood serum.

Наукове видання



ВІСНИК

КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуск 2(81)

Редактор *Т. Гуз*

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. 8,02. Наклад 300. Зам. № 220-9725.
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № Б 2.
Підписано до друку 30.06.20

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