

Подано експериментальні дані про особливості будови, розвитку і функціонування рослинних і тваринних організмів, одержаних науковцями НДІ фізіології та біологічного факультету. Викладено також нові дані про патофізіологічні закономірності й біохімічні механізми регуляції процесів на клітинному та органному рівнях після впливу різноманітних фізико-хімічних чинників.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

The experimental dates development and function of the plant and animal organisms of research institute and biological faulty. Results of newly pathophysiological aspects and biochemical mechanisms of cell and organism processes regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР	Л.І. Остапченко, д-р біол. наук, проф.
РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ	Є.О. Торгалло, канд. біол. наук (відп. секр.); Т.В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; С.В. Демидов, д-р біол. наук, проф.; М.Е. Держинський, д-р біол. наук, проф.; І.Ю. Костіков, д-р біол. наук, доц.; В.С. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.; М.С. Мірошніченко, д-р біол. наук, проф.; М.М. Мусієнко, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. УААН; М.Ю. Макарчук, д-р біол. наук, проф.; В.К. Позур, д-р біол. наук, проф.; В.П. Поліщук, д-р біол. наук, проф.; В.К. Рибальченко, д-р біол. наук, проф.; В.В. Серебряков, д-р біол. наук, проф.
Адреса редколегії	03187, Київ-33, просп. акад. Глушкова, 2, корп. 12, біологічний факультет; ☎ (38044) 522 17 95
Затверджено	Вченою радою біологічного факультету 23.01.12 (протокол № 7)
Атестовано	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/7 від 09.06.99
Зареєстровано	Міністерством юстиції України. Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації Серія KB № 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	01601, Київ-601, 6-р Т.Шевченка, 14, кімн. 43 ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28

ЗМІСТ

Абдулахад К., Фалалєєва Т., Кухарський В., Прибисько І., Толстанова Г., Берегова Т. Вплив тривалої гіпоацидності шлункового соку на морфо-функціональний стан органів травлення та його корекція мультипробіотиками групи "Симбітер".....	4
Радчук О., Карпезо Н., Рибальченко В. Морфофункціональні ефекти пролінвмісних пептидів, мультипробіотиків і похідних малеїміду та дигідропіролу за умов кислотно-залежних захворювань органів травлення.....	8
Топчій Н., Шоломіцька О., Проніна О., Зажицька М., Позур В., Шепета Ю., Шкляр С., Мариненко Т., Рожок А. Оцінка структурно-функціональної реорганізації геному	10
Дворченко К., Торгалю Є., Хілько Т., Томачинська Л., Степанов Ю., Якубцова І., Остапченко Л. Дослідження біохімічних механізмів функціонування печінки щурів за умов тривалої гіпоацидності та розробка методів їх корекції	11
Раєцька Я., Строцька Є., Преображенська Т. Дослідження біохімічних процесів за дії комплексу біологічно активних речовин природного походження для корекції експериментальних патологій.....	14
Максимович Я., Харченко О., Огороднік Л., Верещака В., Ракша Н., Ковальова В., Богун Л., Сокур О., Остапченко Л. Дослідження молекулярно-клітинних процесів в нормі і при патології за умов впливу екзо- та ендогенних факторів, біологічно активних речовин і субстанцій.....	17
Рудик М., Грищенко Л., Путніков А., Яворська Н., Святецька В. Отримання біологічно активних компонентів та створення на їх основі вакцинних препаратів на основі пухлинних клітин. Добір бактеріальних біополімерів з канцеропротекторною дією	23
Ноздренко Д., Левківська Л., Мірошніченко М. Дослідження впливу фосфоровмісних пестицидів на характер змін динамічних параметрів скорочення м'язових волокон.....	25
Мединська К., Пелюх Л., Нурищенко Н. Вплив пестицидів на функціональні характеристики актоміозинового комплексу скелетних м'язів	26
Піскорська Н., Філімонова Н., Пахомова А., Тукаєв С., Крижанівський С., Чернінський А., Залевська О., Зима І. Вплив кверцетину на вроджені і набуті поведінкові реакції алкоголізованих щурів.....	28
Віноградова О., Пасічніченко О., Вовкун Т., Янчук П. Вплив корвітину на печінковий кровообіг та серотоніну на скоротливу активність ворітної вени	30
Штанова Л., Говоруха Т., Горенко З., Пелюх П., Бабан В., Весельський С., Макарчук М. Вплив флавоноїдів на функціональний стан печінки та шлунково-кишкового тракту за умов норми та різних патологій	33
Шевченко О., Семчук Л., Будзанівська І., Постоецько О., Міщенко Л., Поліщук В. Вивчення біорізноманіття вірусів рослин та фагів фітопатогенних бактерій у природних та штучних системах	36
Панюта О., Белава В., Бацманова Л., Оканенко О., Светлова Н., Таран Н. Стратегії молекулярних механізмів адаптації рослин озимої пшениці різних екотипів за дії біотичних стресорів, як прояв реакцій вродженого імунітету	41
Березовська М., Павлівська М., Карбовська В., Карпенко Н., Абдулоєва О., Кондратюк Т., Сухомлин М., Костіков І. Значення колекції у збереженні біорізноманіття у сучасній науковій діяльності.....	44
Баглай К., Коломієць Т., Іванова І., Палагеча Р., Капустян В. Інтродукція, збереження генофонду рослин та адаптивні стратегії в умовах зростаючого техногенного навантаження та змін клімату.....	47
Бонюк З., Березкіна В., Нікітіна В., Рудік Г., Чумак П., Гревцова Г., Мазур Т., Перегрим М., Ткачук О., Гайдаржи М. Інтродукція, збереження біорізноманіття та комплексне дослідження рослин <i>EX SITU TA IN SITU</i>	50
Грищенко В., Шевчик В., Яблоновська-Грищенко Є., Ружіленко Н., Чорна Л., Чорний М. Моніторинг стану екосистем заповідника та дослідження південної та центральної частини регіону	52

CONTENTS

Abdulahad, S., Falalyeyeva, T., Kuharskyi V., Prybytko I., Tolstanova G., Beregova T. Study of molecular-cellular processes in health and pathology in conditions of influence of exo- and endogenous factors, biologically active drugs and substances.....	4
Radchuk O., Karpezo N., Rybalchenko V. The morfo-functional effects of prolin-containing peptides, multiprobitotics and derivates of dyhidropyrrol and maleimid under the acid dependent diseases of digestive apparatus	8
Topchii N., Sholomitska O., Pronina O., Zazhytska M., Pozur V., Shepeta U., Shkliar S., Marinenko T. Estimation of a structural and functional reorganization of the genome.....	10
Dvorshchenko K., Torgalo Ye., Khilko T., Tomachynska L., Stepanov Yu., Yakubtsova I., Ostapchenko L. The study of biochemical mechanisms of the rat liver functioning under long-term hypoacidity and development of methods of their correction	11
Rayetska J., Stepanova L., Preobrazhens'ka T. The study of biochemical processes of complex biologically active substances of natural origin for the correction of experimental pathology	14
Maksymovych S., Kharchenko O., Ogorodnik L., Vereshchaka V., Raksha N., Kovalova V., Bogun L., Sokur O., Ostapchenko L. Research of molecular-cell processes in normal and under pathology in conditions of action of exo- and endogenic factors, biologically active matter and substance	17
Rudyk M., Gryzenko L., Putnikov A., Yavors'ka N., Svyatets'ka V. Obtaining of biologically active components and constructing of vaccine preparations on their basis and the cancer cells. Selection of bacterial biopolymers with anticancer properties.....	23
Nozdrenko D., Levkivska L., Miroshnichenko M. Effects of organophosphorus in septicides on dynamic characteristics of the frog muscle fiber contraction	25
Nurishchenko N., Pelyukh L., Medynska K. Pesticides influence on skeletal muscle actomyosin complex functional characteristics	26
Piskorska N., Filimonova N., Pahomova A., Kostenko S., Tukaiev S., Krizhanovskiy S., Cherninskiy A., Fedorchuk S., Chikina L., Zalevska O., Zima I. Influence quercetin for congenital and acquired behavioral reactions alcoholic rats.....	28
Yanchuk P., Pasichnichenko O., Vovkun T., Vinogradova O. Effects of corvitin on liver circulation and serotonin on contractile activity of portal vein.....	30
Shtanova L., Govorukha T., Gorenko Z., Pelukh P., Baban V., Veselsky S., Makarchuk M. Different flavonoids functional at mill liver and tract standarts for minds and different pathology	33
Shevchenko O., Semchuk L., Budzanivska I., Postoenko O., Mischenko L., Polischuk V. Study of biodiversity plant viruses and phages of plant pathogenic bacteria in natural and transformed ecosystems	36
Panyuta O., Belava V., Batsmanova L., Okanenko A., Svetlov N., Taran N. Strategies molecular mechanisms of plant adaptation of winter wheat for different ecotypes of biotic stressors, reactions as a manifestation of innate immunity	41
Berezovska M., Pavlovska M., Karbovska B., Karpenko N., Abduloeva O., Kondratyuk T., Sukhomlin M., Kostikov I. Importance of collections in biodiversity conservation and current scientific activity.....	44
Baglay K., Kolomiyets T., Ivanova I., Palagecha R., Kapustian V. Introduction conservation of plant genofond and adaptive strategies in condition of increasing technogenic load and climatic changes studies of biology-ecological peculiarities of introduced species and their mobilization	47
Bonyuk Z., Berezkina V., Nikitina V., Rudik G., Chumak P., Grevtsova G., Mazur T., Peregrym M., Tkachuk O., Gaidarzhy M. Introduction, conservation of biodiversity and integrated study of plants <i>EX SITU AND IN SITU</i>	50
Grishchenko V., Shevchik V., Yablonovska-Grishchenko E., Ruzhilenko N., Chorna L., Chorniy M. Monitoring ecosystem reserve and research south central and parts of the region	52

ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ШЛУНКОВОГО СОКУ НА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ МУЛЬТИПРОБІОТИКАМИ ГРУПИ "СИМБІТЕР"

Тривала гіпоацидність шлункового соку у щурів, викликана омепразолом, призводить до розвитку дисбактеріозу в шлунку щурів та тотальної гіперплазії, що проявляється у вираженому збільшенні дебіту соляної кислоти базальної шлункової секреції. Морфологічні та лектиногістохімічні дослідження слизової оболонки шлунка підтвердили наявність гіперпластичних змін в слизовій оболонці шлунка (СОШ), показали зниження рівня диференціації клітин СОШ та зміну консистенції слизово-бікарбонатного бар'єру і адгезивних міжклітинних взаємозв'язків. Виявлена активація деградації колагенових і неколагенових білків слизу, що свідчить про деструкцію слизового бар'єру, порушення резистентності та зменшення інтенсивності регенеративних процесів. Введення омепразолу одночасно з мультипробіотиком групи "Симбітер" упродовж 28 днів з в значній мірі запобігає морфологічним та функціональним змінам в шлунку.

Long-term hypoacidity of gastric juice in rats caused by omeprazole leads to the development of dysbiosis in the stomach and total hyperplasia of gastric mucosa that manifests itself in pronounced increase in output of hydrochloric acid basal gastric secretion. Morphological and lectyne-histochemical study of gastric mucosa confirmed the presence of hyperplastic changes in the gastric mucosa and showed reduction of cell differentiation and changes in consistency mucous-bicarbonate barrier and also adhesive intercellular relationships. It was established the the intensification of degradation of collagenous and noncollagenous proteins of mucus that is witness of destruction of mucus barrier, disturbance of resistance and diminishing of intensity of regenerative process. Simultaneous introduction to the rats omeprazole and multiprobitics from group "Symbiter" largely prevents morphological and functional changes in the stomach.

Вступ. Проблема онкологічних захворювань є однією з головних для сучасної охорони здоров'я. Серед усіх злویкисних пухлин рак шлунка становить близько 15%, а серед пухлин шлунково-кишкового тракту – до 50% [1]. За даними одних авторів у чоловіків рак шлунку займає третє місце серед загальної захворюваності на рак та п'яте місце – у жінок [2], за даними інших авторів раку шлунку належить друге місце в загальній захворюваності на рак [3].

Вагомим фактором росту та розвитку пухлин у шлунку є тривала гіпергастринемія, зумовлена зниженням рівня соляної кислоти [4]. Дійсно, біосинтез та виділення гастрину, який справляє трофічний ефект на клітини слизової оболонки травного тракту [5], регулюється негативним зворотнім зв'язком: чим менша кислотність шлункового соку, тим більше синтезується та виділяється гастрин [6]. Доведено, що гастрин є мітогенним фактором для росту слизової оболонки шлунка (СОШ), а гіпергастринемія є фактором ризику розвитку раку [4].

Ряд авторів збільшений ризик некардіального раку шлунка та товстої кишки у пацієнтів з гіпохлоридрією пов'язують не з тривалою гіпергастринемією, а з надмірним бактеріальним ростом патогенної мікрофлори. Показано, що зменшення кислотності шлункового соку з будь-якої причини (хронічні аутоімунні гастрити, хронічна інфекція *H. pylori*, прийом фармакологічних препаратів, які пригнічують секрецію кислоти) може призводити до надмірного бактеріального росту в шлунку [7]. Бактерії можуть попадати в шлунок з їжею, з ротової порожнини та глотки або мігрувати в шлунок з тонкого або товстого кишечника завдяки ентеро-гастральному рефлюксу. Надмірний бактеріальний ріст призводить до вироблення нітриту з нітратів їжі та слини з послідуною продукцією мутагенних та канцерогенних N-нітрозосполук [8]. Епідеміологічні дослідження показали зв'язок між високими концентраціями нітриту в шлунковому соку із збільшеною захворюваністю на шлункову метаплазію, дисплазію та карциному [9]. Надмірний бактеріальний ріст в шлунку з гіпохлоридрією також збільшує продукцію іншого відомого канцерогену – ацетальдегіду [10] з етанолу після його прийому. При цьому прийом алкоголю не є абсолютно необхідним, так як надмірний ріст бактерій та дріжджів може призводити до ендогенного вироблення етанолу. Декілька мікроорганізмів пов'язані з продукцією ацетальдегіду, включаючи види *Neisseria*, *Stomatococcus* та *Streptococcus*.

Таким чином, ацетальдегід разом з нітрозосполуками можуть розглядатися як потенціальні канцерогени в шлунку. Разом з тим показано взаємозв'язок між бактеріальним інфікуванням шлунку та секрецією гастрину [11]. Встановлено, що колонізація шлунку *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) запускає імунну відповідь Т-хелперів першого порядку [12] з вивільненням головного Th-1 цитокіну – інтерферону-гамма, який стимулює секрецію гастрину [13]. До того ж показано, що бактеріальний білок (OmpA-подібний білок), ізольований і клонований з *Acinetobacter spp.*, прямо посилює експресію генів гастрину. Таким чином, усунення дисбіозу в шлунку за допомогою пробіотиків є перспективним шляхом профілактики як трофічної дії гастрину в умовах тривалої гіпоацидності, так і усунення можливості утворення в шлунку таких канцерогенів як нітрозосполуки та ацетальдегід.

Метою роботи було дослідження впливу тривалої гіпоацидності шлункового соку на морфо-функціональний стан шлунка та його корекція мультипробіотиками групи "Симбітер".

Методи досліджень. Дослідження проведені на білих статевозрілих нелінійних щурах, масою 145-230 г., які утримувались в умовах акредитованого віварію ННЦ "Інститут біології" Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно зі "Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)". Тварини отримували стандартний корм для гризунів та дехлоровану водопровідну воду. За добу до початку експерименту щури не отримували їжі, але мали вільний доступ до води. Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

Тварини були поділені на 4 групи: 1 – контрольна – щури, яким упродовж 28 днів вводили внутрішньоочеревинно (в/о) 0,2 мл води для ін'єкцій та 0,5 мл водопровідної дехлорованої води *per os*; 2 – щури, яким упродовж 28 днів вводили омепразол (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA) (14 мг/кг, в/о, розчиненого в 0,2 мл води); 3 – щури, яким упродовж 28 днів одночасно вводили омепразол та мультипробіотик "Симбітер[®]" ацидофільний концентрований (ТОВ "О.Д. Пролісок", Україна, 0,14 мл/кг, *per os*), розведеного в 0,5 мл води; 4 – щури, яким упродовж 28 днів одночасно вводили омепразол та мультипробіотик "Симбітер форте" (ТОВ "О.Д. Пролісок", Україна, 0,14 мл/кг, *per os*), розведеного в 0,5 мл води.

Через добу після останнього введення досліджуваних речовин або води проводили експеримент, в якому визначали рівень базальної секреції кислоти в шлунку методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом [14] під уретановим знечуженням (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA) (1,15 г/кг, в/о). Гастрин в плазмі крові визначали радіоімунним методом із використанням аналітичного набору фірми "MP Biomedicals, LLC" (USA).

Для оцінки слизового бар'єру шлунка в СОШ визначали вміст вільного оксипроліну [15], фукози [16] та гексуронових кислот [17].

Особливості контамінації слизових оболонок шлунка умовно-патогенною та нормальною мікрофлорою оцінювали після 28 доби від початку експерименту. Кількісні показники мікрофлори шлунка вивчали шляхом висіву 1 мл з кожного розведення на диференційно-діагностичні середовища: Ендо, Плоскірева, ВСА для виявлення патогенних ентеробактерій; жовточно-сольовий агар та середовище Сабуро для визначення стафілококів та грибів; Ендо та цитрат Сімонса для визначення кишкової палички та умовно-патогенних ентеробактерій; 5% кров'яний агар та середовище ЕДДС для визначення ентерококів; середовище Блаурока для біфідобактерій та MRS для лактобацил. Проведення аналізу та облік результатів при дослідженні мікробіоцинозу порожнини шлунка здійснювали згідно наказу №535 МОЗ СРСР від 1985 р. та наказу №59 МОЗ України від 2003 р.

Для візуалізації функціональної реорганізації мікроскопічних уражень СОШ гістологічний матеріал шлунка фіксували у 10% нейтральному формаліні і заливали у парафін за загальноприйнятною методикою з фарбуванням гематоксилином та еозином. Оцінювання вуглеводних компонентів глікопротеїнових рецепторів слизової оболонки шлунка проводили за аналізом хімічного складу гістохімічної реакції за наявності чорного (коричневого) осаду у місцях зв'язування лектину напівкількісним методом з використанням лектинів різної вуглеводної специфічності мічених пероксидазою [18]. Підбір панелі лектинів був здійснений з урахуванням їхніх відмінностей у вуглеводній специфічності з метою більш точної та повної ідентифікації вуглеводних компонентів глікопротеїнових рецепторів СОШ: лектин зародків пшениці (WGA), специфічного до NAcDGal→NAcNeu; лектин насіння арахісу (PNA), специфічного до βDGal-H→3DGalNAcDGal; лектин кори бузини чорної (SNA), специфічного до Neu5Ac/2→6Gal; лектин виноградного слимака (HPA), специфічного до αNAcDGal, лектин насіння рицини звичайної (RCA), специфічного до βDGal, лектин насіння сої (SBA), специфічний до αNAcDGal, лектин "золотого дощу звичайного" (LABA), специфічний до αLFuc (НДЛ "Лектино-

тест", м.Львів) [19]. Перегляд препаратів та фотографування здійснювали за допомогою мікроскопу Carl Zeiss. Інтенсивність лектин-рецепторної реакції оцінювали напівкількісним методом ("-" – слабка реакція, "+" – помірна реакція, "++" – сильна реакція, "+++ – дуже сильна реакція) за забарвленням препаратів. Активність пероксидази і, відповідно, локалізацію зв'язування лектину з глікокон'югатами визначали за коричневим продуктом окислювальної полімеризації 3,3' діамінобензидину.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз мікрофлори шлунка контрольних тварин свідчить про скудний спектр бактерій, що входять до складу біоценозу цього органу (табл. 1). З найбільшою частотою реєструвалась контамінація шлунка контрольних тварин грибами р. Кандіда, ентерококом, кишковою паличкою, лактобактеріями. Представники умовно-патогенної мікрофлори зі шлунка практично не висівались. Лише у 10% тварин виявлено цитробактер. Кількісні показники висіву зі шлунка ентерокока, ешеріхії та грибів р. Кандіда не досягали високого рівня та склали 10^2 - 10^3 КУО/г. Концентрація лактобактерій, що виділені зі шлунка, також була незначною (10^2 КУО/г). Порівняння стану мікрофлори шлунка у щурів контрольної групи з групою, якій протягом 28 днів вводили омепразол, показали, що у щурів після 28-денного введення омепразолу спостерігались значне зменшення частоти висівання лактобактерій та тенденція до зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами р. Кандіда. Статистично підтверджено зниження кількісних показників висіву зі шлунка нормальної мікрофлори. У 40% тварин вони взагалі не виявлялись. Бактеріальний спектр шлунка тварин з тривалою гіпоацидністю розширився за рахунок висіву клебсієли, ентеробактера, протей. Концентрація цих умовно-патогенних бактерій досягла високого рівня (10^4 - 10^5 КУО/г). Одержані дані свідчать про зниження колонізаційної резистентності слизової оболонки шлунка у даних тварин та про можливість транзиту мікрофлори з кишечника у шлунок висхідним шляхом. У групи щурів, які отримували одночасно з введенням омепразолу мультипробіотик "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований, показники обсіменіння шлунка умовно-патогенною мікрофлорою практично не відрізнялись від контролю. Зменшився видовий спектр виділених із шлунка ентеробактерій за рахунок відсутності клебсієли та протей. У всіх обстежених тварин не виявлено обсіменіння шлунка стафілококом золотистим. Як і у контрольних щурів, до складу мікробіоценозу шлунка тварин цієї групи переважно входили ентерокок, кишкова паличка, гриби р. Кандіда в незначних концентраціях (10^2 - 10^3 КУО/г). Збільшився висів із шлунка лактобактерій до показників 10^4 КУО/г.

Таблиця 1. Кількісні показники біоценозу шлунка щурів після 28-денного ізольованого введення омепразолу (14мг/кг) і комбінованого введення Симбітеру та омепразолу (Iг КУО/г, M±m)

Мікроорганізми	Контроль n=10	Омепразол n=10	Омепразол + "Симбітер [®] ацидофільний" концентрований n=10
Кишкова паличка	3,1±0,02	5,0±0,04 *	3,0±0,03
Кишкова паличка зі зміненими ферментативними властивостями	2,1±0,04	–	–
Кишкова паличка лактозонегативна	–	4,4±0,02	–
Клебсієла	–	4,0±0,03	–
Цитробактер	4,0±0,06	4,3±0,05 *	2,0±0,04 [#]
Протей	–	5,1±0,03	–
Ентеробактер	3,2±0,02	4,0±0,04	2,4 ±0,03 [#]
Стафілокок золотистий	–	4,2±0,02	–
Стафілокок епідермальний з гемолізом	–	2,8±0,03	–
Стафілокок епідермальний	2,8±0,03	4,0±0,03 *	2,1±0,01 [#]
Ентерокок	2,2±0,02	3,4±0,02 *	2,6±0,04 [#]
Гриби роду Кандіда	2,0±0,04	4,1±0,02 *	1,6±0,05 [#]
Лактобацили	2,1±0,03	1,6±0,02 *	3,8 ±0,01 [#]

Примітка: * – p < 0,05, по відношенню до контролю; # – p < 0,05 по відношенню до омепразолу.

Через добу після останнього введення омепразолу дебіт базальної шлункової секреції гідрохлоридної кислоти був більшим у порівнянні з контролем на 305,8% ($p < 0,001$) (Табл.2). Ми зробили висновок, що результатом тривалої гіпоацидності є розвиток тотальної гіперплазії, а гіперпластична слизова має збільшену здатність продукувати кислоту. Після одночасного 28-ми денного введення омепразолу та мультипробіотика "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований дебіт кислоти базальної шлункової секреції у щурів перевищував даний показник в контролі на 127,5% ($p < 0,001$). В групі щурів, яким одночасно з омепразолом упродовж

28-ми днів вводили мультипробіотик "Симбітер[®] форте", дебіт кислоти базальної шлункової секреції у щурів був більшим за даний показник в контролі на 139,1% ($p < 0,001$). Таким чином, мультипробіотик "Симбітер[®] форте" за ефективністю впливу на секреторну функцію шлунка, як показника структурної цілісності СОШ, в умовах тривалої гіпоацидності не відрізнявся від мультипробіотика "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований. Зважаючи на більший термін зберігання мультипробіотик "Симбітер[®] форте" може знайти більш широке використання в клінічній практиці.

Таблиця 2. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28-денного ізолюваного введення омепразолу та після 28-денного комбінованого введення омепразолу з мультипробіотиками, (M±m)

Контроль n=35	Омепразол n=17	Омепразол+"Симбітер [®] ацидофільний" концентрований n=19	Омепразол+"Симбітер [®] форте" n=18
41,4±3,5	168,0±16,3***	94,2±8,4***#	99,0±9,5***#

Примітки: *** – $p < 0,001$ у порівнянні з контролем, # – $p < 0,05$, у порівнянні з групою щурів, що отримували омепразол.

Морфометричні дослідження СОШ у щурів, яким тривало вводили омепразол, підтвердили на висновок: товщина епітелію зросла на 54%, площа перерізу ядер парієтальних клітин була більшою на 84,2% і площа перерізу ядер ендокриноцитів була більшою на 59,2% у порівнянні з контролем. "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований усував негативний вплив омепразолу на товщину епітелію і площу перерізу ядер ендокринних клітин та парієтальних клітин в фундальному відділі шлунка.

На сьогодні відомо, що важливу роль у захисті слизової оболонки шлунка від механічних та хімічних пошкоджень виконує слиз, основними складовими якого є глікопротеїни та протеоглікани. Накопичені факти свідчать, що на етапі раннього передракового ураження шлунка, наприклад такого як кишкова метаплазія, втрачається нормальний характер глікозилування, і в шлунковому епітелії з'являються кишкові муцини MUC2 та MUC4 [20] та змінюється структура глікопротеїнів слизу [21]. Тому ми вирішили дослідити склад слизу при тривалому введенні омепразолу та пробіотиків.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у порівнянні з контролем 28 денне пригнічення секреції соляної кислоти в шлунку омепразолом призводить до збільшення відповідно в тканині слизової оболонки шлунка вмісту вільного оксипроліну на 163,2% ($p < 0,001$), вмісту вільної фукози на та 107,0 ($p < 0,001$), вмісту гексуронової кислоти на 74,1% ($p < 0,001$). Таким чином, тривала гіпоацидність шлункового соку активує колагенолітичні процеси в проксимальному відділі травного тракту, свідченням чого є зростання вмісту вільного оксипроліну, посилює деполімеризацію фукопротеїнів сполучної тканини та протективних білків, в результаті зростають відповідно вміст вільної фукози та гексуронової кислоти.

В групі щурів, яким упродовж 28 днів одночасно з омепразолом вводили мультипробіотики "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований та "Симбітер[®] форте", вміст вільного оксипроліну в тканинах слизової оболонки шлунка був навіть на 17,9% ($p < 0,001$) та 23,5 ($p < 0,001$) меншим, ніж в контролі. У цих щурів вміст вільної фукози в досліджуваній тканині був статистично значуще меншим, ніж в контролі. Що стосується вмісту гексуронової кислоти, то в слизовій оболонці шлунка вміст гексуронової кислоти не відрізнявся від контролю.

Отже, тривала гіпоацидність шлункового соку активує колагенолітичні процеси в слизовій оболонці шлунка, свідченням чого є зростання вмісту вільного оксипроліну, посилює деполімеризацію фукопротеїнів сполучної тканини та протективних білків, свідченням чого є зростання відповідно вмісту вільної фукози та гексуронової кислоти. В результаті руйнується слизовий бар'єр, що веде до порушення резистентності та зниження інтенсивності регенеративних процесів. Одержані дані свідчать про те, що мультипробіотики групи "Симбітер" запобігають підвищеному катаболізму колагенових білків, глікопротеїнів та глікозаміногліканів тканин слизового гелю шлунка за умов тривалої гіпоацидності.

Аналіз гістологічної картини слизової оболонки шлунка показав, що у щурів контрольної групи, яким протягом 28 діб вводили плацебо, слизова оболонка мала нормальну гістологічну будову (Рис.1а). На препаратах фундального відділу шлунка можна було бачити прості трубчасті нерозгалужені залози (Рис.1а). Шийка цих залоз складається з камбіальних клітин і шієчних мукоцитів. В епітеліальній стінці тіла і дна цих залоз виділяють головні і парієтальні ендокриноцити, мукоцити, ендокриноцити.

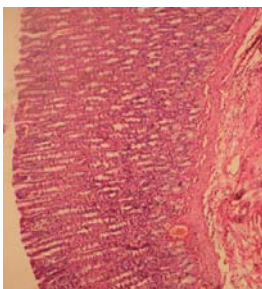
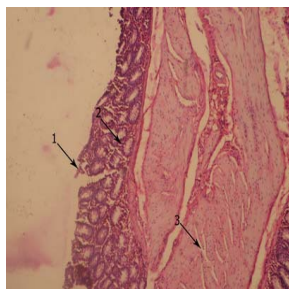
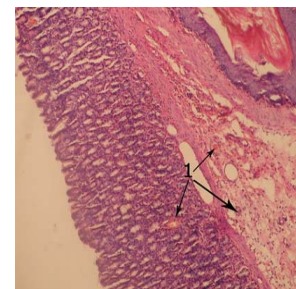


Рис. 1. а) Контрольна група. Слизова оболонка фундального відділу шлунка нормальної гістологічної будови. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.



б) Слизова оболонка фундального відділу шлунка після 28-денного введення омепразолу. (1-десквація епітелію, 2-деструктивні зміни glandулоцитів, 3- розшарування м'язової оболонки). Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.



в) Слизова оболонка фундального відділу шлунка щурів після 28-денного введення омепразолу з Симбітером (1-судины заповнені форменими елементами крові). Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.

Після 28 денного введення омепразолу у слизовій оболонці шлунка спостерігалася десквамація епітелію слизової оболонки, у окремих залозах гландулоцити піддавались деструктивним змінам. У підслизовій основі і власній пластинці слизової оболонки велика кількість клітин з наявністю оксифілій у цитоплазмі. Спостерігалась вогнищева виражена лімфоїдноклітинна інфільтрація слизової оболонки шлунка із заміщенням залоз, інфільтрація власної пластинки і підслизової основи лейкоцитами. Зазнавав змін внутрішній шар м'язової оболонки- місцями розшарування (Рис. 1б).

У групі щурів, яким протягом 28 днів разом з омепразолом вводили Симбітер у слизовій оболонці шлунка зникали явища деструктивного характеру. Судини слизової оболонки були розширені, заповнені форменими елементами крові (Рис. 1в). У підслизовій основі зменшувалась кількість клітин з оксифільним компонентом у цитоплазмі. Структура м'язової оболонки була однорідна, без патологічних змін.

В підтвердження отриманих результатів морфологічних досліджень було проведено лектинове гістохімічне дослідження слизової оболонки шлунка щурів, яке показало наступні особливості цитотопографії рецепторів використаних лектинів. У тварин контрольної групи у структурних компонентах слизової оболонки більшість використаних нами лектинів таких як HPA, WGA, SNA, RCA зв'язувалися з клітинами епітеліальної пластинки особливо її апікальної поверхні, що вказує на присутність вуглеводних детермінант у вигляді NAcDGal, NAcDGle, Neu5Ac/2 → 6 Gal, βDGal > βDGalNAc, що входять до складу слизово-бікарбонатного бар'єру та забезпечують процеси його в'язкості і проникності, а також процеси міжклітинної взаємодії. Слід звернути увагу, що компоненти слизово-бікарбонатного бар'єру слизової оболонки шлунка тварин контрольної групи були позбавлені αLFuc і βDGal. У залозах шлунка більшість лектинів проявляли спорідненість до парієтальних клітин у залежності від їх локалізації. Так у ділянці дна залоз у парієтальних клітинах відмічена експресія рецепторів лектинів виноградного слимака (HPA) та лектинів зародків пшениці (WGA), у процесі формування секрету дещо змінюється їх вуглеводний профіль.

При введенні омепразолу упродовж 28 днів ми констатували у складі слизово-бікарбонатного бар'єру появу βDGal лектину арахісу (PNA), що свідчить про незначні маркування сіалогліканів та порушення процесів кінцевого гліколізування вуглеводвміщуючих біополімерів, а саме відсутність маркування NAcDGal сіаловою кислотою. Натомість головні клітини залоз змінювали свій вуглеводний профіль, якщо у контролі ці клітини були ареактивні до лектинів або проявляли гомогенне зв'язування, то при введенні омепразолу ми констатували експресію рецепторів лектинів HPA, SBA, WGA на поверхні мембран та у внутрішньоклітинних компартментах цих клітин, що вказує на зміну хімічного складу секрету, та процеси його формування. Характерно, що у ядрах як головних, так і парієтальних клітин з'являються рецептори βDGal-специфічного лектину PNA. Мукоцити, локалізовані ближче до дна шлункових ямок, проявляли афінність до NAcDGle специфічного лектину зародку пшениці (WGA). Отже, введення омепразолу призводить до можливого "перепрограмування" синтезу вуглеводних компонентів поверхні клітин та внутрішньоклітинних компартментів, до зміни характеру секрету цих клітин, консистенції слизово-бікарбонатного бар'єру та адгезивних міжклітинних взаємозв'язків. Відомо, що глікополімери βDGal у нормальних і зрілих клітинах відсутні або їх вміст незначний. Глікополімери, що зв'язують лектин арахісу (PNA) більш виявляються у ембріональних або зляжкіснотрансфор-

мованих клітинах здатних до метастазування [18]. Поява рецепторів лектину PNA у складі епітеліально-слизового бар'єру та ядрах гландулоцитів вказує на зниження рівня їх диференціації [18].

Одержані дані лектиногістохімічних досліджень доповнюють та підтверджують результати попередніх наших досліджень, де було показано зростання рівня компонентів шлункового слизу, внаслідок дезорганізації сполучнотканинних структур СОШ, обумовлену тривалим введенням омепразолу. Проте, одночасне введення з омепразолом мультипробіотика Симбітеру протягом 28 днів запобігало підвищеному катаболізму колагенових та неколагенових білків сполучної тканини СОШ та повернення показників вільного оксипроліну, фукози та гексуронової кислот до норми. Також лектиногістохімічні дослідження в групі щурів, яким протягом 28 днів вводили омепразол з Симбітером продемонстрували особливість експресії рецепторів лектинів у тварин цієї групи. Так виявлена більш інтенсивна експресія NAcDGal специфічного лектину виноградного слимака HPA та NAcDGle – специфічного лектину зародків пшениці (WGA) на апікальній поверхні і цитоплазмі епітеліоцитів слизової оболонки та у екзокриноцитах залоз. Знижена афінність лектину насіння арахісу (PNA) до епітеліоцитів слизової оболонки головних і парієтальних гландулоцитів, тобто патерн зв'язування цього лектину наблизений до контрольної групи. На поверхні епітеліоцитів слизової оболонки і у ядрах головних екзокриноцитів з'являються рецептори αLFuc-специфічного лектину "золотого дощу звичайного" (LABA). Відбувається інтенсивна сіалізація поверхні епітеліоцитів і парієтальних екзокриноцитів і частково головних екзокриноцитів з локалізацією у ділянці дна залоз. Рецептори лектину насіння рідини звичайної (RCA) задокументовані нами на апікальній мембрані поверхні епітеліоцитів, тобто у складі епітеліально-слизового бар'єру у цитоплазмі головних екзокриноцитів дна залоз, у парієтальних клітинах вивідних проток залоз та у складі шийкових мукоцитів окремих полів залоз. На фоні деструктивних змін залоз, ми констатували цитотопографію рецепторів лектинів у структурних компонентах наблизену до тварин контрольної групи. Що може забезпечувати нормалізацію хімічного складу слизово-бікарбонатного бар'єру з появою у його складі αLFuc лектину "золотого дощу звичайного". При багатьох захворюваннях спостерігається збільшення фукозилування фізіологічно важливих глікополімерів. Так відмічена високостатистична достовірна кореляція між ступенем фукозилування α-антитрипсину та трансферину при гепатоцелюлярній карциномі [19].

Позитивний вплив "Симбітеру" на секреторну функцію шлунка, як показника стану парієтальних клітин, є результатом нормалізації якісного та кількісного складу мікрофлори шлунка [22], зниження рівня ІФН-γ, який робить певний внесок у розвиток гіпергастринемії [23], та через активацію PPARγ, яку викликають певні штами мікроорганізмів [24], що входять до складу "Симбітеру".

Висновки. Тривала гіпоацидність шлункового соку у щурів, викликана введенням омепразолу упродовж 28 днів, призводить до значного зменшення частоти висівання лактобактерій в шлунку та до зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами р. Кандіда.

Результатом тривалого зниження кислотності шлункового соку у щурів є розвиток тотальної гіперплазії в слизовій оболонці шлунка, що проявляється у вираженому збільшенні дебіту соляної кислоти базальної шлункової секреції.

Морфологічні та лектиногістохімічні дослідження слизової оболонки шлунка підтвердили наявність гіпер-

пластичних змін в слизовій оболонці шлунка, показали зниження рівня диференціації клітин слизової та зміну консистенції слизово-бікарбонатного бар'єру і адгезивних міжклітинних взаємозв'язків.

Тривала гіпоацидність шлункового соку активує колагенолітичні процеси в слизовій оболонці шлунка, свідченням чого є зростання вмісту вільного оксипроліну, посилює деполімеризацію фукопротеїнів сполучної тканини та протективних білків, доказом чого є зростання відповідно вмісту вільної фукози та гексуронових кислот.

Введення омепразолу одночасно з мультипробіотиками групи "Симбітер" упродовж 28 днів в значній мірі запобігає морфологічним та функціональним змінам в шлунку.

1. Білецький С.В. Рак шлунка. Методичні вказівки до семінарського заняття з лікарями інтернами по циклу "Онкологія" під час спеціалізації за фахом "Загальна практика – сімейна медицина". – Чернівці. – 2007. – 7 с. 2. Parkin D.M. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000 / Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. // *Int J Cancer*. – 2001. – Vol. 94. – P. 153-156. 3. Заридзе Д.Г. Епидемиологія рака молочної залози / Д.Г. Заридзе, Т.Х.Мень // *Рос. онкол. ж.* – 2000. – № 5. – С. 5-14. 4. Burkitt M.D. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors / Burkitt M.D., Varro A., Pritchard D.M. // *World J Gastroenterol*. – 2009. – Vol. 15, N 1. – P. 1-16. 5. Berna M.J. A prospective study of gastric carcinoids and enterochromaffin-like cell changes in multiple endocrine neoplasia type 1 and Zollinger-Ellison syndrome: identification of risk factors / Berna M.J., Annibale B., Marignani M. [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2008. – Vol. 93, N 5. – P. 1582-1591. 6. Nakajima T. Gastrin stimulates the growth of gastric pit cell precursors by inducing its own receptors / Nakajima T., Konda Y., Izumi Y. [et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. – 2002. – Vol. 282. – P. 359-366. 7. Jajatlaka S. Clostridium difficile infection in an urban medical center: five-year analysis of infection rates among adult admissions and association with the use of proton pump inhibitors / Jajatlaka S., Shakov R., Eddi R. [et al.] // *Ann Clin Lab Sci*. – 2007. – Vol. 37. – P. 241-247. 8. Naylor G., Axon A. The role of bacterial overgrowth in the stomach as additional risk factor for gastritis. In: *Helicobacter pylori. Basic mechanisms to Clinical Cure*. – Ed. by Hunt R.H., Tytgat G.N.J. – Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, 2002. – P. 185-194. 9. Ziebarth D. N-Nitrosation of medicinal drugs catalysed by bacteria from human saliva and gastro-intestinal tract,

including *Helicobacter pylori* / Ziebarth D., Spiegelhalter B., Bartsch H. // *Carcinogenesis*. – 1997. – № 18. – P. 383-389. 10. Vakevainen S. Acetaldehyde production and other ADH-related characteristics of aerobic bacteria isolated from hypochloric human stomach / Vakevainen S., Tilonen J., Blom M. [et al.] // *Alcohol Clin Exp Res*. – 2001. – № 25. – P. 421-426. 11. Zavros Y. Gastritis and hypergastrinemia due to *Acinobacter lwoffii* in mice / Zavros Y., Rieder G., Ferguson A., Mersham J.L. // *Infection and Immunity*. – 2002. – Vol. 70. – P. 2630-2639. 12. Ernst P.B. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: The immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer / Ernst P.B., Gold B.D. // *Annu. Rev. Microbiol*. – 2000. – Vol. 54. – P. 615-640. 13. Lehmann F.S. Mononuclear cells and cytokines stimulate gastrin release from canine antral cells in primary culture / Lehmann F.S., Golodner E.H., Wang J. et al. // *Am J Physiol*. – 1996. – Vol. 270. – P. 783-788. 14. Ghosh M.H. Continuous recording of acid gastric secretion in the rat / M.H. Ghosh, H.O. Shild // *Br. J. Pharmac. Chemother*. – 1958. – Vol. 13. – P. 54 – 61. 15. Тетянець С.С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови / Тетянець С.С. // *Лаб. дело*. – 1985. – №1. – С.61-62. 16. Шараев П.Н. Метод определения фукозы, не связанной с белками / Шараев П.Н., Стрелков Н.С., Кильдиярова Р.Р. и др. // *Клин. лаб. диагностика*. – 1997. – №4. – С. 17-18. 17. Шараев П.Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / Шараев П.Н. // *Лаб. дело*. – 1987. – №5. – С.530-532. 18. Луцки М.Д., Панасюк Е.Н., Луцки А.Д. Лектины. Львов: Вища школа, 1989. – 144 с. 19. Антонюк В.А., Ященко А.М. Конъюгирование лектинов с пероксидазой хрена: усовершенствование методики. Клиническая лабораторная диагностика. С.Петербург. – 1996. – №4. – С. 102-106. 20. Bolos C. Regulation of mucin and glycoconjugate expression: from normal epithelium to gastric tumors / Bolos C., Real F.X., Lopez-Ferrer A. // *Front Biosci*. – 2001. – №6 – P.1256-63. 21. Hakkinen I. Gastric cancer associated structure in mucus glycoproteins shown as a clinically useful marker / Hakkinen I., Nevalainen T., Paasivuo R. // *Gut*. – 1991. – №32 – P. 1465-1469. 22. Берегова Т.В., Цирюк О.І. Мультипробіотик "Симбітер" як засіб профілактики структурно-морфологічних змін в шлунку, що виникають на фоні зниженої кислотності шлункового соку // *Збірник праць Сателітного симпозиуму "Сучасні аспекти застосування пробіотиків в педіатрії"*. – 2008. – С.52-57. 23. Короткий О., Пилипенко С., Компанець І., Цирюк О., Остапченко Л., Берегова Т.В. Вплив мультипробіотиків на вміст інтерферону-гамма в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. – 2009. – №54. – С. 47-49. 24. Ewaschuk J.B., Walker J.W., Diaz H. Bioproduction of conjugated linoleic acid by probiotic bacteria occurs in vitro and in vivo in mice // *J. Nutrition*. – 2006. – Vol. 136. – P.1483-1487.

Надійшла до редколегії 20.12.11

УДК 611.118+616.34

О. Радчук, канд. біол. наук, Н. Карпезо, канд. біол. наук, В. Рибальченко, д-р біол. наук

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЕФЕКТИ ПРОЛІНВІСНИХ ПЕПТИДІВ, МУЛЬТИПРОБІОТИКІВ І ПОХІДНИХ МАЛЕІМІДУ ТА ДИГІДРОПІРОЛУ ЗА УМОВ КИСЛОТНО-ЗАЛЕЖНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ

Встановлені зміни морфо-функціонального стану та мікробіоценозу товстої кишки щурів при наявності тривалої гіпергастринемії. На основі методу лектинової гістохімії встановлено зміни у розподілі рецепторів лектинів при розвитку запальних та гіперпластичних процесів у слизовій оболонці товстої кишки. Отримані результати свідчать, що мультипробіотики відновлюють слизову оболонку товстого кишечника і зменшують дисбіотичні зміни, викликані гіпоацидністю. Такі ефекти мультипробіотиків є підґрунтям для їх використання при тривалій гіпергастринемії.

There were investigated the changes of morpho-functional changes in the mucous coat of the rat's colon under long-lasting hypergastrinaemia and the influence of multiprobitotics and butyric acid. There were detected the development of inflammatory and hyperplastic processes in colonic mucous coat and in colonic microbiocenosis under hypergastrinaemia. Using the histology, lectin histochemistry and microbiologic analyses it was established the prophylactic action of multiprobitotics according to hyperplastic alterations of the mucous coat provoked by hypergastrinaemia.

Вступ. Вагомим фактором росту та розвитку пухлин у кишечнику є тривала гіпергастринемія, зумовлена зниженням рівня соляної кислоти [1, 2]. Гастрин може спричиняти порушення зкоординованості процесів проліферації та диференціації клітин, йому притаманна виражена антиапоптозична активність. Він є мітогенним фактором для росту слизової оболонки не лише шлунка, а й епітеліального шару товстої кишки, стимулює ріст нормальної та злоякісної тканин шлунково-кишкового тракту [3-5]. Такі порушення супроводжуються змінами у розподілі глікокон'югатів клітинних мембран, які є рецепторами лектинів, та атипівністю локалізації глікокон'югатів, що зв'язують ці лектини, у малігнізованих клітинах [6-8].

Тривале зниження кислотності шлункового соку призводить до розвитку дисбіозу в шлунково-кишковому тракті [2, 9] і, відповідно, зменшення утворення коротколанцюгових жирних кислот, в тому числі і масляної. З метою корекції стану мікрофлори широко використовуються біопрепарати на основі живих мікробних культур [10-16]. Найбільшою ефективністю характеризуються мультиштамові препарати, до яких належать "Симбітер® ацидофільний" і "Апібакт®". Вони є біомасою симбіозу 14 штамів біфідобактерій, лактобацил, лактококів та пропіоновокислих бактерій, властивих нормальному мікробіоценозу людини. Ці біопрепарати мають високу антагоністичну активність по відношенню до широкого спектру умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів, адгезивну здатність; забезпечують активний синтез

вітамінів, полісахаридів, травних ферментів, органічних кислот; забезпечують знешкодження і елімінацію алергенів, токсинів, канцерогенів. До складу вказаних мультипробіотиків входять також пребіотики, які є продуктами метаболізму власних мікроорганізмів, полісахариди, вітаміни, амінокислоти і низькомолекулярні жирні кислоти, ферменти. Мультипробіотик "Апібакт®" додатково містить 2,5% екстракт прополісу. Мультипробіотик "Симбітер® форте" є комплексом живої біомаси згаданих вище штамів бактерій з подовженим терміном зберігання.

Мета роботи: вивчення можливого протективного впливу мультипробіотиків "Симбітер® ацидофільний", "Симбітер® форте", "Апібакт®" та масляної кислоти на стан слизової оболонки товстої кишки щурів за умов гіпоацидності, спричиненої введенням "Омезу®". Вивчити динаміку морфо-функціональних змін, які виникають у слизовій оболонці товстої кишки щурів, за умов гіпоацидності різної тривалості. Дослідити кількісний і якісний склад мікробіоценозу товстої кишки щурів за умов гіпоацидності, викликаного введенням Омезу, та після введення мультипробіотика "Симбітер® ацидофільний". Оцінити вплив мультипробіотиків "Симбітер® ацидофільний", "Апібакт®" та "Симбітер® форте" і масляної кислоти на морфо-функціональний стан слизової оболонки товстої кишки за умов тривалої гіпоацидності. Вивчити розподіл рецепторів лектинів на поверхні слизової оболонки товстої кишки щурів за умов гіпоацидності, при введенні мультипробіотиків і масляної кислоти.

Методи дослідження: У роботі використано гістологічний (забарвлення гематоксилином та еозином за

Бьюмером), гістохімічний (візуалізація рецепторів лектинів з різною вуглеводною специфічністю у системі 3,3-діамінобензидинутетрагідрохлориду- H_2O_2), морфометричний (аналіз каріо- і цитометричних характеристик епітеліоцитів на світлооптичному рівні за допомогою програмного забезпечення UTHSCSA ImageJ), мікробіологічні (висів 1 мл 10-разового розведення зразків фекальних мас на диференційно-діагностичні середовища) і статистичні (аналіз розподілення вимірюваних показників за допомогою W-критерію Шапіро-Уїлкса, тестів Колмогорова-Смирнова і Ліллієфорса; визначення середнього значення та стандартного відхилення, оцінка статистичної достовірності за допомогою t-теста Ст'юдента) методи.

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлено, що, починаючи з 7-го дня впливу "Омезу®" у слизовій оболонці з'являються ознаки запалення, які поступово наростають. З 21-го дня введення "Омезу®", зростає висота слизової оболонки товстої кишки, збільшуються розміри стовпчастих епітеліоцитів. Через 28 днів впливу, крім збільшення висоти слизової оболонки та площі поперечного перерізу стовпчастих епітеліоцитів, відмічено зменшення площі ядер цих клітин і, відповідно, ядерно-цитоплазматичного співвідношення. Найсуттєвішим проявом впливу препарату "Омезу®" є поява у слизовій оболонці товстої кишки ділянок гіперемії та невеликих осередків гіперплазії, локалізованих біля верхівок крипт. Вони охоплюють епітеліальні клітини, а часом поширюються і на власну пластинку (рис. 1, 2).

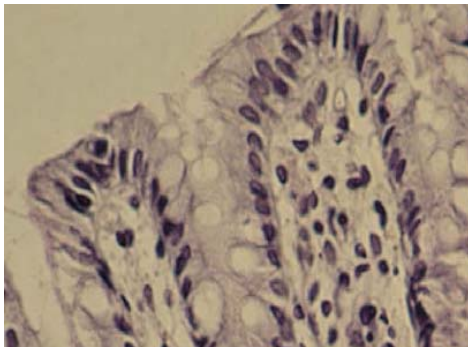


Рис. 1. Слизова оболонка товстої кишки щура контрольної групи, x 400.

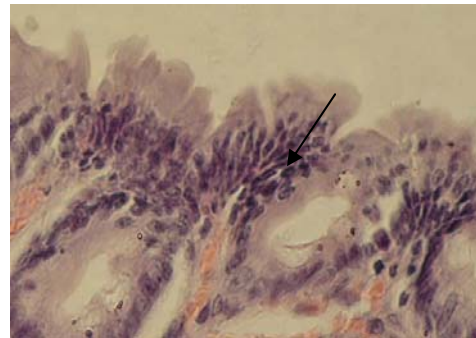


Рис. 2. Осередок гіперплазії у слизовій оболонці товстої кишки щура після 28-денного введення "Омезу®", x 400. Стрілка вказує на осередок гіперплазії

У щурів з омепразол-індукованою гіпергастринемією виявили негативні зміни мікроекології кишечника, які полягали у дисбалансі між показниками умовно-патогенної та нормальної мікрофлори. Введення мультипробіотика "Симбітер® ацидофільний" сприяє покращенню стану слизової оболонки товстої кишки, зумовленого тривалою гіпергастринемією: зникають осередки гіперплазії, відновлюється висота слизової оболонки товстої кишки і ядерно-цитоплазматичне співвідношення до контрольних значень, та збільшуються площі поперечного перерізу епітеліоцитів та їх ядер. "Симбітер® ацидофільний" ефективно стабілізує колонізаційну резистентність шлунку і кишечника та нормалізує баланс між основними видами нормальної та умовно-патогенної мікрофлори.

За допомогою методів лектинової гістохімії встановлено, що при розвитку гіпергастринемії відбувається зміна експресії рецепторів лектинів на поверхні плазмолем, що свідчить про перерозподіл вуглеводних рецепторів, властивий процесам онкотрансформації. При введенні щурам мультипробіотиків "Симбітер®

ацидофільний" і "Апібакт®" одночасно з "Омезом®" топографія рецепторів лектинів наближається до норми. За здатністю відновлювати морфо-функціональний стан слизової оболонки товстої кишки досліджені мультипробіотики можна розмістити у такому порядку: "Симбітер® форте", "Симбітер® ацидофільний", "Апібакт®". Масляна кислота має значно меншу ефективність, ніж мультипробіотики.

Таким чином, мультипробіотики є дієвим засобом, що запобігає викликаним гіпергастринемією структурно-функціональним змінам у товстому кишечнику. Доцільність включення мультипробіотиків до комплексних схем лікування пацієнтів з гіпоацидністю шлункового соку, ахілією та при тривалому прийомі антисекреторних препаратів не викликає сумнівів.

Висновки:

1. Гіпоацидність, зумовлена 28-денним введенням щурам "Омезу®", спричиняє розвиток осередків гіперплазії поблизу верхівок крипт у слизовій оболонці товстої кишки, а також викликає збільшення висоти слизової оболонки на 27,3% та площі поперечного перерізу сто-

вбчастих епітеліоцитів на 19,7% у порівнянні з контролем і зменшення площі поперечного перерізу ядер епітеліоцитів на 11,4% та ядерно-цитоплазматичного співвідношення на 26,5% у порівнянні з контролем. У 70% щурів відмічено дефіцит нормальної мікрофлори, зареєстровано збільшення кількості стафілококів та ентеробактерій роду *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, а також грибів роду *Candida*.

2. Введення мультипробіотиків "Симбітер® ацидофільний", "Апібакт®", "Симбітер® форте" та масляної кислоти одночасно з "Омезом®" протягом 28 днів дало змогу запобігти розвитку осередків гіперплазії у слизовій оболонці у порівнянні з групою щурів, які отримували "Омез®" протягом такого ж періоду часу. Усі пробіотики різною мірою відновлювали мікробіоценоз кишечника, зменшували висоту слизової оболонки, площі поперечного перерізу стовбчастих епітеліоцитів, збільшували площі поперечного перерізу їх ядер і ядерно-цитоплазматичне співвідношення.

3. За допомогою методів гістохімії встановлено, що при розвитку гіпергастринемії відбувається зміна експресії рецепторів лектинів на поверхні плазмолем, що свідчить про перерозподіл вуглеводних рецепторів, властивий процесам онкотрансформації. При введенні щурам мультипробіотиків "Симбітер® ацидофільний" і "Апібакт®" одночасно з "Омезом®" топографія рецепторів лектинів наблизилася до норми.

4. За здатністю відновлювати морфо-функціональний стан слизової оболонки товстої кишки досліджені мультипробіотики можна розмити у такому порядку: "Симбітер® форте", "Симбітер® ацидофільний", "Апібакт®". Масляна кислота має значно меншу ефективність, ніж мультипробіотики. Доцільність включення мультипробіотиків до комплексних схем лікування пацієнтів з гіпоацидністю шлункового соку, ахілією та при тривалому прийомі антисекреторних препаратів не викликає сумнівів.

1. Jensen R.T. Consequences of long-term proton pump blockade: insights from studies of patients with gastrinomas / R.T. Jensen // Basic and clinical pharmacology and toxicology. – 2006. – Vol. 98, № 1. – P. 4–19.
2. Laine L. Review article: potential gastrointestinal effects of long-term acid suppression with proton pump inhibitors / L. Laine [et al.] // Pharmacology and therapeutics. – 2000. – № 14. – P. 651–668.
3. Koh T.J. Overexpression of glycine-extended gastrin in transgenic mice results in increased colonic proliferation / T.J. Koh [et al.] // The journal of clinical investigation. – 1999. – Vol. 103, № 8. – P. 1119–1126.
4. Ottewill P.D. COOH-terminal 26-amino acid residues of progastrin are sufficient for stimulation of mitosis in murine colonic epithelium in vivo / P.D. Ottewill [et al.] // American journal of physiology – Gastrointestinal and liver physiology. – 2005. – № 288, – P.541–549.
5. Ekundayo A.A. Gastrin and the growth of the gastrointestinal tract / A.A. Ekundayo, C.Y. Lee, R.A. Goodlad // Gut. – 1995. – Vol. 36. – P. 203–208.
6. Луцик А.Д. Лектины в гистохимии / А.Д. Луцик, Е.С. Детюк, М.Д. Луцик. – Л.: Вища школа. – 1989. – 144 с.
7. Ященко А.М. Лектины як гістохімічні маркери в нормі і патології: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.03.09 / А.М. Ященко; Національний медичний ун-т ім. О.О. Богомольця. – К., 2004. – 36 с.
8. Moore R. Differences in cellular glycoconjugates of quiescent, inflamed, and neoplastic colonic epithelium in colitis and cancer-prone tamarins / R. Moore, N. King, J. Alroy // American journal of pathology. – 1988. – Vol. 131, № 3. – P. 484–489.
9. Donaldson M.S. Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet / M.S. Donaldson // Nutrition journal. – 2004. – Vol. 3, № 19. – P. 17–38.
10. Бондаренко В.М. Метаболитные пробиотики: механизмы терапевтического эффекта при микробиологических нарушениях / В.М. Бондаренко // Consilium-medicum. – 2005. – Т. 7, № 6. – С. 25–31.
11. Воробьев А.А. Предпосылки и перспективы применения пробиотиков в комплексной терапии онкологических больных / А.А. Воробьев, М.Л. Гершанович, Л.Н. Петров // Вопросы онкологии. – 2004. – № 3. – С. 361–365.
12. Калмыкова А.И. Системная реакция организма экспериментальных животных на длительный прием пробиотика / А.И. Калмыкова [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – Т. 117, №3. – С. 97–101.
13. Коровина Н.А. Роль пробиотиков и пробиотиков в функциональном питании детей / Н.А. Коровина [и др.] // Лечащий врач. – 2005. – № 2. – С. 46–52.
14. Марушко Т.Л. Системні порушення мікробіоценозу, їх профілактика та комплексне застосування пробиотика "Симбітер" у вагітних, годуючих матерів та дітей / Т.Л. Марушко [та ін.] // Перинатологія та педіатрія. – 2004. – № 4. – С. 19–26.
15. Андреева И.В. Потенциальные возможности применения пробиотиков в клинической практике / И.В. Андреева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 151–172.
16. Киселев С.А. Пребиотики: новая стратегия лечения дисбактериоза кишечника / С.А. Киселев // Качество жизни. Медицина. – 2004. – № 2. – С. 32–39.

Надійшла до редколегії 20.12.11

УДК 576.08: 576.312.32: 582.284: 582.282.232

Н.Топчій, канд. біол. наук, О.Шоломіцька, інж. 1-кат., О.Проніна, інж. 1-кат., М.Зажицька, асп., В.Позур, д-р біол. наук, Ю.Шепет, інж. 1-кат., С.Шкляр, пров. інж., Т.Мариненко, пров. інж., А.Рожок, інж. 2-кат.

ОЦІНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ РЕОРГАНІЗАЦІЇ ГЕНОМУ

*Проведена оцінка структурно-функціональної реорганізації геному різних біологічних об'єктів. Проведена порівняльна характеристика кінетики виходу ДНК при нейтральному та лужному електрофорезі ізольованих клітин. Встановлені структурні та кількісні аномалії хромосом лімфоцитів периферійної крові, які можуть використовуватися для оцінки рівня нестабільності геному дітей з саркомами м'яких тканин під час перебігу хвороби та проведення хіміотерапії. Виділені препарати з базидієвих грибів *Leucoagaricus macrorhizus* позитивно впливали на органи імунної системи піддослідних тварин, що може свідчити про їх імуностимулюючу дію.*

*We have assessed the structural and functional reorganization of the genome of various biological objects. Was carried out comparative description of the kinetics of DNA in neutral and alkaline electrophoresis of isolated cells. Established structural and numerical chromosome abnormalities of peripheral blood lymphocytes, which can be used to assess genomic instability of children with soft tissue sarcoma during the course of the disease and chemotherapy. Marked preparations *Basidiomycetes - Leucoagaricus macrorhizus* – positively affect the immune system organs of test animals, which may indicate their immunopotentiating activity.*

Вступ. Однією з важливих проблем молекулярної біології і генетики є проблема вивчення диференціальної експресії генетичної інформації, яка зберігається завдяки складній взаємодії клітинної ДНК з різними регуляторними макромолекулами, що впливають на рівень транскрипції певних генів у складі хроматину. Відомо, що з віком, під дією чинників різної природи виникають різного роду порушення у структурі ДНК. Такі порушення, в залежності, від стану організму і дози впливу можуть призводити до різних захворювань, в тому числі онкологічних. За рівнем дитячої онкологічної захворюваності Україна посідає одне з перших місць серед інших країн, при цьому рівень смертності дітей з

онкологічною патологією не відрізняється і навіть перевищує аналогічні показники у світі. Більшість випадків даної патології виникають випадково, тобто без видимих причин. Метою даної роботи було дослідження структурно-функціональної реорганізації геному рослин, тварин і мікроорганізмів; проведення цитогенетичного аналізу лімфоцитів периферійної крові дітей з саркомами м'яких тканин; вивчення реакції органів імунної системи на дію екстрактів базидієвих грибів.

Методи досліджень. Під час виконання роботи використовувався метод виділення ядер та ядерної ДНК (ядДНК) [1], електрофорез ДНК в агарозному гелі [2], метод кометного електрофорезу [3], анафазний метод обліку

хромосомних аберацій та регресійний аналіз цитогенетичних показників [4], статистичний аналіз [5] та інші.

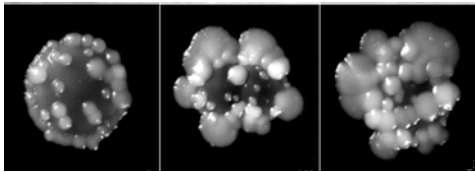


Рис.1. Вторинний ріст дріжджів на поверхні ρ^+ колоній

Результати досліджень. В результаті проведеної порівняльної характеристика кінетики виходу ДНК при нейтральному та лужному електрофорезі ізольованих клітин лімфоцитів виявлено, що тривала дія луку призводить до активації апуринових сайтів ДНК, а також, можливо, усунення матрикс-асоційованих білків. Під впливом синтетичного регулятора росту рослин – β -стимуліну – уповільнювались процеси руйнування клітинних ядер і фрагментації яДНК рослин в їх онтогенезі. Виявлені відмінності в процесах, які супроводжують старіння колоній дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*: старіння ρ^+ клонів супроводжується зростанням розміру клітин, формуванням вторинного росту на колонії та інвазією дріжджових клітин у щільне поживне середовище, а старіння колоній ρ^0 клонів супроводжувалося зниженням розміру клітин, вторинний та інвазивний ріст при цьому не реєстрували. У даних дослідженнях використовувались, як модельний об'єкт дріжджі, оскільки вони дуже добре підходять для вивчення вторинного росту. Так, на рис.1 представлений вторинний ріст дріжджів на поверхні ρ^+ колоній.

Не менш важливими структурами геному є транспозони – послідовності ДНК, що можуть переміщатися в межах геному однієї клітини за допомогою процесу транспозиції. В результаті цього процесу вони можуть викликати мутації і змінювати кількість ДНК в геномі. На модельному об'єкті *Drosophila melanogaster* ми вивчали поширення транспозону – P елемента – в популяціях цих комах на території України. Одержані результати свідчать про відносно недавню масштабну інвазію P елемента в популяції України. Ідентичність послідовності ДНК цього транспозону у зразках ДНК з України свідчить на користь гіпотези швидкого поширення P елемента у популяціях *D. melanogaster* світу.

При проведенні класичного цитогенетичного дослідження нами були проаналізовані структурні та кількісні аномалії хромосом Т-лімфоцитів дітей, які хворіють на саркоми м'яких тканин. Середнє значення мітотичного

індексу, як показника таких аномалій, у обстежених, за нашими підрахунками, становив $16,74 \pm 0,97\%$ з $\min = 0\%$ та $\max = 73,71 \pm 7,8\%$.

Серед джерел нових ефективних та безпечних протипухлинних природних речовин все частіше в останні роки постають базидієві гриби. Можливість використання грибів для терапії ракових захворювань запропонована в основному дослідниками зі східних країн, оскільки тут здавна відомо про нетрадиційні види лікування з використанням рідкісних рослин та лікарських грибів. Під час наших досліджень ми використовували екстракти міцелію та культуральну рідину штаму ТТ-1 *Leucoagaricus macrorhizus* з колекції чистих культур базидіоміцетів in vivo проводили на нелінійних мишах віком від 2-х до 3-х місяців, середньої ваги 18-20 г. Під впливом виділених препаратів спостерігали збільшення відносної маси і клітинності тимусу і лімфовузлів, що може бути свідченням активації клітинної (Т-клітинної) ланки імунітету, яка є ключовою в розвитку протипухлинних реакцій. Отже, *L. macrorhizus* може бути продуцентом біологічно активних речовин імуностимулюючої дії.

Висновки. Показано, що під час виконання даного етапу теми була проведена оцінка структурно-функціональної реорганізації геному. Зроблена порівняльна характеристика кінетики виходу ДНК при нейтральному та лужному електрофорезі ізольованих клітин. Встановлено, що під впливом β -стимуліну фрагментація ДНК листків цукрових буряків в онтогенезі уповільнюється. Виявлені відмінності в процесах, які супроводжують старіння колоній дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Встановлені структурні та кількісні аномалії хромосом лімфоцитів периферійної крові можуть використовуватися для оцінки рівня нестабільності геному дітей з саркомами м'яких тканин під час перебігу хвороби та проведення хіміотерапії. *L. macrorhizus* може бути продуцентом біологічно активних речовин з імуностимулюючої дією.

1. Topchii N.M., Sakalo V.M., Tischenko O.M., Kurchii V. M. Cytokinin influence on the nDNA and enzyme activity of sucrose metabolizing pathway during senescence of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves // *Annales University Mariae Curie-Skłodowska Lublin-Polonia. Sectio C.* – 2009. – V. 64, №1. – P. 25-34. 2. Демидов С.В., Безруков В.Ф., Сиволоб А.В., Козерецька І.А. та інш. Загальна та молекулярна генетика. Практикум. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 240 с. 3. McNamee J.P., McLean J.R.N., Ferrarotto C.L., Bellier P.V. Comet assay: rapid processing of multiple samples // *Mutation Research.* – 2000. – vol. 466. – P. 63-69. 4. Зєброва-Любимова Т. Е., Горюченко Н. Г. Стандарти аналізу препаратів хромосом людини: методичні рекомендації. – Київ, 2003. – 52 с. 5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М: МедиаСфера – 2002. – 312 с.

Надійшла до редколегії 20.12.11

УДК 577. 352. 38: 616. 36

К. Дворченко, канд. біол. наук, Є. Торгалло, канд. біол. наук, Т. Хілько, канд. біол. наук, Л. Томачинська, канд. біол. наук, Ю. Степанов, канд. біол. наук, І. Якубцова, канд. біол. наук, Л. Остапченко, проф.

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ФУНКЦІОНУВАННЯ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ТА РОЗРОБКА МЕТОДІВ ЇХ КОРЕКЦІЇ

За умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії виявлено порушення окисно-антиоксидантного балансу в гепатоцитах та зміни функціональної активності печінки. Мультипробіотик Симбітер сприяє відновленню структурно-функціонального стану гепатоцитів.

It was established a significant deviation of oxidation-antioxidant balance in hepatocytes and changes in functional activity of the liver upon the long-term gastric hypochlorhydria. Multiprobiotic Symbiter contributed to the restoration of structural and functional state of hepatocytes.

Вступ. В структурі захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) важливе місце займають гіпоацидні стани, які виникають внаслідок порушення сек-

реції гідрохлоридної кислоти парієтальними клітинами шлунка [5, 9]. В зв'язку з тим, що HCl є одним з головних стимуляторів жовчовиділення, її рівень безпосе-

редньо впливає на зовнішньосекреторну функцію печінки. Порушення процесів секреції і виділення жовчі викликає затримку її компонентів в гепатоцитах, що сприяє їх структурно-функціональним змінам. Також зниження рівня гідрохлоридної кислоти у шлунковому соку створює умови для колонізації ШКТ патогенною мікрофлорою, яка може призвести до контамінації жовчних шляхів бактеріальними збудниками інфекцій та розвитку холангітів [16]. В зв'язку з цим тривала шлункова гіпохлоргідрія може бути причиною розвитку патологічних процесів у гепатобіліарній системі.

Аналіз літератури показав наявність поодиноких та розрізнених даних стосовно взаємозв'язку тривалої шлункової гіпохлоргідрії та структурно-функціонального стану печінки. Фактична інформація не розкриває цілісної картини цих змін і потребує подальшого вивчення та пошуку можливих шляхів їх корекції.

Метою роботи було визначити біохімічні параметри структурно-функціонального стану печінки щурів за умов гіпоацидного стану та їх корекцію мультипробіотиком Симбітер.

Для досягнення мети досліджень було поставлено такі задачі:

1. Дослідити окисно-антиоксидантний баланс гепатоцитів при тривалій шлунковій гіпохлоргідрії та його корекцію мультипробіотиком Симбітер.

2. Вивчити функціональний стан печінки за умов гіпоацидного стану та його корекцію мультипробіотиком Симбітер.

Методи досліджень. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій стосовно проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин згідно Європейської конвенції (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes). Досліди проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. Гіпоацидний стан моделювали внутрішньочеревним (в/о) введенням 14 мг/кг омепразолу (ОМ) (Sigma, USA), 1 раз на добу упродовж 28 днів. Друга група щурів одночасно з введенням омепразолу отримувала мультипробіотик "Симбітер® ацидофільний" концентрований (Симбітер) (виробництва ТОВ "О.Д. Пролісок", Україна) перорально в дозі 0,14 мл/кг, розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій. У якості контролю використовували щурів, яким протягом 28 днів вводили в/ч 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій.

Гепатоцити з печінки щурів виділяли неферментативним шляхом. Ліпіди з гепатоцитів щурів екстрагували за методом Фолча хлороформ – метанольною сумішшю (2:1, за об'ємом). З отриманих сумарних ліпідів знімали спектри на інфрачервоному (ІЧ) Фур'є-спектрометрі "Nexus" ("Thermo Nicolet", США). Кількісну оцінку структурних елементів ліпідів здійснювали за методом нормування площі і визначали їх у відсотках. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептанізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шиффових основ – флуориметричним методом [2]. Вміст ТБК-активних сполук визначали за реакції з тіобарбітуровою кислотою. Активність ксантиноксидази визначали спектрофотометрично за утворенням сечової кислоти з ксантину згідно методу Bergmeyer і співавт. в нашій модифікації. Активність синтази оксиду азоту та вміст нітриту-іона визначали за накопиченням стабільних продуктів аеробного окислення оксиду азоту, який генерується внаслідок роботи ензиму. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали з використанням нітросинього тетразолію. Оцінку активності каталази (КАТ) проводили за Королюк [3]. Активність глутатіонпероксидази (ГП) визначали за накопиченням окисненого глутатіону, а глутатіон-S-трансферазну (ГТ) активність оцінювали за швидкістю утворення хромогенного глутатіонового кон'югату з 1-хлор-2,4-динітробензолом, активність глутатіонредуктази (ГР) визначали за перетворенням окисненого глутатіону у відновлену форму з використанням водню нікотинамідних коферментів [1]. Вміст відновленого глутатіону встановлювали згідно методу [10]. Рівень загальних та небілкових SH-груп оцінювали з використанням реактиву Елмана. Параметри функціонального стану печінки в сироватці крові визначали згідно стандартних методів з використанням тест-наборів фірми "Філісіт-Діагностика". Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням t-критерія Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. За умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії спостерігались суттєві зміни в структурній організації ліпідів гепатоцитів щурів (табл. 1): вміст гідроксильних груп збільшувався у 2,4 рази; альдегідних груп – у 1,7 рази, фосфатних груп – у 1,4 рази та транс-ізомерів в 1,2 рази порівняно з контролем. Одночасно знижувався вміст карбонільних груп та цис-ізомерів в 1,3 та 1,5 рази відповідно.

Таблиця 1. Вміст функціональних груп ліпідів (% від загальної кількості) печінки щурів за умов тривалої гіпоацидності, (M ± m, n=10)

Досліджуваний параметр	Група тварин		
	Контроль	Омепразол	ОМ + Симбітер
Гідроксильні групи	11,06 ± 1,01	26,61 ± 1,85	16,93 ± 1,52 [#]
Цис-ізомери	2,65 ± 0,12	1,71 ± 0,09	2,07 ± 0,14 [#]
СН-групи	45,95±2,53	32,81±2,09	44,26± 2,15 [#]
Карбонільні групи	22,28 ± 1,92	16,06 ± 1,47	18,52 ± 1,63 [#]
Альдегідні групи	1,67 ± 0,09	2,91 ± 0,11	1,37 ± 0,12 [#]
СН ₂ -групи	6,95±0,70	6,87±0,81	6,74±0,42
Фосфатні групи	7,78± 0,84	11,02± 1,03	8,51± 0,69 [#]
Транс-ізомери	1,66 ± 0,08	2,01 ± 0,13	1,60 ± 0,07 [#]

Примітка: * – p<0,05 порівняно з контролем; #– p<0,05 порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол.

Встановлене зростання в печінці щурів кількості гідроксильних і альдегідних груп на фоні зниження цис-ізомерів та збільшення транс-ізомерів свідчить про активацію процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), оскільки саме подвійні зв'язки цис-ізомерів поліненасичених жирних кислот є головною мішенню вільних радикалів. Тому наступна серія експериментів була присвячена визначенню параметрів окисно-антиоксидант-

ного балансу у гепатоцитах щурів в умовах тривалої гіпоацидності.

Показано, що після тривалого пригнічення секреції НСІ омепразолом у гепатоцитах вміст продуктів ПОЛ зростав: дієнових кон'югатів – в 2,2 рази, ТБК-активних сполук – в 1,7 рази та шиффових основ – в 1,6 рази по відношенню до контролю. При цьому збільшувалась активність ксантиноксидази та загальної NO-синтази,

відповідно в 1,3 рази та в 7 разів відносно контролю (табл. 2). Підвищення активності NO-синтази в клітинах печінки за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії при-

зводить до накопичення оксиду азоту в 5,3 рази у тканині печінки (табл. 2).

Таблиця 2. Показники окисно-антиоксидантної системи гепатоцитів щурів за умов тривалої гіпоацидності, (M ± m, n=10)

Досліджуваний параметр	Група тварин		
	Контроль	Омепразол	ОМ + Симбітер
Показники вільнорадикальних процесів			
Дієнові кон'югати, нМоль х мг білка ⁻¹	290,69 ± 19,46	632,71 ± 37,37 [*]	401,13 ± 29,85 ^{##}
ТБК-активні сполуки, нМоль х мг білка ⁻¹	74,81 ± 5,58	125,81 ± 11,43	87,57 ± 5,55 ^{##}
Шиффові основи, ум. од. х мг білка ⁻¹	8,65 ± 0,55	13,43 ± 0,85	10,21 ± 0,56 ^{##}
NO-синтаза, нМоль х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	0,36 ± 0,035	2,51 ± 0,239	0,43 ± 0,041 ^{##}
NO ₂ ⁻ , нМоль х мг білка ⁻¹	0,07 ± 0,006	0,37 ± 0,034	0,12 ± 0,011 ^{##}
Ксантинооксидаза, нМоль х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	18,44 ± 1,82	24,05 ± 2,21	20,17 ± 1,89 ^{##}
Показники антиоксидантного захисту			
супероксиддисмутаза, ум. од. х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	2,69 ± 0,24	2,23 ± 0,19 [*]	2,81 ± 0,21 [#]
каталаза, нМоль х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	69,63 ± 5,61	52,79 ± 4,93	62,98 ± 4,38 ^{##}
глутатіонпероксидаза, мкМоль GSSG х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	0,87 ± 0,08	0,51 ± 0,04	0,86 ± 0,07 ^{##}
глутатіонтрансфераза, мкМоль х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	1,13 ± 0,09	0,65 ± 0,06	1,51 ± 0,14 ^{##}
глутатіонредуктаза, нМоль НАДФН х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	3,23 ± 0,29	2,39 ± 0,21	2,92 ± 0,28 ^{##}
вміст відновленого глутатіону, нМоль х мг білка ⁻¹	7,65 ± 0,76	4,02 ± 0,36	4,38 ± 0,42
небілкові SH-групи, мкМоль х мг білка ⁻¹	0,57 ± 0,05	0,41 ± 0,03	0,92 ± 0,08 ^{##}
білкові SH-групи, мкМоль х мг білка ⁻¹	2,92 ± 0,24	0,67 ± 0,06	1,25 ± 0,12 ^{##}
загальні SH-групи, мкМоль х мг білка ⁻¹	3,49 ± 0,34	1,08 ± 0,09	2,17 ± 0,19 ^{##}

Примітка: * - p<0,05 порівняно з контролем; # - p<0,05 порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол.

За умов тривалого гіпоацидного стану у гепатоцитах щурів активність ензимів антиоксидантної системи (АОС) знижувалась: СОД та КАТ – в 1,2 рази, ГП та ГТ – в 1,7 рази, ГР – в 1,4 рази, вміст відновленого глутатіону – в 1,9 рази відносно контролю. Дослідження вмісту SH-груп у гепатоцитах щурів за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії показало зниження їх рівня: небілкових SH-груп – в 1,4 рази, білкових SH-груп – в 4,4 рази та загальних SH-груп – в 3,2 рази відносно контролю (табл. 2).

Встановлені порушення окисно-антиоксидантного статусу гепатоцитів щурів за умов тривалої гіпохлоргі-

дрії свідчать про можливі зміни функціональної активності печінки. Тому наступним етапом досліджень було визначення біохімічних параметрів функціонування печінки. Важливим критерієм стану печінки є її біосинтетична функція. За умов тривалої гіпоацидності в сироватці крові спостерігалось зниження вмісту тканиноспецифічного білка альбуміну в 1,5 рази порівняно із контролем (табл. 3). Причиною розвитку гіпоальбумінемії може бути посилення катаболізму альбуміну, що часто спостерігається при гострій відповіді печінки на стресові фактори [8].

Таблиця 3. Біохімічні показники функціонального стану печінки в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності, (M ± m, n=10)

Досліджуваний параметр	Група тварин		
	Контроль	Омепразол	ОМ + Симбітер
Показники біосинтетичної функції печінки			
Альбумін (г/л)	42,28 ± 3,95	28,81 ± 2,43	36,07 ± 3,59 ^{##}
Сечовина (ммоль/л)	7,05 ± 0,49	3,28 ± 0,27	6,82 ± 0,52 ^{##}
Сечова кислота (ммоль/л)	0,45 ± 0,04	0,57 ± 0,05	0,51 ± 0,04 ^{##}
Вміст метаболітів, що видаляються печінкою з крові			
Загальний білірубін (мкмоль/л)	2,72 ± 0,21	2,01 ± 0,14	2,42 ± 0,22 ^{##}
Активність маркерних ензимів печінки (Од/л х мг білка)			
Аланінамінотрансфераза	3,67 ± 0,21	2,26 ± 0,12 [*]	2,76 ± 0,23 ^{##}
Аспаратамінотрансфераза	5,14 ± 0,31	5,20 ± 0,31	5,34 ± 0,49
γ-глутамілтранспептидаза	0,08 ± 0,01	0,62 ± 0,04	0,06 ± 0,01 ^{##}
Холінестераза	197,99 ± 13,86	53,09 ± 2,65	144,51 ± 12,78 ^{##}
Лужна фосфатаза	45,74 ± 3,98	32,7 ± 2,44	37,05 ± 3,51
Лактатдегідрогеназа	359,12 ± 25,14	728,81 ± 51,02	685,91 ± 54,12

Примітка: * – p<0,05 порівняно з контролем; # - p<0,05 порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол.

Показано, що введення щурам ОМ впродовж 28 днів призводило до зниження в сироватці крові вмісту сечовини – в 2,1 рази по відношенню до контролю (табл. 3), що може бути пов'язане із підвищенням рівня сечової кислоти (на 27%), яка є інгібітором синтезу N-ацетилглутамату, який в нормі активує ключовий енізм циклу сечовини карбамоїлфосфатсинтетазу-1 [15]. Збільшення вмісту сечової кислоти може бути наслідком активації ксантинооксидази у гепатоцитах в умовах тривалої гіпоацидності. Зниження вмісту загального білірубину на 26% (табл. 3) при тривалій гіпохлоргідрії

може вказувати на розлад детоксикаційної функції печінки та бути наслідком інфекційного процесу в організмі [6].

Через добу після 28 днів введення ОМ, активність аланінамінотрансферази знижувалась в 1,6 разів по відношенню до контролю (табл. 3). Активність аспаратамінотрансферази при цьому не змінювалась. Розрахунок коефіцієнту де Рітиса показав, що у тварин з гіпоацидним станом він значно підвищувався і становив 2,3, що свідчить про розвиток патологічних процесів в печінці [12]. Тривала гіпоацидність призводила до зростання активності γ-глутамілтранспептидази в 7 разів порівняно з контролем, що свідчить про наявність запа-

льних процесів та розвиток окисного стресу [17]. При цьому активність лужної фосфатази в сироватці крові знижувалась в 1,5 рази по відношенню до контролю, що може бути пов'язано з дефіцитом вітаміну В₁₂, оскільки в умовах гіпоацидності його засвоєння організмом послаблюється. Зниження активності холинестерази в 4 рази у щурів з гіпоацидним станом узгоджується із літературними даними [14], що на думку авторів свідчить про гепатотоксичні явища та розвиток гепатиту. В сироватці крові щурів "омепразолової" групи сумарна активність ізоформ лактатдегідрогенази (ЛДГ) була в 2 рази вищою, ніж у контролі. В медичній практиці сумарну активність ізоформ ЛДГ використовують в якості однієї з діагностичних ознак гострого гепатиту, хоча для остаточного діагнозу є необхідним визначення рівня окремих ізоформ ензиму.

Показано, що при введенні мультипробіотику Симбітер щурам з гіпоацидним станом досліджувані біохімічні параметри структурно-функціонального стану печінки частково відновлювались до контрольних значень (табл. 1-3).

Висновки. Таким чином, за умов тривалої гіпоацидності шлункового соку спостерігається активація процесів ПОЛ та виснаження системи антиоксидантного захисту, що зумовлює функціональні розлади в печінці.

Мультипробіотик Симбітер при одночасному введенні з омепразолом сприяв відновленню структурно-функціонального стану гепатоцитів (табл. 1-3). Позитивна дія Симбітеру на печінку пов'язана з широким спектром його фізіологічної активності, зокрема протимікробним, імуномодуючим та антирадикальним властивостям [4]. Так, до складу мультипробіотику Симбітер, входять бактерії, що синтезують антиоксидантні ензими та вітаміни, які безпосередньо нейтралізують утворені АФК [7]. Наявність у мультипробіотику Симбітер таких мікроелементів, як цинк, марганець, мідь, що входять до складу активних центрів ензимів АОС, сприяє більш ефективній роботі антиоксидантного захисту клітин. Крім того бактерії, які є у складі Симбітеру, індують синтез відновленого глутатіона, який вносить основний внесок у функціонування АОС антирадикального захисту клітин [13]. Також відомо, що пробіотичні бактерії синтезують екстрацелюлярні полісахариди, які здатні знешкоджувати вільні радикали [11]. Отримані резуль-

тати свідчать про ефективність та доцільність використання мультипробіотику Симбітер як мембраностабілізуючого, метаболічного і антиоксидантного засобу профілактики патологічних змін в печінці в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку різного ґенезу.

1. Власова С.Н., Шабуніна Е.И., Переслегина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. – 1990. – Вып. 8. – С. 19–22. 2. Колесова О.Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О.Е. Колесова, А.А. Маркин, Т.Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546. 3. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – Вып. 1. – С. 16–18. 4. Короткий О.Г. Биохимичні механізми розвитку запалення в щурів з тривалою шлунковою гіпоацидністю та за умов введення мультипробіотику "Симбітер®": Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2011. – 21 с. 5. Ali T., Roberts D.N., Tierney W.M. Long-term Safety Concerns with Proton Pump Inhibitors // The American Journal of Med. – 2009. – Vol. 122, №10. – P. 896–903. 6. Canani R., Terrin G. Gastric acidity inhibitors and the risk of intestinal infections // Curr. Opin. Gastroenterol. – 2010. – Vol. 26, №1. – P. 31–35. 7. Carroll I.M., Andrus J.M., Bruno-Brcena J.M., et al. Anti-inflammatory properties of *Lactobacillus gasseri* expressing manganese superoxide dismutase using the interleukin 10-deficient mouse model of colitis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2007. – Vol. 293. – P. G729–G738. 8. Doweiko J., Nompoggi D. The role of albumin in human physiology and pathophysiology, part III: albumin and disease states // Journal of Enteral and Parenteral nutrition. – 1991. – Vol. 15, №4. – P. 207–211. 9. Гарсна Rodriguez L.A., Lagergren J., and Lindblad M. Gastric acid suppression and risk of oesophageal and gastric adenocarcinoma: a nested case control study in the UK // Gut. – 2006. – Vol. 55(11). – P. 1538–1544. 10. Kannan R., Tang D., Mackic J. et al. A simple technique to determine glutathione (GSH) levels and synthesis in ocular tissues as GSH-bimane adduct: application to normal and galactosemic guinea-pigs // Exp. Eye Res. – 1993. – Vol. 56, №1. – P. 45–50. 11. Kodali V.P., Sen R. Antioxidant and free radical scavenging activities of an exopolysaccharide from a probiotic bacterium // Biotechnol. J. – 2008. – Vol. 3(2). – P. 245–251. 12. Kuntz E., Kuntz H.D. Hepatology. Principles and Practice. – Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2006. – 906 p. 13. Lutgendorff F., Trullsson L.M., Minnen L.P. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2008. – Vol. 295. – P. G1111–G1121. 14. Mequid S., Ramzan I. Serum cholinesterase inhibition by omeprazole and lansoprazole // Pharmazie. – 2004. – Vol. 59, №9. – P. 733. 15. Nissim I., Horyn O., Nissim I., et al. Down-regulation of hepatic urea synthesis by oxypurines: xanthine and uric acid inhibit N-acetylglutamate synthase // J. of Biol. chem. – 2011. – Vol. 286, №25. – P. 22055–22068. 16. Williams C. Proton Pump inhibitors and bacterial overgrowth / C. Williams, K.E.L. McColl // Alimentary pharmacol. and Therap. – 2006. – Vol. 23. – P. 3–10. 17. Zhang H., Forman H.J. Redox regulation of γ -glutamyl transpeptidase // Am. J. of Respiratory Cell and Mol. Biol. – 2009. – Vol. 41. – P. 509–515.

Надійшла до редколегії 02.12.11

УДК 577. 3. 27

Я. Раєцька, канд. біол. наук, Ж. Строцька, канд. біол. наук,
Т. Преображенська, канд. біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЗА ДІЇ КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ПАТОЛОГІЙ

Оцінено біохімічні показники крові та стан антиоксидантної системи і процесів перекисного окиснення ліпідів при злоякісному рості у щурів з резистентною формою карциноми Герена за умов введення комплексу біологічно активних речовин.

By biochemical blood parameters and antioxidant systems and processes of lipid peroxidation in malignant growth in rats with Guerin carcinoma resistant form under conditions of entering the complex of biologically active substances.

Вступ. Вивчення біохімічних механізмів злоякісного росту з виявленням можливих підходів до його корекції за допомогою біологічно активних речовин становить один з провідних напрямків комплексних онкологічних досліджень. Злоякісні пухлини розвиваються на фоні перебудови нейрогуморального й метаболічного статусу організму [1, 2]. Характер і спрямованість злоякісного процесу в значній мірі визначаються станом реактивності організму. На сьогоднішній день експериментальними і клінічними спостереженнями переконливо доведено перспективність використання засобів природного походження в комбінованій терапії онкологічних захво-

рювань [4, 5, 15]. Дуже часто основною причиною терапевтичних невдач у лікуванні хворих на рак є формування резистентності пухлин до різних хіміопрепаратів. Тому особливий інтерес викликають препарати, що підвищують протипухлинну резистентність, що перешкоджають розвитку метастазів і рецидивів пухлин, що знижують токсичні прояви хіміотерапії. Отже, застосування препаратів здатних нормалізувати стан фізіологічної антиоксидантної системи і підвищити здатність організму протистояти пухлинному процесу є важливим для онкології [3, 4, 14].

Метою нашої роботи було:

оцінити ступінь гальмування росту пухлини у динаміці її росту при розвитку карциноми Герена та резистентної карциноми Герена на фоні введення дослідного препарату;

дослідження біохімічних показників сироватки крові (загального білка, альбуміну) у щурів з резистентною карциною Герена при застосуванні комплексу біологічно активних речовин

дослідження показників ПОЛ і ферментів антиоксидантної системи в органах (головному мозку, печінці та селезінці) тканині щурів з резистентною карциною Герена у динаміці її росту за умов введення комплексу біологічно активних речовин

Матеріали і методи. Досліди проводились на 100 білих лабораторних щурах-самках масою 180 ± 20 г, яких утримували на стандартній дієті віварію. Тваринам трансплантували резистентну карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції у ділянку стегна задньої кінцівки 20%-ної суспензії пухлинних клітин на 0,9%-ному розчині NaCl, отриманих від щурів-донора [1,2] (штам пухлини наданий Інститутом експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Кавецького НАН України).

Частині тварин щоденно протягом 21-ї доби після прищеплення пухлини вводили дослідний препарат в різних дозах. Піддослідні тварини були розділені на 4 групи: 1 – контроль, інтактні щури, що отримували розчин NaCl – 1 мл.; 2 – щури з прищепленою резистентною карциною Герена, що отримували розчин NaCl – 1 мл.; 3 – щури з прищепленою резистентною карциною Герена, що отримували препарат в дозі 90 мг/кг; 4 – щури з прищепленою резистентною карциною Герена, що отримували препарат в дозі 136 мг/кг.

Ефективність протипухлинної дії препарату, оцінювали за ступенем гальмування росту пухлини, у динаміці її об'єму реєстрували за формулою: $V = (a+b)^3/16$, де a – більший, діаметр пухлини, b – менший діаметр пухлини.

Тварин під легким ефірним наркозом декапітували через 21 добу після перевивання пухлин.

Визначення загального білка в сироватці крові проводилося за допомогою біохімічного аналізатора Humalyser 3000 з використанням набору для колориметричного фотометричного визначення концентрації загального білка біуретовим методом. Визначення альбуміну в сироватці крові проводилося за допомогою біохімічного аналізатора Humalyser 3000 з використанням набору для колориметричного визначення концентрації альбуміну з використанням бромкрезолового зеленого.

Вміст вторинних продуктів ПОЛ оцінювали у реакції з тіобарбітуровою кислотою згідно (ТБК) [8]. Активність каталази визначали згідно [9] за калібрувальною кривою з використанням препарату каталази еритроцитів бика ("Sigma", США). Активність загальної супероксиддисмутази (СОД) оцінювали за методом, описаним у роботі [10] за здатністю ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксид-аніон, який генерується в результаті взаємодії НАДН та феназинметасульфату.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми OriginLab 8.0. Зміни показників вважали достовірними при $p < 0,05$; при $p > 0,05$ зміни враховували як тенденцію [11].

Результати досліджень та їх обговорення. На першому етапі нашої роботи, було досліджено вплив комплексу біологічно активних речовин на злоякісний ріст у щурів з прищепленою резистентною карциною Герена та з прищепленою карциною Герена. (рис.1, рис.2).

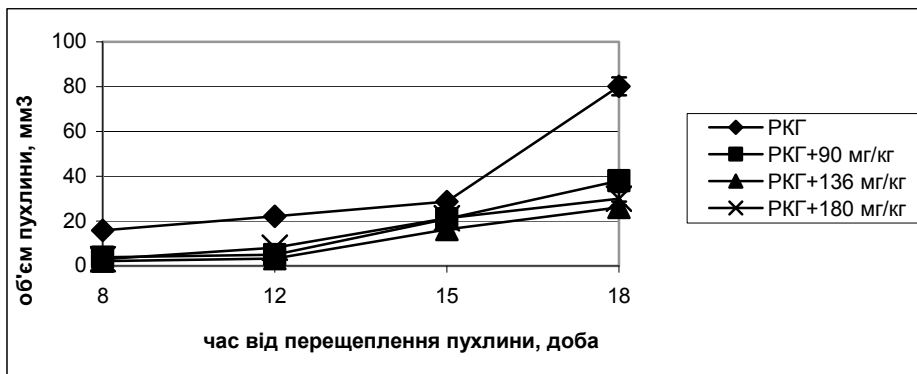


Рис.1. Динаміка середніх об'ємів резистентної карциноми Герена у щурів при застосуванні комплексу біологічно активних речовин

Примітка: РКГ – резистентна карцинома Герена

* – вірогідні зміни порівняно з РКГ тваринами ($p < 0,05$).

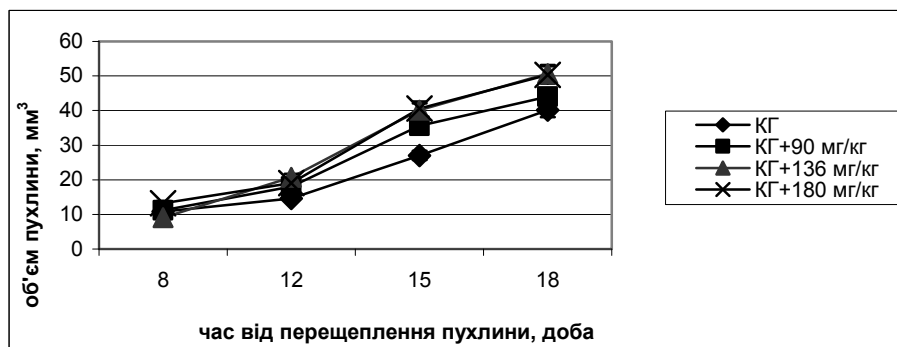


Рис.2. Динаміка середніх об'ємів карциноми Герена у щурів при застосуванні комплексу біологічно активних речовин

Примітка: КГ – карцинома Герена

* – вірогідні зміни порівняно з КГ тваринами ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Зміна біохімічних показників крові (загальний білок, г/л) у щурів з резистентною карциномою Герена при застосуванні комплексу біологічно активних речовин

Групи тварин, умови досліджу	Загальний білок, г/л		
	15 доба після прищеплення пухлини	18 доба після прищеплення пухлини	23 доба після прищеплення пухлини
Контроль	63,1±3,13	62,3±3,1	62,1±2,3
РКГ	37,1±0,1	36,7±0,3	31,2±0,1
РКГ + 90мг/кг	*36,9±0,1	*40,2±0,5	*56,8±0,6
РКГ + 136мг/кг	*33,4±0,1	*55,2±0,6	*62,2±0,9

Примітки (умови досліджу):

* – вірогідні зміни порівняно з РКГ (p<0,05)

контроль – інтактні щури, що отримували розчин NaCl – 1 мл.

РКГ – щури з прищепленою резистентною карциномою Герена, що отримували розчин NaCl – 1 мл.

Таблиця 2. Зміна біохімічних показників крові (альбумін, г/л) у щурів з резистентною карциномою Герена при застосуванні комплексу біологічно активних речовин

Групи тварин, умови досліджу	Альбумін, г/л		
	15 доба після прищеплення пухлини	18 доба після прищеплення пухлини	23 доба після прищеплення пухлини
Контроль	41,1±0,12	41,12±0,2	41,1±0,1
РКГ	30,6±0,6	30,7±0,5	29,1±0,1
РКГ + 90мг/кг	*27,1±0,4	*35,2±0,2	39,2±0,3
РКГ + 136мг/кг	30,9±0,5	*32,2±0,1	*43,1±0,1

Таблиця 3. Вміст ТБК-активних продуктів в гомогенаті різних органів (нмоль/мг білка) у щурів з резистентною карциномою Герена за умов введення комплексу біологічно активних речовин

Групи тварин, умови досліджу	ТБК, нмоль/мг		
	Печінка	Селезінка	Мозок
Контроль	78,47±2,78	67,29±2,29	58,8±1,69
РКГ	256,62±27,56*	190,3±27,21	97,61±10,27*
РКГ + 90мг/кг	176,52±3,43*	126,49±26,38	115,08±2,09*
РКГ + 136мг/кг	112,88±10,21*	117,85±38,04	101,03±10,43*

Таблиця 4. Активність СОД ум. од. / (мг білку * хв.) у гомогенатах печінки, селезінки та мозку, нирок у щурів з резистентною карциномою Герена за умов введення комплексу біологічно активних речовин

Групи тварин, умови досліджу	СОД, у.о./мг білка		
	Печінка	Селезінка	Мозок
Контроль	2,49±0,05	1,51±0,04	1,9±0,03
РКГ	1,47±0,02*	0,82±0,05*	1,43±0,05*
РКГ + 90мг/кг	1,66±0,25*	0,77±0,04*	1,32±0,09
РКГ + 136мг/кг	1,69±0,02*	1,20±0,14*	1,5±0,09

Таблиця 5. Активність каталази мкмоль пероксиду водню/(мг білку*хв.), у гомогенатах печінки, селезінки та мозку, нирок у щурів з резистентною карциномою Герена за умов введення комплексу біологічно активних речовин

Групи тварин, умови досліджу	Каталаза, у.о./мг білка		
	Печінка	Селезінка	Мозок
Контроль	192,83±45,7	119,47±9,37	135,59±8,73
РКГ	91,79±8,55	55,7±10,13*	60,68±1,56*
РКГ + 90мг/кг	218,40±8,09	100,8±65,5*	117,99±17,4
РКГ + 136мг/кг	205,22±52,3	101,61±2,61	67,85±13,9*

Нами було показано, що дослідна речовина має стабілізуючий вплив на злоякісний ріст резистентного штаму карциноми Герена. Даний ефект спостерігається протягом усього терміну досліджень, порівняно з пухлинним контролем (резистентною карциномою Герена). При порівняльному вивченні трьох варіантів доз дослідної речовини на щурів з прищепленою резистентною карциномою Герена, ми дійшли висновку: найбільш ефективною експериментально встановленою дозою є 136 мг/кг. Дане спостереження було зроблене за двома критеріями: величина гальмування росту пухлини та збільшення тривалості життя щурів по відношенню до дослідного контролю.

Показано, що дослідна речовина має протилежний вплив на злоякісний ріст штаму карциноми Герена, порівняно з резистентним штамом. Даний ефект спостерігається протягом усього терміну досліджень, порівняно з пухлинним контролем (карциноми Герена).

На другому етапі наших досліджень, було досліджено біохімічні показники сироватки крові (загального білка, альбуміну) у щурів з карциномою Герена у динаміці її росту на фоні ведення дослідних препаратів, ході дослідження були отримані наступні дані (табл. 1, 2).

В ході дослідження спостерігалась стабілізація всіх біохімічних показників в межах, близьких до нормальних величин. При цьому були достовірні відмінності (p<0,05) між досліджуваними групами.

На третьому етапі було проведено дослідження інтенсивності вільнорадикального окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази і каталази – у тканинах печінки, селезінки та мозку щурів з резистентною формою карциноми Герена за дії дослідна речовина у дозах 90 та 136 мг/кг.

В ході проведених досліджень встановлено, що злоякісний ріст призводить до змін значень пероксидного окислення ліпідів. Порухення інтенсивності ПОЛ в

результаті злякисного росту супроводжувалося змінами активності ферментів антиоксидантної системи. Показано, що введення дослідного препарату сприяє нормалізації процесів пероксидації. Нами було показано, що дослідна речовина проявляє значний гальмівний ефект на ріст резистентної пухлини. Отже, можна зробити висновок, за умов введення досліджуваної речовини в різних дозах прослідковувалася спільна тенденція, однак, за умов введення більшої дози препарату, вплив був ефективнішим.

Висновки. Визначено зниження рівня загального білка та альбуміну за умов злякисного росту резистентної карциноми Герена у сироватці крові щурів.

Встановлено, що злякисний ріст резистентної форми карциноми Герена призводить до зростання значень пероксидного окислення ліпідів в 2-3 рази в усіх досліджуваних органах порівняно з контрольною групою, що супроводжувалося зниженням активності ферментів антиоксидантної системи в 1,5-2,5 рази в тканинах печінки, селезінки та мозку щурів.

Показано, що введення дослідної речовини сприяє нормалізації процесів пероксидації, біохімічних показників крові, проявляє значний гальмівний ефект на ріст резистентної пухлини. В різних дозах прослідковувалася спільна тенденція, однак, за умов введення більшої дози препарату 136 мг/кг, вплив був ефективнішим.

1. Кавецкий Р.Е. Реактивность организма и опухолевый рост. Киев: Наук.думка, 1981. 432 с. 2. Димант И.И., Шарипов Р.К., Муратходжаев Н.К. и др. Окислительные процессы и опухолевый рост. Ташкент: Изд.-

полиграф. объединение им. Ибн.Сины, 1992. 155 с. 3.Raetska Ya.B., Belokon U.N., Varaboy V.A., Ostapchenko L.I. Correction of oxidant-antioxidant homeostasis in rats with Geren carcinoma in radiotherapy // Физика живого. – 2003. – Vol. 11, №1. – С.89-94. 4.Раецька Я.Б., Білокінь Ю.М., Прокопова К.В., Лукашкова К.В. Оцінка дії антиоксиданту (проантоціанидину) на злякисний ріст при променевої терапії // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2003. – Вип.41. – С.118-120. 5.Amagava S., Ogihara Y. Effects of shosaikoto, an oriental herbal medicinal mixture, on restraint-stressed mice // J.Ethnopharmacol. 1990. – Vol. 28. – N 3. – P.357-363. 6.Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. К.: Наук.думка, 1991. 256 с. 7.Greenberg C.S., Craddock P.R. // Clin Chem. – 1982. – V. 28, 7. – P. 1725-1726. 8.Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. – М., 1977. 9.Королюк М.А., Иванова Л.И., Монтарева В.Е. и др. // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19. 10.Nishikimi M., Roa N.A.,Yogi K. // J. Biochem. Biophys. Res. Commun. -1972. – V.46. – P. 849-854. 11.Лакин Г. Ф. Биометрия: Учебное пособие для биол. спец. Вуз. – 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.: ил. 12.Димант И.И., Шарипов Р.К., Муратходжаев Н.К. и др. Окислительные процессы и опухолевый рост. Ташкент: Изд.-полиграф. объединение им. Ибн.Сины, 1992. 155 с. 13.Bagchi D., Garg A.,Krohn R.L., Bagchi M., Bagchi D.J., Balmoori J. and Stohs S.J. // Gen. Pharmac. 2005. 30, N 4. P. 1-6. 14.Богун Т.А., Богун Е.А., Степанов А.А. Современные подходы к повышению эффективности противоопухолевой терапии путем индивидуальной оптимизации лечения и избирательного снижения побочных токсических проявлений цитостатиков // Антибиотики и химиотерапия. 2000. Т. 45, № 1.С. 32-38. 15. Е.Д. Гольдберг, Е.П. Зуева Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных новообразований. Томск, 2000. – 129 с.

Надійшла до редколегії 05.12.11

УДК 577.1:615; 577.21;576.385

Я. Максимович, канд. біол. наук, О. Харченко, канд. біол. наук, Л. Огороднік, канд. біол. наук, В. Верещака, д-р мед. наук, Н. Ракша, канд. біол. наук, В. Ковальова, канд. біол. наук, Л. Богун, канд. біол. наук, О. Сокур, канд. біол. наук, Л. Остапченко, проф.

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-КЛІТИННИХ ПРОЦЕСІВ В НОРМІ І ПРИ ПАТОЛОГІЇ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЕКЗО- ТА ЕНДОГЕННИХ ФАКТОРІВ, БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН І СУБСТАНЦІЙ

Досліджено процеси ліпопероксидації і функціонування системи антиоксидантного захисту в клітинах різних органів щурів за умов впливу іонізуючого опромінення низької потужності, алкогольної інтоксикації, стресу та колітис-асоційованого канцерогенезу. Показано, що активацію процесів вільнорадикального окислення на ранніх термінах впливу стресових факторів, тоді як зміни у функціонуванні стрес-лімітуючої (антиоксидантної) системи мали різнонаправлений характер і залежали від сили і терміну дії уражуючого чинника.

Processes of lipid peroxidation and antioxidant system functioning were researched in cell of different organs in conditions of action of low dose ionizing radiation, alcoholic intoxication, stress and colitis-associated carcinogenesis. It was shown that processes of free radical oxidation activate on early period of stress factors action whereas changes of stress-limiting (antioxidant) system functioning had multidirectional pattern and depended on power and term action of damaging factor.

Вступ. Проблема підвищення неспецифічної резистентності та розширення адаптаційних можливостей організму завжди була в центрі уваги дослідників біології і медицини. Відомо, що адаптаційні механізми запускаються у відповідь на дію різних факторів (фізичних, хімічних, психоемоційних). Проте, коли їх дія достатньо велика і пролонгована у часі, тоді починаються руйнівні явища в клітинах та тканинах, включаються компенсаторні механізми, які є невід'ємною складовою резервних можливостей організму. Разом зі специфічними компенсаторними реакціями можуть виникати і неспецифічні реакції виключно стресової спрямованості. Якщо раніше джерелом стресу були лише хвороби та випадкові екстремальні впливи, то, натеper проявляється тенденція до зростання хронічно діючих факторів, особливо в умовах надзвичайного забруднення довкілля, що, очевидно, являється причиною зростання хронічних захво-

рювань. В таких умовах особливого значення набуває вивчення неспецифічних, захисно-приспосувальних реакцій організму у відповідь на несприятливі зміни середовища, названих у своєму комплексі загальним адаптаційним синдромом, або стресом. На даний час показано існування цілого ряду неспецифічних зрушень, що відбуваються на клітинному і субклітинному рівнях під час дії надзвичайних подразників. До таких неспецифічних реакцій відноситься також і посилення перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Не дивлячись на велику кількість досліджень, місце ПОЛ в загальній картині розвитку адаптаційного синдрому залишається невизначеним. Участь ПОЛ практично в усіх аспектах функціонування клітинних мембран пов'язано з регуляторними процесами. Раніше, в наших роботах було показано, що тривала активація процесів ПОЛ призводить до невідновних деструктивних змін мембран і по-

в'язаних з ними ферментів. Не виключено, що саме деструктивні зміни в мембранах будуть грати певну роль у фазових переходах стресу (особливо в переході зі стадії резистентності в стадію виснаження). Разом з вирішенням виключно теоретичної задачі – вивчення специфічних тканинних механізмів розвитку оксидативного стресу, важливим практичним завданням є пошук фармакологічних препаратів для корекції виявлених порушень. Розуміння цих механізмів дозволить цілеспрямовано діяти на внутрішньоклітинні процеси з метою пом'якшення наслідків оксидативного стресу і, також, запобігання його розвитку за небажаним сценарієм, а саме, перешкоджати запуску механізмів запрограмованої загибелі клітин (апоптозу або некрозу).

Мета – дослідження процесів ліпопероксидації і антиоксидантного статусу організму за умов впливу чинників різної природи. Для досягнення поставленої мети були поставлені такі завдання: Визначити вміст дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, шиффових основ та активність ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонзалежних ензимів: пероксидази, трансферази, редуктази, вміст відновленого глутатіону) та оцінити стан системи ПОЛ у клітинах різних органів щурів за умов опромінення, розвитку хронічної алкогольної інтоксикації, стресу і коліт-асоційованого канцерогенезу.

Методи досліджень. Дослідження були проведені на безпородних щурах-самцях масою тіла 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин піддавали разовому тотальному рентгенівському опроміненню в дозах: 0,1 Гр; 0,5 Гр; 1,0 Гр. Декапітацію тварин проводили через 1; 12, 24 та 168 год (7 діб) після опромінення. Опромінення проводили на установці РУМ-17 з тубусом за наступних умов: потужність дози 0,055 Гр/хв, фільтри 0,5 мм Cu та 1 мм Al, сила струму 10 мА, напруга 200 кВ, шкіро-фокусна відстань 100 см. Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації у піддослідних тварин відтворювали за методом [1] шляхом внутрішньошлункового введення 40° етилового спирту з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини раз на добу протягом 21 дня. Одночасно з етанолом тварини отримували внутрішньошлунково оцтовокислий цинк у дозі 20 мг на 1 кг маси тварини. Проби тканин для аналізу відбирали на 4, 7, 11, 16 та 21 добу розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. Експериментальну виразку шлунка у піддослідних тварин викликали методом імобілізаційного водно-імерсійного стресу [2]. Дослідження проводили через 30 хв., 1, 2, 3 год. після дії стресового чинника і через 12 і 24 години після припинення дії уражуючого фактору. Розвиток експериментального коліт-асоційованого канцерогенезу товстої кишки у піддослідних тварин індукували згідно з методом [3] шляхом повної заміни питної води на 1,5% розчин декстрансульфат натрієвої солі (далі ДСН, М. м. 35000-50000) і подальшим щотижневим підшкірним введенням специфічного проканцерогену – 1,2-диметилгідрозину (далі ДМГ) (20 мг/кг) протягом 2,5 місяців. Розвиток патології діагностували за симптомами, а ступінь уражень слизової оболонки товстої кишки оцінювали при аутопсії візуально та гістологічно. Дослідження проводили через одну, три, сім діб розвитку виразкового коліту та через два, чотири, шість, вісім та десять тижнів впливу канцерогену.

Результати досліджень. Показники, які визначають рівень вільнорадикальних процесів та стан антиоксидантної системи і характеризують функціонування захисно-приспосувальних механізмів організму на клітинному

рівні, виступають чутливими тестами на дію різних екзогенних чинників, у тому числі іонізуючої радіації у малих дозах. В результаті проведеної роботи нами було виявлено особливості впливу іонізуючого опромінення в дозах 0,1; 0,5 та 1,0 Гр, з потужністю 55 МГр/хв у крові, препаратах слизової оболонки тонкої кишки (СОТК) і печінки через 1; 12, 24 год і 7 діб після впливу ушкоджуючого фактору. Так, опромінення в дозі 0,1 Гр не призводить до суттєвих змін досліджуваних показників крові, однак у клітинах печінки та, особливо, СОТК спостерігається активація ферментів антиоксидантного захисту (каталази та СОД) на тлі незначного накопичення ТБК-активних продуктів. За умов опромінення в дозах 0,5 та 1,0 Гр інтенсифікація окисних процесів, про що свідчить зростання рівня ТБК-активних продуктів у досліджуваних препаратах, супроводжується різнонаправленими змінами в активності ферментів антиоксидантного захисту. Перш за все, реактивним збільшенням активності каталази у сироватці крові та клітинах СОТК та печінки, а також інгібуванням активності СОД у клітинах СОТК. Величини активностей досліджуваних ферментів не повертаються до контрольного рівня через 7 діб після опромінення. Отримані дані свідчать про індукцію в результаті рентгенівського опромінення в дозах 0,1; 0,5 та 1,0 Гр (за потужності поглиненої дози 55 МГр/хв) ланцюгової реакції вільнорадикальних процесів та порушення проокисно-антиоксидантної рівноваги в клітинах. Більш інтенсивно активуються ферменти, які приймають участь у відновленні органічних пероксидів (глутатіонпероксидаза та глутатіонтрансфераза) та пероксиду водню (каталаза та глутатіонпероксидаза) при опроміненні в дозах 0,1 та 0,5 Гр. Опромінення в дозі 1,0 Гр призводить до інгібування активностей антиоксидантних ферментів (особливо мітохондріальних) в тканинах СОТК та печінки. Як показано раніше [4], при опроміненні з потужністю поглиненої дози 340 МГр/хв, лише із зростанням дози опромінення до 2,0 Гр та вище, виявлено порушення окисно-антиоксидантного гомеостазу в різних тканинах. Таким чином, відповідь антиоксидантних клітинних систем на зовнішній вплив (іонізуюче опромінення) на початковій стадії носить регуляторний характер, змінюється активність функціонуючих систем, яка залежить від потужності опромінення, а із зниженням потужності реакція антиоксидантних клітинних систем проявляється при менших дозах опромінення.

Дослідження впливу хронічної алкогольної інтоксикації дало можливість встановити накопичення первинних, вторинних та третинних продуктів ПОЛ в усіх досліджуваних органах та тканинах. Зокрема, у клітинах печінки, мозку та сироватці крові щурів порівняно з контролем на 21 добу вміст дієнових кон'югатів зростав, відповідно, в 1,5, 9 і 6 разів; ТБК-активних продуктів – у 3,3, 3,5 і 4 рази та шиффових основ – у 2, 1,4 і 1,3 рази. Застосування оцтовокислого цинку за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації приводило до поступової корекції зазначених змін. На 21 добу порівняно з експериментальною моделлю вміст ТБК-активних продуктів у клітинах печінки, мозку та сироватці крові щурів був нижчим, відповідно, у 3, 2,7 і 3,2 рази та шиффових основ у 2,1, 1,3 і 1,2 рази (табл. 1). Паралельно з накопиченням продуктів ПОЛ за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації у тканинах спостерігалось зниження активності антиоксидантних ферментів. Зокрема, у клітинах печінки, мозку та сироватці крові щурів порівняно з контролем на 21 добу активність СОД була меншою, відповідно, на 47, 85 та 16%; а активність каталази у клітинах печінки та сироватці – відповідно, на 47

та 33% (табл. 2, 3). Застосування оцтовокислого цинку за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації приводило до поступової нормалізації активності СОД і каталази у сироватці крові та клітинах мозку щурів. Відомо, що у механізмах захисту клітин від екзо- та ендогенних токсичних сполук та вільних радикалів важливу роль відіграють глутатіонзалежні антиоксидантні ферменти [5]. Виявилося, що хронічне введення етанолу зменшувало активність глутатіонпероксидази (ГП) в усіх досліджених тканинах, причому особливо значні зміни

відбувались у печінці, де система глутатіону є основою в антиоксидантному захисті (рис. 1). У клітинах печінки та мозку активність глутатіонтрансферази (ГТ) під впливом етанолу знижувалась на всіх етапах експерименту (рис. 2 А, Б), що співпадало з посиленням процесів ПОЛ (табл. 1). Одержані результати узгоджуються з даними інших авторів щодо зниження під впливом етанолу вмісту відновленого глутатіону та посилення процесів пероксидації [6].

Таблиця 1. Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів у клітинах печінки, мозку та сироватці крові щурів при застосуванні оцтовокислого цинку за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації (M±m, n=9)

Доба	Дієнові кон'югати, [нмоль/мг білка]		ТБК-активні продукти, [нмоль/мг білка]		Шиффові основи, [ум. од./мг білка]	
	Е	Е+Zn	Е	Е+Zn	Е	Е+Zn
Печінка						
К	144,65±7,27		43,42±3,87		72,32±5,03	
4	205,86±20,35*	199,56±22,14*	97,85±7,84*	65,66±7,26*#	112,89±9,96*	110,89±10,08*
7	360,23±32,04*	215,05±23,65*#	46,02±3,22	39,65±4,34	109,79±8,64*	134,07±12,03*#
11	470,96±37,68*	442,04±39,78*	123,53±10,84*	98,56±8,91*#	106,97±8,03*	69,60±7,17*#
16	765,64±130,05*	585,39±81,91*#	134,05±11,72*	58,28±7,54*#	135,73±12,39*	70,27±7,02*#
21	222,06±17,76*	193,59±21,23*#	142,89±14,06*	45,65±5,52*#	152,11±16,72*	71,45±6,54*#
Сироватка крові						
К	400,97±36,17		6,25±0,42		58,35±4,64	
4	515,01±56,65*	546,34±60,07*	8,58±0,77*	7,69±0,72*	60,41±4,18	59,83±3,98
7	550,89±49,04*	696,31±62,64*#	20,42±2,42*	15,97±1,28*#	72,07±6,48*	62,92±5,04*
11	754,72±62,78*	828,78±91,08*	13,32±1,17*	18,01±1,62*#	102,77±8,24*	72,95±8,03*#
16	1597,15±127,76*	1468,25±161,48*	18,89±1,44*	7,89±0,55*#	87,81±4,83*	76,20±5,32*#
21	2341,63±210,69*	2233,33±245,63*	25,08±1,75*	7,98±0,81*#	74,88±5,12*	66,26±5,04*
Мозок						
К	214,59±17,28		6,05±0,37		274,53±30,22	
4	614,75±49,21*	349,65±20,94*#	14,44±0,84*	16,81±1,19*#	279,28±19,72	286,15±25,74
7	914,29±73,12*	769,23±53,82*#	33,07±1,94*	28,89±1,74*#	407,04±32,56*	369,81±32,73*
11	875,58±71,27*	817,31±57,18*	13,57±0,95*	11,72±0,68*#	315,34±22,07	274,11±19,26
16	1657,75±115,79*	1064,42±93,24*#	15,16±1,05*	11,28±0,54*#	330,59±17,82*	312,32±21,82
21	2011,83±180,27*	1242,55±111,73*#	20,37±1,12*	7,52±0,68*#	389,28±27,37*	321,74±20,27*#

* – P ≤ 0,05 порівняно з контролем; # – P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю

Таблиця 2. Активність СОД у клітинах печінки, мозку та сироватці крові щурів при застосуванні оцтовокислого цинку за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації (ум. од./хв-мг білка), (M±m, n=9)

Доба	Печінка		Сироватка крові		Мозок	
	Е	Е+Zn	Е	Е+Zn	Е	Е+Zn
К	4,22±0,29		0,068±0,0061		1,65±0,12	
4	1,69±0,12*	1,92±0,11*#	0,049±0,0051*	0,052±0,0053*	1,98±0,16*	2,06±0,19*
7	2,17±0,19*	2,58±0,21*	0,046±0,0077*	0,058±0,0047*	1,38±0,08*	1,59±0,11
11	1,74±0,14*	1,81±0,11*	0,042±0,0056*	0,053±0,0065*	1,21±0,15*	1,49±0,09#
16	3,02±0,21*	3,51±0,28*	0,055±0,0069*	0,066±0,0113	0,83±0,07*	1,76±0,07#
21	2,65±0,16*	3,19±0,22*#	0,057±0,0076*	0,07±0,0049#	0,63±0,06*	1,78±0,08#

* – P ≤ 0,05 порівняно з контролем; # – P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю

Таблиця 3. Активність каталази у клітинах печінки, мозку та сироватці крові щурів при застосуванні оцтовокислого цинку за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації (мкмоль H₂O₂/хв-мг білка), (M±m, n=9)

Доба	Печінка		Сироватка крові		Мозок	
	Е	Е+Zn	Е	Е+Zn	Е	Е+Zn
К	13,45±1,21		1,35±0,1215		0,88±0,0616	
4	9,49±0,81*	9,46±0,76*	0,54±0,0486*	0,72±0,0504*	0,96±0,1056*	0,88±0,0603
7	9,43±0,73*	9,82±0,92*	0,22±0,0176*	0,42±0,0132*#	1,19±0,1071*	1,20±0,132*
11	9,48±0,75*	10,08±0,61*	0,13±0,0117*	0,52±0,0468*#	0,81±0,0729	0,87±0,0737
16	8,49±0,59*	11,77±1,04*#	0,33±0,0161*	0,67±0,0056*#	0,83±0,0664	0,92±0,0828
21	8,45±0,59*	9,39±0,74*	0,91±0,0357*	1,01±0,0729	0,81±0,0648	0,78±0,0702*

* – P ≤ 0,05 порівняно з контролем; # – P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю

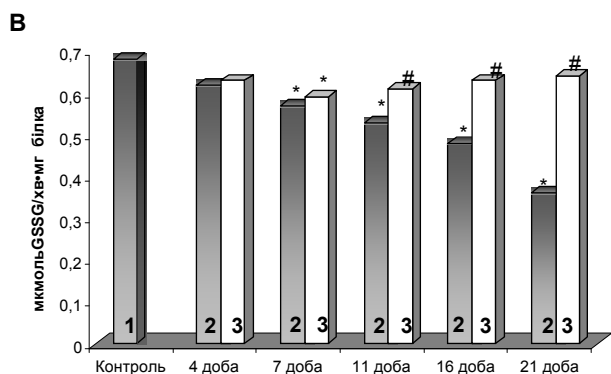
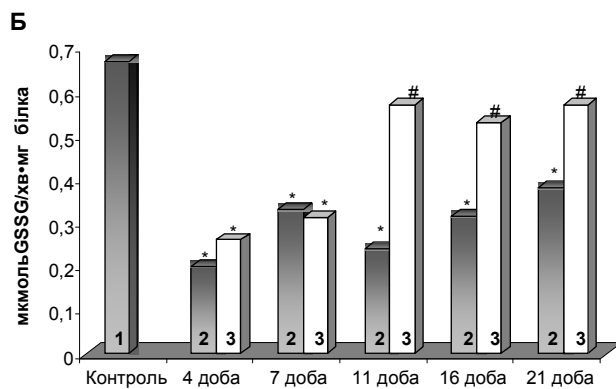
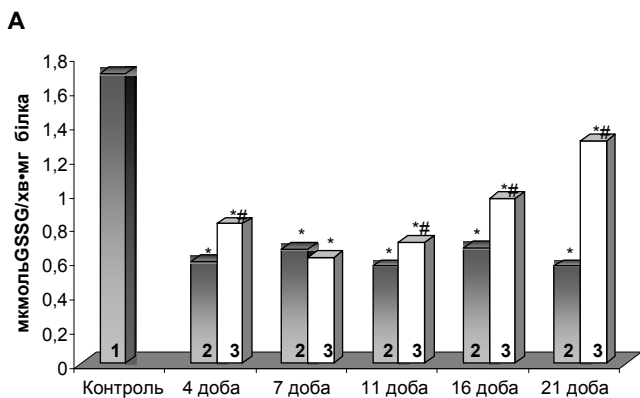


Рис. 1. Активність глутатіонпероксидази клітин печінки (А), мозку (Б) та сироватки крові (В) щурів при застосуванні оцтовокислого цинку за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації (M±m, n=9) 1 – контроль; 2 – етанол; 3 – етанол + оцтовокислий цинк.

* – P ≤ 0,05 порівняно з контролем;
– P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю.

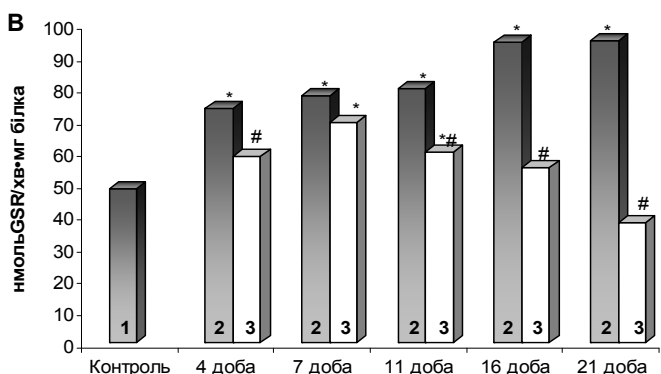
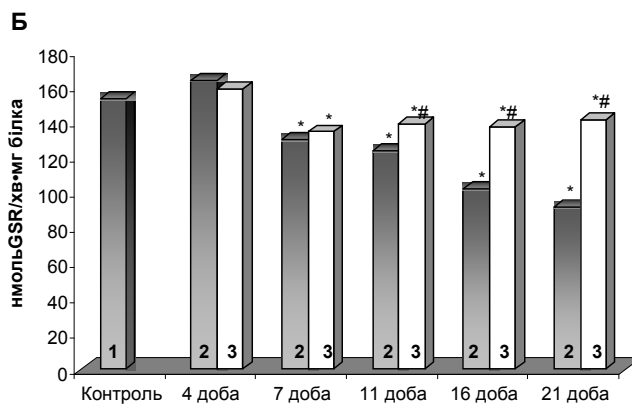
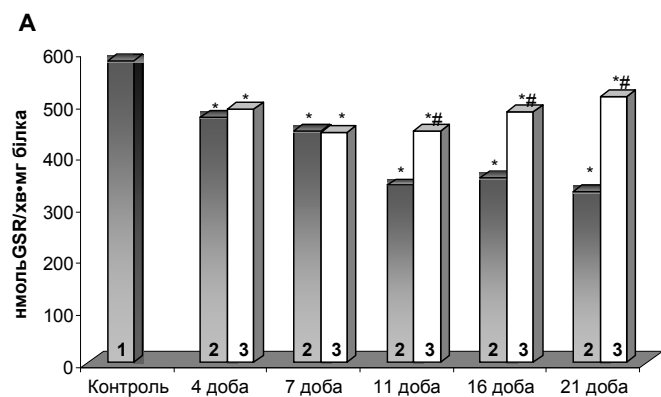


Рис. 2. Активність глутатіонтрансферази клітин печінки (А), мозку (Б) та сироватки крові (В) щурів при застосуванні оцтовокислого цинку за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації (M±m, n=12) 1 – контроль; 2 – етанол; 3 – етанол + оцтовокислий цинк

* – P ≤ 0,05 порівняно з контролем;
– P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю.

Проте, у сироватці крові алкогольна інтоксикація, навпаки, викликала зростання активності ГТ (рис. 2 В), що може бути пов'язаним підвищенням цього показника при ушкодженнях печінки. Застосування оцтовокислого цинку приводило до поступового посилення активності глутатіонзалежних ферментів, що може свідчити про активацію за цих умов адаптаційних процесів у тканинах печінки і мозку. Введення цинку сприяло зниженню активності ГТ у сироватці крові.

Таким чином, введення етанолу призводило до посилення процесів вільнорадикального окислення в усіх досліджуваних органах та тканинах, у той час як оцтовокислий цинк сприяв відновленню антиоксидантних властивостей.

При дослідженні процесів ліпопероксидації і функціонування системи антиоксидантного захисту за умов розвитку стрес-індукованого ураження слизової оболонки шлунку нами було встановлено, що вміст ТБК-

активних продуктів підвищувався протягом всього періоду досліджень (30 хв, 1,2,3 год) і досягав максимального значення за 3 годинної дії пошкоджуючого чинника (у 2 рази вище від контролю). Після зняття дії стресу (12 і 24 год) процеси загоєння супроводжувалися зниженням вмісту вторинних продуктів ПОЛ. Аналогічні результати нами були отримані і при дослідженні активності ферментів антиоксидантного захисту. Так, активність СОД, катадази, глутатіон редуктази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази і вміст відновленого глутатіону знижувались в залежності від терміну впливу стресового чинника, тоді як припинення дії стресу супроводжується загоєнням структурно-геморагічних уражень слизової оболонки шлунка і відновленням вивчаємих показників до фізіологічної норми.

За умов експериментальної моделі коліт-асоційованого кацерогенезу було показано, що в клітинах слизової оболонки кишечника щурів відбувається підви-

щення вмісту ТБК-активних продуктів, що призводить до посилення деструктивних процесів перекисного окислення ліпідів (табл. 4). Дослідження вмісту ТБК-активних продуктів за умов дії канцерогену на фоні запалення показало, що на 2-ий тиждень впливу ДМГ цей показник досягав свого максимального значення протягом експерименту і становив 204% порівняно з контролем. На більш пізніх етапах розвитку колоректальної метаплазії статистично достовірних змін вмісту ТБК-активних продуктів виявити не вдалося. Зниження рівня ТБК-активних продуктів ПОЛ в клітинах слизової оболонки товстої кишки може бути викликане зменшення вмісту ліпідів, які є субстратом ПОЛ. Надмірна акумуляція продуктів ПОЛ на перших тижнях дії канцерогену, очевидно, не є імунною відповіддю на запальний чинник, і супроводжується вираженими цитотоксичними та мутагенними реакціями.

Таблиця 4. Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів, відновленого глутатіону та активність ферментів антиоксидантного захисту в епітеліоцитах слизової оболонки товстої кишки щурів за умов коліт-асоційованого канцерогенезу ($M \pm m$, $n=7-11$)

	ТБК-активні продукти [нмоль/мг білка]	СОД [ум.од./хв.*мг білка]	Каталаза [мкмоль H ₂ O ₂ /хв. мг білка]	GSH [нмоль/мг білка]	Глутатіонпероксидаза [мкмоль/хв*мг]	Глутатіонредуктаза [нмоль НАДФН/хв*мг]
контроль	185,89±15,26	0,054±0,005	4,40±0,38	37,2±4,1	0,642±0,082	74,58±8,55
3 д. ДСН	230,77±19,64*	0,038±0,003*	3,48±0,33*	35,1±3,9	0,412±0,055*	144,71±11,31*
7 д. ДСН	243,59±21,35*	0,026±0,002*	3,32±0,29*	26,1±3,3*	0,944±0,110*	337,62±29,42*
ДСН+2 тиж. ДМГ	378,21±35,08*	0,021±0,002*	3,21±0,31*	33,3±4,2	0,825±0,093*	187,64±19,52*
ДСН+4 тиж. ДМГ	173,08±18,73	0,018±0,001*	3,28±0,42*	29,7±3,5	1,149±0,124*	230,39±24,12*
ДСН+6 тиж. ДМГ	179,49±17,12	0,025±0,003*	1,53±0,13*	27,9±3,4*	1,166±0,153*	251,92±22,68*
ДСН+8 тиж. ДМГ	217,95±20,83	0,015±0,002*	2,75±0,25*	20,9±3,6*	1,364±0,148*	166,33±17,33*
ДСН+10 тиж. ДМГ	218,06±21,04	0,017±0,002*	3,30±0,31*	22,1±3,2*	0,817±0,103	101,78±11,73*

* $p \leq 0,05$ по відношенню до контролю.

Встановлене нами порушення прооксидантного стану обумовлено змінами в механізмі антирадикального захисту. Так, вже на початкових етапах впливу ДСН (3-ій день) активність СОД складала лише 70%, а каталази – 79% від контролю, на 7-ий день коліту дані показники продовжували знижуватись і становили, відповідно – 48% та 75% від контролю. Припинення дії запального чинника – ДСН і застосування специфічного канцерогену супроводжувались подальшим зменшенням досліджуваних параметрів. Мінімальне значення активності каталази – 35% від контролю, було зафіксоване на 6 тиждень дії ДМГ, потім спостерігалось зростання цього показника, на 10-ий тиждень експерименту він складав 75% від контролю. Активність СОД за умов розвитку онкопатології знижувалась постійно, досягаючи найменших значень на 8-ий і 10-ий тиждень експерименту (28% та 31% від контролю, відповідно). Отримані нами результати свідчать про швидке виснаження антиоксидантної системи захисту при розвитку запалення, дисплазії та злоякісної трансформації клітин. Дослідження вмісту відновленого глутатіону в цитоплазмі колоноцитів щурів за умов розвитку коліт-асоційованого канцерогенезу дало можливість встановити його зниження по відношенню до контролю у кожний із періодів спостереження. Протягом 3-х днів впливу ДСН вміст відновленого глутатіону в клітинах слизової оболонки товстої кишки щурів зменшувався на 6% порівняно з контролем, а на 7-ий день експерименту – на 30%. Подаль-

ше введення специфічного канцерогену – ДМГ протягом 2 тижнів призводило до зростання досліджуваного показника, але контрольних значень він досягав. Слід додати, що в цей період спостерігалось пригнічення типових симптомів запалення. В наступні терміни формування онкопатології відмічено статистично достовірне зниження кількості відновленого глутатіону в колоноцитах. Мінімального значення цей параметр досягав на 8-ий тиждень дії ДМГ, становлячи лише 56% від контрольної величини. Також нами було встановлено, що за умови розвитку експериментального виразкового коліту активність глутатіонзалежних ферментів значно варіювала відповідно до термінів дії ініціюючого чинника. Показано, що в динаміці формування ВК на початкових етапах (3-тій день) спостерігалось статистично достовірне зниження активності глутатіонпероксидази в колоноцитах щурів на 36% в порівнянні з контролем. Зниження активності ГП, на фоні виявленого нами інгібування СОД та каталази в ці ж строки дослідження, може бути важливим чинником ініціації процесів ліпопероксидації та накопичення її продуктів, які, в свою чергу, можуть призвести до патологічних наслідків. Поруч із цим, слід відмітити, що на 3-тій день введення ДСН нами встановлено зростання активності глутатіонтрансферази на 38% та глутатіонредуктази – на 94%. Ці результати вказують на активацію процесів відновлення окисленого глутатіону, за які відповідає ГР, та знешкодження токсичних продуктів пероксидації. Оскі-

льки ГТ шляхом трансформації, нековалентного зв'язування і ковалентного приєднання реактивних метаболітів та ксенобіотиків, здатна запобігати пошкодженню ДНК, ліпідів, білків та життєво важливих центрів клітин і, як наслідок значно збільшувати стійкість клітин і організму в цілому. Відомо, що глутатіонтрансферази, на відміну від ГП, не впливають на H_2O_2 , але проявляють виражену глутатіонпероксидазну активність по відношенню до ендогенних субстратів – гідроперекисів поліненасичених жирних кислот. Тому, виявлену нами активацію ГТ можна розглядати як компенсаторну реакцію за умов пригнічення ГП. В даному випадку можна прийти до висновку про реципрокную дію ГП та ГТ в розвитку порушень метаболічних процесів. На 7-му добу розвитку ДСН-стимульованого запалення товстого кишечника щурів нами показано статистично достовірне зростання активності всіх досліджуваних глутатіонзалежних ферментів, на фоні зниження вмісту відновленого глутатіону. Так, активність ГП складала 147% порівняно з контролем, в той час, як показники ГТ та ГР перевищували контроль на 181% та 350% відповідно. Зазначимо, що в даний період спостереження активності двох останніх ферментів досягали своїх максимальних значень, зафіксованих протягом всього експерименту. Таким чином, можна зробити висновок, що запалення супроводжується вираженою гіперактивацією всіх глутатіонзалежних ферментів. Даний факт, на фоні зниження активності СОД та накопичення МДА вказує на виснаження описаної вище "першої лінії" антиоксидантного захисту та активацію "другої та третьої ланок" захисту за умов прогресування коліту. Подальша дія канцерогену – ДМГ супроводжувалась такими змінами: активність всіх досліджуваних ферментів дещо знижувалась порівняно із запальним станом протягом перших двох тижнів розвитку онкопатології і становила для ГР – 252%, для ГП – 129%, а для ГТ – 105% порівняно з контролем, що супроводжувалось нормалізацією кількості GSH. Така тенденція може бути обумовлена зменшенням оксидативного стресу, зокрема пригніченням "дихального вибуху", який супроводжує реакції запалення. В наступні терміни дослідження спостерігалось зростання активностей всіх глутатіонзалежних ферментів. Зокрема ГР та ГТ досягали максимальних значень (338% та 152% порівняно з контролем відповідно) за умов дії ДМГ на 6-тий тиждень, а показник ГП зростав до 8-ого тижня, коли він становив 213% від контролю. На 10-тий тиждень експерименту активності досліджуваних ферментів дещо знижувались, однак контрольних показників не досягали і перевищували їх на 27-37%. Таким чином, розвиток коліту супроводжується накопиченням ТБК-активних продуктів, зниженням активності СОД та каталази (що свідчить про виснаження антиоксидантного потенціалу клітин слизової оболонки), і компенсаторним зростанням активності ферментів глутатіонової складової системи антиоксидантного захисту: редуктази і пероксидази, призводячи до поступового зменшення пулу відновленого глутатіону.

Отримані нами дані свідчать про те, що в залежності від характеру і терміну дії стресового фактору прооксидантно-антиоксидантна система відповідає різнонаправленими змінами вивчаємих параметрів. Так, компенсаторне зростання активності ферментів не сприяє знешкодженню токсичних продуктів, зокрема ТБК-активних, що може бути однією з причин формування гострих запальних реакцій, накопичення пошкоджень біологічних полімерів, виникнення мутацій та порушення проліферації та диференціації клітин. Відтак, можна зробити припущення, що зміни у функціонуванні різних ланок антиоксидантних систем клітин різ-

них органів і накопичення в них токсичних метаболітів відіграють одну з провідних ролей у формуванні стресіндукованих уражень, запалення та онкопатології. Зокрема, "незадовільний" стан структурних елементів клітини є чинником, що стимулює "апоптоз зсередини". Пусковим елементом такого типу апоптозу є серйозні ушкодження генетичного апарату клітини та мембран (особливо мітохондрій) в результаті перекисного окислення ліпідів, що поруч з активацією білків, які формують мегапори мітохондрій, призводить до вивільнення протеаз та цитохрому с і активації каспази-9. Вважають, що важливу роль в регуляції апоптозу при його індукції через АФК мають антиоксидантні системи захисту клітин, оскільки один із способів регуляції клітинних функцій (а очевидно і апоптозу) здійснюється за допомогою динамічного балансу про- та антиоксидантних процесів. Крім описаних вище негативних наслідків, спричинених порушенням функціонування антиоксидантних систем та накопиченням шкідливих метаболітів, зазначимо, що пероксидази є попередниками при формуванні ейкозаноїдів. Зокрема, вони стимулюють накопичення в клітині вторинних месенджерів – циклоулеотидів: цАМФ та цГМФ, при цьому останній утворюється в результаті активації гідроксилами цитоплазматичної гуанілатциклази. АФК викликають накопичення іонів Ca^{2+} в цитозолі та стимуляцію фосфорилування білків в результаті активації протеїнкіназ (особливо PKC) і протеїнтірозинкіназ та інгібування протеїнфосфатаз; активують білок Ras, який відіграє важливу роль при передачі сигналу до ядра. В загальному ж АФК та ліпідні гідроперекиси в низьких субтоксичних концентраціях здатні індукувати такі процеси, як експресія генів (в тому числі гени ранньої відповіді та інші протоонкогени), поділ клітин, активацію транскрипційних факторів (NF- κ B), синтез білків (цитокінів, білків адгезії і т. д.).

Висновки. 1. Разове рентгенівське опромінення щурів в дозах 0,1, 0,5 та 1,0 Гр потужністю поглиненої дози 55 мГр/хв призводить до інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення та порушення функціонування антиоксидантної системи організму щурів. Зниження потужності поглиненої дози опромінення обумовлює прояв реакції-відповіді антиоксидантних клітинних систем при менших дозах опромінення, що необхідно враховувати у протипухлинній терапії.

2. Показано активацію процесів вільнорадикального окиснення в усіх досліджених органах і тканинах з одночасним зниженням активності ферментів антиоксидантного захисту в динаміці розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. Застосування оцтовокислого цинку приводило до нормалізації вивчаємих процесів.

3. Дослідження функціонування антиоксидантної системи захисту в динаміці розвитку стресіндукованих уражень показали зниження активності її основних ферментів (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази, глутатіонредуктази) спряжене з виснаженням пулу відновленого глутатіону та накопиченням ТБК-активних продуктів в залежності від терміну впливу стресового фактору. Процеси відновлення уражених ділянок слизової оболонки шлунка характеризувались нормалізацією вищезазначених показників.

4. За умов розвитку коліт-асоційованого канцерогенезу показано накопичення токсичних продуктів ліпопероксидації не лише в терміни запалення, але і через два тижні дії ДМГ. Виявлені зміни відбувались на фоні зниження активності основних ферментів антиоксидантного захисту – СОД і каталази в усі терміни дослідження.

тр., Ташкент, 1983. – С. 38–41. 2. An FL, An SC, Zhang ZT Effects of sodium sulfonate daidzein on stress-induced gastric ulcer and its possible mechanism // Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. 2006 May;22(2):225-8. 3. Wang JG, Wang DF, Lv BJ, Si JM. A novel mouse model for colitis-associated colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine and dextran sulfate sodium. // World J Gastroenterol. 2004 Oct 15;10(20):2958-62. 4. Hayes J. D. Glutathione transferases // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2005. V. 45. – P. 51–88. 5. Gyamfi M. A. The effect of ethanol, ethanol metabolizing enzyme inhibitors, and Vitamin E

on regulating glutathione, glutathione S-transferase, and S-adenosylmethionine in mouse primary hepatocyte // Hepatol Res. – 2006. – V. 35, №1. – P. 53–61. 6. Balasubramanian V. Role of leptin on alcohol-induced oxidative stress in Swiss mice // Pharmacol Res. – 2003. – V. 47, №3. – P. 211–216. 7. Seril DN, Liao J, Yang GY, Yang CS. Oxidative stress and ulcerative colitis-associated carcinogenesis: studies in humans and animal models. // Carcinogenesis. 2003 Mar;24(3):353-62.

Надійшла до редколегії 05.12.11

УДК 612.017.1.579.861.2

М. Рудик, канд. біол. наук, Л. Гриценко, пров. інж.,
А. Путніков, пров. інж., Н. Яворська, інж. 1-кат., В. Святецька, інж. 1-кат.

ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ЕФЕКТИ ЛЕКТИНУ *BACILLUS SUBTILIS* B-7025 ПРИ ПУХЛИННОМУ РОСТІ

Показана здатність цитотоксичного лектину Bacillus subtilis B-7025, як самостійного засобу, пригнічувати ріст та метастазування пухлин, посилювати імунну відповідь при пухлинному рості. Превентивний протипухлинний ефект лектину продемонстрований на експериментальних моделях саркоми 37, карциноми Ерліха, метастазуючої карциноми легені Льюїса. Виявлена протипухлинна ефективність при різних схемах застосування лектину. Досліджений його вплив на пухлинний процес та показники імунологічної реактивності в умовах, наближених до клінічних, при хірургічному видаленні первинної пухлини. Вивчено також адаптаційний вплив окситоцину та мелатоніну на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції за умов стресу у птахів.

The antineoplastic and antimetastatic effects of Bacillus subtilis B-7025 lectin was shown as well as its immunomodulating properties during tumour growth. The preventive anticancer effect of lectine was demonstrated on the experimental models of sarcoma 37, Ehrlich carcinoma and metastazing Lewis lung carcinoma. The effects of lectin depended on administration scheme. Influence of lectin on tumor growth and parameters of immune reactivity in conditions approached to clinical after surgical removal of a primary tumour was detected. Also the adaptive influence of oxitocyn and melatonin on the development of compensatory adaptive reactions in birds under the stress conditions was established.

Вступ. Цитотоксичний лектин (ЦЛ) виділений із культуральної рідини сапрофітного мікроорганізму *B. subtilis* B-7025 володіє цитотоксичною активністю, спрямованою проти злоякісних клітин, і здатний підвищувати імуногенність протипухлинних аутовакцин [1, 2]. Проте як самостійний імуномодуляторний та протипухлинний препарат цитотоксичний лектин *Bacillus subtilis* B-7025 досі не вивчений. Гормон епіфізу мелатонін має онко-, геропротекторний та імуностимулюючий вплив, а гіпоталамічний гормон окситоцин володіє широким спектром ефектів на різні органи-мішені, що можуть входити до комплексу механізмів компенсаторно-приспосувальної реакції під час стресу [3].

Метою роботи було встановити імуномодуляторні ефекти цитотоксичного лектину *Bacillus subtilis* B-7025 у інтактних мишей та у мишей з прищепленими пухлинами різного гістогенезу, а також вивчити реакцію органів нейроімуноендокринної системи (епіфізу, бурси Фабриціуса) на стресові фактори та участь в цих процесах гормонів та імунізації. Для досягнення мети були поставлені наступні завдання: 1) дослідити вплив лектину *Bacillus subtilis* B-7025 у різних дозах на показники імунологічної реактивності інтактних мишей; 2) вивчити ефект превентивного введення лектину *Bacillus subtilis* B-7025 щодо розвитку пухлинного процесу в різних модельних системах *in vivo* та встановити оптимальну схему його застосування для досягнення протипухлинної дії; 3) вивчити дію лектину *Bacillus subtilis* B-7025 на реакції протипухлинної резистентності мишей в динаміці росту та метастазування експериментальних пухлин; 4) вивчити вплив окситоцину, мелатоніну та імунізації на морфометричні показники органів нейроімуноендокринної системи у птахів в умовах стресу, індукованого низькими температурами та темрявою.

Методи досліджень. Було використано методи експериментального моделювання патологічних станів у тварин – перещеплення пухлинних ліній мишам [4] та індукції стресу у птахів температурою та темрявою; імунологічні – оцінка клітинних та біохімічних показників периферійної крові, оцінка реакцій лімфоїдних органів, оцінка киснезалежного метаболізму перитонеальних макрофагів [5], визначення цитотоксичної активності

перитонеальних макрофагів та мононуклеарних лімфоїдних клітин селезінки [6], визначення рівня специфічних антитіл до лектину [7]; стандартні гістологічні методи [8], статистичні методи [9].

Результати досліджень та їх обговорення. Результати досліджень свідчать, що цитотоксичний лектин проявляє значний вплив на клітинну ланку неспецифічного імунітету у інтактних тварин. На органічному рівні найбільш потужна відповідь на введення лектину спостерігалась з боку лімфовузлів, маса яких підвищувалась на фоні посилення проліферації лімфоїдних клітин у органі. Відмічалась також позитивна тенденція в реакції селезінки. Такі дані співвідносяться із клітинними показниками периферійної крові, де фіксували підвищення відносного вмісту моноцитів та гранулоцитарних лейкоцитів. Під дією лектину посилювалась як цитохімічна, так і цитотоксична активність перитонеальних макрофагів. Зокрема найвідчутніший ефект було отримано при застосуванні дози ЦЛ 10 мг/кг.

Як було виявлено, усі застосовані схеми введення ЦЛ спричиняли помітне гальмування росту аденокарциноми Ерліха, при чому існує чітка залежність протипухлинної дії від кількості ін'єкцій цитотоксичного лектину. Вона виражається у достовірному гальмуванні пухлинного росту більше ніж на 40 % та зростанні виживання тварин із аденокарциномою більше ніж на 25 % (в порівнянні з контролем) при застосуванні 4-ох та 3-ох разового введення лектину (рис.1). Така дія лектину супроводжувалась значними змінами імунної реактивності в бік активації деяких її ланок. Введення ЦЛ у дозі 1 мг/кг ваги тіла та в режимі чотирикратних ін'єкцій підвищувало показник гемоглобіну та сприяло нормалізації кількісного показника еритроцитів. Реакція лімфоїдних органів на введення лектину мишам до прищеплення пухлин проявляється у підвищенні клітинності лімфовузлів та нормалізації вагових і клітинних показників селезінки, що відбуваються протягом всього пухлинного процесу. Киснезалежний метаболізм макрофагів достовірно зростав у всіх дослідних групах порівняно із показниками мишей інтактного контролю. Найвища цитотоксична активність відзначалась у лімфоцитів мишей-пухлиноносців, котрим вводили

лектин 3- та 4-кратно. Вона достовірно перевищувала контрольний показник на 15 %.

Поєднання превентивного введення ЦЛ у дозі 10 мг/кг з його терапевтичним застосуванням (доза ЦЛ – 2,5 мг/кг) призводило до посилення гальмування росту саркоми 37 до 60% та подовження життя дослідних мишей на 69,5 % у порівнянні з контрольними значеннями мишей із пухлиною. Вплив ЦЛ на ріст пухлини у мишей при даній комбінованій схемі експерименту може обумовлюватись двома причинами: активацією протипухлинного захисту у мишей та безпосередньою цитотоксичною дією лектину на пухлинні клітини.

Введення лектину тваринам з саркомою 37 разом із його профілактичним застосуванням характеризувалося активацією лімфоїдних клітин та зростанням їх вмісту в периферичній крові. Лектин, при застосуванні його за комбінованою схемою, ініціював активацію клітин лімфоїдних органів та спричиняв компенсаторний вплив на їх показники при пухлинному рості. Відзначався стимулюючий вплив лектину у тварин із пухлиною на функціональну активність перитонеальних макрофагів, особливо на ранній стадії пухлинного росту, та природні кілерні клітини селезінки на більш пізньому етапі розвитку саркоми 37.

Результати вказують, що лектин *Bacillus subtilis* B-7025 у дозі 10 мг/кг володіє значним антиметастатич-

ним потенціалом, який виражався у гальмуванні метастазування на 62 %. При введенні ЦЛ перед операційним видаленням пухлини у 42,8 % тварин метастази не утворювались. Імунологічні показники прооперованих мишей, які отримували профілактичне введення ЦЛ перед операцією, знаходились на досить високому рівні та співвідносились із результатами, отриманими на інших експериментальних моделях.

Цитотоксичний лектин *Bacillus subtilis* B-7025 проявляв стимулюючий вплив на специфічну гуморальну імунну відповідь. Він спричиняв утворення специфічних антитіл IgG як у інтактних мишей після 3-кратної імунізації, так і у мишей з прищепленою пухлиною за умов його введення після прищеплення пухлинних клітин раку Ерліха. Титр антитіл до ЦЛ у сироватці крові інтактних тварин утримувався на високому рівні протягом тривалого часу (21 доба після першої імунізації).

Таким чином, нами був виявлений превентивний протипухлинний ефект лектину, одним з механізмів реалізації якого, на додачу до безпосередньої цитотоксичної дії на пухлинні клітини, є активація протипухлинної імунної відповіді. Підсумовуючи результати, отримані на трьох експериментальних моделях пухлин, цитотоксичний лектин *Bacillus subtilis* B-7025 можна визначити як ефективний імуномодуляторний засіб із протипухлинною та антиметастатичною дією.

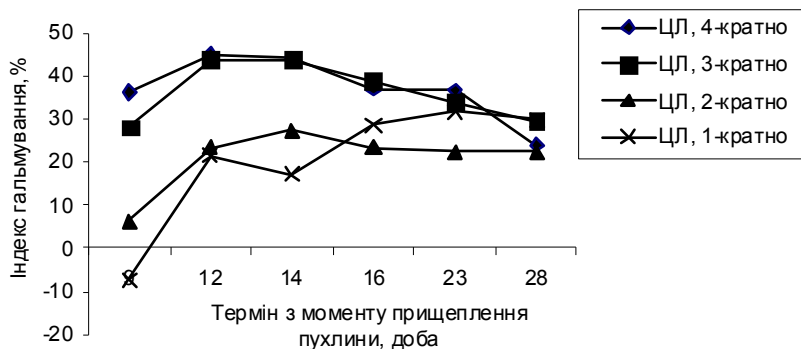


Рис. 3. Гальмування росту раку Ерліха у мишей в залежності від кратності превентивних ін'єкцій цитотоксичного лектину *Bacillus subtilis* B-7025

Результати досліджень реакції органів нейроімунно-ендокринної системи у птахів за умов стресу показали, що під впливом такого стресора як охолодження у піддослідних птахів відбувається виражене гальмування функціональної активності пінеалоцитів епіфізу. Зокрема зменшується площа перерізу клітинних ядер пінеалоцитів, що говорить про пригнічення секреторної активності епіфізу. Аналогічний вплив на функціональний стан епіфізу має також повна темрява, особливо на 3 день досліду. Загалом можна зазначити, що всі види стресу мали негативний неспецифічний вплив на відповідь пінеалоцитів епіфізу, що відповідає стадії реакції тривоги за Г. Сельє. Морфо-фізіологічними ознаками такої відповіді стало зниження секреції, накопичення гранул у цитоплазмі пінеалоцитів, зменшення розмірів ядер і відповідно синтетичної активності.

Введення мелатоніну призводило до спростування негативного впливу стресу, про що свідчило вірогідне збільшення площі перерізу клітинних ядер у птахів при охолодженні та за умов дії темряви. На гістологічних препаратах паренхіму часточок епіфіза складали так звані "світлі" пінеалоцити з крупними ядрами, прозорою цитоплазмою, що свідчить про активацію процесів синтезу та виведення відповідних гормонів.

Отже, одержані дані вказують на позитивний вплив мелатоніну на відповідь пінеалоцитів при стресі і підтверджують висновки про антистресорний вплив мелатоніну на реакцію епіфіза, що, в свою чергу, узгоджуються з даними інших авторів про адаптаційний вплив мелатоніну.

Висновки. 1. У інтактних мишей лектин *Bacillus subtilis* B-7025 при чотирикратному підшкірному введенні у дозозалежний спосіб стимулює клітинні імунні реакції прозапальної спрямованості з максимальним ефектом при застосуванні в дозі 10 мг/кг ваги тіла. 2. Лектин *Bacillus subtilis* B-7025 здатний гальмувати ріст експериментальних пухлин у мишей при застосуванні його як у профілактичному, так і у комбінованому режимі. 3. З трьох використаних моделей експериментальних пухлин вища протипухлинна ефективність спостерігається на моделі саркоми 37. Лектин *Bacillus subtilis* B-7025 проявляє значний антиметастатичний ефект у мишей із хірургічно-видаленою карциномою легені Льюїс. Подовжує тривалість життя тварин із пухлинним процесом у дозозалежний спосіб. 3. У мишей із саркомою 37 введення лектину *Bacillus subtilis* B-7025 супроводжується статистично достовірним зростанням (у 2 рази) цитотоксичної активності макрофагів (на початкових стадіях пухлинного росту) та природних кілерних клітин (на віддалених термінах після трансплантації

пухлинних клітин), відносно відповідних показників контрольних тварин з пухлиною. 4. У мишей із раком Ерліха застосування лектину після прищеплення пухлини активує синтез специфічних IgG, рівень яких є значно меншим, ніж у імунізованих лектином тварин без пухлини. 5. Гормони окситоцин і мелатонін на тлі стресу пригнічують прояви інволюції лімфоїдних органів та підсилюють адаптаційну реакцію епіфізу. Найбільш виражений адаптаційний вплив на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції на стрес має мелатонін.

1. Пат. 59483 Україна, МПК 7 C07K 14/32. Цитотоксичний лектин з протипухлинною активністю / Потебня Г.П., Танасієнко О.А., Лісовенко Г.С., Черемшенко Н.Л., Чехун В.Ф.; ІЕПОР НАНУ UA. – № 2001075155; заявл. 19.07.2001; опубл. 15.09.2003, Бюл. № 9.2. Potebnya G. Antitumor efficacy of autovaccines prepared from chemoresistant tumor cells with the use of lectin of *B. subtilis* B-7025 / G. Potebnya, N. Cheremshenko, G. Lisovenko // *Exp. Oncol.* – 2007. – Vol. 29, № 4. – P. 277-280.3. Сопова І.Ю., Заморський І.І. Вплив мелатоніну на стан пероксидного окиснення

ліпідів та системи антиоксидантного захисту в базальних ядрах мозку за поєднаної дії зміненого фотоперіоду та гострої гіпоксії // *Бук. мед. вісник.* – 2009. – Т. 13, № 4. – с. 250-253.4. Dasyukevich O.I. Comparative study of anticancer efficacy of aconitine-containing agent BC1 against ascite and solid forms of Ehrlich's carcinoma / O.I. Dasyukevich, G.I. Solyanik // *Exp. Oncol.* – 2007. – № 4. – P. 317 – 319.5. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / [Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Н.Г., Земсков В.М.]. – К.: Здоров'я, 1995. – 211 с. 6. Черепович В.С. Оптимизация критических параметров МТТ-теста для оценки клеточной и лекарственной цитотоксичности / В.С. Черепович, Е.В. Волочник, Е.В. Антоненко // *Медицинский журнал.* – 2006. – Т. 2, № 16. – С. 106-108. 7. Егоров А.М. Теория и практика иммуноферментного анализа / Егоров А.М. – М.: Высш. Школа, 1991. – 288 с. 8. Dupre S.M., Burt D.W., Talbot R., Downing A., Mouzaki D., Waddington D., Malpaux B., Davis J. R. E., Lincoln G. A., Loudon A. S. I. Identification of Melatonin-Regulated Genes in the Ovine Pituitary Pars Tuberalis, a Target Site for Seasonal Hormone Control // *Endocrinology.* – 2008. – 149, 11. – P. 5527 – 5539.9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / Реброва О.Ю. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

Надійшла до редкол 06.12.11

УДК 577.352:612.822

Д. Ноздренко, канд. біол. наук, Л. Левківська, канд. біол. наук, М. Мірошніченко, д-р біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ФОСФОРОВІСНИХ ПЕСТИЦИДІВ НА ХАРАКТЕР ЗМІН ДИНАМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ СКОРОЧЕННЯ М'ЯЗОВИХ ВОЛОКОН

Досліджено зміни динамічних параметрів м'язового скорочення на тетанічних та дотетанічних етапах скоротливого акту при впливі фосфорорганічних інсектицидів. Встановлено пригнічення сили та зміни довжини скорочення скелетних м'язів внаслідок нехолінергічних ефектів дії досліджуваних інсектицидів.

The changes of muscle contraction dynamic parameters during pretetanic and tetanic stages of contraction were investigated. The decrease of strength and muscle length change during frog skeletal muscle contraction in results of noncholinergic effects of organophosphorus insecticides was showed.

Вступ. До постійнодіючих факторів екологічного забруднення відносяться пестициди. Насичення довкілля потенційно-небезпечними токсичними речовинами призводить до зростання числа патологій, які зумовлені їх впливом [1,2]. Але і досі не існує одностайних поглядів на патофізіологічні зміни, що зумовлюють порушення функціонування м'язів під дією фосфорорганічних інсектицидів. На сьогодні, залишається не зрозумілим чи відбувається зміна функціонального стану скелетних м'язів незалежно від холінергічних ефектів дії органофосфатів. Вивчення механізмів функціонування скелетних м'язів, зокрема дослідження біомеханіки скорочення за умов дії ФОІ (фосфорорганічних інсектицидів) є важливим для удосконалення терапевтичних підходів при лікуванні морфо-функціональних порушень м'язової системи викликаних даними речовинами.

Методи досліджень. Тензометричний метод дослідження механічної напруги та зміни довжини ізольова-

них волокон поперечносмугастого м'язу при використанні сервокерованого механостимулятора при дії частотно-модульованої еферентної стимуляції.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати досліджень показали, використані пестициди в концентрації 10^{-5} моль/л, вже після 9-и хвилин впливу повністю пригнічують скоротливу активність м'язових препаратів, в той час як при дії даного інсектициду у концентрації 10^{-8} моль/л достовірних змін динамічних параметрів скорочення не спостерігалось.

Згідно результатів наших досліджень, незважаючи на те, що за значенням ЛД₅₀ піриміфосметил характеризується найменшою серед досліджуваних ФОІ токсичністю, його пригнічуюча дія на динамічні параметри скорочення переважає порівняно з діазиноном та хлорпірифосом рис1.

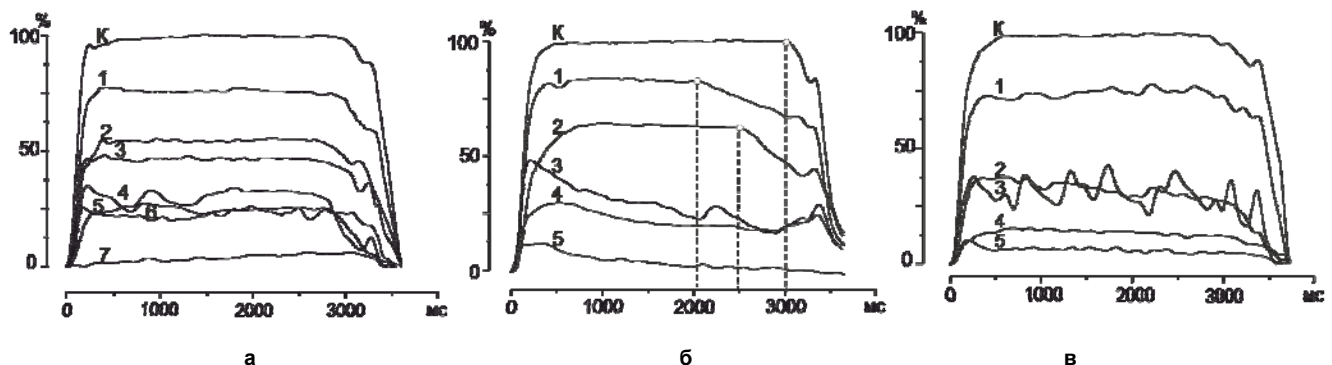


Рис. 1. Зміна сили скорочення викликані електростимуляцією з частотою 30 Гц та тривалістю 3000 мс під дією піриміфосметилу (а) діазинону (б) та хлорпірифосу (в) у діапазоні концентрацій 10^{-7} моль/л – $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л

По осі абсцис – час, по осі ординат відображені відповіді м'язових волокон виражені у відсотках від контрольного рівня ($M \pm m$, $n=10$). Час релаксації 3 хвилини. К – контроль. 1-7 – криві, які характеризують силу скорочення скелетного м'язу під впливом інсектицидів у концентраціях 10^{-7} , $2,5 \cdot 10^{-7}$, $5 \cdot 10^{-7}$, $7,5 \cdot 10^{-7}$, 10^{-6} , $2,5 \cdot 10^{-6}$, $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, відповідно.

Нами було встановлено, що вплив досліджуваних ФОІ на динамічні параметри відрізняється за часом встановлення стаціонарного стану скорочення залежно від концентрації реагенту. Залежності змін в динаміці скорочення від тривалості дії реагентів не завжди носили лінійний характер. Слід зазначити, що при дії діазинону, починаючи з концентрації $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, спостерігається нездатність м'язових волокон утримувати досягнутий стаціонарний тетанічний стан, що спадає до значно нижчого рівноважного положення. Подібна до отриманої при дії діазинону неспроможність м'язів утримувати тетанічний рівень силової продуктивності також спостерігалася в результаті впливу хлорпірифосу у концентрації $2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л [3-5]. Причому підвищення концентрації даного інсектициду до $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л призводило до появи виражених флуктуацій силової відповіді на прикладений стимуляційний сигнал.

Неспроможність м'язу підтримувати сталу величину сили при тетанічному скороченні свідчить не лише про нерівномірний вплив даних концентрацій діазинону та хлорпірифосу на скоротливу активність, але й про відмінності у молекулярних механізмах генерації силової відповіді та в розвитку динамічного руху м'язових волокон [6]. Відмінності в роботі м'язу впродовж досліджуваних етапів скорочення можна пояснити різницею у процесах взаємодії філаментів на етапах тетанічного та дотетанічного скорочення і впливом на ці процеси досліджуваних нами речовин. Виявлена часова залежність впливу даних речовин повинна бути врахована при плануванні подібних дослідів з використанням різних ефektorів на фоні пригнічення скоротливої активності м'язів під дією органофосфатів та коректній інтерпретації даних. Встановлення зміни динаміки скорочення при нехолінергічній дії фосфорорганічних інсектици-

дів може сприяти удосконаленню терапевтичних підходів та попередження деструктивної дії даних речовин на м'язові клітини при отруєнні.

Висновки:

Встановлено пригнічення динамічних параметрів скорочення скелетних м'язів жаби внаслідок нехолінергічних ефектів дії піриміфосметилу, діазинону та хлорпірифосу.

Виявлено, більш виражену пригнічуючу дію піриміфосметилу на скоротливу активність скелетних м'язів порівняно з діазиноном та хлорпірифосом. Встановлено, що при дії піриміфосметилу зниження силової продуктивності та зміни довжини відбувалося лінійно в межах досліджуваного концентраційного діапазону.

Встановлено нерівномірний вплив діазинону в концентраціях $5 \cdot 10^{-6}$, $7,5 \cdot 10^{-6}$, 10^{-5} моль/л на силову відповідь, зміну довжини та характер протікання скоротливого процесу в межах поодинокого стимулюючого сигналу у пучках м'язових волокон. Величина зміни довжини м'язових волокон під впливом діазинону у відсотках є більшою, ніж величина змін силової відповіді у процесі скорочення.

Виявлено, що при дії хлорпірифосу в концентраціях 10^{-6} – $7,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л зміна силової відповіді м'язових волокон у відсотках є більш вираженою порівняно зі зміною довжини скорочення.

1. Кундієв Ю.І., Кірсенко В.В., Яструб Т.О. Визначення гранично допустимих рівнів забруднення шкіри пестицидами з використанням коефіцієнту проникнення // Современные проблемы токсикологии. – 2007. – №2. – С. 45–49.
2. Штабський Б.М., Гжегоцький М.Р. Ксенобіотики, гомеостаз і хімічна безпека людини. – Л.: Наутилус, 1999. – 307 с.
3. Ноздренко Д.М., Левківська Л.В. Аналіз динамічних властивостей силової активності м'язових волокон під впливом діазинону – Науковий вісник Волинського національного університету імені Лесі Українки. – 2011 р. – №9. – ст.107-111.
4. Левківська Л.В., Ноздренко Д.М. Зміна сили скорочення скелетних м'язів під впливом піриміфосметилу – Фізика живого – 2010 р. – Т.18. – №1. – ст. 42-46.
5. Левківська Л.В., Ноздренко Д.М., Мірошниченко М.С. Вплив діазинону на силу та довжину скорочення скелетного м'язу – Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – № 2(54). – 2011. – ст. – 67-75.
6. Ebashi S., Ohtsuki I. Regulatory mechanisms of striated muscle contraction // Springer-Verlag, 2007. – 407 p.

Надійшла до редколегії 06.12.11

УДК 612.015.87.+577.353

К. Мединська, інж. 1 кат., Л. Пелюх, пров. інж., Н. Нурищенко, д-р біол. наук

ВПЛИВ ПЕСТИЦИДІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТОМІОЗИНОВОГО КОМПЛЕКСУ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ

Досліджено вплив широкого діапазону концентрацій фосфорорганічних інсектицидів піриміфосметилу, діазинону, хлорпірифосу (від $2,5 \cdot 10^{-4}$ до $2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) на основні показники функціонального стану актоміозину скелетних м'язів кроля. Показано, що досліджені фосфорорганічні інсектициди не впливають на АТФазну активність і параметри реакції суперпреципітації актоміозинового комплексу скелетних м'язів кроля. Таким чином, механізм дії пестицидів на скелетні м'язи не пов'язаний з прямим впливом на скоротливі білки.

The influence of pirimiphos-methyl, diazinon and chlorpyrifos organophosphorous insecticides (concentration from $2.5 \cdot 10^{-4}$ to $2.5 \cdot 10^{-7}$ mol/l) on the main characteristics of the functional state of rabbit skeletal muscle actomyosin complex has been investigated. It has been determined that the investigated organophosphorous insecticides do not affect the actomyosin complex ATPase activity and characteristics of the superprecipitation reaction. Consequently, mechanism of the pesticides action on the skeletal muscles is not related to direct effects on the contractile proteins.

Вступ. Багаторічне використання пестицидів виявило ряд негативних наслідків як для оточуючого середовища, так і здоров'я людини. Більшість пестицидів є токсичними для людини і, навіть невеликі їх дози при потрапленні в організм можуть призвести до розвитку патологічних станів. Встановлено, що під дією фосфорорганічних інсектицидів – пестицидів, що використовуються для знешкодження комах – відбувається порушення функціонального стану скелетних м'язів [1]. Більшість авторів пояснюють токсичний вплив пестицидів на організм їх інгібуючим впливом

на активність ацетилхолінестерази [2, 3]. Однак, останнім часом розглядаються і інші механізми токсичної дії цих речовин [4, 5]. Проте, вплив пестицидів на актоміозин як ключовий компонент скоротливого апарату скелетних м'язів не досліджувався.

Метою роботи було – з'ясувати вплив фосфорорганічних інсектицидів піриміфосметилу, діазинону, хлорпірифосу на основні показники функціонального стану актоміозину скелетних м'язів кроля. Задачі дослідження включали: – вивчити вплив піриміфосметилу, діазинону, хлорпірифосу на АТФазну активність актоміозину; –

вивчити вплив піриміфосметилу, діазинону, хлорпірифосу на параметри реакції суперпреципітації актоміозинового комплексу.

Методи досліджень. Виділення актоміозину із скелетних м'язів кроля проводили за методикою Перрі [6] з модифікаціями розробленими у відділі біофізики НДІ фізіології. АТФазну активність актоміозину визначали за кількістю неорганічного фосфату (P_i) (нмоль), що утворюється в результаті відщеплення міозиновими молекулами від АТФ [7]. Розчини фотометрували при 720 нм на спектрофотометрі СФ-26. Реєстрацію кінетичних кривих СПП актоміозину проводили на спектрофотометрі SPECORD M40 (Німеччина). Кінетику процесу СПП актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини на довжину хвилі 450 нм [8]. Механокінетичний аналіз проводили в програмі Origin 8.0 (OriginLab Corporation, США) описаний в роботі [9]. У випадку лінеаризованих механокінетичних графіків типове значення коефіцієнту кореляції *r* становило 0,978 – 0,998.

Досліджували вплив пестицидів піриміфосметилу, діазинону, хлорпірифосу в широкому діапазоні концентрацій – від $2,5 \cdot 10^{-4}$ до $2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л ($2,5 \cdot 10^{-4}$; $2,5 \cdot 10^{-5}$; $5 \cdot 10^{-5}$; $7,5 \cdot 10^{-5}$; $2,5 \cdot 10^{-6}$; $5 \cdot 10^{-6}$; $7,5 \cdot 10^{-6}$; $2,5 \cdot 10^{-7}$; $5 \cdot 10^{-7}$; $7,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л).

Статистичну обробку результатів дослідження проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 7.0. з використанням критерію Ст'юдента. Вірогідними вважались відмінності між дослідом і контролем при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. При вивченні впливу фосфорорганічних інсектицидів на АТФазну активність актоміозинового комплексу показано, що піриміфосметил, діазинон, хлорпірифос не викликають змін $Mg^{2+}-Ca^{2+}$ -АТФазної активності. K^{+} -АТФазної активність актоміозину під впливом досліджуваних пестицидів також не відрізняється від контрольних значень (таблиця).

Поряд з визначенням АТФазної активності нами проводилось порівняльне дослідження впливу пестицидів на реакцію суперпреципітації актоміозину скелетних м'язів кроля. Реакція суперпреципітації актоміозину поряд з АТФазною активністю є показником функціонального стану білкового комплексу і крім того, розглядається як спрощена модель м'язового скорочення. Проведення кінетичного аналізу кривих суперпреципітації дозволяє об'єктивізувати отримані результати для білків, що були отримані від різних тварин і тому мали різний рівень величини суперпреципітації.

Як і для АТФазної активності нами не було встановлено достовірних змін таких параметрів реакції суперпреципітації актоміозину як нормована максимальна швидкість та час досягнення половини максимальної швидкості під впливом досліджених пестицидів.

Таким чином, встановлено, що досліджені фосфорорганічні інсектициди не впливають на основні параметри, що характеризують стан актоміозину комплексного, а механізми їх дії на функціонування м'язів пов'язані з іншими процесами, зокрема зміною активності систем кальцієвого гомеостазу.

Таблиця. АТФазна активність (нмоль P_i/мг хв) актоміозину скелетних м'язів кроля при впливі піриміфосметилу, діазинону, хлорпірифосу (n=7-11)

Інсектицид піриміфосметил, моль/л	АТФ-азна активність, нмоль P _i /мг хв.		Інсектицид діазинон, моль/л	АТФ-азна активність, нмоль P _i /мг хв.		Інсектицид хлорпірифос, моль/л	АТФ-азна активність, нмоль P _i /мг хв.	
	Mg ²⁺ -Ca ²⁺ - АТФазна активність	K ⁺ -АТФазн активність		Mg ²⁺ -Ca ²⁺ - АТФазна активність	K ⁺ -АТФазн активність		Mg ²⁺ -Ca ²⁺ - АТФазна активність	K ⁺ -АТФазн активність
Контроль	139,00±12,56	25,00±3,42	Контроль	139,00±12,56	25,00±3,42	Контроль	139,00±12,56	25,00±3,42
Піриміфосметил $2,5 \cdot 10^{-4}$	141,48±12,82	25,00±3,28	діазинон $2,5 \cdot 10^{-4}$	138,70±11,82	25,00±2,68	хлорпірифос $2,5 \cdot 10^{-4}$	142,23±10,62	26,00±1,64
Піриміфосметил $2,5 \cdot 10^{-5}$	144,56±10,02	26,74±4,45	діазинон $2,5 \cdot 10^{-5}$	138,56±11,22	26,23±3,78	хлорпірифос $2,5 \cdot 10^{-5}$	143,24±11,33	26,95±2,46
Піриміфосметил $5 \cdot 10^{-5}$	140,13±12,08	25,71±3,42	діазинон $5 \cdot 10^{-5}$	138,12±12,08	25,71±2,81	хлорпірифос $5 \cdot 10^{-5}$	141,22±12,17	26,32±1,41
Піриміфосметил $7,5 \cdot 10^{-5}$	138,13±13,64	26,17±4,41	діазинон $7,5 \cdot 10^{-5}$	139,13±13,42	26,17±3,43	хлорпірифос $7,5 \cdot 10^{-5}$	139,42±9,64	25,55±3,44
Піриміфосметил $2,5 \cdot 10^{-6}$	142,27±12,45	25,85±2,14	діазинон $2,5 \cdot 10^{-6}$	140,22±11,47	25,36±2,54	хлорпірифос $2,5 \cdot 10^{-6}$	141,56±9,45	25,74±2,86
Піриміфосметил $5 \cdot 10^{-6}$	140,57±13,07	26,45±3,14	діазинон $5 \cdot 10^{-6}$	140,77±12,18	26,75±2,23	хлорпірифос $5 \cdot 10^{-6}$	141,24±11,06	26,04±3,54
Піриміфосметил $7,5 \cdot 10^{-6}$	141,46±10,34	25,86±6,45	діазинон $7,5 \cdot 10^{-6}$	141,26±11,34	26,86±1,45	хлорпірифос $7,5 \cdot 10^{-6}$	140,34±10,37	25,64±4,45
Піриміфосметил $2,5 \cdot 10^{-7}$	139,51±11,04	26,01±2,17	діазинон $2,5 \cdot 10^{-7}$	140,54±12,04	26,01±2,45	хлорпірифос $2,5 \cdot 10^{-7}$	139,66±12,17	26,16±2,79
Піриміфосметил $5 \cdot 10^{-7}$	140,86±16,17	27,77±3,13	діазинон $5 \cdot 10^{-7}$	140,86±15,23	27,23±0,73	хлорпірифос $5 \cdot 10^{-7}$	140,06±14,21	26,37±3,33
Піриміфосметил $7,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л	139,75±13,91	25,24±1,49	діазинон $7,5 \cdot 10^{-7}$	140,36±13,01	26,25±1,39	хлорпірифос $7,5 \cdot 10^{-7}$	139,76±12,45	25,74±2,99

Висновки.

1. Фосфорорганічні інсектициди піриміфосметил, діазинон, хлорпірифос в діапазоні доз від $2,5 \cdot 10^{-4}$ до $2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л не впливають на $Mg^{2+}-Ca^{2+}$ -АТФазну та K^{+} -АТФазну активність актоміозину скелетних м'язів кроля.

2. Фосфорорганічні інсектициди піриміфосметил, діазинон, хлорпірифос в діапазоні доз від $2,5 \cdot 10^{-4}$ до $2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л не впливають на параметри реакції суперпреципітації актоміозину скелетних м'язів кроля.

3. Фосфорорганічні інсектициди піриміфосметил, діазинон, хлорпірифос не справляють прямого впливу на скоротливі білки м'язів.

1. Gupta R.C. Toxicology of organophosphate and carbamate compounds // Academic Press, 2006 – 763p. 2. Thiermann H., Zilkerb T., Eyer F., et al. Monitoring of neuromuscular transmission in organophosphate pesticide-poisoned patients // Toxicology Letters. – 2009. – Vol. 191, № 2-3. – P. 297-304. 3. Dettbarn W.D. Acetylcholinesterase induced myonecrosis. In Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphates and Carbamates. // Oxford: Butterworth-Heinemann, 1992. – P. 167-179. 4. Duysen E. G., Li B., Xie W. et al. Evidence for nonacetylcholinesterase targets of organophosphorus nerve agent: Supersensitivity of acetylcholinesterase knockout mouse to VX lethality // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2001. –

Vol. 299. – P. 528-535. 5.Cao C.J., Mioduszewski R.J., Menking D.E., et al. Cytotoxicity of organophosphate anticholinesterases // In Vitro Cell Dev Biol Anim. – 1999. – Vol. 35, № 9. – P.493-500. 6.Perry S.V. Methods in Enzymology. – 1955. – №2. – C.582. 7.Fiske C., Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus // J. Biol. Chem. – 1925. – Vol.66. – P.375-400. 8.Кофман Е.Б. Суперпреципитация актомиозина / В кн.:

Биофизические и биохимические методы исследования мышечных белков. – Л.: Наука. – 1978. – С. 40-54.9.Burdyga Th.V., Kosterin S.A. Kinetic analysis of smooth muscle relaxation // Gen. Physiol. Biophys. – 1991. – № 10. – P. 589-598.

Надійшла до редколегії 07.12.11

УДК 612.591.1

Н. Піскорська, канд. біол. наук, Н. Філімонова, канд. біол. наук, А. Пахомова, канд. біол. наук, С. Тукаєв, канд. біол. наук, С. Крижанівський, канд. біол. наук, А. Чернінський, канд. біол. наук, С. Залевська, інж., І. Зима, д-р біол. наук

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА ВРОДЖЕНІ І НАБУТІ ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ

Досліджено вплив антиоксиданту кверцетину на вроджені та набуті поведінкові реакції щурів з різними моделями алкогольної інтоксикації. Встановлено, що гостра та хронічна алкоголізація справляє істотний вплив на діяльність організму і проявляється в порушенні пристосувальних поведінкових реакцій (вроджених і набутих). Показано, що двотижнєве застосування кверцетину зменшує наслідки гострої та хронічної алкогольної інтоксикації і цей нормалізуючий вплив кверцетину залежить від схеми та тривалості його прийому, а також типу та тривалості алкогольної інтоксикації.

The aim of investigation was to detect the influence of antioxidant quercetin on innate and acquired (learned) behavioral responses of rats under different models of alcohol intoxication. It is established that acute and chronic alcoholization significantly influences the activity of the animals and impede innate and acquired adaptive behavioral responses. It is shown, that two-weeks administration of quercetin reduces the effects of acute and chronic alcohol intoxication. Normalizing effect of quercetin depends on the type and duration of its administration, as well as the type and duration of alcohol intoxication.

Вступ. За оцінками експертів Європейського регіонального бюро ВООЗ Україна входить до числа 6 з 50 країн Європи, в яких темпи зростання вживання алкоголю є найбільшими. Загалом проблема алкоголізму визначається як його великим розповсюдженням, так і важкими соціально-медициніми наслідками надмірного вживання алкоголю.

Довготривала алкогольна інтоксикація призводить до зміни функцій більшості систем організму, у тому числі і до порушення практично всіх нейромедіаторних процесів [1-2]. Вважається також, що хронічна алкогольна інтоксикація, яка супроводжується ураженням печінки, призводить до зниження активності антиоксидантної системи організму і, як наслідок підвищенню активності перекисного окислення ліпідів [1]. При надмірно активованих процесах ПОЛ призначають антиоксидантні препарати (антиоксиданти) [3]. У клінічному аспекті серед антиоксидантів найбільш перспективною вважається родина флавоноїдів [4], серед яких кверцетин займає друге місце [5].

Разом з тим натепер невідомо, як саме впливає кверцетин на поведінкові реакції у тварин з різними експериментальними моделями гострої та хронічної алкогольної інтоксикації.

Метою даної роботи було вивчити вплив гострої та хронічної алкогольної інтоксикації на вроджені та набуті поведінкові реакції щурів та дослідити можливість корекції поведінкових прущень, викликаних алкоголізацією, засобом з антиоксидантними властивостями – кверцетином.

Методи досліджень. Для вивчення можливих впливів на поведінкові реакції щурів алкоголізації та введення антиоксиданту кверцетину використовувалися тест відкрите поле, складний Т-подібний лабіринт та човникова камера. Кверцетин – (100 мг/кг, ЗАТ НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод", Україна), інтрагастральне введення. Поведінкові експерименти проведено на 158 білих нелінійних щурах-самцях масою 130-200 гр. Експеримент складався із двох серій:

1 серія – оцінка впливу кверцетину на поведінкові реакції за умов гострої алкогольної інтоксикації щурів (4 групи);

2 серія – оцінка впливу кверцетину на поведінкові реакції за умов хронічної алкогольної інтоксикації щурів (7 груп)

Хронічну алкоголізацію проводили впродовж місяця до початку тестування тварин. Щурам у складі раціону як єдине джерело рідини, без обмежень в кормі, поступово давали зростаючі дози етанолу:

- перші 10 діб тварини отримували 15 % розчин етанолу, в дозі 4 г/кг;
- наступні 10 діб – 15 % розчин етанолу, в дозі 6 г/кг;
- останні 10 діб поспіль щурам інтрагастрально вводили 25 % розчин етанолу із розрахунку 3 г/кг[6]. Даний спосіб алкоголізації запобігає коагуляційній дії етанолу у місці введення за умов тривалого його застосування [6].

Статистичний аналіз проводили за допомогою програми Statistica 6.0 (StatSoft, USA). За критерієм Шапіро-Уилка було визначено, що вибірки даних активності поведінки мають ненормальний розподіл ($p < 0,05$). Для порівняння незалежних вибірок кількісних даних (між групами в кожен з досліджуваних днів) використовували критерій Манна – Уїтні (показник U), для порівняння зв'язаних вибірок кількісних даних – тест Вілкоксона (показник T).

Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення. Вплив кверцетину на поведінкові реакції щурів з гострою алкогольною інтоксикацією. Вплив кверцетину на вроджені поведінкові реакції щурів. Перше тестування щурів у відкритому полі через 10 хвилин після введення етанолу (0,25 ЛД) показало, що така доза алкоголю різко пригнічує поведінкову активність щурів, зокрема алкоголізовані тварини (Гр.1) мали найнижчий рівень локомоторної активності у відкритому полі. Локомоторна активність алкоголізованих тварин, що отримували лише кверцетин (КВ) (Гр.2) та тварин, яким вводили КВ впродовж 14 діб до моделювання гострої Аі (Гр.3) були достовірно нижчими порівняно з контролем (К) на 87 % ($p < 0,001$), на 35 % ($p < 0,05$), та на 54 % ($p < 0,05$), відповідно. При дослідженні поведінки щурів на третю добу, виявлено аналогічні зміни. При тестуванні на сьому добу у відкритому полі також спостерігалась аналогічна закономірність: локомоторна активність тварин експериментальних груп (Гр.1-3) у порівнянні з гр.К була відповідно достовірно нижчою на 91 % ($p < 0,001$), на 79 % ($p < 0,001$), на 78 % ($p < 0,001$) відповідно. Подібна тенденція проявилась і при тестуванні тварин на 14 добу експерименту. Рівень локомоторної активності експериментальних груп був нижчим на 87 %, на 55 %, на 54 % відповідно.

та на 54 % ($p < 0,05$) в порівнянні з гр.К. При порівнянні локомоторної активності Гр1. (Аі) з такою Гр.3 було виявлено достовірно вищий рівень локомоції у останніх більше ніж у три з половиною рази ($p < 0,01$).

Дослідницька активність щурів у відкритому полі змінювалась подібно до локомоторної. Також було встановлено, що тварини Гр.1 мали майже в три рази достовірно нижчий рівень дослідницької активності за такої у тварин Гр.3. На третю добу експерименту спостерігався достовірно нижчий рівень дослідницької активності тварин Гр.1 на 85 % ($p < 0,01$), тварин Гр. 85 % ($p < 0,05$), та тварин, Гр.3 на 74 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. При дослідженні поведінки щурів на сьому добу, виявлено аналогічні зміни. На чотирнадцяту добу експерименту у тварин Гр.1 та щурів Гр.2 дослідницька активність поведінки була статистично значущо нижчою на 90 % ($p < 0,001$), на 41 % ($p < 0,05$) та на 41 % ($p < 0,01$) за таку в контролі. А рівень активності дослідницької поведінки у тварин Гр.3 був вищим в 6,5 рази і за такої у щурів Гр.1.

При дослідженні емоційної складової поведінки експериментальних тварин виявили дещо протилежні закономірності. При тестуванні в першу добу показники емоційної активності щурів Гр.1 та Гр.3 були достовірно вищими за контрольні показники в 1,25 рази ($p < 0,05$) та в 2,5 рази ($p < 0,01$), відповідно. На третю добу тестування тварин не було виявлено статистично значущі різниці між показниками емоційної активності поведінки всіх експериментальних груп з контролем та між собою. Під час тестування тварин на сьому добу виявили, що тварини Гр.1 мали в два з половиною рази ($p < 0,01$) вищу емоційну активність ніж в контролі. Емоційна активність Гр.2, теж була вищою (в 2р ($p < 0,05$)) за К. При тестуванні на чотирнадцяту добу тварини Гр.3 мали в два рази ($p < 0,05$) достовірно вищу емоційну активність у порівнянні з контролем, а емоційна активність інших експериментальних груп статистично не відрізнялась.

Вплив кверцетину на поведінкові реакції щурів у човниковій камері. Під час тестування в човниковій камері у алкоголізованих тварин спостерігали в два рази статистично значущо більшу кількість відмов від виконання УР ($p < 0,05$) в порівнянні з контрольними щурами (2,0 [1,0; 7,0] та 0,0 [0,0; 1,0], відповідно). Більшою майже в тридцять разів в порівнянні з К зареєстрували кількість відмов від виконання УР у тварин Гр.2 (27,5 [3,5; 40,5] та 0,0 [0,0; 1,0], відповідно, $U = 12,5$, $p < 0,01$). Також було виявлено статистично значущо меншу кількість відмов від виконання УР на 96 % у щурів Гр.3 при порівнянні з щурами Гр.2 (1,0 [0,0; 8,0] та 27,5 [3,5; 40,5], відповідно, $p < 0,05$). Кількість міжсигнальних реакцій тварин Гр.1 (4,0 [2,0; 8,0]) та тварин Гр.2 (5,0 [4,0; 9,5]), була достовірно меншою за контрольні показники (8,5 [6,0; 21,0]) на 53 % та 41 %, відповідно. Це свідчить про те, що в даному експерименті контрольні тварини були найбільш збудженими. У алкоголізованих тварин при тестуванні в човниковій камері спостерігали вдвічі більшу кількість спроб до першого УР порівняно з контролем, що свідчило про найнижчу швидкість навчання цих тварин (34,0 [23,0; 36,0] та 16,5 [9,0; 24,0]).

Узагальнюючи отримані дані, можна зробити висновок, що кверцетин здатний посилювати безумовно-рефлекторні пасивнозахисні реакції на дію больових подразників. Гостра алкогольна інтоксикація знижує загальну здатність до навчання умовного рефлексу активного уникнення, що виявляється в достовірному збільшенні кількості спроб до появи першого умовного рефлексу, тоді як застосування кверцетину здатне значно покращувати загальну здатність до набуття присто-

сувальних реакцій у човниковій камері у щурів з гострою алкогольною інтоксикацією.

Вплив кверцетину на поведінкові реакції щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією. За результатами тестування тварин в 1-й день тестування статистично значущої різниці локо-моторної і дослідницької активності встановлено не було. Що стосується емоційної активності, то найвищий її рівень в порівнянні з контролем спостерігався в більшості експериментальних груп – групах, що отримували КВ протягом 30 діб ($p < 0,005$), в групі алкоголізації (АГ) і АГ після КВ.

На 3-ю добу між групами спостерігалась статистично значуща різниця локомоторної активності ($p = 0,0073$), яка виявила позитивну дію кверцетину на алкоголізованих тварин. В групах АГ щурів, що отримували КВ локомоторна активність була достовірно вищою ($p < 0,05$). Цікаво, що показники груп, які отримували лише КВ статистично не відрізнялись від АГ групи. Це може свідчити про певний прооксидантний ефект КВ при його тривалому застосуванні на фоні нормального функціонального стану організму, в результаті порушення рівноваги антиоксидантних систем [7]. Орієнтовально-дослідницька активність в групах щурів, що отримували лише КВ достовірно не відрізнялась від АГ групи ($p = 0,002$). В той же час, активність тварини, що отримували КВ до і після алкоголізації статистично не відрізнялись від контролю ($p = 0,25$, $p = 0,11$) і відрізнялись від АГ групи ($p = 0,04$, $p = 0,002$), що може свідчити про позитивний вплив КВ на нормалізацію орієнтовально-дослідної поведінки. При цьому спостерігалось деяке зниження рівня емоційної активності у тварин, що отримували КВ на фоні хронічної АГ, в порівнянні з групою хронічно АГ щурів ($p = 0,01$), що свідчило про низький рівень стресованості.

На 7-у добу в порівнянні з хронічно АГ щурами в групах, що отримували КВ протягом 14 діб на фоні АГ, спостерігалась вища локомоторна і дослідницька активність. Результати тестування тварин на 14-ту добу, не дали підстав говорити про значний вплив КВ, оскільки різниця активності між щурами різних груп були практично відсутня ($p = 0,0523$).

Звертає на себе увагу, що показники активності груп, які отримували КВ (особливо тих, що отримували тільки його) статистично значущо відрізнялись від контрольних груп ($p = 0,02$) і мали найвищий рівень активності в порівнянні з іншими групами, рівні дослідницької активності яких різко знижувались. Тобто КВ наприкінці тестування призводив до зростання показників дослідницької активності при його введенні на фоні функціонального стану без порушень. Останнє може бути пов'язано зі зниженням впливу алкоголю та зниженням прооксидантного ефекту КВ і відновленням антиоксидантної рівноваги в зв'язку з тим, що тестування проводилось на 14 після завершення процесу алкоголізації, та введення кверцетину.

Треба зазначити, що зареєстроване певне зниження рівня активності наприкінці тестування може відбуватися в зв'язку із звиканням щурів до дослідної установки і нівелюванням необхідності активного обстеження території [8]. Аналіз тестування емоційності в цей період статистичних різниць між групами не було виявив. В групі АГ рівень емоційності був відносно високим і майже не змінився протягом всього терміну тестування, тоді як в групі контрольних тварин він був стабільно низьким і також майже не змінився.

Таким чином, можна говорити про позитивний вплив кверцетину на локомоторну і дослідницьку активність

алкоголізованих щурів (призводить до зростання рухової поведінки), особливо при його недовготривалому застосуванні (протягом 14 діб). Кверцетин знижує негативні наслідки впливу етанолу на рухову активність.

Введення кверцетину протягом тривалого терміну (30 діб), як в поєднанні зі шкідливим фактором (алкоголь), так і без нього, може виступати як стресорний чинник. В групі, що отримувала кверцетин після закінчення періоду алкоголізації високий рівень емоційності в першу чергу може свідчити про стресорний вплив саме алкоголю.

Висновки. Гостра та хронічна алкогольна інтоксикація порушує адаптивну поведінку щурів. Дослідження застосування кверцетину вказує на потенційні можливості його використання для зменшення поведінкових наслідків гострої та хронічної алкогольної інтоксикації. Ступінь виявленого модифікуючого впливу кверцетину залежить від схеми його застосування та типу алкогольної інтоксикації.

Гостра алкогольна інтоксикація пригнічує загальну вроджену поведінку щурів шляхом зменшення локомоторної та дослідницької активності тварин (відкрите поле) та знижує загальну здатність до навчання (умовно-рефлекторна поведінка активного уникання у човниковій камері).

Застосування кверцетину до гострої алкогольної інтоксикації може попереджувати зміни вродженої поведінки тварин та покращує здатність до набуття пристосувальних реакцій у човниковій камері у алкоголізованих щурів.

Хронічна алкогольна інтоксикація спочатку пригнічує вроджену поведінку тварин в умовах новизни середовища, а в подальшому справляє протилежний ефект посилення їх локомоторно-дослідницької активності. Крім цього, за умов хронічної алкоголізації, відтворення щурами умовної реакції у складному Т-подібному лабіринті є пригніченим.

УДК 612.43/45+612.018:612.351.5

Введення кверцетину до або впродовж хронічної алкогольної інтоксикації тварин загалом справляє нормалізуючий вплив на їх локомоторну активність та емоційність; при цьому набута поведінка щурів з позитивним підкріпленням нормалізується за умови двотижневого отримання ними кверцетину до хронічної алкоголізації та після неї.

Отримання тваринами кверцетину впродовж двох тижнів або місяця знижує рівень умовно-рефлекторної діяльності з харчовим та водним підкріпленням, посилює пасивнозахисну поведінку щурів у відповідь на дію болючих подразників, проте підвищує загальну здатність до утворення умовного рефлексу активного уникання негативного підкріплення. Водночас, за умов застосування кверцетину впродовж тридцяти діб, поліпшення здатності до навчання супроводжується зростанням рівня загальної збудливості тварин.

1.Анохина И.П. Алкоголизм и депрессии – взаимосвязь биологических механизмов // Российский психиатрический журнал. – 1998. – № 6. – С. 30-33. 2.Битенский В.С., Мельник Э.В., Сушко В.В., Березанская Н.Д. Нарушение процессов нейрорецепции при алкоголизме и наркоманиях и их коррекция // Архив психиатрии. – 1998. – № 2,3 (17,18). – С. 169-176. 3.Ярош О.К., Шаламай А.С., Бобков В.Н., Николаева А.П. Природные флавоноиды как перспективные лекарства // Вісник фармакології та фармації. – 2003. – №11. – С. 18-24. 4.Савченкова Л.В. Кверцетин: фармакологія і фармакотерапія // Фармакологія і токсикологія. – 1991. – Вып. 26. – С. 73-79. 5.Беленічев І.Ф., Коваленко С.І., Дунаєв В.В. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення // Ліки. – 2002. – №1-2. – С. 43-47. 6.Божко Г.Х., Бойко Т.П., Костиюковська Л.С. Медіхронал знижує вміст етанолу та ацетальдегіду в крові і відновлює концентрацію катехоламінів у тканинах щурів // Український біохімічний журнал. – 1995. – Т.67, № 2. – С. 108-112. 7.Korkina L., Deeva I., Ibragimova G. et al. Coenzyme Q10-containing composition (Immugen) protects against occupational and environmental stress in workers of the gas and oil industry // Biofactors. – 2003. – Vol. 18, № 1-4. – P. 245-254. 8.Rabin B.M., Shukitt-Hale B., Szprengiel A., Joseph J.A. Effects of heavy particle irradiation and diet on amphetamine- and lithium chloride-induced taste avoidance learning in rats // Brain Res. – 2002. – Vol. 953. – № 1-2. – P. 31-36.

Надійшла до редколегії 07.12.11

О. Виноградова, асп., О. Пасічніченко, канд. біол. наук,
Т. Вовкун, інж. 2 кат., П. Янчук, д-р біол. наук

ВПЛИВ КОРВІТИНУ НА ПЕЧІНКОВИЙ КРОВООБІГ ТА СЕРОТОНІНУ НА СКОРОТЛИВУ АКТИВНІСТЬ ВОРІТНОЇ ВЕНИ

Вивчали вплив корвітину (1 і 5 мг/кг) на локальний кровотік в печінці у досліджах in vivo та дію серотоніну в концентраціях $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л на тонічну і скоротливу активність ізольованих препаратів ворітної вени щурів. Показано, що корвітин чинить дозозалежний судинорозширювальний вплив на кровеносне русло печінки, причому довготривалість його дії зумовлена, можливо, якимось посередником, зокрема оксидом азоту. Серотонін здійснює тонічний вплив як безпосередньо на гладеньком'язові клітини ворітної вени, так і опосередкований ендотеліальним шаром.

Effects of corvitin (1 і 5 мг/кг) on the liver local blood flow in vivo and serotonin ($1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l) on tonic contractile activity of isolated rat portal vein preparations were investigated. It was shown that corvitin evokes dose-dependent vasodilatory action on the bloodstream of liver, moreover its long-term action possibly caused by some messenger, probably by nitric oxide. Serotonine carry out tonic influence on smooth muscles cells of portal vein both directly and indirectly by endothelium.

Вступ. Біофлавоноїди – біологічно активні молекули, які зумовлюють антиоксидантні та модуляторні ефекти в клітині. Вони охоплюють велику групу хімічних молекул, що включають флавоноли, флавоноли, флавонони та їх похідні [1, 2, 3]. З метою корекції фармакологічних властивостей біофлавоноїдних препаратів, синтезовано та впроваджено в практику цілий ряд нових похідних цих речовин. Однією з таких є корвітин – синтетичний аналог кверцетину, який, у свою чергу, є похідною формою рутину. Відомо, що корвітину властива істотна мембраностабілізуюча дія. Він відіграє кардіопротекторну роль, зменшуючи підвищений колатеральний коронарний опір, що спостерігається в період постішемічної реперфузії [4].

Серотонін є вазоактивною речовиною, яка в різних судинах викликає переважно вазоконстрикцію [5]. Однак, у деяких судинах констрикторний ефект виражений слабо, або відсутній взагалі [6], а порожниста вена свині на дію серотоніну відповідає навіть розслабленням [7]. Проте, реакції судин печінки на дію серотоніну до сьогодні вивчені недостатньо [8].

Метою нашої роботи було дослідити ефекти корвітину на печінковий кровообіг та вплив серотоніну на скоротливу активність ізольованих препаратів ворітної вени печінки щурів.

Методи досліджень. Робота виконана в гострих дослідках на щурах, обох статей масою 200–350 г. Тварин наркотизували шляхом внутрішньоочеревинного введення уретану (1 г/кг). Зміни локального кровотоку в печінці ре-

естрували методом кліренсу водню з електрохімічною його генерацією, використовуючи платинові спарені електроди. Електричний сигнал від електродів подавали на полярограф LP – 9 та реєстратор Н.071.6М. Для електрохімічної генерації водню використовували силу струму на катоді 1 – 5 мкА. За кривою кліренсу водню розраховували об'ємну швидкість кровотоку за формулою:

$$K = 69,3 \cdot \left(\frac{1}{T_{1/2A}} - \frac{1}{T_{1/2B}} \right),$$

де $T_{1/2A}$ – час напіввимивання H_2 за нормального кровотоку, $T_{1/2B}$ – час напіввимивання водню при відсутності кровотоку. Корвітин (1 і 5 мг/кг) і L-NAME (10 мг/кг) вводили внутрішньовенно.

Реєстрували скорочення повздожних препаратів ворітної вени (ВВ), зафіксовані у камері з проточним підігрітим ($37 \pm 0,5^\circ C$) фізрозчином за допомогою тензометричної установки, що складалася з механоелектричного перетворювача 6МХ1С, підсилювача постійного струму та інтерфейса – стандартна звукова карта АВЕ64 фірми Creative (США) зі стереотрактом (двоканальна). Деєндотелізацію судинних препаратів здійснювали перфузією сапоніну у концентрації 1мг/мл протягом 10 хвилин.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали наступним чином. Для перевірки розподілу на нормальність було використано W тест Шапіро-

Уїлксона, тест Левена, перевірку ексцесу і асиметрії. Імовірність похибки першого роду $\alpha > 0,05$. Оскільки наші дані виявилися нормально розподіленими ми розраховували середнє значення (M) і похибку середнього значення (m). Порівняння вибірок проводилося за допомогою t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Вихідний рівень локального кровотоку в печінці піддослідних щурів становив $108,2 \pm 9,4$ мл/хв \cdot 100г. Внутрішньовенне введення піддослідним щурам корвітину в дозі 1 мг/кг зумовлювало тривале (впродовж декількох годин) збільшення ЛК в печінці на 35-50% порівняно з контролем (рис.1). Інфузія корвітину в дозі 5 мг/кг призводила до ще більшого (понад 100%) зростання ЛК. Введення блокатора NO-синтази L-NAME (10 мг/кг) істотно пригнічувало реакції ЛК на корвітин.

Ці результати свідчать про те, що корвітин чинить дозозалежний судинорозширювальний вплив на кровеносне русло печінки, причому довготривалість його дії зумовлена, у значній мірі, посередником, одним з яких є оксид азоту.

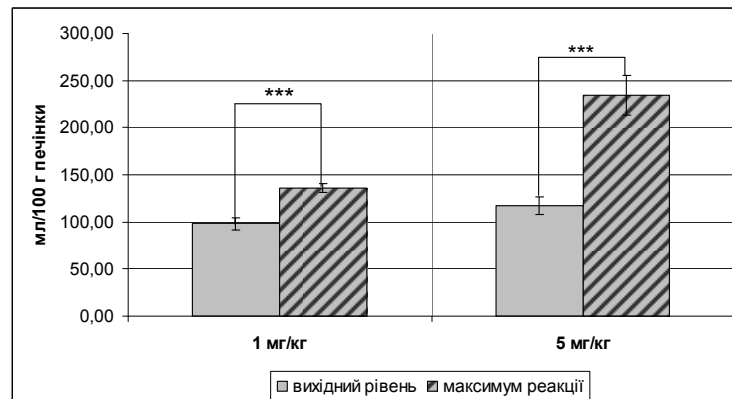


Рис.1. Вплив корвітину в дозах 1 і 5 мг/кг на локальний кровотік в печінці щурів ($M \pm m$; $n=14$)

Примітка: *** $p < 0,001$.

У серії експериментів *in vitro* досліджували дію серотоніну на скоротливу активність ізольованих препаратів ВВ. Серотонін у концентраціях $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л ($n=20$) не виявляв впливу на тонічну активність ВВ, але значно підвищував амплітуду фазних спонтанних скорочень гладеньком'язових клітин (ГМК) судинних препаратів. У концентрації 10^{-8} моль/л, що є близькою до фізіологічної [9], серотонін викликав слабе зниження тону ВВ, відносно вихідного рівня $0,13$ [$0,13$; $0,14$] мН ($n=8$), рис.2. Реакція розвивалася протягом 10 хвилин з моменту перфузії аутокоїда.

Абсолютно протилежний ефект спостерігали при застосуванні перфузії судинних препаратів серотоніном у

концентрації 10^{-4} моль/л. Так, серотонін викликав констрикторні реакції ВВ із силою $1,3$ [$1,3$; $1,8$] мН ($n=5$).

Зниження судинного тону ВВ під дією серотоніну у фізіологічній концентрації можливо пов'язане з переважним активуванням 5-НТ-рецепторів, розташованих на ендотеліоцитах, тому у наступній серії дослідів ми перевіряли вплив серотоніну ($1 \cdot 10^{-8}$ моль/л) на тону деєндотелізованих ізольованих препаратів ВВ. Серотонін у вказаній концентрації викликав скорочення деєндотелізованих судинних препаратів із силою $0,3$ [$0,2$; $0,3$] мН ($n=5$).

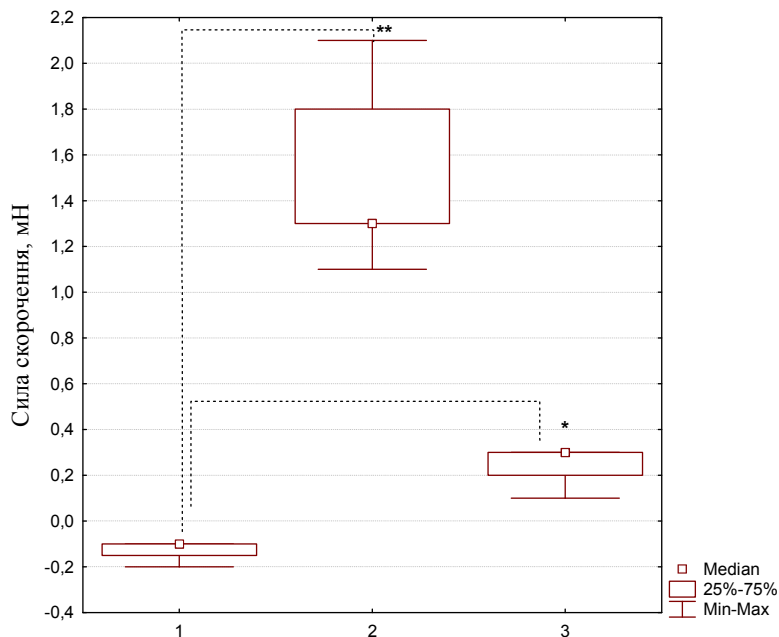


Рис. 2. Скорочення ворітної вени з інтактним ендотелієм під впливом серотоніну у концентрації $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л (1) і $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (2) та деендотелізованих судин при дії серотоніну ($1 \cdot 10^{-8}$ моль/л, 3)

Отже, активація розташованих на ГМК ворітної вени 5-HT рецепторів 5-HT призводить до констрикторної реакції, що узгоджується з даними літератури [10, 11]. Такі реакції, ймовірно, опосередковуються рецепторами під-типу 5-HT_{2A} і 5-HT_{1B} [12]. Реакції розслаблення, індуковані фізіологічною концентрацією серотоніну, очевидно опосередковуються ендотелієм, через виділення вазодилаторних факторів, наприклад, простагліцину чи NO [13]. Крім того, серотонін має молекулярну будову подібну до норадреналіну і, як свідчать літературні джерела [14], у великих концентраціях може активувати α -адренорецептори, а також здатен модулювати норадреналін-індуковані скоротливі реакції судин, збільшуючи чи зменшуючи їх амплітуду, залежно від концентрації [15,16]. З іншого боку, блокування адренорецепторів впливає на перебіг скоротливих реакцій під дією серотоніну [14,15]. Таким чином, у низьких концентраціях серотонін діє через специфічні рецептори, розташовані на ендотелії чи ГМК судин, а у великих концентраціях – може активувати адренорецептори судин [16].

Висновки. Корвітин чинить дозозалежний судинорозширювальний вплив на кровоносне русло печінки, причому довготривалість його дії зумовлена, у значній мірі, посередником, одним з яких є оксид азоту.

Серотонін справляє слабкий вплив на тонус ізольованих препаратів ворітної вени щура. У серотонін-залежних реакціях ВВ, ймовірно, задіяні рецептори, що локалізуються як на гладеньком'язових, так і на ендотеліальних клітинах судини. Ендотелій-залежна реакція ворітної вени індукована серотоніном, напевно, зумовлена виділенням ендотелієм судинорозслаблюючих факторів (можливо, оксиду азоту або простагліцину).

1. Георгиевский В.Г., Рыбаченко А.И. Козаков А.Л. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений. – Изд. Ростовського університету, 1988. – 143 с.
2. Harbone J.B. Nature, distribution and function of plant flavonoids // *Prog. Clin. Biol. Res.* – 1986. – vol. 213. – p.15-24.
3. Das D.K. Naturally occurring flavonoids: Structure, chemistry, and high-performance liquid chromatography methods for separation and characterization // *Methods Enzymol.* – 1994. – vol. 234. – P. 410-420.
4. Мойбенко А.А., Досенко В.Е., Пархоменко А.Н. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца. – К., Наукова думка, 2008. – 520 с.
5. Hamel E. The biology of serotonin receptors: focus on migraine pathophysiology and treatment // *Can.J.Neurol.Sci.* – 1999. – № 3. – P.2-6.
6. Linder A., Wei Ni, Diaz J. Serotonin (5-HT) in Veins: Not All in Vain // *Pharmacol.* – 2007. – Vol. 323, № 2. – P.415-421.
7. Trevethick M., Feniuk W., Humphrey P. 5-Hydroxytryptamine-induced relaxation of neonatal porcine vena cava in vitro // *Life Sci.* – 1984. – № 35. – P.477-486.
8. Hamel E. The biology of serotonin receptors: focus on migraine pathophysiology and treatment // *Can.J.Neurol.Sci.* – 1999. – № 3. – P.2-6.
9. Saehanska T. Change in serotonin level in the organism in cases of hypoxia // *Internat. Tinnitus J.* – 1998. – V. 4, №1. – P. 35-42.
10. Wallis S., Martin W. Conditions permitting suppression of stretch-induced and vasoconstrictor tone by basal nitric oxide activity in porcine cerebral artery // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 130. – P. 567-574.
11. Karlsson C. et al. Endothelium-derived prostanoids reduce 5-hydroxytryptamine-induced contraction in the human uterine artery // *Human reproduction.* – 1998. – V. 13, №7. – P. 1947-1951.
12. Tuladhar B. R., Costall B., Naylor R. J. Pharmacological characterization of the 5-hydroxytryptamine receptor mediating relaxation in the rat isolated ileum // *Br. J. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 119. – P. 303 – 310.
13. Srikiatkachom A. et al. 5-HT_{2A} receptor activation and nitric oxide synthesis: a possible mechanism determining migraine attacks // *Headache.* – 2002. – V. 42, № 7. – P. 566-574.
14. Rapaport E., Rolston W.A., Stern S. The role of adrenergic receptor blockade in serotonin-induced changes in the pulmonary circulation // *J. Physiol.* – 1977. – Vol.273, – №1. – P.83-107.
15. Watts S. 5-Hydroxytryptamine-induced potentiation of endothelin-1- and norepinephrine-induced contraction is mitogen-activated protein kinase pathway dependent // *Hypertension.* – 2000. – № 35. – P. 244-248.
16. Peter P., Ralph E. Vasoconstriction in Rabbit Femoral Artery: Mediation by Both 5-HT₂ Serotonergic and α 1-Adrenoceptors // *J.Cardiovasc.Pharmac.* – 1996. – Vol. 276, – 854-860pp.

УДК 612.36:577.15/17

Л. Штанова, канд. біол. наук, Т. Говоруха, канд. біол. наук,
З. Горенко, канд. біол. наук, П. Пелюх, канд. біол. наук, В. Бабан, провід. інж.,
С. Весельський, д-р біол. наук, М. Макаруч, д-р біол. наук

ВПЛИВ ФЛАВОНОЇДІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ТА ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ЗА УМОВ НОРМИ ТА РІЗНИХ ПАТОЛОГІЙ

Вивчали вплив біофлавоноїда кверцетину на зовнішньосекреторну функцію і тканинне дихання печінки; на функціональний стан слизової оболонки шлунка в нормі та за умов розвитку різних патологій; на електричну та скоротливу активність гладеньких м'язів кишечника. Показано особливості впливу біофлавоноїдів на функціональний стан печінки, шлунка та скоротливі властивості гладеньких м'язів.

We studied the influence of bioflavonoids quercetin on the external function and tissue respiration of liver; on the functional state of gastric mucosa in normal and under conditions of different pathologies; an electrical and contractile activity of intestinal smooth muscle.

Вступ. Альтернативна медицина пропонує лікування хвороб через активацію і корекцію факторів захисту за допомогою природних сполук, що не мають шкідливих побічних ефектів і є набагато безпечнішими, ніж синтетичні ліки. Одними із таких сполук цілком можуть бути біофлавоноїди, які є потужними біоактивними молекулами, що спричиняють антиоксидантні і модуляторні ефекти в клітині. Природне походження флавоноїдів, розповсюдженість у рослинному царстві, широкий спектр властивостей, корисних для здоров'я людини, роблять їх доступною сировинною базою для розробки нових лікарських препаратів, набагато безпечніших для людини, ніж синтетичні хімічні препарати, але з ідентичними ефектами на організм. Метою даної роботи було дослідити ефекти флавоноїдів на зовнішньосекреторну функцію і тканинне дихання печінки; на функціональний стан слизової оболонки шлунка в нормі та за умов розвитку різних патологій, а також на електричну та скоротливу активність гладеньких м'язів кишечника.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження жовчосекреторної функції печінки проводилось у гострих спробах на білих нелінійних щурах-самцях масою 190-225 г. тварин наркотизували тіопенталом натрію (7 мг/100 г, в/о). Для дослідження жовчовиділення після лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз у її стінці вводили тонку канюлю з приєднаною поліетиленовою трубкою, з'єднаною з мікропіпеткою. Жовч збирали через кожні 10 хв. впродовж 3 годин експерименту. Вміст жовчних кислот визначали методом тонкошарової хроматографії [1].

Малоновий діальдегід (МДА) в гомогенаті СОШ визначали за допомогою тіобарбітурової кислоти. Суть методу полягає в тому, що за високої температури в кислому середовищі МДА реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою (2-ТБК), утворюючи забарвлений триметиновий комплекс із максимумом поглинання світла при довжині хвилі 532 нм. Гомогенат СОШ готували ретельним зішкрібанням її залозистої частини, 1 г якої гомогенізували у 3 мл 0,025 М трис-НСІ буферу з рН 7,4. Рівень ТБК-реактивних сполук у гомогенаті слизової оболонки виражали в нмоль/г тканини [2]. Дослідження тканинного дихання печінки полягалографічним методом [3]. Дослідження дії кверцетину і рутину на шлунок проводили комплексом методів. Матеріали: 80% етанол, індометацин (HAFSLUND NYCOMED, Австрія), кверцетин, рутин, тіопентал натрію. Індометацин, омепразол, кверцетин і рутин використовували у вигляді суспензії, приготовленої на водному 3% розчині NaHCO_3 . В експериментах із гострим ураженням шлунка були використані самки нелінійних щурів масою 200-250 г. Їх утримували в кондиціонованому приміщенні при t $23 \pm 10^\circ\text{C}$, 50% вологості і годували стандартизованими комбікормами. В усіх серіях досліджень у тварин за 24 год. до початку досліджень відбирали їжу, але залишали віль-

ний доступ до водопровідної води. Щурів перед експериментом пересаджували в спеціальні клітки з піднятим сітчастим дном для того, щоб запобігти потраплянню в шлунок шерсті та фекалій. Ушкодження СОШ етанолом викликали за методом Морімото [4]. Для цього 30 щурів випадково розділили на 5 груп. Тваринам I групи (норма) орально вводили лише водний 3% розчин NaHCO_3 (5 мл/кг). 80% етанол (5 мл/кг) вводили орально щурам усіх інших груп, які на 2 год раніше одержали рутин (50 мг/кг, 100 мг/кг) і на 1 год раніше – 3% розчин NaHCO_3 чи омепразол (30 мг/кг). Усі тестовані розчини готувалися безпосередньо перед кожним дослідом. Через 1 год після в/шл інстиляції 80% етанолу щурів виводили з досліду методом цервікальної дислокації, шлунок видаляли з черевної порожнини, розрізали на великій кривизні й промивали охолодженим фізіологічним розчином для дослідження уражень залозистої зони СОШ. У підготовлених таким чином шлунках, у вказаній зоні СОШ, за допомогою гастроскопу й лупи, рахували кількість виразок, ерозій, масивних і крапкових крововиливів. Гострі ураження СОШ індометацином (30 мг/кг) викликали за Рейнсфордом [5]. Експериментальних щурів, як і в попередній моделі, ділили на 5 груп. Усі розчини вводили орально. В першій групі (норма) щури одержували лише 3% розчин NaHCO_3 (5 мл/кг), в другій групі (контроль) – ІМ (30 мг/кг). В інших групах тваринам вводили: рутин (50 і 100 мг/кг) – за 2 години і ОМ (30 мг/кг) – за 1 годину до індукції шлункових уражень індометацином. Через 6 год після застосування ІМ тварин виводили з досліду (див. вище), їх шлунок видаляли для подальших досліджень. Визначення кількості виразок, ерозій, крововиливів та рівня ТБК-реактивних продуктів проводили за такою самою схемою, що і в етаноловій моделі. Для дослідження ролі ендогенних ПГ у захисних ефектах рутину і ОМ при етанолових ураженнях шлунка експериментальним тваринам внутрішньочеревно (в/ч) вводили ІМ (5 мг/кг маси тіла) за 60 хв до застосування етанолу. Шлунок секретую досліджували за Шеєм на щурах із перев'язаним пілорусом [6].

Електричну та скоротливу активність гладеньких м'язів кишечника вивчали методом подвійного цукрозного містка для реєстрації електричної та механічно-скоротливої активності гладеньком'язових клітин [7].

Даний метод дозволяє одночасно реєструвати електричну активність ГМК (потенціал дії, мембранний потенціал, фізичний електротон, струм) впродовж усього експерименту, та механічно-скоротливу активність ГМК при допомозі механотрона 6MX1С (механоелектричний перетворювач) і відповідної підсилюючої та реєструючої апаратури [150]. В дослідгах використовували нормальний розчин Кребса наступного складу (мм): NaCl – 120,4; NaHCO_3 – 15,5; NaH_2PO_4 – 1,2; KCl – 5,9; CaCl_2 – 2,5; MgCl_2 – 1,2; глюкоза – 11,5; рН – $7,3 \pm 0,1$. Температура оточуючого розчину Кребса була постійною і скла-

дала $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Питомий опір ізотонічного розчину сахарози у всіх дослідах перевищував 10^5 Ом·см. У всіх серіях дослідів $n \geq 28$. Показники електричної та скоротливої активності гладеньких м'язів антрального відділу шлунка мурчаків у нормальному розчині Кребса приймалися за 100%.

Результати досліджень. Вплив флавоноїдів на зовнішньосекреторну функцію та тканинне дихання печінки. Одноразова внутрішньопортальна ін'єкція кверцетину (КВ) (0,1 мг/100 г маси) у вигляді суспензії у фізіологічному розчині впродовж 3 хв. викликала посилення жовчосекреції на 13,4% ($p < 0,05$) лише через 140 хвилин після введення, а ще через 10 хв. – до 18,7% ($p < 0,05$) стосовно контролю.

30-добове навантаження організму КВ (0,1 мг/100 г маси). Флавоноїд як водну суспензію додавали до стандартного раціону віварію. Контрольні тварини, як належить, отримували відповідний об'єм води до стандартного раціону. У гострих дослідах було виявлено зростання інтенсивності жовчовиділення в період із 30-ї по 70-ту хвилину експерименту. Так, протягом третього 10-хв. проміжку досліді середня об'ємна швидкість жовчотoku щодо контролю зростала на 25,8% ($p < 0,01$), на 40-й хв – на 28,3% ($p < 0,01$), на 50-й – на 21,5% ($p < 0,02$). На 60-й хвилині експерименту рівень холесекреції зріс на 23,9% ($p < 0,05$), через наступні 10 хв. – на 26,4% ($p < 0,01$), а ще через 10 хв. – на 31,3% ($p < 0,05$).

Отже, в обох випадках КВ виступає як жовчогінний агент. Курсове призначення препарату посилює його холеретичну дію (якщо порівнювати з одноразовим внутрішньопортальним введенням).

Секреторна функція печінки при моделюванні тканинної гіпоксії *in vivo*. Вплив попереднього курсового призначення КВ (0,1 мг/100 г, 30 діб) на секреторну функцію печінки за вищевказаних умов. Тканинну гіпоксію (*in vivo*) моделювали шляхом в/порт ін'єкції ротенону (від 1 мкМоль) – блокатора НАДН-дегідрогенази мітохондріального ланцюга окиснення. Контролем для цих спроб слугували тварини, що зазнавали втручання лише ротенону. В/порт ін'єкція ротенону значно пригнічує жовчовидільну функцію у щурів, котрі попередньо не отримували КВ. Максимальний ефект блокатор чинить на 60-й хв., тобто через 30 хв. після його втручання в організм. Так, порівняно з вихідним значенням (0,97 мкл/г·хв у 1-й пробі) рівень холесекреції зменшився до 0,35 мкл/г печінки·хв у 6-й 10-хв.пробі, тобто на 177,1% ($p < 0,05$). Інша картина спостерігається при вивченні жовчовидільної функції щурів, котрим попередньо (курсом у 30 діб) призначали флавоноїд. Пригнічення ротеноном холесекреції у цих тварин все ж таки відбувається, проте воно є менш значним, і функція жовчосекреції швидко відновлюється. Середня об'ємна швидкість секреції жовчі на 60 хв. досліді досягає значень близьких до вихідних (0,93 мкл/г печінки·хв), що на 165,7% ($p < 0,05$) більше ніж у контролі. Слід зазначити, що КВ сприяє виживанню піддослідних тварин за дії стрес-чинників. Так, із 8 тварин з модельованою тканинною гіпоксією за 90 хв. гострої спроби вижило лише 3 тварини. Попереднє 30-добове навантаження їх флавоноїдом збільшувало виживання, а саме: із 11 тварин до кінця експерименту дожили 9 тварин. Виходячи з одержаних результатів, ми припустили, що антигіпоксичний ефект цього флавоноїду може мати прямий стосунок до функції дихального ланцюга.

Дослідження впливу КВ на інтенсивність процесів ліпопероксидації (ПОЛ) у тканині печінки щурів за різних умов. Вплив КВ за різних доз на інтенсивність ПОЛ *in vitro*. В результаті досліджень було показано, що КВ ($2 \cdot 10^{-2}$ г/л – 2 г/л) дозозалежно знижує інтенсивність як

спонтанного, так і неферментативного ПОЛ в печінці. Такий ефект флавоноїду можна пов'язати як із антирадикальною, так і комплексоутворювальною його здатностями, що ведуть до переривання вільнорадикальних реакцій на початкових стадіях їх перебігу.

Вплив КВ (0,1 мг/100 г маси) на процеси ПОЛ *in vivo* за різних станів організму. Після закінчення дослідів із вивчення впливу КВ на секрецію жовчі печінкою щурів оцінювали на вміст у ній продуктів ПОЛ. КВ (в/порт, 0,1 мг/100 г маси) зменшував вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ на 9% ($p < 0,01$) порівняно з контролем, а після 30-добового навантаження – на 11%. Контрольні проби містили $236,0 \pm 2,2$ нмоль/г тканини ТБК-активних продуктів ПОЛ, а дослідні (КВ, 0,1 мг/100 г маси) – дещо менше: $210,0 \pm 5,3$ нмоль/г тканини, тобто на 11% ($p < 0,001$). Подібно до КВ поводить себе й ротенон. Його антиоксидантна дія дорівнює 11,9% ($p < 0,001$). Здавалося б обидва антиоксиданта (КВ і ротенон) в сумі могли б викликати відповідний суттєвий вплив на інтенсивність ПОЛ. Сумарна антиокислювальна їх дія була значно слабшою від такої, коли препарати застосовували окремо. Зокрема, якщо в контролі рівень ТБК-активних продуктів ПОЛ становив $236,0 \pm 2,2$ нмоль/г тканини, то при поєднанні блокатора й флавоноїда – $222,0 \pm 1,6$ нмоль/г тканини, тобто усього на 6% ($p < 0,001$) менше. Характерно, що, попри розвиток тканинної гіпоксії, ротенон проявляв антиоксидантні властивості, що за силою були приблизно однаковими з такими, що їх мав КВ при його курсовому призначенні. Оскільки існує тісний взаємозв'язок між жовчовидільною функцією і такими мітохондріального і мікросомального окиснення в гепатоцитах, варто, певною мірою, шукати відповідь щодо механізмів впливу флавоноїдів на секреторну функцію печінки в ефектах рослинних фенолів, зокрема, КВ, на функціонування цих редокс-ланцюгів.

Сукцинат- і НАДН-залежне дихання. АДФ-стимульоване окиснення на фоні сукцинату або НАДН. Дихальний контроль за Чансом. КВ ($2 \cdot 10^{-2}$ г/л) при додаванні до гомогенату призводить до активації субстратного дихання (сукцинат – 1 мМоль, НАДН – 1 мМоль). Якщо в контролі швидкість QO_2 (субстрат – сукцинат) становила $27,09 \pm 2,45$ наноатомів O /хв·мг білка, то внесення до проби КВ збільшило цей показник до $36,90 \pm 2,68$ наноатомів O /хв·мг білка, тобто на 31,4% ($p < 0,01$). Дещо сильнішу стимулюючу дію чинить препарат на НАДН-залежне окиснення: від $27,78 \pm 4,55$ наноатомів O /хв·мг білка в контролі до $42,00 \pm 4,04$ наноатомів O /хв·мг білка (в досліді), що становить 51,2% ($p < 0,001$). При цьому не спостерігається будь-якого достовірного впливу КВ на АДФ-залежне і контрольоване дихання (як при окисненні сукцинату, так і НАДН). Відповідно, дихальний контроль за Чансом не зазнає змін під дією препарату, про що свідчить незмінність співвідношення швидкостей дихання й фосфорилування. Тобто, за вищевказаної концентрації флавоноїд не справляє роз'єднувального ефекту на окисне фосфорилування, що є предметом дискусії.

Вплив КВ ($2 \cdot 10^{-1}$ г/л) на НАДН-залежне окиснення на тлі блокади відповідної дегідрогенази ротеноном (за насичувальної фермент концентрації). Одержані результати показують, що ротенон (1 мкМоль) суттєво (на 57,7%, $p < 0,001$) пригнічує інтенсивність тканинного дихання, стимульованого НАДН (1 мМоль). КВ, внесений до полярографічної комірки, близько до вихідних величин НАДН-залежного окиснення, відновлює втрачену за втручання блокатора швидкість споживання кисню гомогенатом печінки. Інакше кажучи, після пригнічення ротеноном інтенсивність поглинання O_2 за допомогою КВ зростає на 94,4% ($p < 0,001$) щодо окиснення при дії

блокатора. Тобто, за умов тканинної гіпоксії КВ може виступити в ролі антигіпоксанта, причому ця роль не обмежується лише антиоксидантними властивостями, як трактується в літературі (див. вище), але й включає активну модуляцію тканинного дихання. Можливо, відновлення флавоноїдом мітохондріального окиснення за умов блокади НАДН-залежного шляху переносу електронів відбувається за рахунок стимуляції альтернативних шляхів окиснення, зокрема ФАД-залежних. До речі, як ми показали у власних дослідженнях, даний препарат здатен посилювати сукцинат-стимульоване окиснення.

Дія флавоноїдів на функціональний стан слизової оболонки шлунка в нормі та за умов розвитку різних патологій. У гострому досліді у щурів викликали ушкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) 80 % етанолом (ЕТ) і індометацином (ІМ) (30 мг/кг) (контрольні тварини). При попередньому введенні КВ (25, 50 та 100 мг/кг), рутину (РУТ) (50 і 100 мг/кг) і омепразолу (ОМ) (30 мг/кг) – для порівняння – ураження СОШ щурів значно зменшувалися. КВ і РУТ найкраще захищали СОШ від уражень ЕТ і ІМ при застосуванні їх у кількості 100 мг/кг. За рівнем малонового діальдегіду (МДА) ми вимірювали інтенсивність ПОЛ, який є маркером оксидативного стресу. У порівнянні з інтактними тваринами, було виявлено збільшення рівня МДА в СОШ щурів як з ЕТ, так і з ІМ ураженням, на 40,5 % і 53 %, відповідно. В ЕТ моделі ушкоджень СОШ КВ (100 мг/кг) зменшував показник рівня ПОЛ на 20%, РУТ (100 мг/кг) – на 41 %, відповідно, в ІМ-моделі – на 29 % і 27 %. ОМ (30 мг/кг) не впливав на інтенсивність ПОЛ за жодної з модельованих нами патологій. На щурах із перев'язаним пілорусом досліджували вплив КВ (50 і 100 мг/кг), РУТ (50 і 100 мг/кг), ОМ (30 мг/кг) на кислу шлункову секрецію (КШС). Як КВ, так і РУТ в дозах 50 мг/кг і 100 мг/кг дозозалежно зменшували дебіт соляної кислоти шлункового соку: перший, відповідно, на 38 % і на 56 %, а другий – відповідно, на 14 % і на 32%. ОМ повністю, на 100 %, усував секрецію НСІ. Попереднє введення шурам ІМ (5 мг/кг) не змінювало захисних ефектів РУТ (100 мг/кг) і ОМ на СОШ в ЕТ моделі виразки, проте викликало деяке погіршення стану СОШ в групі щурів, яким давали КВ (100 мг/кг). Це є свідченням того, що простагландини не є посередниками РУТ і ОМ в захисті СОШ від ураження ЕТ, а КВ може активувати незначну продукцію простагландинів, що, проте, не відіграє значної ролі в його захисному ефекті. Порівняння захисної дії, з одного боку, натуральних КВ і РУТ, з іншого – синтетичного ОМ показало, що ці різні сполуки мають подібний протекторний потенціал як при ураженні шлунка ЕТ, так і ІМ. В ЕТ моделі виразки РУТ захищав СОШ від утворення крововиливів дещо інтенсивніше, ніж КВ і ОМ, тоді як у захисті проти ерозивних ушкоджень ОМ був ефективнішим, ніж флавоноїди. Захисні ефекти КВ і РУТ на шлунок, які ми спостерігали на щурах з ЕТ та ІМ ушкодженнями, вірогідно, можна пояснити їх антиоксидантними властивостями у більшій мірі, ніж антацидними, тоді як ОМ, вочевидь, діяв через усунення соляної кислоти зі шлунка.

Ефекти кверцетину на електричну та скоротливу активність гладеньких м'язів кишечника. В наших експериментах КВ використовували в концентраціях $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Показники електричної та скоротливої активностей гладеньких м'язів в нормальному розчині Кребса приймалися за 100%. В усіх серіях дослідів $n \geq 15$. Гладеньком'язові клітини (ГК) *taenia coli* генерують складні потенціали дії та фазичне (фазове) скорочення. В нормальному розчині Кребса КВ ($1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л) викликав зменшення максимальної швидкості наростання, амплітуди та тривалості скорочення м'язів

поздовжнього шару кишечника в залежності від концентрації цієї речовини в оточуючому розчині. За таких умов наступала гіперполяризація мембранного потенціалу (МП) та зменшення електротонічних потенціалів м'язів кишечника. В усіх зазначених раніше концентраціях через 40 – 50 хв. дії КВ наступало явище звикання. На основі отриманих результатів ми припускаємо, що вплив КВ на ГК кишечника реалізується через іони Na^+ , K^+ або Ca^{2+} . Відомо, що іони K^+ певною мірою впливають на розвиток або гальмування потенціалів дії і, відповідно, скорочення усіх ГК, і ці іони можуть активувати або інактивувати канали входу – Ca^{2+} канали плазмолем міоцитів. У зв'язку з вище наведеним, перед нами постало питання про з'ясування впливу КВ на гладенькі м'язи кишечника за умов блокування K^+ каналів плазматичних мембран цих міоцитів іонами тетраетиламонію. Блокатор K^+ іонних струмів – тетраетиламоній (5мМ/л) у нормальному розчині Кребса викликав деполяризацію (2-3мВ) плазматичних мембран гладеньких м'язів *taenia coli* мурчака. Максимальний рівень такої деполяризації ми спостерігали на 3-5 хвилинах впливу ТЕА. За таких умов амплітуда та тривалість повільних хвиль зростала, при цьому зростала амплітуда та тривалість скорочення цих міоцитів на $150 \pm 1,7\%$ та $200 \pm 1,2\%$ ($P=0,01$). В нормальному розчині Кребса, котрий вміщував блокатор K^+ каналів ТЕА (5 мМ), КВ в концентраціях $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-9}$ М викликав зменшення амплітуди і тривалості потенціалів дії та амплітуди і тривалості м'язового скорочення міоцитів кишечника, як у нормальному розчині Кребса без ТЕА. Блокатор K^+ іонних струмів ТЕА спричиняє збільшення притоку іонів Ca^{2+} в клітину та гальмує вихід іонів K^+ , що призводить до збільшення амплітуди і тривалості потенціалів дії та амплітуди і тривалості скорочення міоцитів. ТЕА в нормальному розчині Кребса збільшує ан-електротонічні потенціали гладком'язових клітин, у випадку впливу КВ ан-електротонічні потенціали міоцитів зменшуються та настає гіперполяризація мембранного потенціалу.

Простагландин $\text{F}_{2\alpha}$ або кальцієвий іонофор A23187 ($1 \cdot 10^{-7}$ М) в нормальному розчині Кребса викликав деполяризацію МП та збільшення електричної та скоротливої активності гладеньких м'язів *taenia coli*. В таких розчинах Кребса КВ ($1 \cdot 10^{-4}$ М – $1 \cdot 10^{-6}$ М) викликав пригнічення електричної та скоротливої реакції міоцитів кишечника, як і в нормальному розчині Кребса без простагландину. В гіперкалієвому (120 мМ) розчині Кребса, КВ ($1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ М) викликав пригнічення фазичних скорочень та зменшення амплітуди тонічної складової викликаного гіперкалієвим розчином міоцитів кишечника. Нітропрусид натрію – донор NO ($1 \cdot 10^{-6}$ М) в нормальному розчині Кребса викликав гіперполяризацію мембранного потенціалу та пригнічення електричної та скоротливої активності м'язів. Ан-електротонічні потенціали цих міоцитів також зменшувались. В нормальному розчині Кребса, котрий містив нітропрусид натрію, КВ ($1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ М) зменшував електричні та скоротливі показники м'язів кишечника як і в нормальному розчині Кребса без нітропрусиду. Ан-електротонічні потенціали також змешувались.

Висновки. 1. Результати проведених досліджень щодо впливу КВ на функціональний стан печінки показали, що препарат є активним модулятором кисень-залежних процесів у печінці, який проявляє антиоксидантні властивості і *vivo* та *in vitro*; стимулює детоксикаційну функцію печінки; проявляє помірну жовчогінну дію за нормальних умов. При моделюванні тканинної гіпоксії *in vivo* здатен відновлювати процеси жовчовиділення, пригнічені дією ротенону, активувати процеси тканинного дихання *in vitro*. При блокаді головної ланки

дихального ланцюга ротеноном він відтворює процеси мітохондріального окиснення, виступаючи в ролі антигіпоксанта. Це може бути одним із механізмів відповідного відтворення секреторної функції печінки за умов моделювання тканинної гіпоксії *in vivo*.

2. Як натуральні флавоноїди кверцетин і рутин, так і синтетичний препарат омепразол сприяють підтриманню цілісності слизової оболонки шлунка щура при гострому ушкодженні її як 80% етанолом, так і ІМ. Ендогенні простагландини, вірогідно, не беруть участі в захисних ефектах рутину і омепразолу на слизову оболонку шлунка щура при ураженні етанолом, тоді як кверцетин може стимулювати невелику кількість простагландинів у ній. Натуральні флавоноїди кверцетин і рутин можуть до певної міри конкурувати із синтетичними омепразол як дієва і доступна субстанція, що підвищує резистентність шлунка до дії таких факторів, як 80% етанол та індометацин.

3. КВ у розчині Кребса здійснює свій гальмівний вплив на гладенькі м'язи *taenia coli* мурчака, головним чином, через іони Ca^{2+} , а також – через іони K^{+} і Na^{+} . КВ у всіх наведених концентраціях блокує вхід іонів Ca^{2+} з при- мембранного позаклітинного Ca^{2+} пулу (глікокалікс

та позаклітинного простору через швидкі та повільні Ca^{2+} -канали в середину гладком'язових клітин, внаслідок чого виникає гіперполяризація та пригнічення потенціалів дії і скорочення гладеньких м'язів кишечника мурчака.

1. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости: А.с. 4411066/14 СССР, МБИ G 01 N [33/50 / С.П. Весельский, П.С. Лященко, И.А. Лукьяненко (СССР). – № 1624322; Заявлено 25.01.1988; Опубл. 30.01.1991, Бюл. №4. 2. Стальная И.Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиабарбитуровой кислоты // В. сб.: Современ. методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича – М.: Медицина, 1977. – С.66-68. 3. Жаліло Л.І., Єсипенко Б.Є., Воробей А.І., та ін. Вплив жовчогінних флавоноїдів на енергетичні процеси в гепатоцитах // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка "Проблеми регуляції фізіологічних функцій". – 1998. – вип. 3. – С.114-117. 4. Morimoto Y., Shimohara K., Oshima S., Sukamoto T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine // Jpn. J. Pharmacol. – 1991. – Vol. 57, № 4. – P. 495-505. 5. Rainsford K.D. Microvascular injury during gastric mucosal damage by anti-inflammatory drugs in pigs and rats // Agents action. – 1983. – Vol.13. – P.457-460. 6. Shay H., Komarov S. A., Fels S. S., Meranze D., Gruenstein M. / Gastroenterology. – 1945. – № 5. – P. 43-61. 7. Зима В.Л., Данилова В.М., Ен Гин, Мирошниченко Н.С. Влияние флавоноидных соединений на АТФазную активность и конформационное состояние актомиозина скелетных мышц. В сб.: Молекулярная генетика и биофизика, К., Вища школа, 1984, Вып.9, с.21-25.

Надійшла до редколегії 08.12.11

УДК 578.01

О. Шевченко, канд. біол. наук, Л. Семчук, канд. біол. наук, І. Будзанівська, канд. біол. наук, О. Постоєнко, канд. біол. наук, Л. Міщенко, д-р біол. наук, В. Поліщук, д-р біол. наук

ВИВЧЕННЯ БІОРИЗНОМАНІТТЯ ВІРУСІВ РОСЛИН ТА ФАГІВ ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ У ПРИРОДНИХ ТА ШТУЧНИХ СИСТЕМАХ

*В рослинних екосистемах виявлено значне різноманіття фагів, активних до випробуваних штамів фітопатогенних бактерій. Показано, що за дії стресового впливу низьких температур та інфікування ВСМВ у рослин пшениці підвищується активність перекисного окиснення ліпідів в 1,6 разу. Вперше проведено аналіз дикорослих орхідей *Dactylorhiza incarnate*, *Epipactis helleborine* та *Platanthera bifolia* природних екосистем Київської та Черкаської областей України на наявність вірусних захворювань. Отримано очищений препарат вірусу кактусу 2 з рослин *Opuntia brasiliensis*. Вперше підтверджено наявність вірусів у рослин *Convolvulus arvensis*, *Lupinus perensis*, *Fragaria vesca*, *Dactylis glomerata*, *Festuca pratensis*, *Artemisia vulgaris* – представників дикорослої флори зони Чорнобильської АЕС. *L. perensis* вперше описаний як хазяїн ВТМ.*

*Rich diversity of phages active toward tested strains of plant pathogenic bacteria has been revealed. It's demonstrated that stress effects of low temperature and WSMV infection induced elevated (x1.6) lipid peroxidation in wheat plants. Virus screening of wild-growing orchids *Dactylorhiza incarnate*, *Epipactis helleborine* and *Platanthera bifolia* has been carried out for the first time in natural ecosystems of Kyiv and Chernihiv regions of Ukraine. Purified preparation of Cactus virus 2 has been obtained from *Opuntia brasiliensis* plants collected in botanical gardens. For the first time we have confirmed relatively wide spread of common viruses in representatives of wild flora (*Convolvulus arvensis*, *Lupinus perensis*, *Fragaria vesca*, *Dactylis glomerata*, *Festuca pratensis*, *Artemisia vulgaris*) from the region of Chernobyl Nuclear Power Station. *L. perensis* plants have been described as novel host for Tobacco mosaic virus.*

Вступ. Особливості життєвого циклу вірусів диктують імперативну необхідність отримання нових відомостей щодо вивчення закономірностей поведінки вірусних патогенів у трансформованому середовищі. Відомості епідеміологічного характеру щодо поширення вірусних інфекцій культурних рослин та екологічного спрямування стосовно патерну їх поведінки у антропогенно трансформованому довкіллі дозволять з великим ступенем вірогідності прогнозувати не лише появу вірусів у нових екосистемах або їх поширення в існуючих, але й роботи висновки про шкодочинний потенціал конкретного патогена вірусної природи у відповідних екологічних та геокліматичних умовах. Згідно гіпотези авторів проекту, яка частково підтверджена лабораторними та польовими дослідженнями у модельних системах, хронічний вплив абіотичних стресових чинників довкілля, який призводить до інтенсифікації розвитку вірусних хвороб рослин на рівні окремої рослини, також може бути здатний індукувати цитологічні зміни у перебігу вірусної інфекції та генетичні зміни РНК-вмісних вірусів рослин з наступними змінами їх біологічних властивостей у розумінні кола сприйнятливих рослин-

господарів, суворості симптоматики, вірулентності патогену, що в свою чергу буде відображено на популяційному рівні у вигляді більш значного поширення вірусних інфекцій в екосистемах. Результати запропонованої роботи є ключовими у розумінні механізмів підтримання стабільності генотипу вірусів за умови хронічної дії абіотичного стресового фактору. Відомості такого роду дозволять робити висновки щодо еволюційного та епідемічного потенціалу вірусних патогенів в антропогенно трансформованому середовищі та вірогідності появи ізолятів вірусів зі значно підвищеною вірулентністю та значним шкодочинним потенціалом. Метою досліджень було вивчити біорізноманіття вірусів рослин та фагів фітопатогенних бактерій у природних та штучних системах. Відповідно до мети були поставлені такі завдання: 1) дослідити біорізноманіття бактеріофагів фітопатогенних бактерій у природних та штучних системах; 2) вивчити представництво вірусів у рослин природної флори в умовах хронічного радіоактивного забруднення; 3) прослідкувати диференціацію симптомів на озимій пшениці за дії вірусних інфекцій та низьких температур; 4) вивчити різноманіття вірусних патогенів

колекційних рослин родини *Cactaceae* та дикорослих представників родини *Orchidaceae*.

Методи досліджень. До методів досліджень відносяться класичні та модифіковані вірусологічні серологічні, молекулярно-біологічні та статистичні методи досліджень.

Проростки рослин-індикаторів вирощувалися у теплицях у стерильному ґрунті за стандартних умов освітлення, фотоперіоду та вологості (відносна вологість – 40-50%, температура – 24-28°C, фотоперіод – 16 годин) [1].

Інокуляцію рослин у віці чотирьох справжніх листків проводили механічно за допомогою абразиву (карборунд) та скляної палички. На кожній рослині інокулювали два листки. Після інокуляції рослини витримували 1 добу у темряві за умов високої вологості для підвищення їх сприйнятливості до інфікування [1].

Детекція вірусів у рослинах проводилася методом непрямого імуноферментного аналізу за стандартною методикою [2] з використанням комерційних поліклональних кролячих антисироваток виробництва Loewe, DSMZ, Aschersleben (Німеччина), Prime Diagnostics (Нідерланди) та антивидових козлиних (або мишачих) антикролячих антитіл, мічених лужною фосфатазою (Sigma, USA). Реєстрація результатів ІФА проводилася при довжині хвилі 405 нм з використанням ІФА-рідера "Dynamech". За позитивний результат приймався показник E_{405} , що вдвічі перевищував показник негативного контролю (сік здорової рослини) та був вищим за значення оптичної густини 0.2.

Накопичення вірусів здійснювали на рослинах, які реагують системно на ураження ними [3, 4].

Виділення та очищення відповідного вірусного матеріалу проводили методом диференційного центрифугування [1]. При роботі з вірусним матеріалом були використані буфери, що не містять солей натрію, для зручності в подальшій роботі з вірусним матеріалом [5, 6].

Концентрацію та чистоту виділених препаратів вірусу визначали спектрофотометрично. Вимірювання проводили на приладах СФ-26 "ЛОМО" (Російська Федерація). Концентрацію вірусу обраховували за формулою: $C = A_{260} * N/K_e$, де C – концентрація вірусу в мг/мл; A_{260} – поглинання при довжині хвилі 260 нм; N – розведення вірусного препарату; K_e – коефіцієнт екстинції. Чистоту вірусного препарату визначали за співвідношенням величин оптичних густин: A_{260}/A_{280} , де A_{260} – поглинання при довжині хвилі 260 нм; A_{280} – поглинання при довжині хвилі 280 нм [6, 7].

Для електронної мікроскопії ультратонких зрізів використовували сіточки (Sigma, USA). Для виготовлення плівко-підкладок використовували 2% розчин формвару. Негативне контрастування препаратів ультратонких зрізів рослинних тканин здійснювали за допомогою 2.5% ураніацетату. Аналіз сіточок зі зрізами рослинних тканин проводили за допомогою трансмісійних електронних мікроскопів EM 100 (Суми, Україна), JEM 1200 EX "JEOL" (Японія) за стандартних умов. Використовували інструментальне збільшення у діапазоні 10000-30000x [5, 6].

Для виділення ВЖКЯ у роботі було використано модифіковану методику [8], для виділення ВСМП – метод диференційного центрифугування за Brakke у модифікації [9]. Для вимірювання перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) використовували тест із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [10] у модифікації [11].

Статистичний аналіз експериментальних даних проводили за параметричними критеріями нормального розподілу варіант. Стандартне відхилення середніх значень обчислювали за загальноприйнятою методикою з допомогою програми MS Excel XP [12].

Результати досліджень та їх обговорення. Відповідно до сучасних оцінок, фаги є найбільш численними біологічними об'єктами на Землі, сумарна кількість яких досягає 10^{31} часток [13]. У нашу задачу входило вивчення фагів, активних проти модельних фітопатогенних бактерій. Дослідження були направлені на виявлення існуючого спектру фагів, що циркулюють в рослинних екосистемах України. Цей аспект практично не відображений у науковій літературі, однак представляє значний інтерес, оскільки в природі не існує умов, які б забезпечували присутність лише одного виду хазяїна, у вигляді монокультури. Без одночасного вивчення фагів різних хазяїв важко виявити та встановити механізми, що забезпечують збереження, поширення та еволюції важливої групи вірусів.

Для виявлення різноманіття фагів диких типів були використані наступні штами: *P. syringae* pv. *tabaci* IMV 223, *P. syringae* pv. *atrofaciens* IMV 1025, *X. axonopodis* pv. *beticola* IMV 7325, *E. carotovora* IMV 216, *P. syringae* pv. *aptata* IMV 185, *P. syringae* pv. *tabaci* IMV 8646, *P. chlororophis* IMV 8612, *P. alliicola* IMV 8494, *P. syringae* pv. *phaseolicola* IMV 4228, *P. syringae* pv. *phaseolicola* IMV 4013, *P. viridiflava* IMV 8867, *P. syringae* pv. *aptata* IMV 8545, *P. syringae* pv. *cerasi* IMV 8653, *P. viridiflava* IMV 8868, *P. lachrymans* IMV 7591, *Agrobacterium tumefaciens* IMV 8628. Ці бактерії є збудниками бактеріальних хвороб рослин та широко представлені в біоценозах України. Всі штами отримані із музею фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології та вірусології НАН України імені Д.К. Заболотного.

Виділення фагів фітопатогенних бактерій із екосистем проводили, використовуючи зразки листя рослин. Проби відбирали у чотирьох областях: Київській, Чернігівській, Житомирській та Вінницькій. Їх відбір проводили в період інтенсивного росту рослин, коли температурний режим був найбільш сприятливим для розмноження бактеріальних патогенів. Аналіз виявлених фагів свідчив, що у екосистемах одночасно циркулює їх широкий спектр. Важливо підкреслити, що використані тестові штами мали тривалий час зберігання та культивування в лабораторних умовах.

Потрібно відмітити, що жоден із зразків не містив фагів до всього списку тестових штамів. Однак, сумарні результати підтверджували присутність в рослинних екосистемах фагів із літичною активністю до всіх тестових штамів. Титри їх знаходились у широких межах, від одиниць до мільйонів інфекційних частинок, у мл. Ефективність утворення стабільних ліній для фагів змінювалась, у залежності від хазяїна, і складала біля 90% у *X. axonopodis* pv. *beticola* IMV 7325 і менше 10% у *P. syringae* pv. *aptata* IMV 185.

Потрібно відмітити, що нам жодного разу не вдалось виявити фаги до *Agrobacterium tumefaciens*. Причини стійкості штаму до фагової інфекції, очевидно, полягають у особливостях будови генетичного апарату.

Виявлені фаги були представлені різними за своєю будовою частками (Рис.1). Всі вони відносились до порядку *Caudovirales*, родин *Podoviridae* (морфотип С1), *Syphoviridae* (морфотип В1) та родини *Mioviridae* (морфотипу А3) [14, 15].

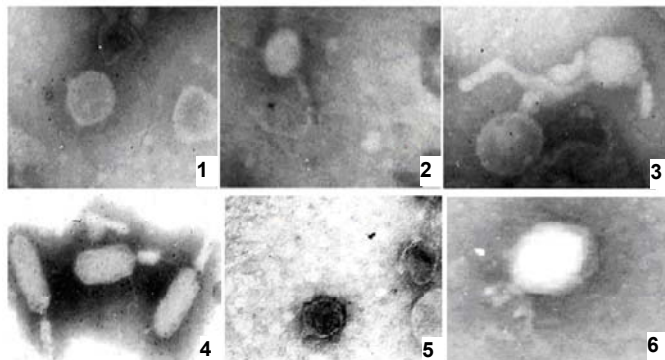


Рис. 1. Морфологія фагів, що відносились до родин *Podoviridae* (1, 5, 6), *Syphoviridae* (2,3) та *Mioviridae* (4), виявлені у польових пробах

В процесі аналізу польових зразків, у пробі, відібраній у Вінницькій області був виявлений фаг, що має унікальний генотип, та виявляє широкий діапазон хазяїв. Він був одночасно активним проти бактерій різних родів *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Pseudomonas*. За сучасними оцінками фаги, що мають широкий діапазон хазяїв та здатні розмножуватись на хазяях, які є представниками різних родів, зустрічаються дуже рідко [13, 15].

Таким чином, в рослинних екосистемах України виявлено велике різноманіття фагів, які є активними, практично, проти всіх наявних в них бактерій. Їх чисельність не є сталою і її зміни носять періодичний характер. Частина фагів, присутніх у екосистемах, не здатні формувати стабільні лабораторні лінії на тих хазяях, що використовуються. У природі польові штами бактерій забезпечують підтримання чисельності фагів. Взаємовплив антагоністів фага та бактерії є складним, багатфакторним процесом. Отримані фаги будуть використані у подальших дослідженнях, з метою його вивчення.

Пшеницю та інші зернові культури уражають численні віруси, деякі з них мають широке розповсюдження і становлять серйозну економічну загрозу. Тому актуальною проблемою залишається ідентифікація найбільш розповсюджених вірусів на посівах зернових і комплексне їх дослідження, включаючи різноманітні аспекти біології вірусів та їх шкодочинного впливу на озиму пшеницю. Тому метою роботи було встановити залежність прояву симптомів на рослинах за дії біотичних та абіотичних чинників. Об'єктами дослідження були рослини пшениці сортів Турунчук, Литановка, Супутниця, Альбатрос, Писанка та Колективна-3. Досліджували інфікованість рослин вірусом жовтої карликовості ячменю (ВЖКЯ) та вірусом смугастої мозаїки пшениці (ВСМП).

Оскільки зниження температури викликає у рослин стрес, важливо встановити фізіологічну відповідь рослин-

ного організму на цей чинник. Разом з тим, інфікування вірусами також є біотичним стресом, тому дослідження відповіді рослин на сумісну дію цих двох чинників представляє значний інтерес. Досліджувався вплив низької температури на модельній системі ярова пшениця-ВСМП.

Зміни перекисного окиснення ліпідів за дії холодового стресу та вірусної інфекції досліджували в динаміці, визначаючи на 7, 12, 19 добу вміст ТБКАП, в порівнянні з неінфікованими рослинами, інфікованих рослин та інфікованих рослин за дії гіпотермії. Аналіз результатів показав, що вміст ТБКАП при інфікуванні рослин пшениці ізолятом ВСМП на 7 добу перевищував контроль в 1,3 рази. У той же час вміст ТБКАП у інфікованих рослинах за дії гіпотермії, був на рівні контролю. В подальшому, на 12 добу культивування активність перекисного окиснення ліпідів за дії вірусної інфекції, очевидно, знизилась, оскільки, вміст ТБКАП не перевищував контроль. За сумісної дії гіпотермії та вірусного інфікування вміст ТБК-активних продуктів у рослинах пшениці зріс і перевищував контроль в 1,6 рази. На 19 добу в інфікованих рослинах активність перекисного окиснення ліпідів продовжувала зростати, тоді як у контролі вміст ТБКАП знизився у порівнянні із першою датою обліку в 1,3 рази. Таким чином, за дії короточасного стресового впливу низької температури та інфікування ВСМП в процесі онтогенезу у рослин пшениці підвищується активність перекисного окиснення ліпідів. Активація ПОЛ є сигнальною реакцією рослинних клітин, що викликає формування захисних механізмів.

Із збільшенням тривалості культивування рослин пшениці за умов експерименту знижувався і вміст антигенів ВСМП. Так, у варіанті з інфікуванням рослин без дії гіпотермії вміст антигенів зразків знизився майже у два рази на 21 добу експерименту, порівняно з попередньою датою обліку (рис.2).

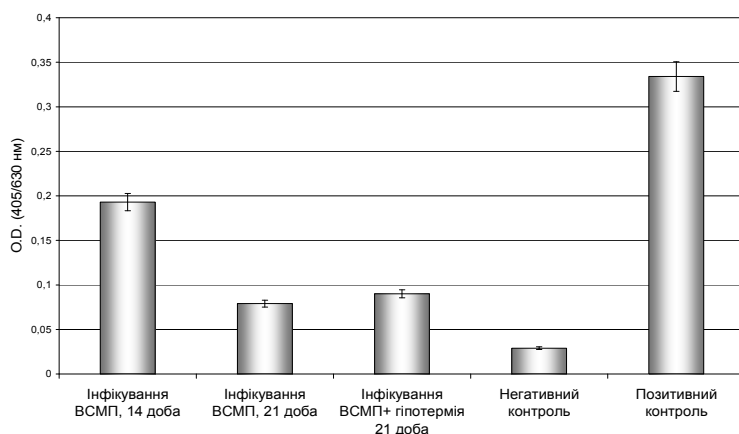


Рис. 2. Вміст антигенів ВСМП у зразках пшениці сорту Колективна-3 за дії гіпотермії

Отже перебіг вірусної інфекції не зазнавав відчутних змін за дії короткочасного впливу низької температури.

Оскільки більшість рослин, які вирощуються людиною, зокрема декоративних, походять від "диких" попередників, видається логічним, що культурні рослини і їх дикі "родичі" можуть уражатися близькими вірусами. Проте, необхідно зазначити, що дикі види рослин більш стійкі до ураження різними патогенами, в тому числі – вірусами. Таким чином, незважаючи на "близькість" культурних видів до їх диких попередників, ці рослини можуть різнитися не лише за чутливістю до вірусів але й за їх видовим представництвом та наслідками розвитку фітовірусної інфекції.

Метою роботи було вивчення видового представництва вірусів для збереження біорізноманіття. Як модельні об'єкти у нашій роботі були використані рослини родин Кактусових та Орхідних. Вірусні хвороби кактусових є дуже небезпечними, оскільки, роками перебуваючи в латентному стані, можуть непомітно передаватись іншим рослинам, що пізніше викликає повне і незворотне їх виродження і є причиною великих втрат у колекціях. Вірусні захворювання орхідей значно впливають на декоративні якості квітів, і, відповідно, призводять до зниження їх цінності. Саме тому віруси культурних орхідей складають одну з найбільш добре вивчених груп патогенів декоративних рослин. В природній флорі України нараховується 68 видів орхідних, які належать до 28 родів, серед них 6 видів є реліктовими та 2 – ендемічними. Орхідні України знаходяться під охороною і занесені до Червоної книги [16]. Всі орхідні України – наземні багаторічні трав'янисті рослини, що переважно зростають на луках, торфових болотах та у вологих лісах.

Віруси як біотичний чинник здійснюють безпосередній вплив на загальний стан генофонду популяцій рослин. Найбільш небезпечними в даному випадку є віруси, що потрапляють в природні біоценози з агроценозів, оскільки вони є високо патогенними для нових господарів. Проте вірусні патогени террестріальних орхідних

помірної кліматичної зони вивчені значно в меншому ступені ніж віруси тропічних орхідей. На сьогодні описані випадки ураження орхідних родів *Cypripedium*, *Orchis*, *Ophrys* ниткоподібним вірусом циприпедіума, вірусом мозаїки турнепсу та вірусом погремковості тютюну [54]. Крім того, при дослідженні орхідних природної флори України, серед зразків відібраних на території Криму та Карпат, були ідентифіковані вірусні антигени до вірусу жовтої мозаїки квасолі, погремковості тютюну, аспермії томатів та мозаїки резухи [17].

Відбір зразків Орхідних проводили на території Київської (околиці с. Нові Петрівці) та Черкаської (Канівський природний заповідник), а також в колекції відкритого ґрунту Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка. Для подальших досліджень відбирали рослини з типовими симптомами вірусного ураження (рис.3). Для визначення наявності вірусу у зразках орхідних рослин використовували метод електронної мікроскопії. Біологічні властивості вірусів орхідних вивчали за допомогою спектру рослин-індикаторів: *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium murale*, *Cucumis sativus*, *Gomphrena globosa*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana alata*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana tabacum*, *Phaseolus vulgaris*, *Petunia hybrida* та *Zinnia elegans*. В результаті дослідження соку інфікованих рослин *Dactylorhiza incarnata*, відібраних в Київській області, методом електронної мікроскопії була підтверджена наявність вірусних часток у зразках. Так, у препаратах рослин з симптомами верхівкового зів'янення та некрозів спостерігали вірусні частки сферичної морфології. У зразках мозаїчних рослин *Dactylorhiza incarnata* були виявлені гнучкі ниткоподібні частки.

Аналіз рослин родини кактусових, відібраних у колекціях ботанічних садів України, проводився методами електронної мікроскопії та ІФА. Під час проведення непрямого твердофазного ІФА зі зразками кактусових із використанням сироваток до S- та M- вірусів картоплі були отримані позитивні результати.



Рис. 3. Рослини *Dactylorhiza incarnata* з симптомами некротичної плямистості (а) та верхівкового зів'янення (б)

При проведенні електронної мікроскопії зі зразками кактусових були виявлені вірусні частки двох типів: ниткоподібні та паличкоподібні. Ниткоподібні вірусні частки мали

розміри $650 \times 12 \pm 2$ нм, паличкоподібні мали довжину приблизно 320 нм і діаметр 18 нм. Розміри ниткоподібних часток відповідають розмірам вірусу кактусу 2 (рис. 4).

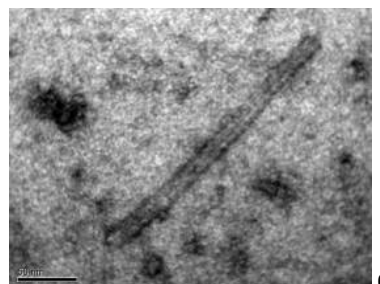
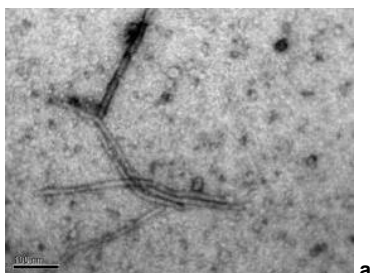


Рис. 4. Ниткоподібні (а) та паличкоподібні (б) вірусні частки, виявлені у рослинах родин Кактусових

Методом диференційного центрифугування виділено та очищено з рослин *Opuntia brasiliensis* вірус, який за серологічними, біологічними та морфологічними властивостями є вірусом кактуса 2. Такий же вірус виявлений у рослинах ботанічного саду Львівського національного університету ім. І.Я. Франка.

Важливим для вивчення шляхів розповсюдження фітовірусів є знання їх взаємодії з представниками дикої флори та бур'янами. Відомо, що віруси дикорослих рослин викликають захворювання у культурних рослин [18]. Існують дані, що представники родів вірусів *Caulimovirus*, *Potyvirus*, *Tymovirus* є спільними також і для дикорослих рослин [19]. Стресові чинники хімічної природи, такі як важкі метали та радіонукліди, здатні індукувати ряд біологічно важливих феноменів у перебігу вірусних інфекцій рослин. Розвиток вірусної інфекції рослин за хронічного впливу радіоактивного випромінювання може супроводжуватися розвитком нетипових симптомів та, вірогідно, генетичними змінами вірусів. Але мало уваги приділяється вірусам, які уражують дикорослу рослинність, хоча дика флора є чи не найбільшим резервуаром вірусів, які надалі і заражають культурні рослини [20]. Тому метою нашої роботи було дослідження вірусів, які уражують дикорослі рослини в зоні Чорнобильської АЕС.

Проби зразків дикорослих рослин були відібрані в зоні Чорнобильської АЕС у трьох точках: 1) "Дорога на Чистоголівку" (№ 51/ 22/633//, Е 030/01/ 379//); 2) "Мишачий вольєр", дерново-болотисті ґрунти



Рис. 5. Симптоми мозаїки та деформації листя на рослинах *N. tabacum*, уражених витяжкою з рослин люпину (*Lupinus perennis*)

Таким чином, рослини *Lupinus perennis* вперше описані як хазяїн вірусу тютюнової мозаїки. Отримані нами результати недвозначно свідчать на користь значного поширення відомих та (вірогідно) ще неописаних вірусів у дикорослій флорі Зони відчуження ЧАЕС. Слід відмітити, що помітне розповсюдження вірусів рослин може мати у даному контексті важливе епідеміологічне та еколого-еволюційне значення.

Висновки.

1. В рослинних екосистемах України виявлено значне різноманіття вірулентних та помірних фагів, активних до більшості випробуваних штамів фітопатогенних бактерій.

2. Показано, що короткочасна дія низьких температур достовірно не впливає на перебіг вірусної інфекції та не стимулює підвищення вмісту антигенів ВСМП у рослинах пшениці. Встановлено, що за дії стресового впливу низьких температур та інфікування ВСМП у рослин пшениці підвищується активність перекисного окиснення ліпідів в 1,6 разу.

(№ 51/23/200//, Е 030/03/ 825//); 3) м. Чорнобиль (№ 51/16/250//, Е 030/12/ 797//). Загалом було відібрано 22 зразки різних видів рослин із точок з різною інтенсивністю радіаційного навантаження. Рослини різного таксономічного положення відбиралися за візуальними вірусоподібними симптомами. Отримані рослини були визначені за довідником для їх чіткого таксономічного положення. Зразки досліджували методом ТЕМ, віруси діагностували методами рослин-індикаторів та ІФА.

У таких рослин як березка польова (*Convolvulus arvensis*) та суниця лісова (*Fragaria vesca*) спостерігалися сферичні та паличкоподібні вірусні частки. Грестича збірна (*Dactylis glomerata*) і костриця лучна (*Festuca pratensis*) містили виключно сферичні вірусні частки. У рослині люпину (*Lupinus perennis*) виявлені паличкоподібні вірусні частки, подібні до тобамовірусів. У полина звичайного (*Artemisia vulgaris*) спостерігали бацилоподібні та паличкоподібні частки.

Чіткі прояви симптомів були зафіксовані на рослинах-індикаторах, які були уражені витяжками з рослин люпину (*Lupinus perennis*), суниці лісової (*Fragaria vesca*) та пижмо звичайного (*Tanacetum vulgare*). На рослинах *N. tabacum*, уражених витяжкою з рослин *Lupinus perennis* було відмічено симптоми мозаїки та деформації листової пластинки. Подібні симптоми були виявлені на рослинах тютюну, інкульованих гомогенатом з рослин *Fragaria vesca* та *Tanacetum vulgare* (рис.5).

Результати серодіагностики ВТМ у зразках дикорослих рослин наведено на Рис.6.

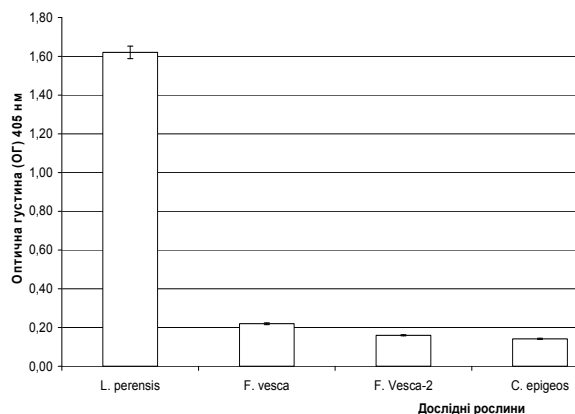


Рис. 6. Діагностика ВТМ у зразках дикорослих рослин методом непрямого ІФА.

3. У симптоматичних зразках дикорослих орхідей *Dactylorhiza incarnate*, *Epipactis helleborine* та *Platanthera bifolia* природних екосистем Київської та Черкаської областей України та орхідей незахищеного ґрунту *Anacamptis picta* та *Cypripedium ventricosum* Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка методом електронної мікроскопії ідентифіковано паличко- та ниткоподібні вірусні частки.

4. Серологічний аналіз та електронна мікроскопія зразків рослин родини кактусових колекцій ботанічних садів України підтвердили інфікування даних рослин ниткоподібним вірусом кактуса 2. Також показана наявність паличкоподібних вірусних часток розміром 320 x18 нм, які віднесені до тобамовірусів. Отримано очищений препарат вірусу кактуса 2 з рослин *Opuntia brasiliensis*.

5. Вперше проведено скринінг дикорослої флори зони Чорнобильської АЕС на наявність вірусних патогенів. Методами електронної мікроскопії та рослин-індикаторів підтверджено наявність вірусоподібних часток/вірусів у рослин *Convolvulus arvensis*, *Lupinus perennis*, *Fragaria vesca*, *Dactylis glomerata*, *Festuca*

pratensis, *Artemisia vulgaris*. Рослини *Lupinus perennis* вперше описані як хазяїн вірусу тютюнової мозаїки.

1. Hill S.A. Methods in plant virology / S.A. Hill. – Oxford: Alden Press, 1984. – 167 p. 2. Антитела 1. Методи / Под ред. Д. Кэтти. – М.: Мир, 1991. – 196 с. 3. VIDE Database, <http://image.fs.uidaho.edu/videre/refs.htm>. 4. Virus Taxonomy. – Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / [C.M. Fauquet, M.A. Mayo, J. Maniloff et al]. – London, UK: Elsevier Academic Press, 2005. – P. 905-934. 5. Dijkstra J. Practical Plant Virology: Protocols And Exercises / J. Dijkstra, Cees P. de Jager. – Berlin; – Springer-Verlag and Heidelberg GmbH & Co, 1998. – 459 p. 6. Практикум по общей вирусологии / Под ред. И.Г. Атабекова – М.: Издательство Московского Университета, 1981. – 192 с. 7. Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусных растений / Р.В. Гнутова. – М.: Наука, 1993. – 301 с. 8. Hammond J, Lister R. M. And J. E. Foster Purification, Identity and Some Properties of An Isolate of Barley Yellow Dwarf Virus from Indiana By Department of Botany and Plant Pathology, and Department of Entomology and USD A ARS, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47907, U.S.A. 9. Решетник Г. В., Мищенко Л. Т., Бойко А. Л., Колесник Л. В. Виявлення вірусу смугастої мозаїки пшениці в деяких областях України // Мікробіол. журн. – 1996. – Т.58, №2. – С. 39–45. 10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Современные методы в биохимии/ под

ред. В.Н. Ореховича.-М., Медицина. –1977. – С. 66-68. 11. Velikova V., Yordanov I., Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines // Plant Science. – 2000. – V. 151. – P. 59–66. 12. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с. 13. Wommack K.E & Colwell R.R. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. Microbiol. // Mol. Biol. – 2000. – 64, N. 1. – P. 69-114. 14. Reannej D.C., Ackermann H.W/ Comparative biology and evolution of bacteriophages. // Advances in virus research. – 1982. – 27. – P.205-280. 15. Abedon S.T. Phage evolution and ecology // Adv Appl Microbiol. – 2009. – V.67. – P.1-45. 16. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Дідух Я.П. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с. 17. Коротеєва Г. В., Поліщук В. П. Віруси зозулинцевих природної флори України // Мікробіол. Журн. – 2004. – Т. 66 – № 2. – С. 74-80. 18. Wren J.D., Rossinck M.J., Nelson R.S., Scheets K., Palmer M.W., Melcher U. Plant virus biodiversity and ecology // PLoS. Biol. – 2006. – V.80. – PP.56-89. 19. Raybould A.F., Maskell L.C., Edwards M.L., Cooper J.L., Gray A.J. The prevalence and spatial distribution of viruses in natural populations of Brassica oleracea // New Phytol. – 1999. – V.141, N.2. – PP.265–275. 20. Muthukumar V., Melcher U., Pierce M., Wiley G.B., Roe B.A., Palmer M.W., Thapa V., Ali A., Ding T. Non-cultivated plants of the Tallgrass Prairie Preserve of northeastern Oklahoma frequently contain virus-like sequences in particulate fractions // Virus Res. – 2009. – V.141, N.2. – PP.169-173.

Надійшла до редколегії 08.12.11

УДК 581.1:632.4

О. Панюта, канд. біол. наук, В. Белавя, канд. біол. наук, Л. Бацманова, канд. біол. наук, О. Оканенко, канд. біол. наук, Н. Светлова, канд. біол. наук, Н. Таран, д-р біол. наук

СТРАТЕГІЇ МОЛЕКУЛЯРНИХ МЕХАНІЗМІВ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ РІЗНИХ ЕКОТИПІВ ЗА ДІЇ БІОТИЧНИХ СТРЕСОРІВ, ЯК ПРОЯВ РЕАКЦІЙ ВРОДЖЕНОГО ІМУНІТЕТУ

Одержані новітні дані щодо молекулярних механізмів стратегії адаптації рослин за дії біотичних стресорів як прояв факторів вродженого імунітету. Встановлено, що у комплексі мультиваріантних захисних реакцій рослин системна стійкість до дії патогенів формується також за участю білків лектинів та дефенсину. Активність цих захисних білків у стійких і чутливих сортів визначається різним вмістом мРНК та зумовлює ступінь гальмування проникнення і розвитку патогену в клітинах, а, отже, й рівень стійкості сорту. Для генотипів з високим рівнем вродженого імунітету характерна здатність до швидкої експресії генів захисних білків (лектинів та дефенсину) та її регенерація на початкових стадіях патогенезу навіть за дії супресорів високівірulentних штамів фітопатогенних грибів.

Obtained new data on molecular mechanisms of plant adaptation strategies for the actions of biotic stressors as a manifestation of innate immunity factors. Determined that in complex of multivariate protective effects of plant systemic resistance to pathogens is also formed with such proteins and lectins defensin. The activity of these protective proteins in resistant and susceptible varieties determined by different content of mRNA and determines the degree of inhibition of pathogen penetration and development in the cells, and hence the level of stability of variety. The genotypes with high levels of innate immunity is characterized by the ability to rapid gene expression of protective proteins (lectins and defensin) and its regeneration in the early stages of pathogenesis, even for actions of highly virulent suppressor strains of pathogenic fungi.

Вступ. Дослідження формування взаємовідносин між рослинами і патогенами є одним із актуальних напрямів сучасної молекулярної фізіології рослин. З'ясування біохімічних механізмів функціонування вроджених захисних реакцій, в яких задіяні рослинні сполуки, у разі контакту з патогеном і розшифрування шляхів включення реакцій-ідповідей рослин на появу сигнальних молекул у системі рослина-патоген сприяє розширенню методів створення стійких сортів з пролонгованим збереженням цієї ознаки і відкриває шляхи мінімізації обсягів використання пестицидів при одночасному збільшенні врожаю та якості зерна, а також забезпечення високого рівня екологічної чистоти вирощеної продукції. Суттєве зниження урожайності озимої пшениці спричиняє церкоспорельозна прикоренева гниль (церкоспорельоз), або очкова плямистість. За даними Інституту захисту рослин УААН церкоспорельоз є найнебезпечнішою серед грибних хвороб пшениці. У роки епіфітотії втрачають урожай від цієї хвороби становлять 40-50 %. Імунних сортів до церкоспорельозу немає. Збудником церкоспорельозу є гриб *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton [2]. У зв'язку з цим метою роботи було з'ясувати особливості захисних реакцій за участю лектинів та дефенсину при формуванні імунної відповіді різних генотипів озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.), уражених *P. herpotrichoides*, для ранньої діагностики резистентності.

Матеріали та методи. Об'єктом досліджень були проростки озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сприйнятливої до церкоспорельозу сорту (Миронівська 808) і відносно резистентних сортів Тітона, Шостипалівка та Roazon. У досліді використовували методи польових та лабораторних досліджень для скринінгу генотипів озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) різних екотипів [2, 3]; біохімічні методи визначення інтегральних показників фізіологічного стану рослин: вмісту пігментів, загального білка, продуктів перекисного окиснення ліпідів [3]; спектрофотометричні та електрофоретичні методи [6, 7, 8]; методи культивування гриба *P. herpotrichoides* й інфікування ним рослин пшениці на різних фазах онтогенезу [3]; метод ратусеритроаглютинації [4]; метод зворотної транскрипції з використанням полімеразноланцюгової реакції (RT-PCR) [1]; статистичні методи.

Результати та їх обговорення. Проведений скринінг сортів озимої пшениці на стійкість до церкоспорельозу за показниками окиснювального гомеостазу показав, що найменший вміст ТБК-активних продуктів у контролі та за інфікування *P. herpotrichoides*, а також найменше їх зростання відносно контролю реєструється в проростках сортів Шостипалівка, Roazon і Тітона. У результаті скринінгу з десяти досліджуваних сортів відібрано сприйнятливий до церкоспорельозу сорт – Миронівська 808 та відносно стійкі сорти Roazon, Тітона, Шостипалівка.

Для розробки модельної системи інфікування пшениці збудником церкоспорельозу вирощування і зараження рослинного матеріалу проводили на різних етапах розвитку проростків інокуляцією суспензією конідій та гомогенатом міцелію певного титру. Достовірні зміни вмісту ТБК-активних продуктів, пігментів, а також інтегральних параметрів ростових процесів у інфікованих рослин упродовж перших діб з моменту інокуляції відбувалися лише за інфікування суспензією конідій на стадії проростання.

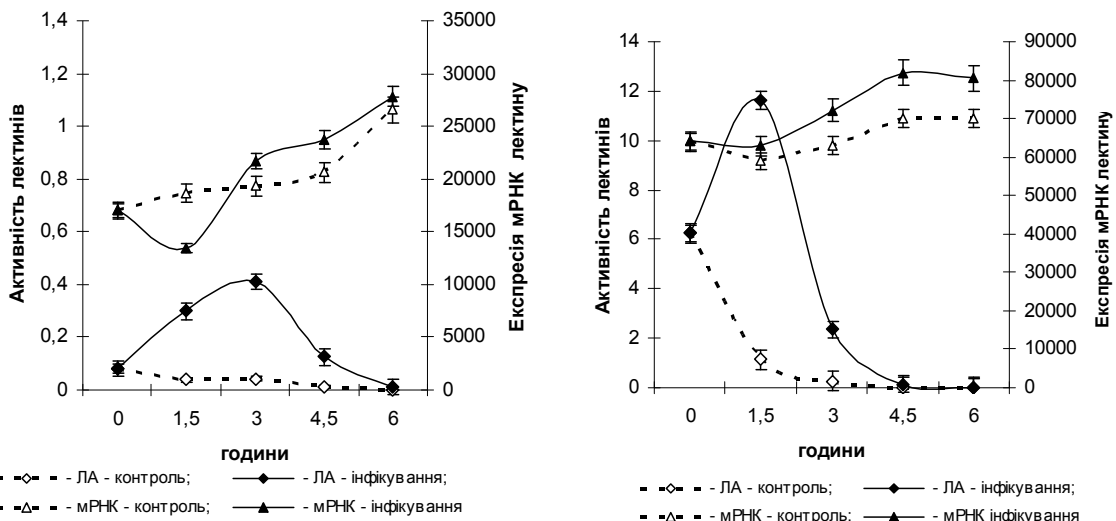
Визначений метод інфікування суспензією конідій у контрольованих лабораторних умовах та використання параметрів про-, антиоксидантної системи для оцінки стану здорової та хворої рослини запропоновано як вихідну модель, яку можна модифікувати для детекції збудників інших кореневих та прикореневих гнилей.

Для характеристики системної стійкості рослин за умов інфікування грибними патогенами визначали активність лектинів. За умов інфікування в проростках досліджуваних сортів зафіксовано значне зростання

активності цих захисних білків відносно контролю (рис. 1). Таке збільшення ЛА можна пояснити вмиканням механізму біосинтезу цих захисних білків, а швидкість, з якою запускається синтез – наявністю пула запасних лектинових мРНК у зародках пшениці, що є одним з проявів системної відповіді [1].

Різниця абсолютних значень ЛА для різних за стійкістю сортів може пояснюватись різницею кількості мРНК. Здатність рослини миттєво активувати захисні реакції, а в даному експерименті – підвищувати показник ЛА, визначає ступінь гальмування проникнення патогену в клітини, а, отже, й рівень стійкості сорту [5, 12].

Порівняння результатів дослідження накопичення мРНК лектину в тканинах пшениці сприйнятливого та відносно резистентного сортів показало, що і в контролі, і за інфікування цей показник для сорту Roazon (рис.1, 2) значно перебільшує такий для сорту Миронівська 808: у 2,6 – 3,8 разів у контролі та у 2,9 – 4,7 разів за інфікування.



А – сорт Миронівська 808 Б – сорт Roazon

Рис. 1. Динаміка лектинової активності (мкг/мл)⁻¹ та експресії мРНК гена лектину *TaGLLc* (умовн.од) в проростках озимої пшениці за інфікування *P. herpotrichoides*

Отже, запасний пул мРНК лектину в тканинах проростків відносно резистентного сорту Roazon набагато масивніший, що, ймовірно, є однією з основ стійкості сорту до даного патогену. Таким чином, наші дослідження

показали, що ще до початку можливого інфікування в здорових проростках пшениці відбуваються реакції переадаптації на рівні транскрипції.

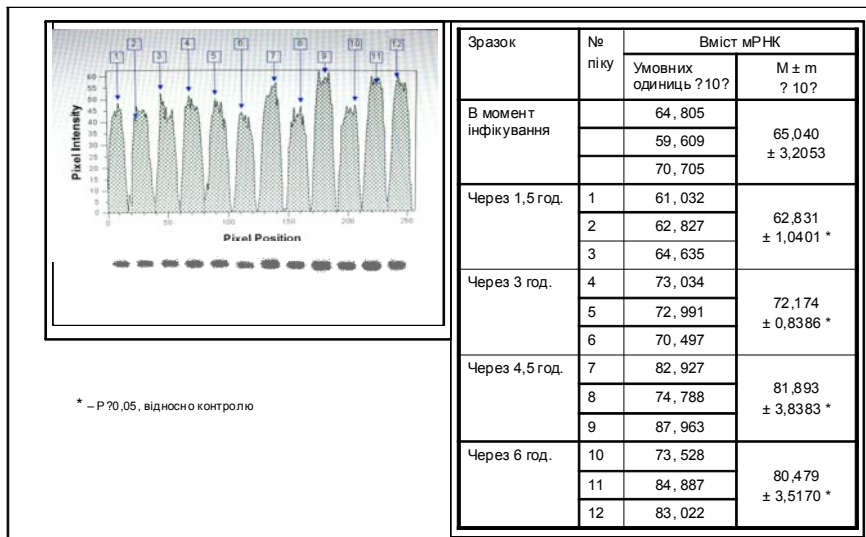


Рис. 2. Динаміка експресії гена *TaGLLc* лектину *T. aestivum* в інфікованих *P. herpotrichoides* проростках резистентного сорту Roazon (за RT-PCR)

При дослідженні механізмів захисту рослинного організму від фітопатогенів особливу увагу приділяють PR-білкам, до яких крім лектинів і низки інших активних стресових білків відносять дефенсини – низькомолекулярні пептиди [9, 10, 11]. З метою перевірки припущення про наявність передінфекційної та післяінфекційної індукції експресії генів захисних білків, як прояв системної відповіді, залежно від стійкості сорту досліджували

динаміку вмісту мРНК дефенсину у проростках озимої пшениці на ранніх стадіях інфікування (рис.3).

Отримані дані показали, що ще до початку можливого інфікування в здорових проростках пшениці різних за стійкістю сортів підтримується високий рівень мРНК дефенсинів (рис.4), тобто відбуваються реакції передадаційних механізмів на рівні транскрипції.

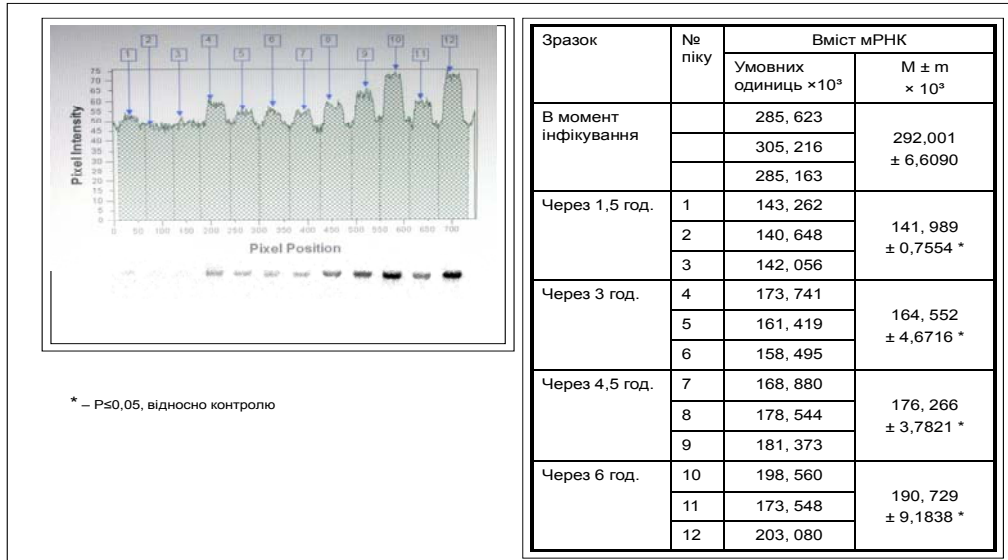


Рис. 3. Динаміка експресії гена *Tad1* дефенсину *T. aestivum* в інфікованих *P. herpotrichoides* проростках резистентного сорту Roazon (за RT-PCR)

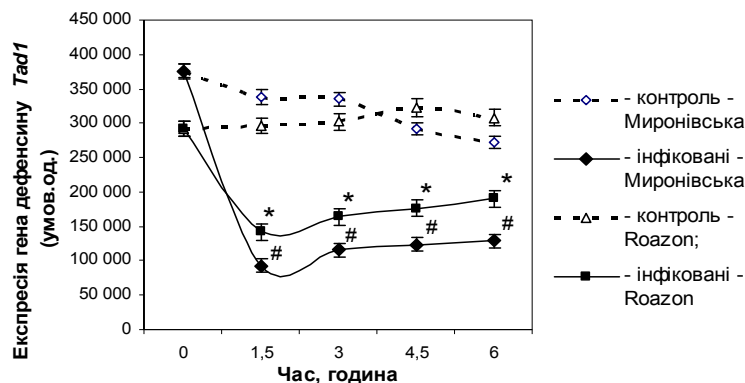


Рис. 4. Динаміка експресії гена дефенсину *Tad1* у проростках *T. aestivum* сприйнятливого та резистентного сортів

За інфікування під дією супресорів гриба вміст мРНК в проростках досліджуваних сортів суттєво зменшувався, але швидкість відновлення кількості мРНК до значень контролю у резистентного сорту вдвічі більша. Тобто, в даному випадку нездатність підтримувати постійно високий рівень експресії генів захисних сполук негативно впливає на стійкість сорту. І навпаки, здатність рослинного організму навіть під впливом супресорів фітопатогенів меншою мірою змінювати (в нашому досліді – зменшувати) рівень мРНК захисних сполук і швидше нормалізувати транскрипцію позитивно впливає на формування прояву системної відповіді, а саме на стійкість сорту.

Отже нами розроблено модельну систему інфікування проростків пшениці *P. herpotrichoides* у лабораторних умовах для ранньої діагностики стійкості сортів до церкоспорельозу. Здійснено скринінг сортів озимої пшениці різних екотипів на рівень стійкості проти *P. herpotrichoides* за станом про-, антиоксидантної системи (за вмістом ТБК-активних продуктів). Відібрані сорти української селекції перспективні для селекції на

стійкість до церкоспорельозу. Дані щодо вмісту мРНК лектину та дефенсину у різних за стійкістю сортів рекомендовано до використання у селекційній практиці при створенні резистентних проти церкоспорельозу генотипів. Розроблено стратегію діагностики стійкості до очкової плямистості, яка теоретично та практично важлива для фундаментальних досліджень механізмів формування реакції-відповіді та селекційної практики.

Висновки. Отримані результати дозволяють зробити висновки, що розвиток окиснювальних процесів і реакції-відповіді на дію патогенів є основою для скринінгу сортів на резистентність до збудника церкоспорельозу. Чутливі до патогену генотипи (Миронівська 808) характеризуються нижчим (на 25 %) початковим рівнем продуктів ПОЛ, ніж резистентні (Тітона, Шостипалівка, Руазон) та пізнішою реакцією-відповіддю на дію збудника хвороб; метод інфікування суспензією конідій у контрольованих умовах для оцінки стану здорової та хворої рослини є вихідною моделлю для детекції збудників інших кореневих та прикореневих гнилей; для

проростків резистентного сорту (Roazon) характерний підвищений вихідний рівень пектинової активності (13 разів) та максимальне її зростання порівняно з сприйнятливим сортом (Миронівська 808) відбувається у два рази швидше; передінфекційний та післяінфекційний рівень експресії генів захисних мінорних білків лектинів та дефенсинів визначає ступінь сприйнятливості рослин озимої пшениці до патогену залежно від рівня накопичення мРНК. Резистентний сорт (Roazon) характеризується більшим ніж сприйнятливий (Миронівська 808) вмістом мРНК лектину у контрольних проростках (у 2,6-3,8 раза) та за інфікування (у 2,8-4,3 раза). Кількість мРНК дефенсину за інфікування зменшується в проростках сприйнятливого сорту (Миронівська 808) у 3,6 раза, а у резистентного – у 2,1 раза.

1. Белава В.Н., Зелений С.Б., Панюта О.А., Таран Н.Ю., Погребной П.В. Экспрессия генов лектина и дефенсина разных генотипов пшеницы при инфицировании *Pseudocercospora herpotrichoides* // *Biopolymers & Cell.* – 2010. – № 1. – С. 45 – 50. 2. Белава В.Н. Систематика, морфология та фізіологія збудника церкоспорельозу // Посібник українського хлібороба (науково-практичний щорічник Міністерства аграрної політики України, Національної Академії аграрних наук України, інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва). – 2011. – С. 127–130. 3. Панюта О.А. Белава В.Н., Таран Н.Ю. Совместное влияние оксидного стресса и инфицирования *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton на лектино-

вую активность проростков *Triticum aestivum* L. // Всероссийская конференция "Современные аспекты структурно-функциональной биологии растений и грибов" третьи чтения, посвященные памяти профессора Ефремова Степана Ивановича. Сборник статей. – Орел, 23–25 сентября 2010. – Под ред. Пузиной Т.И. – Орел, 2010. – С. 48–53. 4. Погоріла Н.Ф., Панасюк Е.Н., Погоріла З.О. Новый спосіб тестування лектинів рослин. // *Укр. бот. упр.* – 2002. – Т. 59, №2. – С. 217–220. 5. Lajja S.N., Mahesh S., Smitha L.S., Remani P. Isolation and Partial Characterization of Two Plant Lectins // *Current Research Journal of Biological Sciences.* – 2010. – V. 2(4). – P. 232–234. 6. Nikkhah M., Jawad-Alami Z., Demydchuk M., Ribbons D., Paoli M. Engineering of β -propeller protein scaffolds by multiple gene duplication and fusion of an idealized WD repeat // *Biomol Eng.* – 2006. – V. 23. – P. 185–194. 7. Lin K.F., Lee T.R., Tsai P.H., Hsu M.P., Chen C.S., Lyu P.C. Structure-based protein engineering for α -amylase inhibitory activity of plant defensin // *Proteins.* – 2007. – V. 68. – P. 530–540. 8. Liu Y.J., C.S. Cheng, S.M.Lai, M.P. Hsu, C.S. Chen, P.C. Lyu. Solution structure of the plant defensin VrD1 from mung bean and its possible role in insecticidal activity against bruchids // *Proteins.* – 2006. – V. 63. – P. 777–786. 9. Skerra A. Alternative non-antibody scaffolds for molecular recognition // *Curr Opin Biotechnol.* – 2007. – V. 18. – P. 295–304. 10. Thevissen K., H.-H. Kristensen, B.P.H.J. Thomma, B.P.A. Cammue, I.E.J.A. Francois. Therapeutic potential of antifungal plant and insect defensins // *Drug Discov Today.* – 2007. – V. 12. – P. 966–971. 11. Yang Y.F., Lyu P.C. The proteins of plant defensin family and their application beyond plant disease control // *Recent Pat DNA Gene Seq.* – 2008. – V. 2. – P. 214–218. 12. Jiang S., Ma Z., Ramachandar S. Evolutionary history and stress regulation of the lectin superfamily in higher plants // *BNC Evol. Biol.* – 2010. – V. 10. – P. 79–103.

Надійшла до редакції 09.12.11

УДК 57.06 : 581 + 582.28 + 001.3

М. Березовська, канд. біол. наук, М. Павловська, асп., В. Карбовська, асп., Н. Карпенко, канд. біол. наук, О. Абдулосва, канд. біол. наук, Т. Кондратюк, канд. біол. наук, М. Сухомлин, д-р біол. наук, В. Костіков, д-р біол. наук

ЗНАЧЕННЯ КОЛЕКЦІЙ У ЗБЕРЕЖЕННІ БІОРІЗНОМАНІТТЯ У СУЧАСНІЙ НАУКОВІЙ ДІЯЛЬНОСТІ

За ступенем раритетності, наукового та практичного значення визначено склад основних груп таксонів особливого наукового інтересу (ТОНІ) базових колекцій кафедри ботаніки ННЦ "Інститут біології" Київського національного університету імені Тараса Шевченка: видів та штамів водоростей, мікроскопічних грибів, культур грибів-макроміцетів та видів вищих рослин в науковому гербарії.

Composition of main groups of taxa of special scientific interest (TSSI) of collections of Department of Botany of Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" Taras Schevchenko National University of Kyiv: species and strains of algae, microscopic fungi, macromycetes cultures and species of vascular plants in scientific herbarium are defined after rarity degree, scientific and practical importance.

Вступ. Створення, систематизація та підтримання в робочому стані колекцій живих культур різних організмів є актуальним завданням. Консервація біорізноманітності у колекціях є одним із сучасних методів збереження як рідкісних так і технологічно перспективних видів, засобом забезпечення науковців різного профілю первинним експериментальним матеріалом для досліджень біологічних інвазій, моніторингу навколишнього середовища, включаючи питання оцінки ступеню забрудненості ґрунтів і вод [1], для здійснення таксономічної ревізії з використанням найсучасніших молекулярно-генетичних методів, а також джерелом учбового матеріалу. Загроза знищення окремих популяцій рослин або суттєвого зниження їх чисельності стає реальністю для дедалі більшої кількості видів – рідкісних, зникаючих і, особливо, ендемічних, що мають обмежений ареал і можуть зникнути назавжди. Одним із важливих ресурсів для інвентаризації раритетної різноманітності флор є наукові колекції, на які покладено функції збереження, поповнення та наукового опрацювання зразків [2]. На основі гербарних колекцій з'ясовується поширення видів, складаються флористичні списки конкретних територій, проводиться реєстрація місцезростань рідкісних та зникаючих видів рослин. З розвитком новітніх технологій з'явилися сучасні, молекулярно-генетичні методи досліджень, що допоможуть вирішити таксономічні задачі на основі гербарних матеріалів. Колекції культур є банком генетичного різноманіття організмів та

способом його збереження в умовах збільшення антропогенного впливу на оточуюче середовище. Типові штами, зокрема грибів, можуть слугувати також широким базовим матеріалом для вивчення фізіологічних, морфологічних особливостей з метою встановлення шляхів прояву їх адаптаційних стратегій в умовах стресу; проведення різноманітних скринінгових досліджень (пошук активних штамів-продуцентів, визначення впливу сполук хімічного та природного походження тощо); оновлення та розширення кола тест-культур для проведення відповідних досліджень з випробування на біостійкість різних виробів та матеріалів [3].

Метою роботи було визначити таксономію особливого наукового інтересу (ТОНІ) в базових колекціях кафедри ботаніки: в колекціях водоростей АСКУ, грибів-пошкоджувачів, грибів-макроміцетів, в науковому гербарії КВУ. Реалізація поставленої мети передбачала розв'язання таких завдань:

- 1) здійснити аналіз структури та складу базових колекцій;
- 2) визначити склад об'єктів ТОНІ за ступенем раритетності та практичного значення;
- 3) визначити види групи ТОНІ, що потребують інерції, ревізії та спеціалізованих досліджень;
- 4) поповнити колекції новими ізолятами, які становлять групу ТОНІ

Методи досліджень. В ході роботи з мікрowodоростями використані морфологічні [4, 5], молекулярно-

біологічні [6–9], культуральні методи [1]. Визначення гербарних матеріалів проводили за допомогою стандартних методик з використанням спеціальної літератури [10, 11]. Назви таксонів судинних рослин наведено за [10–12]. Виділення мікроскопічних грибів в чисту культуру, проведення ідентифікації здійснювали за загальноприйнятими методиками з відповідними визначниками грибів [13,14]. Всі видові назви узгоджено з сучасними назвами грибів у відповідності до Міжнародної бази даних грибів (www.indexfungorum.org). Використовували методи культивування грибів–макроміцетів на твердих та рідких поживних середовищах; методи виділення грибів у чисту культуру з плодових тіл та базидіоспор [13].

Результати досліджень та їх обговорення. Колекція мікроводоростей Київського національного університету імені Тараса Шевченка (АСКУ) нараховує 1028 штамів водоростей (з них 258 аутентичні) та є найбільшою серед чотирьох колекцій культур мікроводоростей, які існують в Україні (IBASU – в Інституті ботаніки імені М.Г.Холодного НАН України, в якій утримується близько 400 штамів, з них 9 аутентичні; HPDP – в Інституті гідробіології НАН України (утримується більше 50 штамів) та колекція мікроводоростей в Інституті біології південних морів (72 штамів)). В результаті проведеного аналізу штамів, що утримуються в колекції АСКУ визначено групу раритетних видів водоростей в кількості 317 штамів, виділених з ґрунтів різноманітних регіонів України, Росії, Бельгії, Люксембурга та Антарктики, які відносяться до родин Tribonemataceae, Chlorococcaceae, Chlorellaceae, Chlamydomonadaceae. 15 штамів АСКУ із родів *Chlamydomonas* (*Ch. ucrainica*, *Ch. oblonga*), *Garhundacystis* Kostikov et Hoffmann (*G. spadensis*), *Massjukia* Mikhailyuk, Massalski et Demchenko, ad int. (*M. desmoccoidea*), *Neocystis* (*N. antarctica*, *N. aggercola*, *N. bohemia*, *N. broadiensis*, *N. crimea*, *N. dolomitica*, *N. montana*, *N. pinicola*, *N. sibirica*), *Parietochloris* Watanabe et Floyd (*P. ovoideus*), *Radiococcus* Schmidle (*R. bilobatus*) являють собою аутентичні типові культури відповідних видів, виділені виконавцями даної роботи. 243 види представляють культури аутентичних типових штамів, отриманих з провідних світових альгологічних колекцій (SAG та CCAP). У колекції утримується 185 видів та штамів роду *Chlamydomonas*, *Tribonema*, *Stichococcus*, *Gloeotila*, *Diplosphaera*, *Fottea*, які представляють особливий науковий інтерес у таксономічних дослідженнях. В 2011 р. колекцію поповнено 70 видами та штамми водоростей, виділених з повітряно-наземних екоотопів України та Монголії. 27 штамів із родин Tribonemataceae, Chlorococcaceae, Chlorellaceae, Chlamydomonadaceae представляють інтерес у таксономічних дослідженнях, 12 – мають практичне значення у біотехнологічних розробках. В ході виконання роботи було проведено ревізії двох родів (*Heterochlamydomonas* та *Stichococcus*) та частини видів роду *Chlamydomonas*. Провізорно запропоновано 11 нових номенклатурних комбінацій та підготовлено описи 2-х нових для науки видів. З метою оптимізації методологічних підходів на прикладі 26-ти штамів роду *Stichococcus* проведено молекулярно-генетичний аналіз даного роду за результатами секвенування послідовності 18S рДНК – ITS кластеру ядерних генів рибосомальної РНК. Відпрацьовано методики виділення тотальної геномної ДНК, апробовано універсальні праймери. Визначено 90 видів водоростей, що мають практичне значення у біотехнологічних розробках. Це види родів *Muriella*, *Bracteacoccus*, *Chlorella*, *Chlorosarcinopsis*, *Pseudendozonium*, *Radiosphaera*, *Scenedesmus*, *Dilabifilum*, *Spongiochloris*, *Tetracystis*,

Ettlia, *Haematococcus*, *Botryochloris*. Представники означених родів є перспективними для отримання каротиноїдів, біопалива та харчових добавок.

Загальний фонд наукового гербарію кафедри ботаніки ННЦ "Інститут біології" на даний час складає 59440 гербарних зразків судинних рослин. Тут представлено 170 родин, 887 родів та 3281 вид, що складає, відповідно, 85%, 75% та 64% від загальної кількості родин, родів та видів судинних рослин флори України [12]. База даних наукового гербарію KWU доступна на сторінці кафедри ботаніки: <http://biol.univ.kiev.ua/ukr/deps/4.html>. В результаті аналізу матеріалу наукового гербарію KWU виявлено гербарні зразки зникаючих, вразливих та рідкісних видів рослин, які занесені до Червоної книги України (ЧКУ) [15]. 2179 гербарних зразків представляють 67 родин, 160 родів та 270 видів судинних рослин України, що знаходяться під загрозою зникнення [15]. Найбільшою кількістю червонокнижних видів представлені родини Orchidaceae (18 родів, 39 видів), Asteraceae (12 родів, 17 видів), Fabaceae (9 родів, 17 видів) та Ranunculaceae (9 родів, 14 видів), 1 родом – Adiantaceae, Anacardiaceae, Aspleniaceae, Asparagaceae, Campanulaceae, Euphorbiaceae, Fagaceae та ін. Місця збору гербарних зразків видів з високим природоохоронним статусом, занесені в базу даних гербарія, на сьогодні є важливими як потенційні місцезнаходження популяцій рідкісних та зникаючих видів або такі, що втрачені. Наприклад, в науковому гербарії KWU зберігаються зразки рідкісних видів осок – *Carex davalliana* Smith. (гербарний зразок № 007476) та *Carex hostiana* DC. (гербарний зразок. № 007542), які були зібрані в Зборівському районі Тернопільської обл. в 1963 р. На даний час популяції обох видів в цьому районі вважаються зниклими. Особливий науковий інтерес у науковому гербарії KWU представляють ендемічні види судинних рослин України, які є критичними в систематичному відношенні, і тому потребують спеціалізованих досліджень: це зразки 68 ендемічних видів (33% всіх видів ЧКУ), що належать до 45 родів (40%) 20 родин (55%). Найбільшою кількістю ендемів флори України в гербарії KWU представлені родини: Asteraceae – 6 родів, 9 видів, Poaceae – 5 родів, 11 видів, Caryophyllaceae – 5 родів, 8 видів, Fabaceae – 6 родів, 11 видів, Brassicaceae – 3 роди, 6 видів, Apiaceae 4 роди, 4 види, Ranunculaceae – 3 роди, 4 види. Родини Iridaceae, Liliaceae, Betulaceae, Paeoniaceae, Violaceae, що мають по 1-5 ендемічних видів, представлені в науковому гербарії KWU повністю.

З наукового гербарію KWU здійснено відбір гербарних зразків критичних у систематичному відношенні ендемічних видів, що увійшли до переліку ТОНІ (*Astragalus borysthenicus* Klokov, *Betula borysthenica* Klokov та *Medicago kotovii* Wissjul.), з метою проведення ідентифікації за допомогою молекулярно-генетичних методів.

Колекція культур мікроміцетів-пошкоджувачів, що підтримується на кафедрі ботаніки, нараховує 390 ізолятів і представлена грибами-пошкоджувачами різноманітних виробів та матеріалів, а також грибами, які вилучено з повітря приміщень різного призначення (бібліотек, житлових приміщень, сховищ цінних банкнот, музеїв), тощо. На сьогодні в колекції налічується 53 ізоляти 17 видів мікроскопічних грибів, які за даними літератури [16] визнані активними деструкторами виробів та матеріалів та входять як тест-культури до відповідних ГОСТ з проведення випробувань на грибостійкість: *Aspergillus niger*, *A. terreus*, *A. oryzae*, *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata*, *Fusarium moniliforme*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. funiculosum*,

P. aurantiogriseum, *P. ochro-chloron*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichoderma viride*, *Chaetomium globosum*, *Aspergillus ustus*, *Aspergillus sydowii*. Найбільшою кількістю ізолятів відділу *Ascomycota* в колекції характеризується рід *Chaetomium* (3 види, 20 ізолятів), представником якого притаманний потужний целюлозолітичний ферментний комплекс. Штами грибів–целюлозолітиків використовуються, зокрема, в сільському господарстві для підвищення харчової цінності кормів, для конверсії целюлозовмісних відходів різноманітних галузей виробництва, в тому числі при вирішенні питань пошуку альтернативних джерел енергії [17] тощо. Види темнопігментованих мікроміцетів, які продукують пігменти меланіни, представлено в колекції 16 видами (52 ізоляти): *Cladosporium* (5), *Alternaria* (3), *Phoma* (3), *Scolecobasidium* (2), *Stemphylium* (1), *Ulocladium* (2) та чорні дріжджі (1, р. *Exophyala*). Темнопігментовані гриби, яких відрізняє стійкість до дії різноманітних екстремальних впливів, є об'єктом наших подальших експериментальних досліджень в напрямку встановлення шляхів прояву їх адаптаційних стратегій (з'ясування морфологічних та фізіологічних змін) в умовах стресу різного характеру в природних та штучних екосистемах України. В 2011 р. колекцію поповнено 35 ізолятами мікроміцетів–пошкоджувачів.

Аналіз колекції культур базидіальних та аскоміцетних грибів кафедри ботаніки на предмет наявності в ній об'єктів ТОНІ свідчить, що серед 55 колекційних видів 5 занесені до Червоної книги України: *Grifola frondosa*, *Mutinus caninus*, *Morchella steppicola*, *Morchella crassipes*, *Leucoagaricus barsii*, а 2 види: *Sparassis laminosa* та *Hericium cirrhatum* – потребують додаткової охорони. Важливо те, що п'ять з перелічених видів (*Mutinus caninus*, *Morchella crassipe*, *Leucoagaricus barsii*, *Sparassis laminosa*, *Hericium cirrhatum*) відсутні в інших колекціях, зокрема в колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного (ІБК) [18]. У 2011 році колекція поповнилася 3 новими видами (*Phallus impudicus*, *Lentinus edodes* та *Pleurotus calypttratus*), які є цікавими в плані збереження їх в культурі на підставі їх властивостей (види, що проявляють цитотоксичну активність – *Phallus impudicus*, *Lentinus edodes*) або з метою їх збереження та можливості відновлення в природі, оскільки вони є рідкісними (*Pleurotus calypttratus*). Особливу увагу буде приділено дослідженням по плодоутворенню у *Grifola frondosa*, *Mutinus caninus*, *Leucoagaricus barsii* в штучних умовах, що надасть можливість використанню в практиці не тільки міцелію, а й базидію грибів. Крім того, відтворення повного циклу розвитку гриба в культурі дає змогу отримання спорового матеріалу, який є запорукою можливості не тільки відновлювати рідкісні види в природних умовах, а робити це з генетично різноманітним матеріалом. Лише в колекції грибів-макроміцетів кафедри ботаніки наявна єдина в Україні чиста культура інвазійного потенційно-небезпечного виду – *Laetisaria fuciformis*, який вперше був виявлений в Україні в 2006 р. [19]. Цей вид вражає газонні трави і викликає хворобу, що зветься "red thread", або "червона нитка". Вид потребує досліджень таксономічного характеру, а також виступає в якості тест-об'єкту для розробки методів боротьби з цією хворобою.

Висновки.

1. Визначено, що 79% видів та штамів водоростей, що утримуються у колекції АСКУ, складають таксони особливого наукового інтересу (ТОНІ): 317 штамів – раритетні види, 258 аутентичних типових штамів, 228 видів родів *Chlamydomonas*, *Tribonema*, *Stichococcus*, *Gloeotila*, *Diplospira*, *Fottea*, що представляють особ-

ливий науковий інтерес у таксономічних дослідженнях, 90 видів та штамів водоростей перспективних у практичному використанні.

2. З метою оптимізації методологічних підходів вперше в Україні на прикладі штамів водоростей роду *Stichococcus* секвеновано послідовність ДНК, та здійснено молекулярно-філогенетичний аналіз; на прикладі вищих рослин вперше в Україні апробовано методику виділення ДНК з гербарних зразків.

3. Колекцію водоростей поповнено 70 видами та штамми, виділених з повітряно-наземних екоотопів України та Монголії, серед яких 27 представників родин *Tribonemataceae*, *Chloococcaceae*, *Chlorellaceae*, *Chlamydomonadaceae* представляють інтерес у таксономічних дослідженнях, 12 – мають практичне значення у біотехнологічних розробках.

4. Визначено, що у науковому гербарії КВУ зберігається 2179 гербарних зразків зникаючих, вразливих та рідкісних видів рослин, що занесені до Червоної книги України (2009) і є видами групи ТОНІ, які належать до 67 родин, 160 родів та 270 видів судинних рослин України (44,2% всіх червонокнижних видів флори України).

5. З'ясовано, що об'єктами ТОНІ у гербарії КВУ є зразки ендемічних видів флори України, які презентують 20 родин (55%), 45 родів (40%) та 68 видів (33% від кількості ендемів, що наводяться в ЧКУ) і представляють особливий інтерес як таксони, критичні в систематичному відношенні.

6. Встановлено, що *Astragalus borysthenicus* Klokov, *Betula borysthena* Klokov та *Medicago kotovii* Wissjul. є критичними таксонами судинних рослин флори України та потребують молекулярно-генетичної ідентифікації.

7. До основних груп ТОНІ колекції мікроскопічних грибів-пошкоджувачів належать 53 штамми (17 видів), які є активними деструкторами виробів і матеріалів; 20 ізолятів р. *Chaetomium*, представником якого притаманний потужний целюлозолітичний ферментний комплекс; 52 ізоляти (16 видів) темнопігментованих мікроміцетів (види родів *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Ulocladium* та ін.) – об'єкти подальших експериментальних досліджень в напрямку встановлення шляхів прояву їх адаптаційних стратегій в природних та штучних екосистемах України.

8. В якості об'єктів ТОНІ запропоновано 11 видів грибів-макроміцетів: *Grifola frondosa*, *Mutinus caninus*, *Morchella steppicola*, *Morchella crassipes*, *Leucoagaricus barsii*, *Sparassis laminosa*, *Hericium cirrhatum*, *Pleurotus calypttratus* – потребують інсерції та охорони; *Phallus impudicus*, *Lentinus edodes*, *Sparassis laminosa* – відібрані за програмою скринінгу видів, що мають цитотоксичну активність; *Laetisaria fuciformis* – об'єкт спеціалізованих досліджень з метою остаточного з'ясування таксономії виду та розробки методів знешкодження цього небезпечного патогена.

1. Algal Culturing Techniques / Edited By Robert A. Andersen. – Elsevier. – 2005. – 596 p. 2. Сухомлин М.М. Колекції культур грибів макро- і мікроміцетів. Перспективи використання. / Сухомлин М.М., Кондратюк Т.О. // Ботаніка та мікологія: проблеми і перспективи на 2011–2020 роки: матеріали Всеукр. наукової конф., 6–8 квітня 2011 р., Київ. – Київ, 2011. – С. 224–225. 3. Гербарії України / Відп. ред. С.П. Вассер. – Київ: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, 1995. – С. 734. 4. Топачевський А.В., Масюк Н.П. Пресноводные водоросли Украинской ССР / Киев: Вища школа. – 1984. – 336 с. 5. Ettl H. and Gartner G. Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtentalgen / Stuttgart -Jena-New York: Gustav Fischer Verlag. – 1995. – 721 p. 6. Molecular systematics / Edited by David M. Hillis, Craig Mortiz, Barbara K. Mukble. 2-nd ed. / Sinauer, Sunderland, Massachusetts. – 1996. – 665 p. 7. Doyle J. J. DNA protocols for plants / G. Hewitt, A. W. B. Johnson, and J. P. W. Young (eds.) // Molecular Techniques in Taxonomy. NATO ASI Series H, Cell Biology. – 1991. – Vol. 57. – P. 283–293. 8. Helms G, Friedl T., Rambold G., Mayrhofer H. Identification of photobionts from the lichen family Physciaceae using algal-specific ITS rDNA sequencing // The Lichenologist. – 2001. – Vol.33 (1). – P.73–86. 9. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // PCR protocols: a guide

to methods and applications / Eds. Innis M.A., Geifand D.H., Snisky J.J., White T.J. – San Diego (CA). – 1990. – P. 315–322.10. Флора УРСР. – Київ, 1954. – Т. VI. – 612 с.11. Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. Определитель высших растений Украины. – К.: Наук. Думка, 1987. – 548 с.12. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. – Kiev, 1999. – 346 p.13. Методи експериментальної мікології. Справочник ; ответст. ред. В. И. Билай – К. : Наук. думка, 1982. – 583 с. 14. Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C. Introduction to food and airborne fungi. Seventh edition. – Wageningen, the Netherlands, printed by Ponsen and Loooyen, 2004. – 389 p.15. Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я.П. Дідуха – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.16. Соломатов В.И., Ерофеев В.Т., Смирнов В.Ф. и

др. Биологическое сопротивление материалов. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2001. – 196 с.17. Рабинович М.П. Производство этанола из целлюлозосодержащих материалов: потенциал российских разработок // Прикл. биохим. и микробиол. – 2006. – Т.42, №1. – С.5-32. 18. Microstructures of vegetative mycelium of macromycetes in pure cultures / Eds. P.A. Volz and E. Nevo. – Kiev, M.G. Kholodny Institute of Botany National Academy of Sciences of the Ukraine, 2009. – 224 p. 19. Акулов О.Ю., Джаган В.В., Сенчило О.О., Сухомлин М.М. Перші знахідки *Laetisaria fuciformis* (McAlpine) Burds. (Corticaceae) в Україні. – Укр. ботан. журн. – 2010. – Т.67, № 6. – С. 898-905.

Надійшла до редколегії 20.12.11

УДК 582.85:631.525

К. Баглай, канд. біол. наук, Т. Коломісць, канд. біол. наук,
І. Іванова, пров. інж., Р. Палагеча, канд. біол. наук, В. Капустян, д-р біол. наук

ІНТРОДУКЦІЯ, ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ РОСЛИН ТА АДАПТИВНІ СТРАТЕГІЇ В УМОВАХ ЗРОСТАЮЧОГО ТЕХНОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ ТА ЗМІН КЛІМАТУ

Розроблено методи збереження рослинного різноманіття в культурі і природі як єдиного взаємодоповнюючого процесу; вивчено біоекологічні, біоморфологічні, анатомічні особливості досліджуваних об'єктів in situ та ex situ. Рекомендовано найбільш цінні з них для практичного використання в ландшафтному садівництві та озелененні, медицині, харчовій промисловості.

The methods of plant diversity conservation in culture and nature as a unique complementary process have been developed, bioecological, biomorphological, anatomical peculiarities of investigated objects in situ and ex situ have been studied. The most valuable of them have been recommended for the practical use in landscape gardening and planting of greenery, medicine and food industry.

Вступ. В останні десятиріччя через значні негативні природні зміни, які проходять під впливом антропогенної дії, катастрофічно зменшується число видів світової флори. В цих умовах ботанічні сади з їх багатими колекціями живих рослин стають осередками сховищ генотипів місцевої та інтродукованої флори, виконують важливе завдання по збільшенню рослинних багатств.

Нині, гостро постало питання про необхідність розробки стратегії збереження та збагачення біорізноманіття, формування стійкого біогеоценологічного покриву, який зможе врівноважити шкідливий вплив техногенезу на довкілля та підвищити його естетичне і культурне значення. Використовуючи накопичений фітогенотип інтродуцентів – понад 9000 видів, гібридів і декоративних форм, Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фоміна проводить дослідження їх в умовах своєї кліматичної зони, відбирають перспективні види, форми та сорти цих рослин і більш цінні з них пропонують для масового культивування.

Шляхом інтродукції в умовах культури зберігають реліктові, рідкісні та зникаючі види з метою охорони їх генотипу. Колекції таких видів поряд з використанням у науковій, навчальній, просвітницькій та іншій діяльності при необхідності можуть слугувати базою для відтворення або збагачення запасів рідкісних та зникаючих видів у природних умовах, а також для створення про-

мислових плантацій корисних рослин. Виходячи з цього робота з колекційними фондами є невід'ємною частиною наукових досліджень.

Методи досліджень. Застосовані загальноприйняті методики, які використовуються при вивченні питань інтродукції, збереження, та реінтродукції рослин в природу, а також розроблені в Ботанічному саду нові та модифіковані методи досліджень: принципи збереження рослинного різноманіття ботанічними садами; способи збереження насіння тропічних і субтропічних рослин в залежності від термінів та умов зберігання; спосіб прогнозування зимостійкості рослин; модифіковані методики мікроклонального розмноження рослин-інтродуцентів тощо.

Результати досліджень та їх обговорення. У звітному році проводили біолого-екологічні дослідження та фенологічні спостереження за ростом і розвитком рослин родини *Sactaceae*. Колекція рослин родини *Sactaceae* налічує 1598 таксонів, з яких 1243 види, 275 різновидів, 80 форм, сортів та гібридів, які відносяться до 164 родів, що становить близько 70% всіх родів описаних К. Бакебергом. Рослини відносяться до трьох підродин: *Peireskioideae* K.Sch., *Opuntioideae* K.Sch., *Cereoideae* K.Sch. (рис. 1.1). При створенні колекції використовували метод родових комплексів [1].

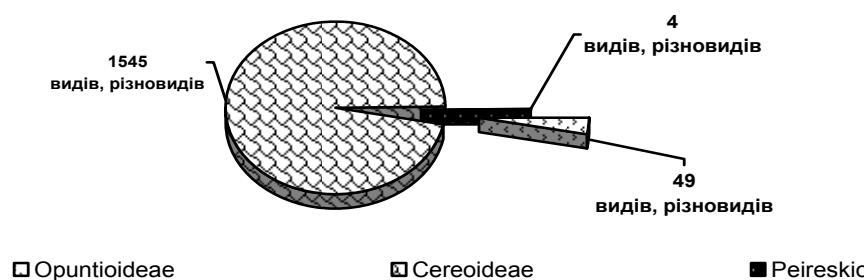


Рис. 1.1. Таксономічний склад родини *Sactaceae*

Встановлено, що значну цінність для колекції мають види, які належать до рідкісних або тих, що знаходяться під загрозою зникнення. Багато видів сукулентних рослин занесено до Конвенції про міжнародну торгівлю видами дикої фауни і флори, що перебувають під загрозою зникнення Червоного списку МСОП [2-4]. Тому метою нашої роботи був аналіз видового складу колекції на наявність рідкісних видів та таких, що знаходяться під загрозою зникнення. Перший етап роботи стосується рослин, що внесено до Червоного списку МСОП. У колекції сукулентних рослин Ботанічного саду представлено 75 видів із 28 родів і семи родин, що занесено до Червоного списку МСОП. Найбільша кількість – 61 вид належить до родини *Sactaceae*.

Створення колекції тропічних та субтропічних рослин в умовах захищеного ґрунту є однією з форм охорони світової флори та збереження її біологічного різноманіття. Колекція рослин класу Liliopsida у 2011 році збільшилась на 5 нових видів рослин, (з яких 2 види належать до 2-х нових для колекції родів), в результаті чого анотовані списки захищеного ґрунту поповнилися назвами 5 нових колекційних рослин. На кінець 2011 року колекція налічує 617 видів рослин, що належать до 182 родів, 33 родин та 15 порядків. Упродовж багатьох років комплектування колекції рослин класу Liliopsida відбулась певна її спеціалізація, в наслідок чого основу колекції складають рослини трьох провідних родин: Бромелієві – 185 таксонів (26 родів), Ароїдні – 100 таксонів (26 родів), Орхідні – 86

таксонів (32 роди). Така спеціалізація колекції за певними таксономічними групами рослин дає можливість їхнього всебічного використання.

Проведений у 2011 р. моніторинг раритетних видів рослин класу однодольних, дозволив встановити, що у колекції представлені рідкісні та зникаючі види родини *Bromeliaceae* (*Tillandsia mauryana*, *T. sprengeliana*, *T. Xerographica* – 3 види одного роду) та *Orchidaceae* (63 види з 32 родів), які занесені до *CITES Orchid Checklist* та Списку *CITES*, додатку II. До Червоного списку МСОП занесені *Phoenix Theophrastii* (*Palmae*), *Asparagus filicinus* (*Asparagaceae*), *Dracaena draco* (*Dracaenaceae*), які також представлені у колекції рослин класу *Liliopsida*. Для екологічно-географічного аналізу досліджуваних рослин в інтродукційному прогнозованні в умовах захищеного ґрунту використаний метод співставлення ареалів на основі системи ботаніко-географічного районування Землі, розроблений у відділі тропічної флори ГБС РАН [5].

Найбільша кількість колекційних бромелієвих (44%) походить з Центральнобразильської ботаніко-географічної провінції, дещо менше – з Вест-Індської (34%) та Південнобразильської (20,5%) провінцій та відповідно. Найменша кількість представників родини *Bromeliaceae* походить з Каліфорнійської – 1,4%, Чилійської – 1,4%, Сонорської – 2,1% та Флоридської – 2,8% ботаніко-географічних провінцій (рис. 2.2).

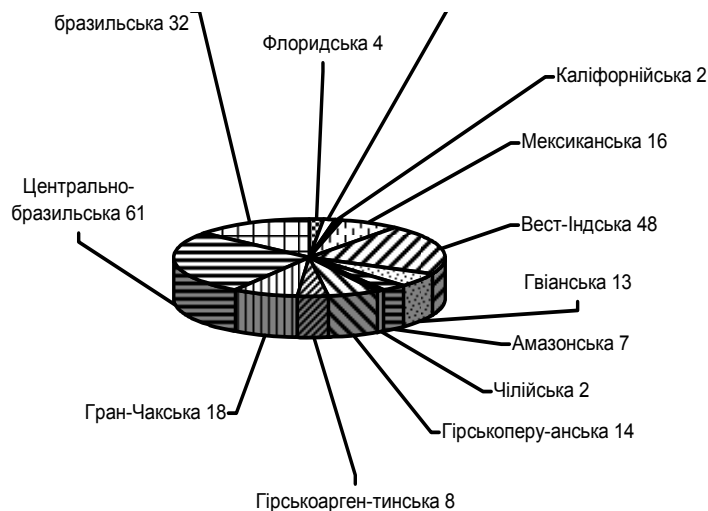


Рис. 2.2. Розподіл інтродукованих представників родини *Bromeliaceae* за ботаніко-географічними провінціями.

Встановлено, що для більшості видів бромелієвих активний ріст вегетативних органів припадає на найбільш сприятливий період в оранжереях – весняно-літній (початок березня, червень-липень), коли відзначаються оптимальні температурні умови – від +20°C до +28°C, а освітлення – від 7000 до 25000 люкс. Гальмування ростових процесів та настання періоду спокою у більшості бромелієвих відбувається із зниженням температури повітря від +15°C до +9°C та освітлення від 4000 до 2000 люкс і нижче.

В 2011 році з метою збереження і збагачення колекції Голонасінних Ботанічного саду проводилось насінневе, вегетативне розмноження колекційних рослин і мобілізація нових таксонів. По обміну з іншими науковими ботанічними установами України і світу у 2011 році отримано 28 зразків насіння і живців, 4 саджанці, серед яких 2 екземпляри *Larix polonica* – раритетного виду, занесеного до Червоної Книги України. Станом на кінець звітного року на розсаднику і в теплиці зна-

ходиться 41 (14+27) нових колекційних одиниць Голонасінних рослин.

В експозицію в 2011р. висаджено 99 екземплярів 37 колекційних одиниць Голонасінних, з них 9 нові – *Cunninghamia lanceolata* Lamb., *Larix americana* Michx., *Larix occidentalis* Nutt., *Larix sukaczewii* Dyl., *Picea obovata* Ledeb., *Picea sitchensis* (Bong.) Carr., *Thuja occidentalis* L. 'Hoveyi', 'Litll Dorrit', 'Recurva Nana'.

Таким чином, колекція голонасінних рослин незахищеного ґрунту в 2011 поповнилась новим родом, збільшилась на 7 таксонів і на кінець року становить 273 колекційні одиниці, де 111 видів, 1 підвид, 9 різновидів, 1 форма, 151 сорт, які відносяться до 22 родів 7 родин 3 класів: Ginkgopsida, Gnetopsida, Pinopsida.

Проведено фенологічні спостереження за 172 видами гібридами та культиварами рододендронів. Дослідження ритмів сезонного росту і розвитку проведено шляхом систематичних фенологічних спостережень за методикою О.Г.Головача [6]. Їх результати виражені в

календарних датах, оброблених математичними методами. Інтенсивність (буйність) цвітіння визначали за шкалою О.Г. Головача [6], рясність плодошення – за шкалою В.Г. Каппера [7], ступінь зимостійкості – за 8-бальною шкалою С.Я. Соколова [8], строки завершення приросту – за методикою А.А. Молчанова і В.В. Смирнова [9], групи перспективності – за методикою П.І. Лапіна та С.В. Сидневої [10]. На основі результатів фенологічних досліджень опублікована науково – популярна книга "Рододендрони для декоративного садівництва" Антонюк Т.М., Зарубенко А.У. – К., КП "Дім, сад, город", 2011. – 44 с. В якій описані рекомендації щодо умов догляду, посадки та розмноження рододендронів, також вказані найбільш стійкі високодекоративні види, гібриди та культивари рододендронів, які успішно можна використовувати в декоративному садівництві на території Полісся і Лісостепу України.

За останніми даними Світової "Червоної книги" родина *Magnoliaceae* (Кембридж, Великобританія, 2007) [11], включає 12 родів та близько 240 видів.

Метою нашої роботи є збереження та збагачення найбільшою в Україні колекції магнолій, що нараховує 65 видів, різновидів, гібридів та форм, а також інтродукція та акліматизація нових видів. Дослідження стратегій процесів адаптації та підвищення рівня стійкості магнолій на межі Полісся та Лісостепу України. Широке впровадження магнолій у декоративному озелененні міста Києва та інших міст України.

Порівняльні анатомічні та морфологічні дослідження магнолій дають можливість з'ясувати закономірності, які обумовлюють формування адаптивних ознак, що притаманні рослинним організмам із настанням несприятливих умов середовища. Оскільки, досліджувані магнолії походять із різних географічних регіонів, то їхні пристосувальні механізми можуть варіювати на тканинному та клітинному рівнях в процесі інтродукції у нові кліматичні умови.

Таким чином, якщо порівнювати листопадні види, батьківщиною яких є різні регіони: Півн. Америка (*M. acuminata*, *M. tripetala*), Японія (*M. stellata*, *M. salicifolia*), Китай (*M. liliflora*, *M. denudata*), то чітко виділяються деякі тенденції розвитку пристосувальних ознак до тих чи інших природних умов. Так, наприклад, можна побачити, що у вихідців з районів Півн. Америки (де сума середньомісячних температур є нижчою, ніж в розглянутих районах Китаю та Японії) в середині осені вже краще розвинута перидерма, а також більша кількість секреторних ідіобластів, що є ознакою кращої зимостійкості. У пагонах *M. acuminata*, *M. tripetala* спостерігається найбільше склеренхімних волокон, що компенсує майже відсутність склерейд. Найменше міцними є пагони магнолій, батьківщиною яких є Японія. Коленкіма краще розвинута у вихідців з Китаю, що ймовірно пов'язано з умовами існування в природі (*M. liliflora*, *M. denudata* зростають в западинах гірських річок, де необхідно мати більшу гнучкість).

Показано, що у напівлистопадної – *M. virginiana* та вічнозеленої *M. grandiflora* підготовка до зими проходить повільніше, порівняно з іншими вихідцями з Півн. Америки, особливо у вічнозеленої магнолії. Це також пов'язано з безперервним синтетичним процесом протягом року і, відповідно, кращій можливості протистояти змінам температури саме на біохімічному рівні.

Встановлено, що анатомічна будова може слугувати додатковою таксономічною ознакою для роду *Magnolia*. Також виявлені відмінності в анатомічній будові у видів з різних екотипів. Відмічено, що пристосування до зи-

мового періоду в листопадних та вічнозелених видів має різну спрямованість.

Результати науково-дослідної роботи впроваджені у виробництво, зокрема в рамках договору про співпрацю із Національними дендропарками "Софіївка" (м. Умань) і "Олександрія" (м. Біла Церква). Колекції і сади магнолій у цих дендропарках закладаються за безпосередньої участі нашого Ботанічного саду.

Колекція листопадних магнолій у 2011 році збільшилась на 6 нових для нас декоративних форм: *Magnolia "Betty"*, *M. "Ricki"*, *M. "Spectrum"*, *M. "Galaxy"*, *M. Denudata "Yellow River"*, *M. Denudata "Satisfaction"* та поєднано макі форми: *M. "George Henry Kern"*, *M. Loebneri "Leonard Messel"*, *M. "Susan"*, *M. Stellata "Royal Star"*.

Висновки.

1. Встановлено, що 61 вид рослин з колекції родини *Cactaceae* Ботанічного саду належать до рідкісних і таких, що знаходяться під загрозою зникнення та внесені до Червоного списку МСОП. З них до категорії (CR) – належить два види, (EN) – сім видів, (VU) – 14 видів, (NT) – три види, (LC) – 35 видів. Переважна більшість рослин в умовах захищеного ґрунту цвіте і плодоносить.

2. Колекція тропічних і субтропічних рослин класу *Liliopsida* поповнилась на 5 нових видів рослин (з яких 2 види належать до 2-х нових для колекції родів).

3. Показано, що колекція тропічних і субтропічних рослин є живим наочним посібником з питань систематики, морфології, анатомії рослин і використовується у навчальному процесі.

4. Доведено, що фізіологічні, біохімічні та анатомо-морфологічні характеристики тканин пагонів магнолій рекомендовано використовувати як діагностичні критерії рівня зимостійкості інтродуцентів в процесі добору видів та форм декоративних екзотів для вирощування у нових кліматичних умовах.

5. Рекомендовано використовувати стійкі та високо декоративні рослини відкритого та захищеного ґрунту у ландшафтному мистецтві при створенні садово-паркових композицій найбільш визначних місць, архітектурних та інших пам'яток у місті Києві.

6. В цілому вважаємо, що проведені наукові дослідження по темі: "Інтродукція, збереження генофонду рослин та адаптивні стратегії в умовах зростаючого техногенного навантаження та змін клімату", мають наукову і природоохоронну цінність, та широко використовуються в освітніх, просвітницьких цілях, що дає підстави затвердити науковий звіт та рекомендувати продовжити наукові дослідження в наступні роки.

1. Белоусова Л.С., Денисова Л.В. Редкие растения мира. – М.: Лесная промышленность, 1983. – 339 с. 2. Fuller D., Fitzgerald S. Conservation and Commerce of Cacti and Other and Succulents. – Washington: Traffic, 1987. – 264 p. 3. IUCN Red List Categories and Criteria. – Cambridge, IUCN. – 2001. 4. The IUCN Red List of Threatened Species, 2010. <http://www.iucnredlist.org>. 5. Пазумовский С.М. Ботанико-географическое районирование Земли, как предпосылка успешной интродукции растений // Интродукция тропических и субтропических растений. – М.: Наука, 1980. – С. 10–27. 6. Головач А.Г. Деревья, кустарники и лианы Ботанического сада БИН АН СССР. – Л. 1980. – 188 с. 7. Каппер В.Г. Лесо-семенное дело. Л., 1936. – 53 с. 8. Соколов С.Я. Современное состояние теории интродукции и акклиматизации растений // Тезисы совещания по теории интродукции растений. – М.-Л.: Наука, 1965. – 265 с. 9. Молчанов А.А., Смирнов В.В. Методика изучения прироста древесных растений. – М., 1967. – 75 с. 10. Лапин П.И., Сиднева С.В. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений // Опыт интродукции древесных растений. – М., 1973. – С.7-67. 11. Cicuzza D., Newton A., Oldfield S. The Red List of *Magnoliaceae*. – Cambridge, UK, 2007. – 56 p.

Надійшла до редколегії 13.12.11

УДК 631.529:502.75:632.75

З. Бонюк, канд. біол. наук, В. Березкіна, канд. біол. наук, В. Нікітіна, канд. біол. наук,
Г. Рудік, канд. біол. наук, П. Чумак, канд. біол. наук, Г. Гревцова, д-р біол. наук,
Т. Мазур, канд. біол. наук, М. Перегрим, канд. біол. наук,
О. Ткачук, канд. біол. наук, М. Гайдаржи, д-р біол. наук

ІНТРОДУКЦІЯ, ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРИЗНОМАНІТТЯ ТА КОМПЛЕКСНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН EX SITU TA IN SITU

Колекційні фонди Ботанічного саду ім.акад. О.В.Фоміна нараховують близько 9 000 видів та внутрішньовидових таксонів, з яких понад 1650 видів є раритетними. Методом молекулярно-генетичного аналізу показано поліморфізм Cotoneaster флори України. Розпочаті дослідження з репатріації рідкісних видів України, адаптації окремих видів рослин до техногенного середовища та інвазійних фітофагів в умовах культури.

The collection funds of the O.V.Fomin Botanical Garden number about 9 000 species and intraspecific taxa among which 1650 species are rarities. By method of molecular-genetic analysis has been shown the polymorphism of Cotoneaster in flora of Ukraine. The researches of repatriation of rarity species of Ukraine, adaptation of some species of plants to the anthropogenic environment and invasive phytophages under the conditions of culture have been begun.

Вступ. Рослини є одним з найважливіших ресурсів стабільності та життєзабезпечення на планеті. "Глобальна стратегія зі збереження рослин" має за мету зупинити зниження різноманіття рослин за рахунок їх охорони в природних умовах і колекціях, проведенню наукових досліджень з питань систематики, екології, генетики з метою глибокого розуміння процесів, які відбуваються в рослинах і використання цього знання для підтримки заходів зі збереження цього різноманіття, проведенню просвітницьких заходів, покращенню методів збереження рослин тощо [1]. Однією з задач є збереження в колекціях ex situ до 60% рослин, які знаходяться під загрозою зникнення, збереження до 70% генетичного різноманіття сільськогосподарських культур та інших видів, що мають соціально-економічну цінність, відображення в навчальних та просвітницьких програмах значення необхідності збереження фіторізноманіття. Утримування в колекціях та вивчення біологічних особливостей раритетних рослин є одним з методів збереження рослинного різноманіття. Розробка методів збереження раритетних рослин in situ є не менш важливою задачею, що підтверджено в "Стратегії" [1].

Біологічні інвазії – одна з екологічних проблем сучасності, яка несе значні економічні збитки. Щорічні втрати від пошкодження рослин адвентивними (іноземними) шкідливими організмами та втрати на їх фітосанітарний контроль становлять в світовому масштабі 1500 млн. \$ [6]. З огляду на наведене, вивчення інвазійних шкідників і збудників захворювання інтродукованих рослин є актуальним в умовах трансформованого середовища для вирішення проблеми біобезпеки України.

Тому співробітниками НДЛ "Ботанічний сад" у 2011 році було проведено аналіз колекції рослин-інтродуцентів з метою виявлення раритетних таксонів, розпочато роботу з розробки методів репатріації рідкісних та зникаючих рослин України in situ, а також дослідження з виявлення інвазійних шкідників та збудників хвороб.

Матеріали та методи. Аналіз колекції на наявність рідкісних та зникаючих видів проводився за Міжнародним списком охорони природи (МСОП), списком Міжнародної конвенції з торгівлі видами дикої флори та фауни (СІТЕС), Червоним списком рослин Південної Африки, Європейським червоним списком, списками наведеними у Червоній книзі України та Російської федерації, та регіональним спискам [3, 5, 7-11]. Під поняття "рідкісні види" і "такі, що знаходяться під загрозою зникнення" об'єднують таксони, які віднесено МСОП до наступних категорій: таксони, що знаходяться на межі повного зникнення (CR), під загрозою зникнення (EN), уразливі (VU), які знаходяться у стані близькому до загрозливого (NT), мінімального ризику (LC).

Дослідження рослин з метою виявлення вмісту біологічно-активних речовин проводились згідно методик [2, 4].

Результати досліджень та їх обговорення. Колекція рослин-інтродуцентів Ботанічного саду імені акад. О.В.Фоміна нараховує близько 9 000 видів та внутрішньовидових таксонів. Колекції тропічних та субтропічних рослин включає понад 4 200 таксонів, з яких понад 2500 таксонів належить до еколого-морфологічної групи сукуленти. Колекції деревних та трав'янистих рослин нараховує відповідно близько 2100 та 2500 таксонів.

В колекції деревних рослин знаходиться майже 140 видів раритетних рослин. З них 26 видів належать до списку МСОП, 15 – до європейського червоного списку, 28 – червоного списку рослин України. 19 видів деревних рослин віднесено до категорії CR: *Fraxus ornus* L., *Crataegus pojarkoviae* Kossyich, *Juniperus foetidissima* Willd., *Quercus cerris* L., *Rosa domestica* Dubovik, *Siringa josikaea* Jacq. fil. тощо. Більшість видів раритетних деревних рослин за показниками життєдіяльності віднесено до перспективних інтродуцентів, що свідчить про те, що зникнення їх з природи обумовлено антропогенним фактором. За рослинами колекції проводяться фенологічні спостереження. Проведений відбір видів для подальшого дослідження. На матеріалі колекції з метою вирішення проблеми філогенетичних зв'язків рослин роду *Cotoneaster* проведений молекулярно-генетичний аналіз видів флори України. Розпочата селекційна робота з представниками роду *Rosa* L. У звітному році отримано два авторських свідоцтва на сорти рослин.

В колекції трав'янистих рослин зібрано майже 300 видів раритетних рослин. Більшість з них включені до "Червоної книги України" – понад 100 видів, 17 – до списку МСОП, 18 – до Європейського Червоного списку, 20 видів – до списку СІТЕС. До категорії CR віднесено такі рослини як *Sampanula carpatica* Jacq., *Erythronium dens-canis* L., *Helianthemum canum* (L.) Hornem. Всього понад 15 видів рослин. Слід відмітити, що такий вид, як *Dianthus gratianopolitanus* Vill., який є в колекції Ботанічного саду, вважається зниклим з природи. Більшість видів раритетних рослин в умовах культури досягли генеративного періоду, але не всі плодоносять, що суттєво впливає на кількісний склад штучних популяцій. У звітному році цибулини раритетного виду флори України *Tulipa quercetorum* Klokov et Zoz. репродукції Ботанічного саду використані для закладення експериментальної ділянки з метою репатріації цього виду. З трав'янистими рослинами проводиться роботи з карпологиї, дослідженню етапів онтогенезу з метою розробки агротехніки цінних лікарських рослин родів *Echinacea* Moench, *Geranium* L., *Dioscorea* L.

Колекція тропічних та субтропічних рослин нараховує в цілому понад 1200 видів раритетних рослин. З них

близько 350 видів з 17 родин належать до сукулентів (не враховуючи представників родини *Saxifragaceae*) і понад 80 видів з 24 родин – водні та прибережно-водні рослини. Серед представників сукулентних рослин найбільша кількість раритетних видів належить до родин *Asphodelaceae*, *Aizoaceae*, *Euphorbiaceae*, відповідно 90, 87 та 60 видів рослин; серед представників водних та прибережно-водних рослин – родин *Syringaceae* та *Nymphaeaceae*. З рослинами проводиться робота у напрямку біоморфології та екологічної анатомії рослин.

Значний об'єм колекцій, зосередження їх на відносно невеликій площі, особливо у захищеному ґрунті, а також слабо контрольований завіз рослин в Україну спричинив появу на інтродукованих рослинах значної кількості шкідників та хвороб, в тому числі і карантинних. Обстеження рослин показало, що на рослинах мешкає 32 адвентивних фітофагів, з яких сім видів виявлено вперше: *Monarthropalpus buxi*, *Phyllonorycter platini*, *Obolodiplosis robiniae*, *Parectopa robinella*,

Phyllonorycter robinella, *Chrysomphalus dictyospermi* та *Colomerus sp.* Виявлено небезпечні карантинні види фітофагів: *Hyphantria cunea*, *Frankliniella occidentalis* та *Echinothrips americanus* та інвазійні види, які здатні до спалахів масового розмноження (*Cameraria ohridella*, *Heliothrips haemorrhoidalis*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Coccus hesperidum*, *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus affinis*). Робота в цьому напрямку проводиться в напрямку створення екологічно безпечних препаратів для регулювання чисельності шкідливих організмів. У звітній період отримано два патенти на винахід.

З метою вивчення комплексу адаптивних процесів у рослин-інтродуцентів проводились дослідження біоекологічних, морфологічних та біохімічних особливостей рослин родин *Lamiaceae*, *Crassulaceae*, *Rosaceae*. Досліджено динаміку накопичення БАР (лектинів) у вегетативних та генеративних органах рослин роду *Sedum* (*Crassulaceae*).

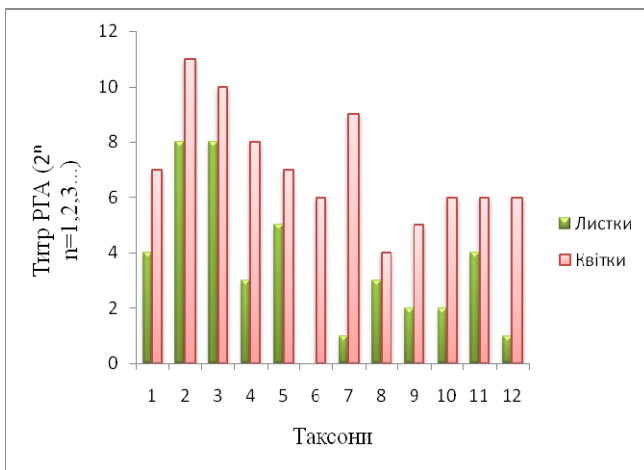


Рис. 1. Оціночні показники реакції гемаглютинації вегетативних та генеративних органів рослин роду *Sedum* L.
1 – *S. aizoon* L., 2 – *S. aizoon* L. x *S. kamtschaticum* Fisch.
3 – *S. album* L., 4 – *S. kirilowii*, 5 – *S. sediforme* 'Aureum',
6 – *S. spectabile* Boreau, 7 – *S. spectabile* 'Herbstfreude',
8 – *S. spurium* 'Album', 9 – *S. spurium* 'Purpurepich',
10 – *S. spurium* 'Rosea', 11 – *S. spurium* 'Tricolor', 12 – *S. telephium* L.

Отримані дані певною мірою підтверджують припущення стосовно важливої ролі, яку відіграють лектини у процесах репродукції рослинних організмів, а також можуть бути використані в якості додаткового хемотаксономічного критерію для ідентифікації таксонів в сучасній систематиці роду *Sedum*. Розпочаті роботи з впливу на стійкість рослин токсикологічного навантаження. Проведено порівняльний аналіз вмісту аскорбінової кислоти в асиміляційному апараті (листях) *Stachys lanata*, *St. cretica*, *Iberis sempervirens*, *I. sempervirens* 'Snowflake', *I. sempervirens* 'Garrexiana' з метою вивчення адаптаційної здатності рослин в несприятливих умовах вирощування.

Показники вмісту аскорбінової кислоти рослин роду *Iberis*, зростаючих на віддалених від шляхопроводів ділянках, мали більші значення порівняно з відповідними показниками рослин, зростаючих в умовах забруднення важкими металами (рис.2), що свідчить про активне використання аскорбінової кислоти в захисних антистресових реакціях досліджених рослин. Отримані дані свідчать про стійкість і високу адаптаційну здатність досліджуваних рослин.

Таким чином, робота науковців в Ботанічному саду ведеться в трьох напрямках: 1. Формування репрезентативних колекцій, їх аналіз на наявність раритетних,

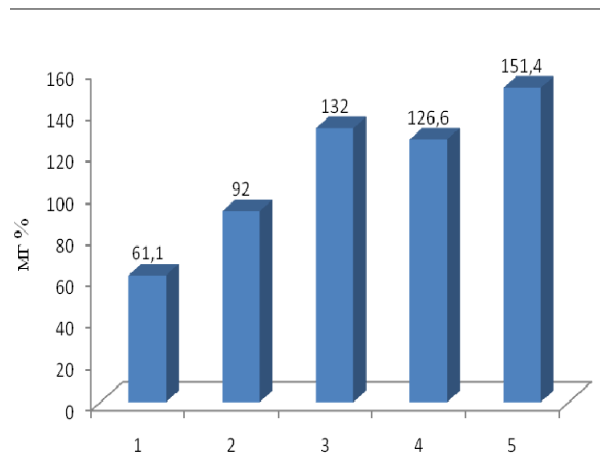


Рис. 2. Вміст аскорбінової кислоти в листках рослин *Iberis sempervirens* L., *I. sempervirens* 'Snowflake' (4), *I. sempervirens* 'Garrexiana' (5):
1 – ділянка В-12 (перехрестя вул. Комінтерну та б. Шевченка);
2 – на відстані 10 м від б. Шевченка;
3-5 – на території ботсаду

лікарських, технічних, декоративних видів тощо, біоморфологічні, анатомо-морфологічні та біохімічні дослідження інтродуцентів в зв'язку з навчальною і просвітницькою діяльністю, удосконаленням агротехніки і введенням в озеленення нових декоративних або лікарських рослин. Одержані при цьому дані використовуються в систематиці, екології, морфології рослин тощо. 2. Дослідження раритетних рослин в природі і розробка методичної основи репатріації видів флори України. 3. Спостереження, аналіз та розробка методів екологічно безпечного захисту рослин від шкідників та хвороб. Всі ці напрямки роботи вкладаються у ті задачі, які поставлені перед ботанічним товариством світу у "Глобальній стратегії збереження рослин" і навчальних планів біологічних спеціальностей у вищих навчальних закладах України..

Висновки. Встановлено, що колекція рослин-інтродуцентів Ботанічного саду ім.акад. О.В.Фоміна нараховує близько 9 000 видів та внутрішньовидових таксонів, з яких понад **1650 видів** є раритетними і включені до Червоних списків МСОП, СІТЕС, ЄЧС, Червоної книги України та регіональних списків різного рівня.

Досліджено молекулярно-генетичного поліморфізму кизильників стелевої частини України.

Закладено експериментальну ділянку з репатріації *Tulipa quercetorum* репродукції Ботанічного саду імені акад. О.В. Фоміна.

Проведено порівняльний аналіз вмісту аскорбінової кислоти у п'яти видів трав'янистих рослин, який виявив низький її рівень в листках, що зростають в умовах токсикологічного навантаження і що свідчить про активне використання даної речовини в захисних протистресових реакціях.

Встановлено, що на інтродукованих рослинах Ботанічного 32 види фітофагів, з яких економічно небезпечними є види зовнішнього карантину (*Hyphantria cunea*, *Frankliniella occidentalis* і *Echinothrips americanus*) та інвазійні види, які здатні до спалахів масового розмноження (*Cameraria ohridella*, *Heliothrips haemorrhoidalis*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Coccus hesperidum*, *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus affinis*).

1. Глобальная стратегия сохранения растений. – М., 2004. – 16 с.
2. Ермаков А.И. Методы биохимических исследований растений. – М.:

Сельхозгиз, 1972. – 520 с. 3. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Министерство природных ресурсов и экологии РФ; Федеральная служба по надзору в сфере природопользования; РАН; Российское ботаническое общество; МГУ им. М.В. Ломоносова; Гл. редколл.: Ю.П. Трутнев и др.; Сост. Р.В. Камелин и др.; – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с. 4. Лудик М.Д., Панасюк Е.Н., Антронюк В.А. и др. Методы поиска лектинов (фитогемагглютининов) и определение их иммунохимической специфичности. Методические рекомендации. – Львов: Изд-во Львовск. мед. ин-та, 1980. – 20 с. 45. Червона книга України. Рослинний світ / Під ред. Я. П. Дідуха. – Київ: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с. 6. Федоренко В.П., Пилипенко Л.А. Наукове забезпечення фітосанітарних служб ЄС та України: проблеми і перспективи // Карантин і захист рослин, 2008, № 12. С. 1 – 3. 7. Checklist of Cites species. – UNEP world conservation Monitoring Centre. Cites Secretariat. – Geneva, 2008. <http://www.cites.org>. 8. IUCN Red List of Threatened Plants / Eds. by K.S. Walter, H.G. Gillett. – Gland (Switzerland) and Cambridge (UK), 1998. – 862 p. 9. List of rare, threatened and endemic plants in Europe // Nature and environment series. – № 14. – Stesbourg, 1977. – 287 p. 10. Red Lists of Southern African Plants 2009. – Pretoria: Strelitsia, 2009. – 669 p. 11. Sustainable Future for Europe; the European Strategy for Plant Conservation 2008-2014. / Developed by the Planta Europa and the Council of Europe. – Salisbury, UK – Strasbourg, France, 2008. – 63 p.

Надійшла до редколегії 15.12.11

УДК 502.4

В. Грищенко, канд. біол. наук, В. Шевчик, канд. біол. наук,
Є. Яблоновська-Грищенко, канд. біол. наук, Н. Ружіленко, канд. біол. наук,
Л. Чорна, канд. іст. наук, М. Чорний, канд. біол. наук

МОНІТОРИНГ СТАНУ ЕКОСИСТЕМ ЗАПОВІДНИКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ПІВДЕННОЇ ТА ЦЕНТРАЛЬНОЇ ЧАСТИНИ РЕГІОНУ

Продовжено моніторингові дослідження території Канівського природного заповідника: стану погоди, поверхневого стоку Дніпра, окремих груп флори та фауни, популяцій рідкісних та фонових видів. Досліджено окремі елементи екосистем та територіальні комплекси Придніпров'я, історію розвитку екомережі регіону.

Monitoring research in the Kaniv Nature Reserve was continued: weather, hydrology of the Dnieper, some groups of flora and fauna, populations of rare and typical species. Some elements of ecosystems, territorial complexes of the Dnieper Area and history of development of protected areas in the region were investigated.

Важливим і актуальним завданням, визначеним законодавством України та взятими Україною міжнародними зобов'язаннями, є охорона і збереження природного біорізноманіття, розвиток екологічної мережі держави як базових складових біосфери. Складність організації біорізноманіття, його значимість для існування і розвитку суспільства, а тому широке залучення його в економічних процесах зумовлює високий рівень складності його охорони. Це в свою чергу визначає необхідність постійного, системного та різнопланового контролю стану елементів природних комплексів окремих регіонів та існуючих заповідних територій. Законодавчо визначеним і обов'язковим моніторинговим заходом є ведення "Літописів природи" на територіях природних заповідників.

Дослідження, проведені на першому етапі виконання бюджетної теми забезпечили моніторинг природного комплексу заповідника згідно програми "Літопису природи", зокрема маршрутні флористичні обстеження, моніторинг популяцій деяких рідкісних та фонових видів регіону; оцінку стану окремих об'єктів природно-заповідного фонду Придніпров'я [1].

На основі зведення даних різних джерел та власних спостережень приведені характеристики погодних умов та стоку р. Дніпро.

За 2011 рік охарактеризовано стан популяцій 19 рідкісних видів заповідника та регіону [2]. Запропоновані оригінальні способи відтворення популяцій рідкісних видів рослин. Визначено сезонну динаміку ярусу трав'янистих рослин широколистяних лісів.

Виявлені особливості розвитку окремих фонових та рідкісних видів макроміцет та фітопатогенних грибів у зв'язку із погодними умовами року.

Отримані багаторічні дані про чисельність популяцій 6 видів птахів у заповіднику та на прилеглий території.

Наводяться дані обліку чисельності зимуючих гідрофільних птахів (13 видів) на ділянках водосховищ та їх чисельності у гніздовий період на лівобережжі Черкащини, дані фенологічних спостережень за весняними та осінніми міграціями 97 видів птахів, спостережень залітних та рідкісних птахів на території заповідника та регіону. Продовжено моніторинг стану Придніпровської популяції білого лелеки та дослідження просторової мінливості пісень окремих видів птахів Придніпров'я.

Наводяться дані спостережень за теріофауною, батрахо- та герпетофауною: еколого-фауністична характеристика популяцій 22 видів ссавців, 9 амфібій, 6 рептилій в межах заповідника, популяцій хребетних на конкретних обстежених територіях регіону.

Подано результати спостережень фонових та рідкісних видів комах та павукоподібних, попередній інвентарний список видів сітчастокрилих для заповідника та регіону.

Історичні дослідження дали змогу простежити і проаналізувати становлення природно-заповідних територій у регіоні, виявити ряд важливих документів та нових даних з історії Канівського природного заповідника.

Основним практичним виходом роботи по темі за 2011 рік була розробка рекомендацій по створенню нових, розширенню чи реорганізації існуючих природно-заповідних територій. Протягом 2011 р. підготовані і передані до Державної служби заповідної справи Міністерства охорони навколишнього природного середовища України та Державного управління з охорони навколишнього природного середовища в Черкаській області наукові обґрунтування створення двох заказників (ландшафтного та гідрологічного) місцевого значення (Городищанський р-н, Черкаської об-ті), обґрунтування доцільності реорганізації двох орнітологічних заказників місцевого значення у ландшафтний заказник та парк

пам'ятку садово-паркового мистецтва місцевого значення (Золотоніський р-н, Черкаської об-ті), наукове обґрунтування створення на базі природного заповідника – Канівського біосферного заповідника [3].

Аналіз матеріалів та результатів досліджень приводить до наступних висновків:

- в результаті господарських впливів та динамічних змін на природно-заповідних територіях Черкаської обл., особливо заказників, створених кілька десятиліть тому для охорони окремих видів, відбулись суттєві зміни їх природних комплексів, що визначають невідповідність їх нинішнього цільового призначення, що, в свою чергу, визначає потребу їх соціологічної ревізії, а можливо і зміни природоохоронного статусу;

- погодні умови літа 2011 року забезпечували нормальний хід вегетативних та генеративних процесів в популяціях більшості мезофільних, ксерофільних і значно гірше проходили процеси розвитку в популяціях гідрофільних рідкісних видів рослин із раннім розвитком;

- аналіз репродуктивного процесу в популяціях рідкісних видів рослин, що відбувається в природних біотопах, та досвід із штучним підсівом насіння окремих рідкісних видів рослин на відповідно вибраних ділянках доказують можливості простого і високоефективного способу відтворення нових ценопопуляцій цілого ряду рідкісних видів рослин флори Придніпров'я;

- щодо процесів розвитку в популяціях грибів 2011 рік не був особливим. Загалом він був мало сприятливим для плодоношення грибів, за виключенням літніх місяців, коли під час випадання дощів відмічались плододі тіла; відмічено кілька нових для заповідника видів грибів та один новий вид рослини-живителя для борошнисто росяних грибів;

- відбулася стабілізація чисельності колонії великого баклана, залишається стабільною чисельність орлана-білохвоста, кулика-сороки та деяких інших рідкісних видів птахів; через вплив хижаків припинилося від-

творення в колонії жовтоногого мартина; успішність розмноження популяції білого лелеки у Придніпров'ї була невисокою через складні погодні умови весни і літа, приріст чисельності був незначним;

- у Нижньому Придніпров'ї виявлено реліктовий територіальний комплекс пісень зяблика, який підтверджує наявність у минулому значного лісового масиву в районі нинішніх Олешківських пісків ("гілея" Геродота);

- відмічено значні прояви господарських впливів на популяції крупних тварин. Зокрема, має місце ріст чисельності кабана та деяких копитних у зв'язку із застосуванням біотехнічних заходів у сусідніх мисливських господарствах, зміни статевої структури в популяціях окремих хижаків. Водночас спостерігається вплив абіотичних чинників на терміни розмноження в популяціях чотирьох видів ссавців;

- фенологічні явища в житті комах проходили нормально. На території заповідника відмічено 10 видів комах занесених до Червоної книги України. Серед представників сітчастокрилих для території заповідника попередньо встановлено поширення 19 видів, окремі з яких відмічені на різних територіях регіону.

1. Домашевский С.В. Орнитофауна Межреченского регионального ландшафтного парка (Черниговская область) / Домашевский С.В., Грищенко В.Н. // Запов. справа в Україні. – 2011. – Т. 17. – Вип. 1-2. – С. 62-70. 2. Шевчик В.Л. Поширення та стан популяцій брандушки різнокольорової (*Bulbosodium versicolor* (Ker.-Gawl.) Spreng, Melanthiaceae) на Черкащині / Шевчик В.Л., Сенчило О.О. // Проблеми збереження, відновлення та стабілізації степових екосистем. – Маріуполь: Рената, 2011. – С. 214-218. 3. Чорний М.Г. Перспективи створення Канівського біосферного заповідника / Чорний М.Г., Грищенко В.М., Шевчик В.Л., Бакалина Л.В., Борисенко М.М., Петриченко О.Д., Пруденко М.М., Ружіленко Н.С., Чорна Л.О., Яблоновська-Грищенко Є.Д. // Запов. справа в Україні. – 2011. – Т. 17. – Вип. 1-2. – С. 103-110.

Надійшла до редколегії 18.12.11

Наукове видання



ВІСНИК

КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

**ПРОБЛЕМИ РЕГУЛЯЦІЇ
ФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ**

Випуск 15

Друкується за авторською редакцією

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

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



Формат 60x841/8. Ум. друк. арк. 6,3. Наклад 300. Зам. № 212-5977.
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № Б 3.
Підписано до друку 29.02.12

Видавець і виготовлювач
Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет"
01601, Київ, б-р Т. Шевченка, 14, кімн. 43
☎ (38044) 239 3222; (38044) 239 3172; тел./факс (38044) 239 3128
e-mail: vpc@univ.kiev.ua
http: vpc.univ.kiev.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02