

УДК 633.15:581.143.6

О. Є. Абраїмова, Г. Р. Піралов, Т. М. Сатарова

*Институт зернового господарства УААН
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

БИОТЕХНОЛОГИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА КАЛУСОГЕНЕЗУ В КУЛЬТУРІ НЕЗРІЛИХ ЗАРОДКІВ КУКУРУДЗИ ПІД ВПЛИВОМ АБСЦИЗОВОЇ КИСЛОТИ ТА 6-БЕНЗИЛАМІНОПУРИНУ

Досліджено вплив абсцизової кислоти та 6-бензиламінопурину на утворення калусної тканини в культурі незрілих зародків кукурудзи. Для більшості досліджених генотипів абсцизова кислота в середовищі індукції стимулювала, а 6-бензиламінопурин інгібував утворення морфогенних калусів. Відмічено, що генотип виступає важливим фактором, який визначає характер дії фітогормонального складу середовища на утворення специфічних видів калусної тканини. Для застосування у біотехнологічних програмах отримання морфогенної калусної тканини рекомендоване використання залежно від генотипу 0,04–0,10 мг/л абсцизової кислоти на фоні базового живильного середовища.

О. Е. Абраимова, Г. Р. Пиралов, Т. М. Сатарова

*Институт зернового хозяйства УААН
Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара*

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАЛУСОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ НЕЗРЕЛЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КУКУРУЗЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ И 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА

Исследовано влияние абсцизовой кислоты и 6-бензиламинопурина на образование калусной ткани в культуре незрелых зародышей кукурузы. Для большинства исследованных генотипов абсцизовая кислота в среде индукции стимулировала, а 6-бензиламинопурин ингибировал образование морфогенных калусов. Отмечено, что генотип выступает важнейшим фактором, определяющим характер действия фитогормонального состава среды на образование специфических видов калусной ткани. Для применения в биотехнологических программах получения морфогенной калусной ткани рекомендовано использование в зависимости от генотипа 0,04–0,10 мг/л абсцизовой кислоты на фоне базовой питательной среды.

О. Е. Abraimova, G. R. Piralov, T. M. Satarova

Institute of Grain Farming UAAN, Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

BIOTECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CALLUSOGENESIS IN MAIZE IMMATURE EMBRYO CULTURE UNDER THE INFLUENCE OF ABSCISIC ACID AND 6-BENZYLAMINOPURINE

The effect of abscisic acid and 6-benzylaminopurine on the induction of callus tissue in maize immature embryo culture was studied. For the majority of investigated genotypes abscisic acid stimulated, but 6-benzylaminopurine inhibited the formation of morphogenic calli in induction medium. It was noted that genotype appeared to be an important factor that determined the character of the influence of

phytohormonal composition of the medium on the induction of the specific types of calli. Using of 0.04-0.10 mg/l abscisic acid is recommended for biotechnological production of morphogenic callus tissue in dependence of donor plant genotype.

Вступ

Розробка технології отримання тотипотентних калусних культур для різних генотипів кукурудзи – важливе біотехнологічне завдання, оскільки калусна тканина становить основу для регенерації рослин і отримання соматоклонів, започаткування суспензійних культур, культур протопластів, проведення генетичної трансформації. Застосування ауксинів, зокрема 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д), – обов'язкова умова отримання калусної тканини кукурудзи [5; 7; 10].

Відомості щодо дії інших класів фітогормонів на калусогенез у цієї рослини суперечливі. У ряді досліджень показано, що кінетин, зеатин і кокосове молоко не виявляють стимулювального впливу на калусоутворення [8; 9]. В інших випадках застосування цитокінінів, зокрема, 6-бензиламінопурину (6-БАП) поліпшувало калусогенез [1]. Вважають, що цитокініни по-різному впливають на такі різноспрямовані процеси як калусогенез і регенерація. Потрібно диференціювати характер їх впливу на ініціацію та розвиток калусів, соматичних зародків, органогенез, загальну регенерацію, укорінення. Це робить важливим з'ясування концентрації, експозиції та періоду застосування фітогормонів у технологічному циклі [4].

Встановлено, що вплив абсцизової кислоти (АБК) на підтримання ембріогенного калусу подібний до дії сахарози, яка стимулює накопичення крохмалю у соматичних ембріодах, а гіберелова кислота здатна нейтралізувати дію абсцизової кислоти [6]. Узагалі дія різних фітогормонів та їх поєднань на утворення калусів незрілими зародками кукурудзи досліджена недостатньо. Тому мало вивченими залишаються потенційні можливості їх залучення до біотехнологічних програм. У зв'язку з цим мета нашого дослідження – оцінити вплив таких фітогормонів як абсцизова кислота та 6-бензиламінопурин на калусогенез, оптимізувати біотехнологічний процес отримання калусної тканини в культурі незрілих зародків різних генотипів кукурудзи.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для дослідження слугували незрілі зародки ліній, гібридів і популяцій кукурудзи, перспективних у селекційному відношенні. Експерименти проводили у 2008 та 2009 роках. Незрілі зародки відбирали з 3–7 польових донорних рослин, вирощених за загальноприйнятною методикою. Зародки у віці 10–12 діб після запилення довжиною 1,0–1,5 мм експлантували щитком догори на живильне середовище. Контрольним (К) для калусогенезу було модифіковане середовище №6 із додаванням 10 мг/л $AgNO_3$, 690 мг/л *L*-проліну, 100 мг/л мезоінозиту, 100 мг/л гідролізату казеїну, 20 г/л сахарози, 1 мг/л 2,4-Д. Дане середовище використане у попередніх дослідженнях і добре себе зарекомендувало для ініціації калусогенезу у кукурудзи [3].

В експерименті 2008 року до контрольного середовища додавали АБК у концентрації 0,04 мг/л, 6-БАП у концентрації 0,1 мг/л і випробовували поєднання цих фітогормонів у наведених концентраціях. В експерименті 2009 року до контрольного середовища додавали АБК у концентраціях 0,04 та 0,10 мг/л. Культивування проводили у темряві при температурі +26 °С.

Аналіз результатів індукції калусогенезу вели на 30-ту добу культивування. Частоту калусогенезу розраховували як процентне відношення зародків, що сформували той чи інший тип калусу, до загальної кількості культивованих зародків. Окремо визначали загальну частоту калусогенезу (%) і частоту утворення морфогенних калусів (%).

В експерименті 2009 року також оцінювали частоту утворення таких типів морфогенних калусів як компактні та крихкі. Дані в таблицях наведені у вигляді $M \pm m$ [2].

Результати та їх обговорення

У першому експерименті (2008 рік, табл. 1), на відміну від другого (2009 рік, табл. 2), вивчали калусоутворення на щитках незрілих зародків восьми ліній кукурудзи під впливом 0,04 мг/л АБК, 0,10 мг/л 6-БАП та їх поєднання.

Таблиця 1

Вплив абсцизової кислоти та 6-бензиламінопурину на калусогенез у кукурудзи

Лінія	Середовище	Культивовано зародків, шт.	Загальна частота калусогенезу, %	Частота утворення морфогенних калусів, %
A188	К	216	98,6 ± 1,6	49,1 ± 6,8
	К + 0,04 мг/л АБК	230	97,8 ± 2,0	68,3 ± 6,2
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	224	97,8 ± 2,0	42,4 ± 6,6
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	221	97,3 ± 2,2	52,5 ± 6,8
ДК633	К	204	100,0 ± 0,0	14,7 ± 5,0
	К + 0,04 мг/л АБК	192	99,5 ± 1,0	17,7 ± 5,6
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	216	97,7 ± 2,0	13,4 ± 4,6
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	209	98,1 ± 1,8	27,3 ± 6,2
SS-566	К	86	43,0 ± 10,6	25,6 ± 9,4
	К + 0,04 мг/л АБК	87	47,1 ± 10,8	27,6 ± 9,6
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	86	47,7 ± 10,8	5,8 ± 5,0
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	87	43,7 ± 10,6	11,5 ± 6,8
SS-42	К	213	98,1 ± 1,8	59,6 ± 6,8
	К + 0,04 мг/л АБК	232	100,0 ± 0,0	62,5 ± 6,4
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	242	99,6 ± 0,8	69,8 ± 6,0
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	184	98,9 ± 1,6	83,7 ± 5,4
PLS61	К	221	100,0 ± 0,0	71,0 ± 6,2
	К + 0,04 мг/л АБК	159	100,0 ± 0,0	80,5 ± 6,2
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	165	100,0 ± 0,0	64,8 ± 7,4
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	208	100,0 ± 0,0	71,6 ± 6,2
ДК675	К	265	98,1 ± 1,6	19,2 ± 4,8
	К + 0,04 мг/л АБК	265	98,5 ± 1,4	23,0 ± 5,2
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	265	98,5 ± 1,4	24,9 ± 5,4
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	260	100,0 ± 0,0	34,2 ± 5,8
W38	К	130	98,5 ± 2,2	54,6 ± 8,8
	К + 0,04 мг/л АБК	125	98,4 ± 2,2	57,6 ± 8,8
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	135	98,5 ± 2,0	51,1 ± 8,6
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	130	97,7 ± 2,6	47,7 ± 8,8
Chi31	К	243	100,0 ± 0,0	92,2 ± 2,4
	К + 0,04 мг/л АБК	237	99,6 ± 0,8	89,5 ± 4,0
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	238	100,0 ± 0,0	41,2 ± 6,4
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	238	99,6 ± 0,8	55,0 ± 6,4
Всього	К	1578	96,0 ± 1,0	49,9 ± 2,6
	К + 0,04 мг/л АБК	1527	96,1 ± 1,0	54,6 ± 2,6
	К + 0,10 мг/л 6-БАП	1571	96,1 ± 1,0	40,6 ± 2,4
	К + 0,04 мг/л АБК + 0,10 мг/л 6-БАП	1537	95,8 ± 1,0	50,0 ± 2,6

Додавання досліджених фітогормонів і їх поєднання майже не впливало на загальну частоту калусоутворення, яка для всіх генотипів (окрім SS-566) сягала 97–100 %. Найцінніші для регенерації рослин – морфогенні калуси, частота утворення яких менша, ніж загальна частота калусогенезу. Вона значно коливалася між варіанта-

ми дослідів та у різних генотипів. Для більшості досліджених ліній спостерігалася тенденція підвищення частоти утворення морфогенних калусів при додаванні 0,04 мг/л АБК порівняно з контролем на 2,0–19,2 %. Додавання 6-БАП порівняно з контролем інгібувало утворення морфогенних калусів на 1,3–19,8 % для 6 з 8 досліджених ліній. Для двох ліній (SS-42 та ДК675) відмічена тенденція до стимуляції утворення морфогенних калусів на фоні 6-БАП.

Таблиця 2

Вплив абсцизової кислоти на частоту калусогенезу у різних генотипів кукурудзи

Генотип	Вміст АБК у середовищі, мг/л	Культивовано зародків, шт.	Загальна частота калусогенезу, %	Частота морфогенних калусів, %		
				всього	компактних	крихких
Chi31	0,00	240	100,0	59,6 ± 6,3	0,0	59,6 ± 6,3
	0,04	225	100,0	67,6 ± 6,2	0,0	67,6 ± 6,2
	0,10	250	100,0	66,4 ± 5,8	0,0	66,4 ± 5,8
ДК675	0,00	249	100,0	33,3 ± 6,0	0,0	33,3 ± 6,0
	0,04	247	100,0	34,8 ± 6,1	0,0	34,8 ± 6,1
	0,10	265	100,0	41,1 ± 6,0	0,0	41,1 ± 6,0
ДК675хChi31	0,00	220	100,0	71,8 ± 6,1	0,0	71,8 ± 6,1
	0,04	221	99,5 ± 0,8	76,5 ± 5,7	0,0	76,5 ± 5,7
	0,10	225	99,6 ± 0,7	72,9 ± 5,9	0,0	72,9 ± 5,9
Chi31хДК675	0,00	53	100,0	77,4 ± 11,5	0,0	77,4 ± 11,5
	0,04	53	100,0	77,4 ± 11,5	0,0	77,4 ± 11,5
	0,10	53	100,0	77,4 ± 11,5	0,0	77,4 ± 11,5
ДК377	0,00	240	100,0	17,9 ± 4,9	17,9 ± 4,9	0,0
	0,04	240	100,0	21,3 ± 5,3	21,3 ± 5,3	0,0
	0,10	240	100,0	20,4 ± 5,2	20,4 ± 5,2	0,0
ДК377 популяція	0,00	325	100,0	53,8 ± 5,5	53,8 ± 5,5	0,0
	0,04	325	100,0	55,7 ± 5,5	55,7 ± 5,5	0,0
	0,10	325	100,0	56,3 ± 5,5	56,3 ± 5,5	0,0
ДК185	0,00	203	100,0	3,0 ± 2,4	3,0 ± 2,4	0,0
	0,04	203	100,0	17,7 ± 5,4	17,7 ± 5,4	0,0
	0,10	228	100,0	9,2 ± 3,8	9,2 ± 3,8	0,0
ДК254	0,00	175	100,0	12,0 ± 4,9	12,0 ± 4,9	0,0
	0,04	175	100,0	16,6 ± 5,6	16,6 ± 5,6	0,0
	0,10	175	100,0	16,6 ± 5,6	16,6 ± 5,6	0,0
ДК185хДК254	0,00	225	100,0	12,4 ± 4,4	12,4 ± 4,4	0,0
	0,04	225	100,0	16,0 ± 4,9	16,0 ± 4,9	0,0
	0,10	225	100,0	15,1 ± 4,8	15,1 ± 4,8	0,0
ДК254хДК185	0,00	263	100,0	12,9 ± 4,1	12,9 ± 4,1	0,0
	0,04	263	100,0	24,3 ± 5,3	24,3 ± 5,3	0,0
	0,10	263	100,0	24,3 ± 5,3	24,3 ± 5,3	0,0
(ДК185хДК254)S ₃	0,00	452	99,6 ± 0,6	18,8 ± 3,7	18,8 ± 3,7	0,0
	0,04	435	100,0	28,7 ± 4,3	28,7 ± 4,3	0,0
	0,10	500	100,0	30,0 ± 4,1	30,0 ± 4,1	0,0
(ДК185хДК254) single seed	0,00	390	100,0	20,5 ± 4,1	20,5 ± 4,1	0,0
	0,04	375	100,0	26,1 ± 4,5	26,1 ± 4,5	0,0
	0,10	390	100,0	24,4 ± 4,3	24,4 ± 4,3	0,0

Калусогенез під впливом поєднання досліджених концентрацій абсцизової кислоти та 6-БАП вказує на провідну роль генотипу у визначенні синергічного або антагоністичного характеру одночасної дії двох фітогормонів. Морфогенні калуси утворю-

валися краще при поєднанні 6-БАП та АБК, ніж під впливом лише 6-БАП, але слабкіше, ніж на середовищі лише з абсцизовою кислотою.

Аналіз результатів проведеного експерименту дозволив виявити генотипні відмінності реакції незрілих зародків кукурудзи на дію досліджених фітогормонів та їх поєднання. Для індукції морфогенних калусів найкращий варіант із проаналізованих – додавання до контрольного середовища 0,04 мг/л абсцизової кислоти.

У наступному експерименті (2009 рік) досліджували вплив вищих концентрацій абсцизової кислоти на інтенсивність калусоутворення в культурі незрілих зародків. На 9 генотипах кукурудзи вивчали калусоутворення на контрольному середовищі К та експериментальних варіантах К + 0,04 мг/л АБК та К + 0,1 мг/л АБК (див. табл. 2).

Суттєвий позитивний вплив АБК в концентрації 0,04–0,10 мг/л на індукцію морфогенних калусів засвідчено для лінії ДК185 та гібридних комбінацій за її участю, ДК254хДК185 та (ДК254хДК185)S₃. Для значної решти досліджених генотипів наявна тенденція збільшення відсотка морфогенних калусів за дії АБК порівняно з контролем.

Здатність до підтримання в культурі *in vitro* та регенерації також суттєво залежить від структури морфогенного калусу. Компактні калуси легше переходять до регенерації, але важче підтримуються у культурі, крихкі калуси – навпаки. За дії АБК утворення компактної або крихкої морфогенної калусної тканини суто залежить від генотипу. Серед досліджених в експерименті 2009 року генотипи ДК377, ДК377 популяція, ДК185, ДК254, ДК185хДК254, ДК254хДК185, (ДК185хДК254)S₃ та (ДК185хДК254) single seed утворювали лише компактні калуси, а Chi31, ДК675, ДК675хChi31, Chi31хДК675 – лише крихку калусну тканину. Тип калусної тканини перш за все визначався калусогенною здатністю батьківських ліній і далі успадковувався у прямих і зворотних гібридах і популяціях за їх участю. Генетичний статус і ступінь гетерозиготності донорного матеріалу вносили зміни лише у кількісні показники утворення того чи іншого типу тканини.

Калуси досліджених генотипів кукурудзи, індуковані на фоні різного вмісту абсцизової кислоти, залишено для пасивування, отримання калусної тканини типу II та регенерації.

Висновки

Загальна частота калусогенезу в культурі незрілих зародків кукурудзи для всіх досліджених генотипів за винятком лінії SS-566 незалежно від складу живильного середовища склала 97–100 %. Встановлено, що на утворення морфогенної калусної тканини абсцизова кислота мала стимулювальний вплив. Додавання 6-БАП до середовища індукції для більшості досліджених генотипів інгібувало утворення морфогенних калусів. За поєднання 6-БАП і АБК спостерігався проміжний ступінь цього типу калусогенезу. Генотип виступає важливим фактором, що визначає характер впливу фітогормонального складу середовища на утворення специфічних видів калусної тканини. Для застосування у біотехнологічних програмах отримання морфогенної калусної тканини рекомендується використовувати залежно від генотипу донорної рослини 0,04–0,10 мг/л абсцизової кислоти на фоні базового живильного середовища, яке вміщує мінеральну основу N₆ із додаванням 10 мг/л AgNO₃, 690 мг/л L-проліну, 100 мг/л мезоінозиту, 100 мг/л гідролізату казеїну, 20 г/л сахарози та 1 мг/л 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти.

Бібліографічні посилання

1. **Кунах В. А.** Получение каллусных тканей от разных по генотипу растений кукурузы / В. А. Кунах, Т. Н. Чеченева, В. В. Моргун // Физиология растений. – 1989. – Т. 27, № 2. – С. 399–403.
2. **Лакин Г. Ф.** Биометрия. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
3. **Пиралов Г. Р.** Влияние биологических особенностей исходного материала и состава питательных сред на каллусогенез и регенерацию в культуре незрелых зародышей кукурузы / Г. Р. Пиралов, О. Е. Абраимова // Физиология и биохимия культурных растений. – 1997. – Т. 29, № 1. – С. 44–50.
4. **Чеченева Т. Н.** Повышение регенерационной способности у инбредных линий кукурузы *in vitro* / Т. Н. Чеченева, В. А. Труханов // Цитология и генетика. – 1997. – Т. 31, № 2. – С. 36–40.
5. **In vitro** plant regeneration from quality protein maize / G. A. Aguado-Santacruz, E. Garcia-Moya, J. Aguilar-Acuna et al. // In Vitro Cell Dev Biol Plant. – 2007. – Vol. 43. – P. 215–224.
6. **Emons A. M. C.** The influence of sucrose, mannitol, L-proline, abscisic acid and gibberellic acid on the maturation of somatic embryos of *Zea mays* L. from suspension cultures / A. M. C. Emons, A. Samallo-Droppers, C. Van der Toor // J. Plant Physiol. – 1993. – Vol. 142. – P. 597–604.
7. **Green C. E.** Plant regeneration from tissue cultures of maize / C. E. Green, R. L. Phillips // Crop Sci. – 1975. – Vol. 15, N 3. – P. 417–421.
8. **Hendre R. R.** Tissue cultures of maize, wheat, rice and sorghum / R. R. Hendre, A. F. Mascarenhas, P. Meera // Indian J. Exp. Biol. – 1975. – Vol. 13, N 2. – P. 108–111.
9. **Novack F. J.** Studies on the morphogenetic response of maize tissue cultures of different origin / F. J. Novack, Z. Opatrny, B. Povenska et al. // Biol. Plantarum. – 1979. – Vol. 21, N 6. – P. 418–426.
10. **Rakshit S.** Callus induction and whole plant regeneration in elite Indian maize (*Zea mays* L.) inbreds / S. Rakshit, Z. Rashid, J. Sekhar et al. // Plant Cell Tiss. Organ Cult. – 2009. – Vol. 100, N 1. – P. 31–37.

Надійшла до редакції 12.02. 2010

УДК 582.284:581.14.142

Е. Н. Алексеенко, Т. М. Полишко, А. И. Винников

Днепропетровский национальный университет им. Олеса Гончара

ОСОБЕННОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ *PLEAROTUS OSTREATUS*

Приведены сравнительные данные различных вариантов получения посевного материала вешенки обыкновенной: классического, тканевого, с использованием «зернового», активного и ферментативного мицелия. Показаны преимущества и недостатки каждого из методов, что дает возможность подбора оптимального варианта для уже сложившихся условий выращивания. Способы получения мицелия на зерновом субстрате, а также с использованием активного материала требуют значительных затрат на оборудование, абсолютно стерильных условий работы, чего очень трудно достичь. Улучшенные технологические возможности получения мицелия новым ферментативным способом способствуют рационализации и повышению рентабельности, что обуславливает удешевление продукта.

О. М. Алексеєнко, Т. М. Полішко, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара

ОСОБЛИВОСТІ ВИРОЩУВАННЯ МІЦЕЛІЮ ГРИБІВ *PLEAROTUS OSTREATUS*

Наведено порівняльні дані різних варіантів отримання посівного матеріалу гриби звичайної: класичного, тканинного, із використанням «зернового», активного та ферментативного міцелію. Показано переваги та недоліки кожного з методів, що дає змогу підібрати оптимальний варіант для вже сформованих умов вирощування. Способи отримання міцелію на зерновому субстраті, а також із використанням активного матеріалу вимагають значних витрат на обладнання, абсолютно стерильних умов роботи, чого дуже важко досягти. Поліпшені технологічні можливості отримання міцелію новим ферментативним способом сприяють раціоналізації та зростанню рентабельності, що зумовлює зниження вартості продукту.

O. M. Alekseenko, T. M. Polishko, A. I. Vinnikov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

PECULIARITIES OF MYCELIUM CULTIVATION OF MUSHROOMS *PLEAROTUS OSTREATUS*

The direct comparative facts of different options of inoculum production of *Pleurotus ostreatus*: classical, tissue, with the use of «grain», active and fermentative mycelium are presented. The advantages and shortcomings of each method have been shown, that gives the possibility of choosing the most optimum variant for already formed grow conditions. The methods of mycelium production on the grain substrate and also with the use of the active material demand considerable expenditure for the equipment and absolutely sterile conditions that is very difficult to achieve. The improved technological possibilities of mycelium production by a new fermentation way promotes rationalisation and profitability, that cause reduction of product price.

Введение

С каждым годом количество дикорастущих грибов уменьшается, особенно вблизи больших городов. Употреблять эти грибы в пищу становится опасно в связи с накоплением в них вредных для человека веществ [13; 22]. Поэтому в последнее время возник интерес к грибоводству. Культивируемые съедобные грибы, выращенные на чистых субстратах, не содержащие вредных веществ, могут использоваться в пищу без риска получить нежелательные компоненты [12; 19].

Искусственное разведение древоразрушающих грибов для пищевых целей используется с давних времен. Среди объектов промышленного культивирования широкое распространение получила культура вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) или устричного гриба [17]. Вешенка – широко используемый во всем мире гриб. Культивируется, проявляет устойчивость к комплексу вредителей и болезней. Вешенка – высокоурожайный гриб с отличными вкусовыми качествами. Для его выращивания не требуется больших площадей, материальные затраты минимальны при высокой рентабельности круглый год [28].

Грибы распространены повсеместно, они развиваются на естественных субстратах растительного и животного происхождения, а также на искусственных материалах, созданных человеком [5]. Сейчас возникла необходимость введения в культуру грибов как наиболее ценных белоксодержащих организмов [9]. При соблюдении современных технологий их производства выход сухого белка составляет 63,5 кг/га в год.

Искусственное выращивание грибов ведется давно, однако значительное увеличение их производства произошло в последние два десятилетия. Этому способствовали следующие факторы: появление высокопродуктивных штаммов грибов, повышение потребительского спроса, разработка новых интенсивных технологий производства, научное изучение питательных и целебных свойств данного продукта, а также обострение проблемы загрязнения окружающей среды [1; 8].

Цель настоящей работы – проанализировать данные литературы, описывающей биологические свойства и питательную ценность *P. ostreatus*, различные методы выращивания грибного мицелия.

Общая характеристика *P. ostreatus*

Плеврот черепичатый (вешенка обыкновенная, *Pleurotus ostreatus*) имеет шляпку 5–20 см в диаметре, мясистую, ухо-, ракушко- или лейкообразную, выпукло-распростертую, часто в центре вогнутую до лейкоподобной, эксцентричную, с тонким, позднее опущенным гладким краем, серо-коричневая, серо-желтая, темно-пепельно-серая, синевато-черноватая, беловатая, голая, влажная, с возрастом сухая [18]. Пластинки низко опускаются по ножке, с анастомозами, узкие, редкие, с ровным краем, белые, беловато-серые. Ножка 2–4×1,3 см, плотная, эксцентричная, изредка центральная или отсутствующая, в верхней части гладкая, внизу волосисто-щетинистая, белая, со временем коричневатая [11]. Мякоть белая, при разрезании на воздухе не изменяется, с приятным запахом и вкусом. Споровая масса белая. Споры 8–12×3–4 мкм, цилиндрические, удлинненно-яйцеобразные, гладкие, бесцветные. Растет в мае–январе в листовых, изредка хвойных лесах на пеньках и стволах деревьев большими группами. Хороший съедобный гриб лишь в молодом возрасте [15].

Характеристика методов производства мицелия

Большое значение для выращивания вешенки обыкновенной имеет производство мицелия. Урожай грибов зависит прежде всего от качества посадочного материала.

Поэтому заготовке и выращиванию доброкачественного мицелия придается большое значение [2]. Основные требования к мицелию (как и к посадочному материалу) следующие: высокая жизнеспособность, хорошие наследственные свойства – высокая урожайность и хорошие качества плодовых тел, устойчивость к заболеваниям, мицелий не должен быть заражен различными болезнями и поражен вредителями [14].

Классический способ получения мицелия начинается с прорастания спор грибной культуры или образования мицелия из стерильных «кусочков ткани» плодовых тел [16]. Для получения спор примерно через месяц после начала плодоношения собирают плодовые тела лучших сортов вешенки обыкновенной. Отобранные плодовые тела очищают кисточкой, а затем быстро обтирают ватой, смоченной 70 % раствором спирта. Конец ножки обрезают, плодовое тело укрепляют на подставках или держателях и помещают на дно стерильной чашки Петри, покрывая плодовое тело стерильным стеклянным колпаком. Можно обойтись и без стеклянного колпака, используя только чашки Петри [10]. Для этого ножку надо срезать почти до шляпки, шляпку положить на дно чашки и слегка накрыть крышечкой, предварительно обложив края чашки стерильной ватой, чтобы при прохождении воздуха через большие щели задерживалась пыль. В лаборатории при температуре сухого воздуха около +20 °С споры высыпаются на второй–третий день. В закрытых чашках Петри их можно хранить несколько месяцев [17]. Посев спор и последующее размножение мицелия производится на такие питательные среды как биосолод, дрожжевая мука, вытяжки из пшеничных зерен, картофелно-декстрозный агар, 2 и 8 % суслоагар, агар Лэмберта [3]. Среды разливают в стерильные чашки Петри или пробирки, которые закрывают стерильным ватным тампоном и автоклавируют. На остывшую питательную среду переносят споры из чашек Петри платиновой петлей. Пробирки или чашки Петри с посеянными спорами помещают в термостат с температурой +25...+27 °С.

Тканевой способ получения мицелия. Вегетативное размножение или так называемый тканевой способ выращивания мицелия в чистой культуре основан на способности гиф отдельной части мицелия разрастаться в благоприятных условиях среды. Способностью регенерировать обладают не только гифы мицелия, но и уплотненные гифы, образующие «ткани» плодовых тел. Вырезанные кусочки ложной ткани плодовых тел помещают на такие же агаризованные питательные среды, как и споры [20]. Прорастание спор или кусочков «ткани» визуально заметно на 8–10-й день инкубации в виде образования белого паутинистого мицелия. После появления мицелия температуру постепенно снижают до +20...+22 °С. Через 20–25 дней после посева на питательной среде мицелий хорошо разрастается [25]. На этом завершается первая стадия производства мицелия. Описанный выше процесс получения стерильного мицелия в пробирках обеспечивает грибоводческие хозяйства материалом для инокуляции больших емкостей, в которых на различных субстратах выращивают мицелий, непосредственно используемый для посадки в ящики или мешки с субстратом.

Получение «зернового» мицелия. Производство мицелия вешенки обыкновенной начинается с подготовки субстрата. Традиционной питательной средой для выращивания мицелия является зерно различных хлебных злаков [23]. Способ получения «зернового» мицелия заключается в следующем: к 10 кг зерна пшеницы или овса, ржи, проса добавляют 15 л воды; смесь варят в течение 15–20 минут на слабом огне. Воду после варки сливают через решето, зерно высушивают «поверхностно», затем добавляют 120 г гипса и 30 г мела. Эти добавки регулируют значение *pH* среды, выполняя роль буфера. Кроме того гипс предотвращает склеивание зерна, способствуя лучшей аэрации субстрата. Зерно засыпают в сосуды (банки, колбы). Субстрат должен зани-

мать не более 2/3 сосуда. Сосуды закрывают ватными пробками и автоклавируют. Стерилизацию субстрата проводят при температуре +121 °С и давлении 1 атм. в течение 1,5 ч. После автоклавирования значение *pH* среды должно быть 6,5–6,7. Субстрат охлаждают до температуры засева (ниже +30 °С). Засев производят «стерильным» основным мицелием, выращенным в пробирках на агаризованной среде [30]. Перед пересадкой пробирки слегка нагревают над пламенем газовой горелки. При подогревании среда отстает от стекла и соскальзывает к повернутому вниз отверстию пробирки в сосуд с субстратом. После посева мицелий, прорастая, пронизывает питательный субстрат в инкубационной камере при соответствующей контролируемой температуре и влажности. Оптимальной для роста мицелия является температура +22...+25 °С, повышение температуры до +35 °С уничтожает мицелий. Относительная влажность воздуха должна составлять 60 %.

Через 7–10 дней после посева мицелия на зерновой субстрат содержимое сосудов необходимо встряхивать. Это предотвращает склеивание зерна и ускоряет рост мицелия. Через 3–4 дня после посева или же после встряхивания может появиться инфекция, которая попадает при нарушении стерильности во время посева или при встряхивании (может произойти всасывание воздуха с болезнетворными микроорганизмами). Поэтому питательный субстрат следует систематически проверять на наличие инфекции. Через 3–4 недели после посева мицелий готов к употреблению.

До высева полностью проросший мицелий хранят в холодильнике или в холодильной камере при температуре +2 °С [27]. Метод получения мицелия на зерновом субстрате требует значительных затрат на оборудование и на квалифицированный персонал. Не всегда качество мицелия отвечает предъявляемым требованиям, то есть он не всегда стерильен, в некоторых случаях поражен плесневыми грибами.

Получение активного мицелия. В некоторых странах проводятся опыты по улучшению способов промышленных методов получения мицелия. На основании полученных данных создан способ с использованием активного мицелия. Он нашел применение при производстве грибницы различных видов рода *Pleurotus* [24]. Применение способа активного мицелия особенно рентабельно для небольших предприятий, которым приходится платить высокие цены за мицелий. Для производства активного мицелия используется субстрат Тилля [6]. Рекомендуется использовать в качестве субстрата солому пшеницы, смесь мелкой соломенной сечки и соломенного шрота в соотношении 1 : 1. Перед посадкой на эти субстраты мицелий измельчается с помощью обычной мельницы – дробилки. Для сокращения сроков проращивания мицелия часть пророщенного субстрата рекомендуется использовать как «грибницу» для последующей культуры [31]. Этот способ применен на специализированных предприятиях, где культивирование ведется в полиэтиленовых мешках, наполненных субстратом. После окончания фазы проращивания около 10 % содержимого с высококачественным мицелием вынимают и помещают в мешки для следующей культуры. Потом содержимое этих мешков смешивается с новым субстратом. Таким образом достигается соотношение мицелия и субстрата 1 : 9, что позволяет сократить сроки проращивания мицелия на 30 % [33]. Благодаря этому способу удается делать до пяти культурооборотов, используя часть пророщенного субстрата для последующей культуры, без снижения урожайности и поражения субстрата болезнями и вредителями. Описанный метод получения активного мицелия имеет такие преимущества:

– снижаются производственные расходы при замене относительно дорогого «зернового» мицелия активным мицелием; расход мицелия на одном производстве

уменьшается в 10 раз; кроме того, активный мицелий можно получить из активного мицелия, что также уменьшает затраты;

- сокращается первая стадия выращивания грибов за счет быстрого пронизывания субстрата активным мицелием;

- урожай созревает на неделю раньше, чем при использовании мицелия на зерновой основе; в качественном отношении он остается неизменным.

Активный мицелий можно хранить в закрытых мешках, как мицелий на зерне. Способ, разработанный О. Тиллем, способствовал значительному повышению урожайности. Согласно этому способу, субстрат приготавливают стерильно, посев и прорастание мицелия происходит в абсолютно стерильных условиях. Урожай грибов составляет более 40 % веса субстрата [4; 7]. Но для практики этот способ оказался очень дорогостоящим, так как он требует абсолютно стерильных условий работы, чего очень трудно достичь.

Ферментативный способ выращивания мицелия. Существует также ферментативный способ выращивания грибов. Субстрат Тилля при этом нагревают до +100 °С (частичная стерилизация), после чего высеваются особые термофильные микроорганизмы и благодаря дальнейшему контролируемому процессу ферментации в субстрате создается антибиотическое действие на микроорганизмы, конкурирующие с культивируемыми грибами [21]. В дальнейшем такой ферментативный субстрат можно обрабатывать в открытых нестерильных резервуарах. В ферментативном субстрате рост мицелия гриба ускоряется. Урожай составляет 25–30 % веса субстрата. Время созревания урожая меньше, чем при других способах. Ферментативный способ положен в основу нового метода получения мицелия [26]. При исследовании влияния ферментации на субстрат для мицелия было установлено следующее:

- после стерилизации последующая анаэробная ферментация с термофильными микроорганизмами исключает конкурирующую флору грибов в субстрате для мицелия, что дает возможность получать в больших количествах ферментированный мицелий;

- на автоклавированном субстрате наряду с мицелием культивируемого гриба могут расти споры и мицелий конкурирующих грибов, то есть до применения автоклавированного мицелия необходимо исследовать, не содержит ли он конкурирующих примесей;

- при посеве мицелия на автоклавированный и ферментативный субстрат он растет в обоих случаях, причем для увеличения скорости роста мицелия на ферментативном субстрате необходима интенсивная аэрация; быстрый рост мицелия способствует прекращению размножения грибов.

На основании этих опытов создан новый способ получения мицелия на зерновом, в некоторых случаях – и на других субстратах. Зерно хлебных злаков или другие субстраты после добавления гипса, извести и воды автоклавируют, нагревают или нагревают и варят при температуре +100 °С. Затем к субстрату добавляют измельченную солому или сено как естественные носители микроорганизмов, которые уничтожаются в процессе ферментации. После посева проводят полуанаэробную ферментацию в закрытых резервуарах при температуре +55...+60 °С в течение нескольких дней. Затем ферментативный субстрат охлаждают до температуры ниже +30 °С и засевают мицелием культуры гриба, который можно приготовить стерильным – классическим способом и «чистым» – по новому ферментативному способу [32]. Для дальнейшего роста мицелия необходима незначительная аэрация. Следует производить встряхивание субстрата для ускорения роста и разрыхления структуры. Быстрое прорастание мицелия на ферментативном субстрате позволяет повторять аналогичный процесс размножения

в течение небольшого периода времени и благодаря этому быстрее получать большее количество мицелия, чем известным классическим способом.

Улучшенные технологические возможности получения мицелия новым ферментативным способом способствуют рационализации и рентабельности, что обуславливает удешевление мицелия [34].

Выводы

Оптимальным является ферментативный способ, он и положен в основу нового метода получения мицелия. По сравнению с другими способами в этом случае время созревания урожая меньше. Интенсивное прораствание мицелия на ферментативном субстрате позволяет повторять аналогичный процесс размножения в течение небольшого периода времени и благодаря этому быстрее получать большее количество мицелия, чем известным классическим способом.

При выращивании посадочного материала метод получения активного мицелия имеет ряд преимуществ: снижаются производственные расходы при замене относительно дорогого «зернового» мицелия активным мицелием; расход мицелия на одном производстве уменьшается в 10 раз; кроме того, активный мицелий можно получить из активного мицелия, что также уменьшает затраты. Но для практики этот способ оказался очень дорогостоящим, так как он требует абсолютно стерильных условий работы, чего очень трудно достичь.

Библиографические ссылки

1. **Бисько Н. А.** Атлас возбудителей болезней и вредителей съедобных грибов при культивировании / Н. А. Бисько, В. Т. Билай. – Чернигов : Центр поддержки грибоводства, 2005. – 27 с.
2. **Бисько Н. А.** Выращивание съедобных грибов (рекомендации по выращиванию шампиньонов, вешенки) / Н. А. Бисько, В. Т. Билай, Н. Ю. Митропольская. – К. : Знание, 2000. – 42 с.
3. **Бисько Н. А.** Лекарственные грибы – для здоровья и красоты / Н. Ю. Митропольская, Э. Ф. Соломко. – К. : Наукова думка, 2003. – 40 с.
4. **Ботаника.** Водоросли и грибы / И. Ю. Костиков, В. В. Джаган, Е. М. Демченко и др. – К. : Аристей, 2006. – С. 225–442.
5. **Бухало А. С.** Каталог колекції культур шапинкових грибів / А. С. Бухало, Н. Ю. Митропольська, О. Б. Михайлова. – К. : Славутич-Дельфін, 2006. – 36 с.
6. **Бухало А. С.** Культивирование съедобных и лекарственных грибов / А. С. Бухало, Н. А. Бисько, Э. Ф. Соломко. – К. : Урожай, 2004. – 128 с.
7. **Вассер С. П.** Флора грибов Украины. Базидиомицеты. Аманитальные грибы. – К. : Наукова думка, 1992. – 167 с.
8. **Гарибова Л. В.** Выращивание грибов. – К. : Вече, 2005. – 96 с.
9. **Дудка І. О.** Гриби природних зон Криму / І. О. Дудка, В. П. Гелюта, Ю. Я. Тихоненко. – К. : Фітосоціоцентр, 2004. – 454 с.
10. **Ендодітна** мікрофлора зерна пшениці та її взаємодія з фітопатогенними бактеріями / Р. І. Гвоздяк, Л. В. Кабашна, А. А. Пасічник, Е. А. Макарчук // Доповіді НАН України. – 2001. – № 1. – С. 173–177.
11. **Карпов Ф. Ф.** Выращиваем грибы на садовом участке. – М. : Фитон+, 2008. – 64 с.
12. **Коваль Е. З.** Флора грибів України. Зигоміцети. Ентомофторальні гриби / Е. З. Коваль, І. А. Дудка. – К. : Фітосоціоцентр, 2007. – 370 с.
13. **Морозов А. И.** Грибы: руководство по разведению. – Донецк : Сталкер, 2000. – 304 с.
14. **Морозов А. И.** Выращивание вешенки. – Донецк : Сталкер, 2001. – 48 с.
15. **Морозов А. И.** Разведение грибов. Мицелий / А. И. Морозов, А. А. Тимофеев. – М. : АСТ, 2001. – 43 с.
16. **Морозов А. И.** Лекарственные грибы. – Донецк : Сталкер, 2003. – 207 с.

17. **Раптунович Е. С.** Искусственное выращивание съедобных грибов / Е. С. Раптунович, И. И. Федоров. – Минск : Вышэйшая школа, 1994. – 206 с.
18. **Сафрай А. И.** Производство мицелия в России // Школа грибоводства. – 2000. – № 1. – С. 2–5.
19. **Сафрай А. И.** Производство мицелия в России // Школа грибоводства. – 2000. – № 3. – С. 20–24.
20. **Сычев П. А.** Экзофизиология высших грибов. – Донецк : Кассиопа, 2000. – 276 с.
21. **Тищенко А. Д.** Выращивание вешенки в агрокомбинате Пуща-Водица // Школа грибоводства. – 2003. – № 6. – С. 7–11.
22. **Тищенко А. Д.** Краткий обзор производства вешенки в России / Школа грибоводства. – 2003. – № 5. – С. 15–18.
23. **A higher level phylogenetic classification of the fungi** / D. S. Hibbett, J. H. Bischoff, M. Binder et al. // *Mycological Research*. – 2007. – Vol. 111, N 5. – P. 509–547.
24. **Ainsworth and Bisbys Dictionary of the Fungi** / P. M. Kirk, P. F. Cannon, J. C. David et al. – 9th ed. – Egham : CABI Bioscience, 2005. – 624 p.
25. **Buchalo A. S.** Catalogue of the Culture Collection of Mushrooms / A. S. Buchalo, N. Y. Mitropolskaya. – K. : Osnova, 2001. – 32 p.
26. **Carlile M. J.** The Fungi / M. J. Carlile, S. C. Watkinson, G. W. Gooday. – 2th ed. – New York : Acad. Press, 2001. – 588 p.
27. **Deacon J. W.** Fungal Biology. – 4th ed. – Edinburgh : Blackwell Publishing Ltd., 2006. – 380 p.
28. **Fungi of Ukraine. A Preliminary Checklist** / T. V. Andrianova, I. O. Dudka, V. P. Hayova et al. – K. : Egham International Mycological Institute, 1996. – 361 p.
29. **Introduction to Fungi** / J. Webster, R. Weber. – 3rd ed. – Edinburgh : Cambridge University Press, 2007. – 863 p.
30. **Minter D. W.** Mycology in Ukraine / D. W. Minter, I. O. Dudka, T. V. Andrianova et al. – CD : PDMS Publishing, 2003. – 826 p.
31. **The Deuteromycetes (Mitosporic Fungi): Classification and Generic Keys** / E. Kiffer, M. Morelet. – New York : Science Publishers Inc, 2000. – 300 p.
32. **The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research)**. – New York : Acad. Press, 2001. – Vol. 7, part A, B. – P. 258–365.
33. **The new higher level classification of Eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists** / S. M. Ald, A. B. Simpson et al. // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2005. – Vol. 52, N 5. – P. 399–451.
34. **Wasser S. P.** Shiitake (*Lentinus edodes*) // *Encyclopedia of Dietary Supplements*. – New York : Marcel Dekker, 2005. – P. 653–664.

Надійшла до редколегії 18.03.2010

УДК 581.132:577.152.1

Д. Р. Алиева, Г. Г. Бабаев, И. В. Азизов

Институт ботаники НАН Азербайджана, Баку

АКТИВНОСТЬ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ ПЕРОКСИДАЗЫ КЛЕТОК *DUNALIELLA SALINA* ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Исследовано влияние повышения концентрации *NaCl* (0,5–4,0 М) на образование пролина и активность свободной пероксидазы клеток зеленой водоросли *Dunaliella salina*. Устойчивость клеток водоросли к действию *NaCl* определяется функционированием комплекса метаболических реакций, включающих как необходимый компонент стресс-индуцируемую аккумуляцию пролина, так и высокую активность свободной пероксидазы. Полученные данные свидетельствуют о глубокой перестройке метаболических процессов в клетках водоросли в процессе адаптации к условиям засоления.

Д. Р. Алиева, Г. Г. Бабаев, И. В. Азизов

Институт ботаники НАН Азербайджану, Баку

АКТИВНІСТЬ ТА ІЗОФЕРМЕНТНИЙ СКЛАД ПЕРОКСИДАЗИ КЛІТИН *DUNALIELLA SALINA* ПРИ СОЛЬОВОМУ СТРЕСІ

Досліджено вплив підвищення концентрації *NaCl* (0,5–4,0 М) на утворення проліну та активність вільної пероксидази клітин зеленої водорості *Dunaliella salina*. Виявлено, що стійкість клітин водорості до дії *NaCl* визначається функціонуванням комплексу метаболічних реакцій, що включають як необхідний компонент стрес-індуковальну акумуляцію проліну, так і високу активність вільної пероксидази. Отримані дані свідчать про глибоку перебудову метаболічних процесів у клітинах водорості у процесі адаптації до умов засолення.

D. R. Aliyeva, H. G. Babayev, I. V. Azizov

Institute of Botany of Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan

ACTIVITY AND ISOFORM CONTENT OF PEROXIDASE IN *DUNALIELLA SALINA* CELLS UNDER SALT STRESS

The effect of elevated *NaCl* concentrations (0.5–4.0 M) on the proline content and activity of free peroxidase in green alga *Dunaliella salina* have been investigated. It was revealed that the tolerance of the alga to *NaCl* effect was determined by the functioning of the complex of metabolic reactions including both the necessary stress-induced accumulation of proline and high activity of the free peroxidase. The obtained data demonstrate testify to a deep reorganization of metabolic processes, occurring in alga cells during the adaptation to elevated salinity conditions.

Введение

В процессе эволюции растения выработали механизмы адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды. Способность растительных клеток и организмов реагировать соответствующим образом на внешние воздействия является необходимым компонентом существования и приспособления к условиям окружающей среды. Особая роль в протекторно-адаптивных механизмах отводится азотистым соединени-

ям, в частности, пулу свободных аминокислот. Универсальным органическим протекторным соединением в растительном мире является пролин, который выступает в качестве осмолита, антиоксиданта и регулятора экспрессии генов осмотического ответа [11; 18]. Пролин в условиях солевого стресса не только снижает осмотический потенциал, но и уменьшает вредное воздействие $NaCl$ [13]. О накоплении пролина в люцерне, листьях ячменя и пшенице в ответ на солевой стресс было ранее сообщено [8; 19]. Существует мнение о том, что пролин играет бифункциональную роль в адаптации к стрессу: на свету – в качестве осмопротектора и в темноте как субстрат, снабжающий энергией, необходимой для накопления ионов в вакуоли [7; 19].

Полученные к настоящему времени данные показывают, что устойчивость растительных организмов к разнообразным воздействиям во многом определяется состоянием систем детоксикации АФК. Среди ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту растений, важную роль играет пероксидаза (ПО, КФ 1.11.1.7), отвечающая за регуляцию концентрации H_2O_2 и органических пероксидов в клетках [14]. Пероксидаза является одним из маркерных ферментов и практически первой активируется в ответ на стресс. Этот фермент локализуется в разных органоидах растительной клетки [2; 15]. Это предполагает дифференциальное вовлечение его изоформ в защитные системы растений. Изучение поведения энзиматического аппарата *D. salina* в различных условиях осмотического давления, несомненно, представляет общебиологический интерес.

Цель настоящей работы – выявить механизмы адаптации клеток зеленой водоросли *Dunaliella salina* к повышенной концентрации $NaCl$ и определить защитную роль пероксидазы в этом процессе.

Материал и методы исследований

Объект исследования – одноклеточная зеленая водоросль *Dunaliella salina* (Volvocales, Chlorophyceae). Водоросли выращивали в плоскодонных колбах на качалке в жидкой питательной среде при круглосуточном освещении 20 Вт/м^2 и температуре воздуха $23,1 \text{ }^\circ\text{C}$, pH среды доводили до $7,3\text{--}7,5$ с помощью $0,1 \text{ M NaOH}$. Клетки выращивали в среде, содержащей $0,5 \text{ M NaCl}$, затем их переносили в среду, содержащую $1, 2, 3$ и 4 M NaCl , соответственно.

Экстракцию и определение свободного пролина проводили по методу Bates и др. [4]. Оптическую плотность пролина определяли спектрофотометрически при длине волны 520 нм . В качестве контроля использовали толуол. Калибровочную кривую строили по кристаллическому пролину.

Экстракцию и определение активности гваякол-специфичной пероксидазы проводили по методу [10]. Активность ПО определяли спектрофотометрически по увеличению оптической плотности при длине волны 470 нм в результате окисления гваякола ($E = 26,6 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$) в присутствии перекиси водорода.

Качественное изменение активности ПО исследовали путем электрофореза в нативном полиакриламидном геле (ПААГ) по методу Лаеммли [12] с некоторыми модификациями. Для окрашивания линий пероксидазы использовали бензидиновый реактив.

Количество клеток в суспензии определяли прямым подсчетом числа клеток под микроскопом в счетной камере Горяева. Содержание белка в ферментном экстракте определяли по методу Лоури [21]. В качестве стандарта использовали БСА («SERVA», Германия). Данные по определению содержания пролина и ферментативной активности пероксидазы представлены как средние арифметические и их стандартные отклонения из двух независимых опытов, выполненных в трех биологических повторностях.

Результаты и их обсуждение

При изучении механизмов индукции и поддержания стрессоустойчивости к абиотическим факторам у растений особый интерес вызывает роль пролина в этих процессах. Это связано с тем, что содержание свободного пролина в растительных клетках многократно возрастает в ответ на различные стрессорные факторы. На рисунке 1 представлено содержание свободного пролина, измеренное на седьмые сутки после стресса.

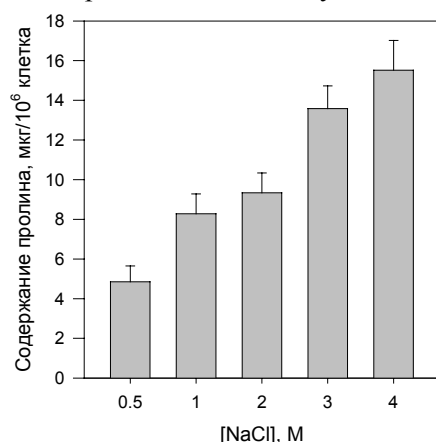


Рис. 1. Содержание свободного пролина в клетках *D. salina* при действии различных концентраций *NaCl*.

Содержание пролина в клетках *D. salina* увеличивается с повышением концентрации *NaCl* в среде. При культивировании клеток в нормальных условиях (0,5 М) уровень свободного пролина соответствовал $4,85 \pm 0,62 \mu\text{kg}/10^6$ клеток, что меньше значений в стрессовых условиях. Уровень пролина у клеток, культивируемых при 4 М *NaCl* выше, чем у контрольных, в 3 раза и составляет $15,52 \pm 0,81 \mu\text{kg}/10^6$ клеток. Сверхвысокая аккумуляция пролина является особенностью данного вида, и, как показано, действительно определяет его экстремальную устойчивость к высоким концентрациям соли [16]. Эти данные согласуются с результатами, полученными другими авторами [3; 5]. Известно, что выживание растения при стрессе часто определяется скоростью включения защитных механизмов. Если растение уже содержит некоторое дополнительное количество защитного агента широкого спектра действия – пролина, то это может придать дополнительную устойчивость клеточным системам, отвечающим за стресс: например, защитить базовые ферменты транскрипции и трансляции от ингибирования и обеспечить первичный синтез стрессовых белков.

На основе полученных данных можно заключить, что повышение содержания пролина при солевом стрессе можно считать одним из основных механизмов проявления устойчивости водорослей к засолению.

Свободный пролин обладает полуфункциональным биологическим действием при стрессе, проявляя наряду с другими защитными свойствами способность к осморегуляции и детоксикации АФК [18]. В литературе имеются данные о том, что растения, обладающие высокой активностью пероксидазы и способностью интенсивной аккумуляции пролина, могут адаптироваться к солевому шоку [20]. Результаты определения пероксидазной активности из экстрактов *D. salina* представлены на рисунке 2. При повышении концентрации *NaCl* в культивируемой среде активность ПО в клетках *D. salina* увеличивалась и достигала максимума при 3 М. Суммарная активность ПО была в 1,6 раза выше по сравнению с контролем (0,5 М). Аккумуляция пролина и высокая ак-

тивность пероксидазы у *D. salina* могут быть обусловлены ее участием в процессах лигнификации, приводящих к укреплению клеточной стенки. Известно, что гваяколпероксидаза участвует в метаболизме фенольных соединений и биосинтезе лигнина. Поэтому ее активация в клетках *D. salina* при высоких концентрациях соли могла быть как результатом включения антиоксидантной защиты, так и неспецифической реакцией на стресс, связанной с укреплением клеточных стенок [17; 23]. Современные литературные данные говорят о существовании корреляции между пероксидазной активностью и толерантностью к водным и солевым стрессам [9; 22]. *NaCl*-зависимая стимулирующая активности пероксидазы отмечена в пустынном растении *Pancreatium maritimum* [20], в листьях нута *Pisum sativum* [24], в семенах риса *Oryza sativa* [14].

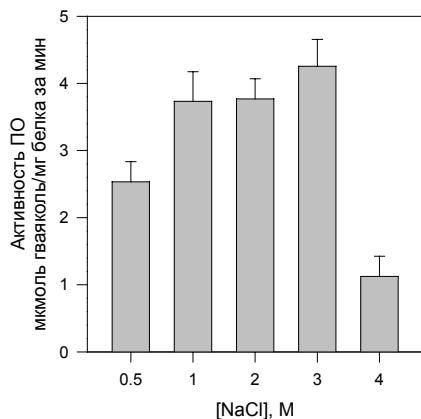


Рис. 2. Изменение активности пероксидазы клеток *D. salina*, выращенных в условиях различной концентрации *NaCl*.

Изучая действие экзогенного пролина на рост корней риса, культивируемых в среде, содержащей *NaCl*, Лин и Као, наблюдали увеличение активности пероксидазы [14]. Экзогенный пролин уменьшает рост корней риса, степень ингибирования растет с увеличением концентрации пролина от 1 до 4 мМ. Предполагается, что пролин индуцирует пероксидазу, связанную клеточной стенкой, которая приводит к увеличению синтеза лигнина, вследствие чего клеточная стенка становится жесткой. Изменение структуры клеточной стенки в процессе адаптации к повышенным концентрациям солей связано с изменением гена, кодирующего пероксидазу.

Активность пероксидазы возрастает при многих изменениях и нарушениях метаболизма растений, а некоторые изоформы ее в ответ на стресс синтезируются *de novo*. Исследование изоферментного состава пероксидазы позволило выявить 3 изоформы у *D. salina* (рис. 3). Только изоформа ПО1 присутствовала постоянно в ходе всего эксперимента. Кроме конститутивной изоформы ПО1, при электрофорезе выявлены изоформы ПО2 и ПО3, однако их экспрессия значительно различалась.

Самое интенсивное накопление изоформ пероксидазы наблюдается при 3,0 М *NaCl*. Это согласуется с данными, полученными с помощью спектрофотометрического анализа. Дальнейшее увеличение концентрации *NaCl* приводит к снижению активности этого фермента. Увеличение активности фермента может быть вызвано синтезом новых изоферментов ПО или накоплением соединений, являющихся субстратами фермента, индуцирующих его синтез. Однако высокие концентрации субстратов ПО могут ингибировать фермент, способствуя, таким образом, увеличению концентрации H_2O_2 в клетках [1]. 2,0 и 3,0 М *NaCl* усиливал экспрессию изоформ ПО2 и ПО3.

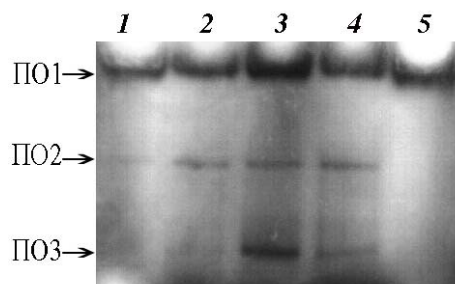


Рис. 3. Электрофоретические спектры пероксидазы клеток *D. salina*, выращенных в условиях различной концентрации NaCl:
 1 – 0,5 М NaCl, 2 – 1,0 М NaCl, 3 – 2,0 М NaCl, 4 – 3,0 М NaCl, 5 – 4,0 М NaCl.

Этот факт позволяет пролить свет на функции, выполняемые отдельными изоформами фермента, кодируемые определенными генами. Jang с соавторами [6] показали связь между изоферментным составом пероксидазы и участием генов ПО в формировании защитного механизма картофеля при инфицировании *Pectobacterium chrysanthemi*. Несмотря на различие в уровне экспрессии, индукция транскриптов ПО после инокуляции патогеном свидетельствует о том, что усиление экспрессии генов пероксидазы может быть механизмом, участвующим в приобретении растением устойчивости к последующим атакам патогена. Авторы пришли к выводу, что стресс, вызванный проникновением патогена, оказывает существенное влияние на экспрессию генов пероксидазы.

Выводы

Способность клеток водоросли аккумулировать неорганические ионы и синтезировать совместимые осмолиты в ответ на действие избыточного засоления может рассматриваться в качестве одного из важных критериев их высокого адаптивного потенциала. Полученные данные свидетельствуют о том, что устойчивость *D. salina* к действию NaCl определяется функционированием комплекса метаболических реакций, включающих как необходимый компонент стресс-индуцируемую аккумуляцию пролина, так и высокую активность свободной пероксидазы.

Библиографические ссылки

1. Андреева В. А. Фермент пероксидаза. – М. : Наука, 1988. – 128 с.
2. Троицкая Л. А. Характеристика пероксидазы каллусной ткани *Rauvolfia serpentina* Benth / Л. А. Троицкая, А. Мала, В. П. Комов // Растит. ресурсы. – 2000. – № 4. – С. 105–109.
3. Aghaleh M. Effect of salinity on some physiological and biochemical parameters in explants of two cultivars of soybean (*Glycine max* L.) / M. Aghaleh, V. Niknam // J. of Phytology. – 2009. – Vol. 1. – P. 86–94.
4. Bates L. S. Rapid estimation of free proline for water stress determination / L. S. Bates, R. P. Wadern, I. D. Teare // Plant Soil. – 1973. – Vol. 39. – P. 205–207.
5. Biochemical effects of different salinities and luminance on green microalgae *Tetraselmis chuii* / F. Chezlbash, T. Farboodnia, R. Heidari, N. Agh // Res. J. of Biol. Sci. – 2008. – Vol. 2. – P. 217–221.
6. Differential expression of 10 sweet potato peroxidase genes in response to bacterial pathogen, *Pectobacterium chrysanthemi* / I. C. Jang, S. Y. Park, S. Y. Kwon et al. // Plant Physiol. Biochem. – 2004. – Vol. 42. – P. 451–455.

7. **Does proline** accumulation play an active role in stress induced growth reduction? / A. Maggio, S. Miyazaki, P. Veronise et al. // *Plant J.* – 2002. – Vol. 31. – P. 699–712.
8. **Growth**, ion content and proline accumulation in *NaCl* selected and non-selected cell lines of lucerne cultured on sodium and potassium salts / M. T. Chambary, M. J. Merret, S. J. Wamwright // *Plant Sci.* – 1997. – Vol. 127. – P. 71–79.
9. **Hamilton E. W.** Mitochondrial adaptation to *NaCl*. Complex I is protected by antioxidant and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betaine / E. W. Hamilton, S. A. Hec-kathorn // *Plant Physiol.* – 2001. – Vol. 126. – P. 1266–1274.
10. **Hydrogen peroxide** protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes / T. Gechev, I. Gadjiev, E. van Breusagem et al. // *Cell Mol. Life Sci.* – 2002. – Vol. 59. – P. 708–714.
11. **Iyer S.** Products of proline catabolism can induce osmotically regulated genes in rice / S. Iyer, A. Caplan // *Plant Physiol.* – 1998. – Vol. 116. – P. 203–211.
12. **Laemmli U. K.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – Vol. 227. – P. 680–685.
13. **Light-dependent** induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis* / E. Abraham, G. Rigo, G. Szekely et al. // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 51. – P. 363–372.
14. **Lin C. C.** Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and *NaCl* inhibited root growth of rice seedlings / C. C. Lin, C. H. Kao // *Plant and Soil.* – 2001. – Vol. 230. – P. 135–143.
15. **Mensen R.** Elicitor-induced changes of wall-bound and secreted peroxidase activities in suspension-cultured spruce (*Picea abies*) cells are attenuated by auxins / R. Mensen, A. Hager, P. Salzir // *Physiol. Plant.* – 1998. – Vol. 102. – P. 539–546.
16. **Mishra A.** Physiological characterization and stress-induced metabolic responses of *Dunaliella salina* isolated from salt pan / A. Mishra, A. Mandoli, J. Bhavanath // *J. of Indust. Microbiol. and Biotech.* – 2008. – Vol. 35. – P. 1093–1101.
17. **Mittler R.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* – 2002. – Vol. 7. – P. 405–409.
18. **Molecular** mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants / J. Matysik, Alia B. Bhalu, P. Mohanty // *Current Science.* – 2002. – Vol. 82, N 5. – P. 525–532.
19. **Novel** light-dark change of proline levels in halophyte (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) and glycophytes (*Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L.) leaves and roots under salt stress / Y. Sannada, H. Ueda, K. Kuribayashi et al. // *Plant Cell Physiol.* – 1995. – Vol. 36, N 6. – P. 965–969.
20. **Proline** induces the expression of salt stress responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreatum maritimum* L. to salt-stress / A. H. A. Khedr, M. A. Abbas, A. A. A. Wahid et al. // *J. of Exp. Botany.* – 2003. – Vol. 54, N 392. – P. 2553–2562.
21. **Protein** measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Roserbrough, A. J. Farr, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.
22. **Response** of cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersion pennelli* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidative system / A. Shalata, V. Mittova, M. Volokita et al. // *Physiol. Plantarum.* – 2001. – Vol. 122. – P. 487–494.
23. **Takahama U.** Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions / U. Takahama, T. Oniki // *J. Plant Res.* – 2000. – Vol. 113. – P. 301–309.
24. **Tolerance** of pea (*Pisum sativum* L.) to long term salt-stress is associated with induction of antioxidant defences / J. A. Hernandez, P. Jimenez, P. Mullineaux, F. Sevilla // *Plant, Cell and Environment.* – 2000. – Vol. 23. – P. 853–862.

Надійшла до редакції 18.07.2010

УДК 582.28:581.552

С. И. Алиева

Бакинский государственный университет, Азербайджан

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЭПИФИТНЫХ ДРОЖЖЕВЫХ СООБЩЕСТВ БИОГЕОЦЕНОЗОВ АЗЕРБАЙДЖАНА

Обобщены результаты многолетних исследований численности и видового состава дрожжевых грибов филлосферы (эпифитные дрожжевые грибы) растений северных, южных и субтропических районов Азербайджана. Численность и разнообразие дрожжевых сообществ закономерно уменьшаются в разных субстратах, соответствующих стадиям развития растений. Для каждой стадии характерен свой набор доминирующих видов. Дрожжевому населению лесных биогеоценозов присуще высокое разнообразие по сравнению с другими биогеоценозами. Из филлосферы и сопряженных субстратов выделено 48 видов дрожжей, из которых 35 идентифицированы по морфологическим и физиологическим признакам. Большую часть из них составили минорные виды, встречаемость которых не превышала 0,5 % от общего числа выделенных дрожжевых грибов. К постоянным обитателям филлосферы относятся около 25 видов (более 90 % от общей численности дрожжевого населения).

С. І. Алієва

Бакинський державний університет, Азербайджан

ВИДОВЕ РІЗНОМАНІТТЯ ЕПІФІТНИХ ДРІЖДЖОВИХ УГРУПОВАНЬ БІОГЕОЦЕНОЗІВ АЗЕРБАЙДЖАНУ

Узагальнено результати багаторічних досліджень чисельності та видового складу дріжджових грибів філосфери (епіфітні дріжджові гриби) рослин північних, південних і субтропічних районів Азербайджану. Чисельність і різноманіття дріжджових угруповань закономерно зменшуються в різних субстратах, що відповідають стадіям розвитку рослин. Для кожної стадії характерний свій набір домінуючих видів. Дріжджовому населенню лісових біогеоценозів властиве високе різноманіття порівняно з іншими біогеоценозами. З філосфери та інших субстратів виділено 48 видів дріжджів, з яких 35 ідентифіковано за морфологічними та фізіологічними ознаками. Більшу частину з них склали мінорні види, зустрічальність яких не перевищувала 0,5 % від загальної кількості виділених дріжджових грибів. До постійних мешканців філосфери належать близько 25 видів (понад 90 % від загальної чисельності дріжджового населення).

S. I. Aliyeva

SPECIES DIVERSITY OF EPIGENOUS YEAST COMMUNITIES OF BIOGEOCENOSES IN AZERBAIJAN

Baku State University, Azerbaijan

The results of the long term research on the number and the species composition of the phyllosphere's yeasts (epigenous yeasts) of the plants in the northern, southern and subtropical regions of the Republic of Azerbaijan have been generalized. The obtained results show that the number and diversity of the yeast communities naturally decrease in different substrates, which correspond to different stages of the plants development. A set of dominant species is characteristic for each stage of the development. High yeast diversity is peculiar to forest biogeocenosis rather than other ones. We identified 48 types of yeasts in phyllosphere and associated substances, 35 of which we were able to identify by morphological and

physiological characteristics. Most of the identified yeasts were minor species, whose occurrence did not exceed 0.5% of the total specified yeasts. The results show that only 25 species of yeasts are permanent habitants of phyllosphere and altogether they account for 90 % of the total yeast population.

Введение

Филлосфера представляет собой достаточно гетерогенную среду обитания. Это выражается в неравномерном распределении основного питания эпифитно-растительных экссудатов на поверхности листа, микроклиматических условий листьев разных растений. В связи с этим многие виды эпифитных дрожжей выработали в ходе эволюции комплекс адаптивных признаков. По наличию таких признаков среди дрожжей предложено выделить в особую жизненную форму фитобионтов [2; 3].

Предположения о специфике дрожжевого сообщества разных видов растений были высказаны уже в 1960-х годах [4; 5]. Однако достоверных данных, подтверждающих такие предположения, из-за огромной пространственной и временной вариабельности состава дрожжевых сообществ до сих пор получить не удалось.

Со временем стало известно, что достоверное различие в таксономической структуре филлосферы разных видов растений возможно показать, лишь анализируя листья всего периода вегетации, с небольшими интервалами (3–5 дней), начиная от почек и заканчивая подстилкой [15]. Такое исследование впервые проведено Глушаковой и Родновым [6]. Отдельные исследования численности и видового состава эпифитных дрожжей достаточно многочисленны [3; 5; 6; 9; 10; 13; 14; 16]. В Республике Азербайджан до сих пор не было проведено исследований в этой области. Лишь в последние годы сотрудниками кафедры микробиологии биологического факультета Бакинского государственного университета проведены серии исследований, посвященных этому вопросу.

Материал и методы исследований

Для исследования выбраны следующие типы биогеоценозов: широко распространенные леса Апшерона с серо-бурой почвой, смешанные леса Ленкоранской области на подзолистой почве (дуб, железное дерево, олива, смородина Биберштейна, смородина восточная, крапива и др.), разнотравье на перегнойно-глеевой почве. Всего исследовано более 300 образцов растений, что позволило количественно оценить распределение доминирующих видов, используя показатели встречаемости, долю образцов, в которых обнаружен данный вид от общего количества исследованных образцов. Для обсуждения отобраны лишь статистически достоверные результаты при уровне значимости не более 0,05.

Объектами исследований служили дрожжи, выделенные из филлосферы исследованных растений. Сбор материала произведен в течение года 3–5 раз в неделю. Материалы в этот же день обрабатывали, посев осуществляли на сусло-агар подкисленный лимонной кислотой (4 %). Видовое и родовое определение проводили на основе определителей дрожжевых грибов [11; 12].

Результаты и их обсуждение

Наиболее часто в филлосфере обнаруживаются *Cryptococcus albidus* – эврибионт анаморфный из клады филобазидиевых с высокой, но непрерывной изменчивостью. Он обнаружен в четвертой части всех проанализированных образцов. Как общее разнобразие, так и относительное обилие отдельных видов эпифитных дрожжевых грибов существенно изменялись в течение года (табл. 1).

Таблица 1

**Распространенность дрожжевых грибов,
выделенных из филлосферы исследованных растений Азербайджана**

№	Виды	Встречаемость, %	Средняя доля от общей численности, %	Вероятность доминирования, %
1	<i>Ardiozyma telluris</i>	1,06	0,640	0,72
2	<i>Blastobotrys sp.</i>	0,25	0,079	0,16
3	<i>Bullera sp.</i>	0,09	0,023	0,03
4	<i>Candida oregonensis</i>	0,36	0,353	0,36
5	<i>C. parapsilosus</i>	0,06	0,057	0,06
6	<i>C. saitona</i>	0,01	0,001	0,00
7	<i>C. oleophila</i>	6,39	5,711	4,25
8	<i>C. sp. 1</i>	0,03	0,006	0,00
9	<i>C. sp. 2</i>	0,01	0,001	0,00
10	<i>C. sp. 3</i>	0,04	0,001	0,00
11	<i>C. sp. 4</i>	0,01	0,001	0,00
12	<i>C. sp. 5</i>	0,01	0,002	0,01
13	<i>C. zeylanoidis</i>	6,47	3,891	4,98
14	<i>Cryptococcus albidus sensulata</i>	0,93	0,386	0,51
15	<i>C. albidus sensu stricta</i>	4,82	2,710	3,50
16	<i>C. flavus</i>	0,47	0,067	0,04
17	<i>C. laurentii</i>	0,56	0,162	0,24
18	<i>C. macerans</i>	0,99	0,627	0,82
19	<i>C. podzolicus</i>	0,99	0,627	0,82
20	<i>C. sp. 1</i>	0,10	0,074	0,10
21	<i>C. sp. 2</i>	0,06	0,014	0,03
22	<i>C. ferricola</i>	0,99	0,468	0,64
23	<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	3,12	0,725	0,86
24	<i>C. sp.</i>	0,03	0,029	0,03
25	<i>Debaryomyces hansenii</i>	7,87	4,672	5,42
26	<i>Hanseniospora guillermondii</i>	1,19	0,586	0,66
27	<i>Leucosporidium secottii</i>	1,26	0,508	0,63
28	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	3,63	1,745	2,02
29	<i>M. reucukaufii</i>	3,88	1,891	2,06
30	<i>M. sp.</i>	0,06	0,056	0,06
31	<i>Mrakia frigida</i>	0,03	0,002	0,00
32	<i>Nadsonia elangata</i>	0,01	0,014	0,01
33	<i>Pichia membranaefaciens</i>	0,11	0,050	0,06
34	<i>P. sp.</i>	0,07	0,031	0,04
35	<i>Rhodotorula fujisanensis</i>	1,06	0,411	0,47
36	<i>Rh. glutinis</i>	34,02	13,392	17,34
37	<i>Rh. graminis</i>	0,21	0,032	0,06
38	<i>Rh. minuta</i>	2,22	0,694	0,77
39	<i>Rh. mucilaginoso</i>	6,35	1,944	2,36
40	<i>Rh. sp. 1</i>	0,06	0,019	0,03
41	<i>Sporobolomyces roseus</i>	0,63	0,386	0,46
42	<i>Sacharomyces paradoxus</i>	9,37	3,042	3,53
43	<i>Sporobolomyces roseus</i>	0,60	0,245	0,46
44	<i>Torulaspota delbrueckii</i>	0,50	0,253	0,29
45	<i>Trichosporon pullulans</i>	0,57	0,185	0,19

Так как в течение всего периода исследований анализировали достаточно стандартные образцы растительных субстратов, которые составляли в среднем 0,1–5,5 г материала, для оценки разнообразия эпифитного дрожжевого населения можно использовать такой показатель как среднее число видов в образце. В среднем число ви-

дов дрожжей в одном образце листьев разных растений не превышает 3–4. Однако в течение года наблюдается закономерное изменение разнообразия, которое наиболее наглядно проявляется при сравнении не среднего, а максимального числа видов за месяц. Число видов дрожжей, которое удастся обнаружить в образце растительных субстратов, выше осенью и минимально весной (рис. 1), когда поверхностные экссудаты либо еще выделяются в недостаточном количестве (на молодых листьях), либо уже перестают выделяться (в перезимовавшей практически полностью разложившейся подстилке).

Представляет интерес анализ зависимости видового разнообразия и общего обилия в сообществах эпифитных дрожжей. В ходе работ для сообществ различных организмов продемонстрирована отрицательная связь между этими показателями [5]. Подобное явление обычно интерпретируется как усиление межвидовой конкуренции при росте общей численности.

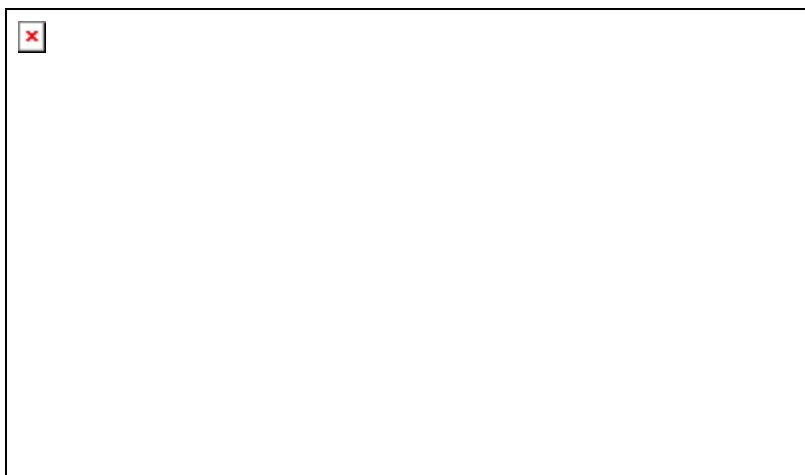


Рис. 1. Связь общей численности и числа видов эпифитных дрожжей:

○ – среднее, □ – среднее квадратическое отклонение, — — — — пределы колебаний

В случае эпифитных дрожжевых сообществ обнаруживается достаточно четкая зависимость между разнообразием и общей численностью, которая описывается колоколообразной кривой (рис. 2). В весенний период наблюдается самая низкая численность эпифитных дрожжей, разнообразие их также минимально: не более одного–двух видов в образце. Далее закономерное сезонное возрастание численности до 10^5 КОЕ/г сопровождается и одновременным подъемом разнообразия в сообществе эпифитных дрожжевых грибов. Но затем, хотя численность по-прежнему продолжает расти до 10^6 – 10^7 КОЕ/г, количество видов вновь снижается, начиная с осеннего периода и заканчивая будущей весной. Оно практически возвращается к своему первоначальному значению в начале сезона. Когда численность эпифитных дрожжевых грибов достигает фактически своего предельного значения (10^7 – 10^8 КОЕ/г), разнообразие дрожжевых грибов минимально. Как правило, при этом в филлосфере начинает резко доминировать один вид базидиомицетового аффинитета из рода *Cryptococcus*, *Cystophilobasidium* или *Sporobolomyces*.

Не исключено, что отрицательная связь численности и разнообразия дрожжей при высоких плотностях (более 10^6 КОЕ/г) действительно является результатом межвидовой конкуренции. Положительная связь наблюдается при крайне низких плотностях заселения листьев (до 10^4 КОЕ/г). При микроколониальном распределении дрож-

жей и такой низкой общей плотности очень трудно представить себе конкурентное взаимодействие между видами. Следовательно, любое улучшение условий, например, увеличение количества экссудатов, приводит к увеличению как численности, так и разнообразия за счет возрастания числа благоприятных микрон. Известно, что микроразнообразие снижает роль межвидовых взаимодействий в функционировании микробных сообществ.



Рис. 2. Годовая динамика видового разнообразия эпифитных дрожжей:
примечание см. рис. 1

Следует подчеркнуть, что для дрожжевых грибов достоверную связь между численностью и разнообразием в Республике Азербайджан нам удалось обнаружить впервые. Наши данные согласуются с данными Глушакова [6], Максимовой [15], Чернова [7]. Они показывают, что в микробных группировках также действуют наиболее общие законы, определяющие особенности структуры сообществ, и их необходимо выявлять для более глубокого понимания закономерностей микробной экологии.

Выводы

Общая численность эпифитных дрожжей в филлосфере растений существенно изменяется в течение года, максимум численности дрожжей на листьях приходится на позднесенний или зимний период. Видовой состав эпифитных дрожжевых сообществ неспецифичен. На разных видах растений, независимо от их таксономической принадлежности и экологических особенностей, обитают одни и те же эпифитные дрожжи. Индикаторные виды дрожжей, тесно приуроченные к определенным растениям, отсутствуют. Видовое разнообразие дрожжей на листьях растений определяется продолжительностью существования сообщества: чем дольше длится развитие филлосферы, тем выше разнообразие эпифитных дрожжей.

Библиографические ссылки

1. **Бабьева И. П.** Состав и численность дрожжей в филлосфере растений / И. П. Бабьева, Б. Ф. Садыхов // Микология и фитопатология. – 1980. – Т. 14, № 6. – С. 473–476.
2. **Бабьева И. П.** Дрожжевые грибы в ельниках Центрального лесного государственного заповедника / И. П. Бабьева, И. Ю. Чернов, И. А. Максимова // Вестник Московского ун-та. Серия почвоведение. – 1999. – Т. 17, № 4. – С. 45–49.

3. **Бабьева И. П.** Биология дрожжей / И. П. Бабьева, И. Ю. Чернов. – М. : КМК, 2004. – 221 с.
4. **Возняковская Ю. П.** Эпифитные дрожжевые организмы // Микробиология. – 1962. – Т. 31, № 4. – С. 616–620.
5. **Возняковская Ю. П.** Микрофлора растений и дрожжей. – Л. : Колос, 1989. – 240 с.
6. **Глушакова А. М.** Сезонная динамика дрожжевого населения листьев / А. М. Глушакова, И. Ю. Роднов // Микробиология. – 2004. – Т. 73, № 2. – С. 226–231.
7. **Глушакова А. М.** Сезонная динамика и численность эпифитных дрожжей / А. М. Глушакова, И. Ю. Чернов // Микробиология. – 2007. – Т. 76, № 5. – С. 668–677.
8. **Babyeva I. P.** Geographical aspects of yeasts ecology / I. P. Babyeva, I. Y. Chernov // *Physiol., Gen. Biol. Rev.* – 1995. – Vol. 5. – P. 1–54.
9. **Barnett J. A.** Yeasts: Characteristics and identification / J. A. Barnett, R. W. Payne, D. Yarrow. – 2nd ed. – Cambridge : Cambridge University Press, 1990. – 1002 p.
10. ***Cryptococcus paraflavus* sp. nov.** (Tremellales), isolated from steppe plants in Russia / W. I. Golubev, I. P. Sampaio, M. Gadanho, E. W. Glubeva // *J. Gen. Appl. Microbiol.* – 2004. – Vol. 50, N 2. – P. 65–69.
11. **Estimation** and diversity of phylloplane microbiota on selected plants in a Mediterranean-type ecosystem in Portugal / J. Inacio, P. Pereira, M. de Carvalho et al. // *Microbiol. Ecology.* – 2002. – Vol. 44. – P. 344–353.
12. **Golubev W. I.** *Cryptococcus nemorosus* sp. nov and *Cryptococcus perniciosus* sp. nov., related to *Papilliotrema sampaio* et al. (Tremellales) / W. I. Golubev, M. Gadanho // *Int. Z. Syst. Evolution Microbiol.* – 2003. – Vol. 53. – P. 905–911.
13. **Intraspecies diversity** of *Cryptococcus albidus* isolated from humans as revealed by sequences of the internal transcribed spacer regions / T. Sugita, M. Takashima, R. Ikeda, T. Shinoda // *Microbiol. Immunol.* – 2001. – Vol. 45, N 4. – P. 291–297.
14. **Kurthzman C. P.** The yeasts, a taxonomic study / C. P. Kurthzman, J. W. Fell. – Fourth revised and enlarged edition. – Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1998. – 1055 p.
15. **Maximova I. A.** Yeasts biodiversity in forest ecosystem of European Russia // *Rising power of yeasts and industry. 10 Int. Symp. of yeasts.* – 2000. – P. 19.
16. **Reclassification** of the *Cryptococcus humicola* complex / M. Takashima, T. Sugita, T. Shinoda, T. Nakase // *Int. Z. Syst. Evol. Microbiol.* – 2001. – Vol. 41. – P. 357–369.

Надійшла до редколегії 11.01.2010

УДК 577.151.643

С. О. Бабій, О. О. Дьомшина, Н. І. Штеменко

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

γ-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА В МОДЕЛІ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ У ЩУРІВ

Вперше визначено активність γ-глутамілтрансферази, зв'язаної із зовнішньою клітинною мембраною, та розчинну форму в цитозолі еритроцитів щурів при розвитку пухлини та корекції патологічного стану комплексними сполуками ренію (*III*) з органічними лігандами та цисплатином (система реній-платина). Встановлено підвищення активності ферменту на зовнішній мембрані клітин і зниження його розчинної ізоформи в еритроцитах при розвитку карциноми Герена Т8. Відмічено позитивний вплив застосування системи реній-платина на активність ферменту в червоних клітинах крові: підвищення активності розчинної форми та зниження мембранозв'язаної. У результаті співвідношення активності ферменту між цими двома фракціями наближалось до норми. Зроблено висновок про доцільність використання визначення активності та співвідношення мембранозв'язаної та розчинної форм γ-глутамілтрансферази еритроцитів як діагностичного показника крові при канцерогенезі.

С. А. Бабий, О. А. Демшина, Н. И. Штеменко

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

γ-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА В МОДЕЛІ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ У КРЫС

Впервые определена активность γ-глутамилтрансферазы, связанной с внешней стороной мембраны, и растворимой формы γ-глутамилтрансферазы в цитозоле эритроцитов крыс при развитии опухоли и коррекции данного патологического состояния комплексными соединениями рения (*III*) с органическими лигандами и цисплатином (система рений-платина). Установлено повышение активности мембраносвязанной формы фермента и снижение активности его растворимой формы в эритроцитах крови при развитии карциномы Герена Т8. Также отмечено положительное влияние применения системы рений-платина на активность фермента в эритроцитах: снижение мембраносвязанной и повышение цитоплазматической активности. В результате соотношение активности фермента между двумя фракциями приближалось к нормальному уровню. Это дает возможность рекомендовать к использованию в качестве диагностического фермента крови при канцерогенезе соотношение мембраносвязанной и растворимой форм γ-глутамилтрансферазы эритроцитов.

S. O. Babij, O. O. Djomshina, N. I. Shtemenko

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

γ-GLUTAMYL TRANSFERASE IN A MODEL OF CARCINOGENESIS IN RATS

For the first time activity of membrane bound and soluble forms of γ-glutamyl transferase in the rat erythrocytes under the model tumour *in vivo* and under correction of the pathological state by complex compounds of rhenium (*III*) with organic ligands and cisplatin (rhenium-platinum system) was studied. The increased activity of the membrane bound enzyme and decrease of its cytosolic activity in the red blood cells during development of Guerin's carcinoma T8 was found. Also the positive impact of the rhenium-platinum system on the enzymatic activity in the erythrocytes was shown, namely: the reduction of membrane bound and increase of cytosolic activity. As a result, the ratio between activity of the membrane bound

enzyme and cytosolic one verged towards the correct level. The conclusion was made that the use of membrane bound and soluble γ -glutamyl transferase in the erythrocytes as a diagnostic enzyme of carcinogenesis is reasonable.

Вступ

γ -Глутамілтрансфераза (ГГТ) – здебільшого мембранозв'язаний глікопротеїд (на частку вуглеводів припадає близько 35 % молекулярної маси білка), що регулює розклад та кон'югацію глутатіону, каталізує перенесення амінокислот через клітинну мембрану, бере участь у «глутатіоновому» циклі, а також метаболізмі ейкозаноїдів [7]. Існуюча розчинна ізоформа даного ферменту відрізняється складом вуглеводної частини. Ця розчинна ізоформа утворюється при розпаді мембранних компонентів клітини, але зберігає деякі функціональні властивості [27; 29].

Збільшення активності ГГТ віддзеркалює індукцію мікросомальної окисної системи. Фермент розташований на зовнішньому боці клітинної мембрани та всіх мембранних компонентів клітини (лізосом, мікросом тощо) [6; 21]. Здебільшого ГГТ міститься в тих клітинах, що здатні до високої секреторної, екскреторної або (ре)абсорбційної функції [6]: у клітинах епітелію проксимальних каналців нирок, гепатоцитах, еритроцитах і, меншою мірою, інших тканинах [16; 18; 28]. Визначення активності ГГТ у сироватці крові набуло великого значення для діагностики захворювань кори нирок, печінки та онкологічних захворювань [6; 13; 28], оскільки цей фермент вважають маркером оксидативного стресу [13; 28; 30].

Найчастіше як діагностичний параметр захворювань гепатобіліарного тракту визначають у сироватці крові активність розчинної ізоформи ГГТ зі зміненою вуглеводною частиною [2; 18; 27; 29]. Існують повідомлення про визначення активності ферменту в еритроцитах при різних патологіях, пов'язаних з оксидативним стресом, наприклад, онкологічні захворювання [14–18; 28–30]. При рості пухлини відмічається анемія, утворення аномальних форм еритроцитів, що пов'язано зі змінами структури мембран [5; 12; 24; 26]. При застосуванні сучасних протипухлинних препаратів, таких як цисплатин, виникає значний цитотоксичний ефект, і це в першу чергу негативно впливає на клітини крові [22].

У роботах нашої дослідницької групи зафіксовано значний мембраностабілізуювальний ефект комплексів ренію (III) з органічними лігандами (КРОЛ), залежність величини впливу комплексу на біологічні мембрани від його структури, концентрації, а також продемонстровано ефективність застосування цих комплексів у моделях гемолітичної анемії як антиоксидантів і малотоксичних препаратів [12; 17; 25–28].

Актуальна проблема – визначення ефективності медикаментозної терапії різних видів онкологічних захворювань і пошук їх маркерів [2; 4; 17]. Один із таких маркерів – можливо, активність ГГТ в еритроцитах.

Мета нашої роботи – оцінити активність мембранозв'язаної та розчинної форм ГГТ в еритроцитах щурів в умовах моделі *in vivo* при розвитку видоспецифічної карциноми Герена Т8 і при корекції канцерогенезу комплексними сполуками ренію з різними органічними лігандами.

Матеріал і методи досліджень

Матеріал досліджень – еритроцити молодих щурів лінії Wistar вагою 100–180 г. Щурів поділено на групи: I група – норма (здорові щури); II – контроль (щури з карциномною Герена Т8); III – щури, яким вводили цисплатин; IV – щури з карциномною ГеренаТ8, яким вводили розчин $Re_2(i-C_3H_7COO)_4Cl_2$ (діхлоротетра- μ -(ізобутирато)-диреній (III)) у комплексі з цисплатином; V – щури з карциномною Герена Т8, яким

уводили розчин $K_2Re_2(HPO_4) \cdot 2H_2O$ (калійдіакватетра- μ -гідрофосфатодиреній (III)) у комплексі з цисплатином; VI група – щури з карциною Герена Т8, яким вводили розчин $(NH_4)_4Re_2(HPO_4)_4 \cdot 2H_2O$ (тетраамонійдіакватетра- μ -гідрофосфатодиреній (III)) у комплексі з цисплатином.

Змішану венозно-артеріальну кров отримували шляхом декапітації тварин. Як антикоагулянт використовували гепарин (150–200 од./мл). Усі дослідження проводили в день забору крові. Для отримання еритроцитів кров центрифугували при 1500 об./хв упродовж 15 хв, потім видаляли плазму та лейкоцитарну плівку. Еритроцити тричі промивали охолодженим 0,145 М NaCl на 10 мМ Трис-HCl буфері (pH 7,4 при +25°C) [10].

Для отримання гемолізату еритроцитів використовували гіпотонічний гемолізуючий розчин, що складався з 10 мМ Трис-HCl буфера (pH 7,4 при +25°C). Промиті еритроцити поміщали в охолоджену колбу з гемолізуючим розчином і витримували впродовж 10 хв при +5 °C у співвідношенні 1 : 4. Після цього суміш центрифугували 15 хв при 1500 об./хв [8]. Відбирали надосадову рідину для визначення активності розчинної форми ГГТ за стандартною методикою [29].

Активність мембранозв'язаної форми ГГТ визначали безпосередньо в отриманому осаді (мембранна фракція) після того, як його висушили на фільтрувальному папері [19]. До об'єму висушеного гемолізату додавали 10-кратний об'єм реакційної суміші для ГГТ (60 ммоль/л гліцин-гліцил, 0,3 моль/л NaCl, 20 ммоль/л Трис-HCl буфер (pH 8,0) і 2,5 ммоль/л глутаміл-*p*-нітроаніліду). Реакція зупинялась додаванням 2 мл охолодженої 1,5 N оцтової кислоти. Після видалення осаду шляхом центрифугування концентрацію звільненого *p*-нітроаніліну вимірювали фотометрично при 405 нм у надосадовій рідині [16; 29].

Визначення активності ГГТ проводили за допомогою стандартного тест-набору фірми «Реагент» (м. Дніпропетровськ) [22].

Результати та їх обговорення

Досліджено активність розчинної та мембранозв'язаної форм ГГТ в еритроцитах щурів при канцерогенезі (рис. 1).

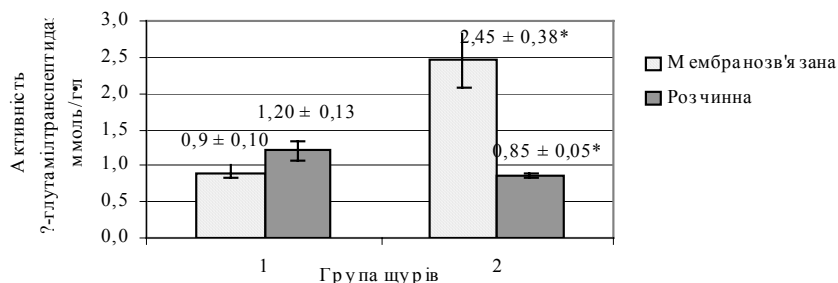


Рис. 1. Активність γ -глутамілтранспептидази в еритроцитах щурів у нормі та при розвитку карциноми Герена Т8: 1 – група здорових щурів, 2 – контрольна група щурів із карциною Герена Т8; * – $p < 0,05$

У нормі активність внутрішньоклітинної фракції на 33 % перевищує активність мембранозв'язаної, що можна пояснити утворенням розчинної форми у ході еритропоезу внаслідок лізису внутрішніх органел клітини [5]. Під впливом карциноми Герена Т8 активність мембранозв'язаної ГГТ зростала майже на 30 %. Виходячи з основних функцій ГГТ розвиток пухлини супроводжується посиленням протеолізом [8] і окисними процесами [9]. Можна припустити, що активність саме мембранозв'язаного фер-

менту збільшується через посилення відновних процесів у клітині внаслідок активації глутатіонової системи [15].

Аналіз розчинної фракції ферменту в цитоплазмі еритроцитів щурів показав зворотний процес: активність ГТТ знижувалась на 29 %. Таким чином, активність ГТТ на мембрані еритроцитів – чутливий показник розвитку карциноми Герена Т8. У нормі коефіцієнт активності цитозоль/мембрана становив 4 : 3, а при розвитку досліджуваної патології – майже 1 : 3. За допомогою цього співвідношення, вірогідно, можна судити про процеси, які переважають у клітині (розпад білків або їх синтез).

При уведенні цисплатину активність як розчинної, так і мембранозв'язаної форми ГТТ в еритроцитах залишалась на високому рівні відносно контрольної групи (рис. 2). Це може бути пояснено цитотоксичною дією препарату. Внутрішньоклітинна фракція ГТТ пізніше реагує на зовнішній оксидативний стрес і може бути вторинним захисним механізмом клітини у підтриманні гомеостазу.

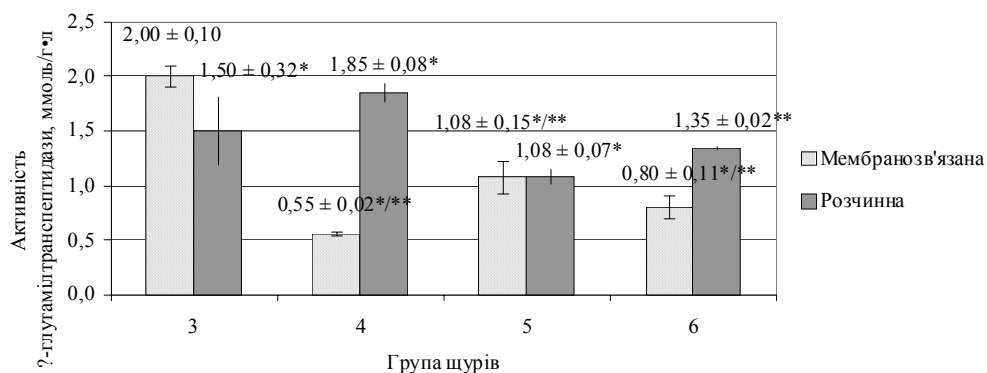


Рис. 2. Активність γ -глутамілтранспептидази в еритроцитах щурів при корекції патологічного стану комплексами ренію (III): 3–6 – групи тварин див. розділ «Матеріал і методи досліджень»; * – $p < 0,05$, порівняно з контролем; ** – $p < 0,05$, порівняно з групою 3

При корекції даного патологічного стану цисплатином разом із КРОЛ спостерігалось зниження активності мембранної ГТТ еритроцитів до рівня норми. Особливо цей ефект помітний при використанні розчинів калійдіакватетра- μ -гідрофосфатодиренію (III) і тетраамонійдіакватетра- μ -гідрофосфатодиренію (III) (див. рис. 2). Тобто активність ГТТ стала нижчою порівняно з контрольною групою на 55 і 70 % відповідно.

Можливо, ці препарати знижують токсичну дію цисплатину, що підтверджується гальмуванням активності ГТТ як одного з компонентів глутатіонової системи, за рахунок зниження оксидантів у крові та глутатіону, що є субстратом для цього ферменту [3; 20]. Також цисплатин, який вводили спільно з комплексами ренію, може вступати в реакцію з тіоловими групами клітинних пептидів та білків, що призводить до зниження концентрації глутатіону [17; 22] і активності ГТТ.

Внутрішньоклітинна активність ГТТ значно знижувалася при дослідженні впливу комплексних сполук ренію (III) у поєднанні з цис-платином, відносно групи тварин, яким вводили лише цисплатин. При використанні цисплатину та комплексів $(NH_4)_4Re_2(HPO_4)_4 \cdot 2H_2O$, $K_2Re_2(HPO_4)_4 \cdot 2H_2O$ рівень активності ферменту наближається до норми та знижується, відповідно, на 30 і 10 %, відносно групи з уведенням цисплатину. У результаті співвідношення активності ферменту між розчинною формою та мембранозв'язаною при використанні цисплатину складало приблизно 3 : 4;

$Re_2(i-C_3H_7COO)_4Cl_2$ із цисплатином – 3 : 1; $K_2Re_2(HPO_4) \cdot 2H_2O$ із цисплатином – 1 : 1 і $(NH_4)_4Re_2(HPO_4)_4 \cdot 2H_2O$ із цисплатином – 1 : 6, що найбільше відповідає нормі.

Висновки

Вперше досліджено активність розчинної з гетерогенною вуглеводною частиною та мембранозв'язаної форм γ -глутамілтрансферази в еритроцитах щурів при розвитку пухлини та при корекції патологічного стану комплексними сполуками ренію (III) з органічними лігандами разом із цисплатином (система реній-платина). Встановлено достовірне підвищення активності мембранозв'язаної фракції ферменту при оксидативному стресі під дією канцерогенезу та ксенобіотиків. Відмічено позитивний вплив застосування системи реній-платина на активність ферменту в червоних клітинах крові: зниження мембранозв'язаної та підвищення активності розчинної форми ГГТ. У результаті співвідношення активності ферменту між цими двома фракціями наближалось до норми. Отримані дані дають змогу рекомендувати визначення активності мембранозв'язаної та розчинної форми ГГТ в еритроцитах як діагностичний параметр розвитку канцерогенезу та його корекції при лікуванні.

Бібліографічні посилання

1. **Бреслоу Е.** Комплексы металлов с белками / Неорг. химия. – М. : Мир, 1978. – 254 с.
2. **Воллеман М.** Биохимия опухолей мозга / Под ред. М. Ш. Промыслова. – М. : Мир, 1977. – 213 с.
3. **Гончарова Л. Л.** Тиолсульфидная система в клинической практике // Лабораторное дело. – 2003. – № 2. – С. 3–9.
4. **Дурнов Л. А.** Опухоли у детей. – М. : Медицина, 1970. – 432 с.
5. **Жабицкая Е. Д.** Влияние эритроцитарных аномалий на аминокислотный состав плазмы крови / Е. Д. Жабицкая, Н. И. Штеменко, О. А. Сорочан // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2004. – № 2. – С. 46–49.
6. **Зильва Д.** Клиническая химия в диагностике и лечении / Д. Зильва, П. Р. Пэинел. – М. : Медицина, 1988. – 527 с.
7. **Камышников В. С.** Пособие по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М. : Медпрессинформ, 2004. – 414 с.
8. **Система** протеолиза, апоптоз и антиэндоксинный иммунитет у больных со злокачественными новообразованиями / В. А. Кубышкин, А. И. Крадинов, В. В. Опрышко и др. // Таврический медико-биологический вестник. – 2009. – Т. 12, № 4. – С. 95–103.
9. **Кулинский В. И.** Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 2–7.
10. **Кыров Д. Н.** Исследование модулирующих эффектов гемолизата эритроцитов на активность Na, K -АТФазы // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Тюмень, 2006. – 19 с.
11. **Шалимов С. А.** Лечение неоперабельных опухолей органов брюшной полости / С. А. Шалимов, Л. В. Кейсевич, А. А. Литвиненко и др. // Здоров'я України. – 2003. – № 76. – С. 5–9.
12. **Изучение** влияния комплексов рения с органическими лигандами на кислотно-резистентность эритроцитов человека / Н. И. Штеменко, И. В. Пирожкова-Паталах, А. В. Штеменко, А. А. Голиченко // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 3. – С. 77–81.
13. **Antioxidant** status in patients with sleep apnoea and impact of continuous positive airway pressure treatment / A. Barcelo, F. Barbe, M. Pen et al. // Eur. Respir. J. – 2006. – Vol. 27. – P. 756–760.
14. **Collins D.** Plasma intestinal alkaline phosphatase and intermediate molecular mass gamma-glutamyltransferase activities in the differential diagnosis of jaundice / D. Collins, M. F. Good, S. B. Rosalki et al. // J. Clin. Pathol. – 1987. – Vol. 40. – P. 1252–1255.
15. **Possible** role of membrane gamma-glutamyltransferase activity in the facilitation of transferrin-dependent and independent iron uptake by cancer cells / S. Dominici, L. Pieri, M. Comporti, A. Pompella // Caner Cell International. – Vol. 3, N 7. – С. 2–8.

16. **Characterization** of acute undifferentiated leukemia by combined analysis of plasma membrane-associated glutamyltransferase and soluble terminal transferase / D. Heumann, G. Losa, C. Banras et al. // *The J. of the Am. Society of Hematology*. – 1985. – Vol. 6, N 2. – P. 255–258.
17. **Kratz F. A.** Anticancer metal complexes and tumour targeting strategies / F. A. Kratz, M. T. Schutte // *The Cancer J.* – 1998. – Vol. 11, N 4. – P. 1–11.
18. **Long M. G.** Erythrocyte mean cellular volume and gamma-glutamyltransferase activity in screening for alcohol abuse in women presenting with spontaneous miscarriage / M. G. Long, E. J. Waterson, I. M. Murray-Lyon // *J. of Obst. and Gynecol.* – 1993. – Vol. 13, N 3. – P. 175–176.
19. **Patent** № 5.096.812 (Unated States Patent) Assay method for gamma glutamyltransferase (GGT) in liquid blood and drier blood // J. M. Rachel, L. M. Smith, L. R. Pfaltzgraff. – 1992, March. – 8 p.
20. **Blood** glutathione disulfide: *in vivo* factor or *in vitro* artifact? / R. Rossi, A. Milzani, I. Dalle-Donne et al. // *Clin. Chem.* – 2002. – Vol. 48. – P. 742–753.
21. **Sener A.** Activity determination, kinetic analyses and isoenzyme identification of gamma glutamyltransferase in human neutrophils / A. Sener, T. Yardimici // *J. of Biochem. And Mol. Biol.* – 2005 – Vol. 38, N 3. – P. 343–349.
22. **Sheikh-Hamad D.** Cisplatin-induced cytotoxicity: is the nucleus relevant? // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2008. – Vol. 295. – P. 42–43.
23. **Shimada H.** Distribution of gamma-glutamyl transpeptidase and glutaminase isoenzymes in the rabbit single nephron / H. Shimada, E. Hitoshi and S. Fuminori // *Jpn. J. Pharmacol.* – 1982. – Vol. 32. – P. 121–129.
24. **Synthesis**, characterization, *in vivo* antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin / A. V. Shtemenko, P. Collery, N. I. Shtemenko et al. // *Dalton Trans.* – 2009. – P. 5132–5136.
25. **Liposomal** forms of rhenium cluster compounds: Enhancement of biological activity / N. I. Shtemenko, E. D. Zhabitskaya, O. V. Bersenina et al. // *Chemistry & Biodiversity*. – 2008. – Vol. 5. – P. 1660–1667.
26. **Shtemenko N. I.** Recent advantages in application of cluster rhenium compounds as antitumor agents / N. I. Shtemenko, P. Collery, A. V. Shtemenko // *Metal Ions in Biology and Medicine*. – 2008. – Vol. 10. – P. 441–445.
27. **Wenham D. R.** Multiple forms of gamma-glutamyltransferase: a clinical study // *Clin. Chem.* – 1985. – Vol. 31. – P. 559–572.
28. **Whitfield J.** Serum glutamyltransferase and risk of disease // *Clin. Chem.* – 2007. – Vol. 53. – P. 1–2.
29. **Meng** abnormal expression of hepatoma-derived gamma-glutamyltransferase subtyping and its early alteration for carcinogenesis of hepatocytes / Deng-Fu Yao, Zhi-Zhen Dong, Deng-Bing Yao et al. // *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. – 2004. – Vol. 3. – P. 564–570.
30. **Zhang H.** Redox regulation of glutamyl transpeptidase / H. Zhang, H. J. Forman // *Am. J. of Respiratory Cell and Mol. Biol.* – 2009. – Vol. 41. – P. 509–515.

Надійшла до редакції 08.07.2010

УДК 579.6:579.85

Т. Є. Виграєнко, І. Є. Соколова

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ДЕСТРУКЦІЯ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН І ПРОДУКЦІЯ БІОГАЗУ МІКРООРГАНІЗМАМИ, ВИДІЛЕНИМИ ІЗ ПРИРОДНИХ СУБСТРАТІВ

Виділено газотвірні мікроорганізми з природних середовищ – ґрунтової витяжки та компосту. Вивчено властивості отриманих культур мікроорганізмів як деструкторів органічних речовин. Досліджені бактерії культивували на експериментальних напівсинтетичних середовищах із деревною тирсою та карбоксиметилцелюлозою. У процесі культивування вивчали ріст при різних значеннях *pH*, динаміку росту, кількість утилізованих цукрів, об'єм виділеного газу. Найінтенсивніший ріст газотвірних культур спостерігається на середовищі з КМЦ, а здатність до газоутворення найбільше виражена у культури бактерій, виділених із компосту.

Т. Е. Выграенко, И. Е. Соколова

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ДЕСТРУКЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И ПРОДУКЦИЯ БИОГАЗА МИКРООРГАНИЗМАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ПРИРОДНЫХ СУБСТРАТОВ

Выделены газообразующие микроорганизмы из природных сред: почвенной болтушки и компоста. Изучены свойства полученных культур микроорганизмов как деструкторов органических веществ. Исследуемые бактерии культивировали на экспериментальных полусинтетических средах с древесными опилками и карбоксиметилцеллюлозой. В процессе культивирования изучали рост при различных значениях *pH*, динамику роста, количество утилизируемых сахаров, объем выделенного газа. Наиболее интенсивный рост газообразующих культур наблюдается на среде с КМЦ, а способность к газообразованию наиболее выражена у культуры бактерий, выделенных из компоста.

T. E. Vygrayenko, I. E. Sokolova

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

DESTRUCTION OF ORGANIC MATTER AND BIOGAS PRODUCTION OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM NATUREL SUBSTRATES

Gas-producing bacteria were isolated from natural media: soil and compost extracts. The properties of the obtained microorganisms cultures as destructors of organic substances were studied. Studied bacteria were cultivated in experimental semi-synthetic media with saw dust and carboxymethyl cellulose. A growth at different *pH* values, a dynamics of growth, an amount of utilized sugar, a volume of released gas during cultivation were studied. Most intensive growth of gas-producing cultures has been observed in a medium with CMC and the ability to gas producing was more manifested in the bacterial culture isolated from the compost.

Вступ

Інтенсифікація сільського господарства, технічний прогрес у промисловості, на транспорті призвели до утворення диспропорції в навколишньому середовищі, до деформації встановленої рівноваги екосистем, погіршення екологічної ситуації в усіх

сферах діяльності людини [7]. Також погіршується ситуація відносно традиційних джерел енергії: ускладнюються умови та зростає ціна на їх видобування [4; 5]. Вичерпання природних енергоносіїв і пошук нових альтернативних джерел палива – одне з найважливіших питань, які постали перед людством.

У зв'язку з ускладненою екологічною ситуацією актуальним залишається питання пошуку альтернативних джерел палива та енергії, де використовуються не тільки вітер, вода та сонячне світло, а й різні відходи, що є економічно вигідним та дозволяє позбутися речовин, які забруднюють навколишнє середовище [10; 14]. Особливу увагу привертають газотвірні мікроорганізми [1], здатні не тільки виділяти в процесі життєдіяльності метан, який становить складову частину біогазу, а й брати участь у деструкції органічних речовин [9; 11; 13].

Мета даної роботи – виділити газотвірні культури мікроорганізмів із ґрунтової витяжки та компосту, оцінити їх здатність рости на модельних напівсинтетичних середовищах і спричиняти деструкцію органічних речовин із виділенням газу.

Матеріал і методи досліджень

Із метою отримання газотвірних мікроорганізмів використовували метод виділення мікробів із природних середовищ – ґрунтової витяжки та компосту [8]. Для цього у щільно набитий у колбу компост і ґрунтову витяжку додавали крейду для стабілізації *pH* і проводили культивування в анаеробних умовах протягом 7 діб. У результаті в обох природних середовищах утворювались асоціації мікробів, здатних утилізувати названі субстрати. Далі відфільтровану рідину з середовищ в об'ємі 5 мл вносили в колби з 300 мл бідного синтетичного середовища такого складу: $CaCO_3$ – 6,50 г/л, $(NH_4)_2SO_4$ – 4,16, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,51, K_2HPO_4 – 1,00, $NaCl$ – 2,00 г/л, $FeSO_4$ – 1 мл 0,76 % розчину на 100 мл середовища. Мікробні культури вирощували в синтетичних середовищах в умовах глибинного культивування на качалці при +37 °С протягом 10 діб [8]. Після завершення культивування робили висів мікроорганізмів на м'ясопептонний агар і після добового культивування аналізували колонії бактерій за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями [2]. Для аналізу ефективності росту культур на синтетичних середовищах вимірювали мікробну біомасу ваговим методом [8].

При виконанні роботи одне з основних завдань – виявити інтенсивність росту даних культур на напівсинтетичних середовищах із тирсою та карбоксиметилцелюлозою (КМЦ), а також здатність цих культур утилізувати в процесі росту цукри; рости на середовищах з різним значенням *pH*; виділяти газ у процесі життєдіяльності.

При створенні модельних напівсинтетичних середовищ як мінеральної основи використовували середовище описане вище, а до нього додавали органічні домішки – КМЦ та деревну тирсу в кількості 62,5 г/л. Суспензії досліджуваних мікроорганізмів, доведені за стандартом мутності до $1 \cdot 10^9$ кл./мл, вносили в об'ємі 5 мл у дві колби з 300 мл напівсинтетичного середовища (відповідно з КМЦ і тирсою). Культивування мікроорганізмів проводили в анаеробних умовах із використанням газовивідної системи у двох температурних режимах (+25 та +45 °С) протягом 14 діб. У період культивування мікроорганізмів визначали динаміку росту, кількість цукрів у середовищах, об'єм виділеного газу [1]. Показники росту досліджуваних культур визначали нефелометричним методом. Зразки культур відбирали на 3, 7, 10 та 14-ту добу культивування. Виміри оптичної щільності проводили на приладі ФЕК-56М при довжині хвилі 590 нм (жовтий світлофільтр), використовуючи кювети на 0,5 мл. Ріст дослідних культур супроводжувався деградацією органічних речовин середовищ (КМЦ та тирси) з утворен-

ням вільних моноцукрів. Кількість цукрів як показник деструкції перевіряли протягом культивування мікроорганізмів, використовуючи методику визначення цукрів за Бертраном. Відбір зразків у кількості 5 мл проводили на 1, 3, 7, 10 та 14-ту доби культивування [3]. Для перевірки здатності газотвірних бактерій рости при різних значеннях *pH* у розроблених модельних напівсинтетичних середовищах створювали різні умови: додавали оцтовий буфер до *pH* 5, фосфатний буфер до *pH* 10 [3]. Культивування бактерій проводили за тими ж температурними режимами. Показники росту мікроорганізмів вимірювали нефелометичним методом на 3, 7, 10 та 14-ту доби культивування. Об'єм газу, виділеного дослідними культурами при культивуванні на експериментальних середовищах, визначали використовуючи газовивідну систему та метод витіснення води.

Враховуючи однакові умови культивування та дослідження обох культур мікроорганізмів, показники росту наводили в одиницях оптичної щільності, об'єм виділеного газу (у см³). Дослідження властивостей газотвірних мікроорганізмів проводили у три етапи:

I етап – виділення мікробів із природних середовищ;

II етап – селективне культивування на бідних синтетичних середовищах із метою отримання штамів із широкими метаболічними потенціями;

III етап – вивчення здатності виділених штамів до деструкції органічних речовин.

Для виділення газотвірних мікроорганізмів отримували ґрунтову витяжку у фізіологічному розчині та готували компост із залишків рослинної маси з додаванням крейди. У результаті інкубації даних природних середовищ в анаеробних умовах протягом 7 діб отримали асоціації мікроорганізмів, здатних рости та розмножуватись у названих середовищах із виділенням газу.

На наступному етапі дослідження вивчалася здатність виділених культур рости на бідних синтетичних середовищах. Компоненти синтетичного середовища підбиралися так, щоб змодельовати умови вирощування бактерій на рештках піролітичної обробки відходів. Таке середовище було селективним і в ньому мали змогу розмножуватись тільки хемотрофні мікроорганізми.

По завершенні культивування бактерій на бідних синтетичних середовищах виділені мікроорганізми досліджували за морфологічними, культуральними, біохімічними властивостями, що дозволило провести їх ідентифікацію за визначником бактерій [6].

Результати та їх обговорення

Мікроорганізми, виділені з компосту, представлені грампозитивними бактеріями (фарбування за Грамом), утворюють ендоспори бацилярного типу, здатні до росту як на простих, так і на бідних середовищах; хемоорганотрофи, у процесі росту здатні утилізувати цукри; анаероби, або факультативні анаероби; у мазках досліджуваних культур спостерігається поліморфізм – наявність коротких і довгих паличок. За цими ознаками бактерії, виділені з компосту, віднесені до роду *Methanobacterium* (надалі культура 1). Мікроорганізми, виділені з ґрунтової витяжки, мають такі ознаки: грампозитивні палички середніх розмірів, ендоспори сферичні, облігатні анаероби та галофіти, хемоорганотрофи, метаболізм бродильного типу, каталазо- та оксидазонегативні, оптимальна температура росту +35...+45 °С. За визначником бактерій [6] вони віднесені до роду *Sporohalobacter* (надалі культура 2).

Після десятиденного глибинного культивування на дослідних синтетичних середовищах отримані культури фільтрували з метою визначення біомаси бактерій. Для бактерій, виділених із компосту, цей показник становив 0,7 мг/мл, а для бактерій із ґрунтової витяжки – 0,5 мг/мл.

Одне із завдань роботи – вивчення здатності отриманих газотвірних мікроорганізмів до деструкції органічних речовин. Із цією метою створені модельні напівсинтетичні середовища, в яких джерелами органічних речовин були деревна тирса та КМЦ. На рисунку 1 наведено графіки, які дають можливість простежити інтенсивність росту виділених бактерій при їх культивуванні на напівсинтетичних середовищах із тирсою та КМЦ. Показником росту культур вважали підвищення оптичної щільності культуральної рідини в процесі вирощування.

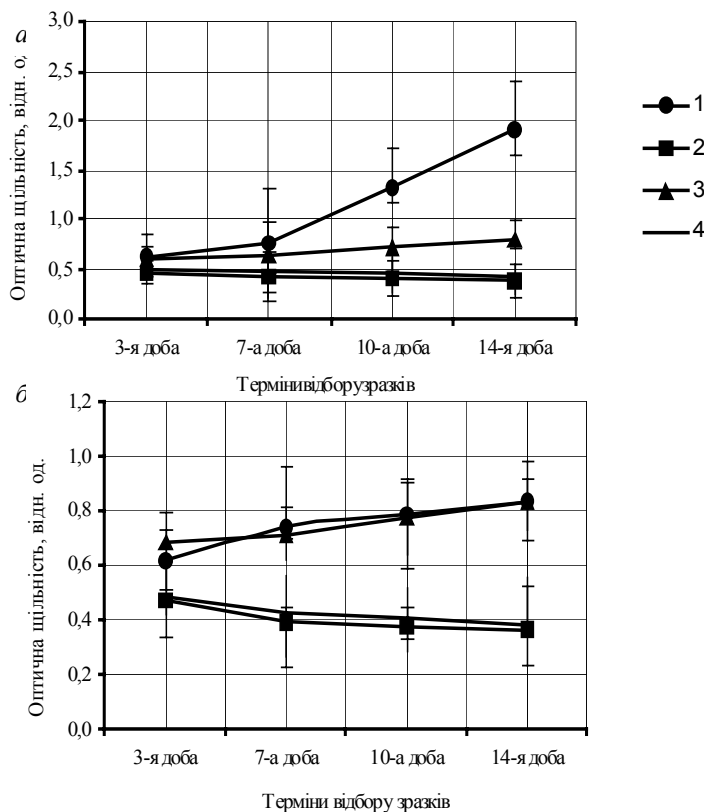


Рис. 1. Показники росту культур 1 (а) і 2 (б) при вирощуванні на напівсинтетичних середовищах із тирсою та КМЦ: 1 – КМЦ, +45 °С, 2 – тирса, +45 °С, 3 – КМЦ, +25 °С, 4 – тирса, +25 °С

Інтенсивніший ріст обох досліджуваних культур спостерігався при вирощуванні на середовищі з КМЦ. Причому культура 1, очевидно, є термотолерантною, оскільки крива її росту при температурі +45 °С мала значно більший підйом порівняно з кривою, отриманою при +25 °С. На середовищі з тирсою практично не спостерігали росту обох досліджуваних культур при обраних температурних режимах. Це може бути пов'язано з відсутністю ферментів, здатних гідролізувати складні біополімерні молекули клітковини.

При вирощуванні дослідних культур на напівсинтетичних середовищах із целюлозовмісними субстратами відбувається їх деструкція з вивільненням глюкози, яка у подальшому утилізується мікроорганізмами. Для визначення споживання цукру виділеними бактеріями вимірювали глюкозу методом Бертрана у процесі культивування. Слід відзначити, що до складу напівсинтетичних середовищ глюкоза не входила та

єдиним її джерелом були тирса і КМЦ. Як видно з рисунка 2 досліджувані культури мікроорганізмів найінтенсивніше споживають цукри на середовищі з КМЦ.

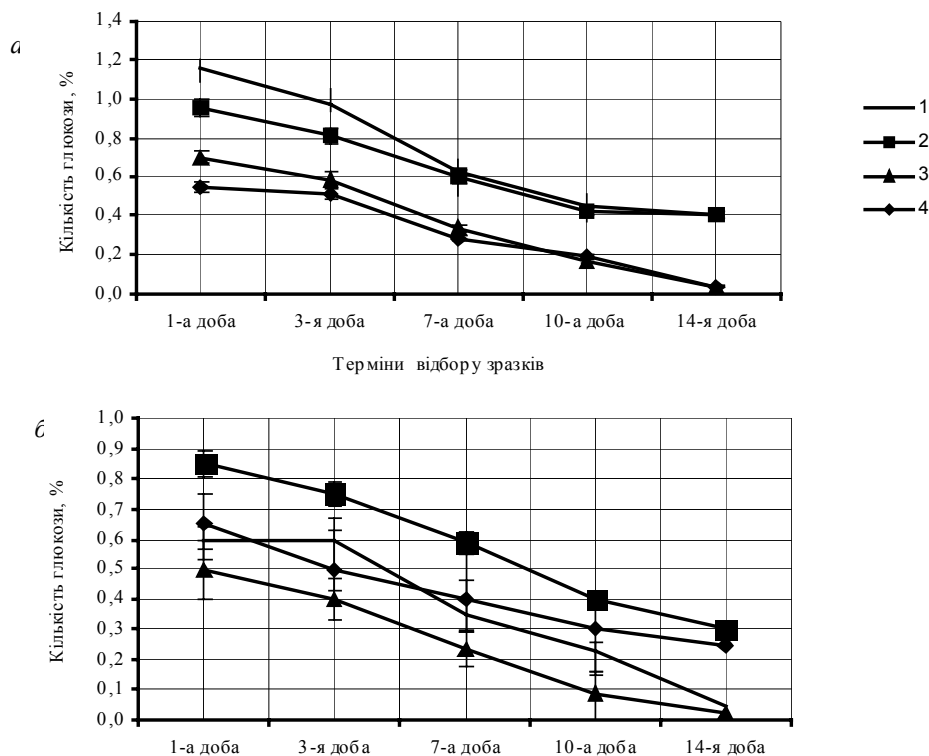


Рис. 2. Утилізація цукрів культурами 1 (а) і 2 (б) при вирощуванні на середовищах із тирсою та КМЦ: позначення див. рис. 1

Таке явище пов'язане з тим, що глюкоза на даному середовищі перебуває у доступнішій формі для мікроорганізмів, ніж на середовищі з тирсою. Це пояснює вищі показники кількості цукру на початку культивування саме на середовищі з КМЦ. Відносно температурних режимів краща динаміка утилізації глюкози для обох культур спостерігалася при +45 °С, а саме, при вирощуванні культури 1 на середовищі з КМЦ кількість спожитої глюкози склала 64 %, а для культури 2 – 92 %. Однак, урахувавши більший приріст біомаси для культури 1, слід відзначити, що її метаболізм збалансованіший. Деякі нижчі показники утилізації цукрів виділеними мікроорганізмами спостерігалися при температурі +25 °С та на середовищі з тирсою.

Велике значення для створення технологій утилізації відходів має підбір оптимальних умов (зокрема pH) для життєдіяльності газотвірних мікроорганізмів-деструкторів. Тому на наступному етапі роботи визначали здатність виділених бактерій рости при різних значеннях pH . Контроль – наростання оптичної щільності культуральної рідини при $pH 7$ (рис. 3).

Порівняльний аналіз гістограм (див. рис. 3) демонструє відсутність впливу pH на ріст обох культур на середовищі з тирсою. Навпаки, при культивуванні на середовищі з КМЦ показники росту досліджуваних культур значно відрізнялися. Для культури 1 найбільший ріст виявлений при $pH 5$, а для культури 2 – при $pH 10$ (показники оптичної щільності при оптимальних pH збільшились відповідно у 2,0 та 1,5 раза порівняно з контролем).

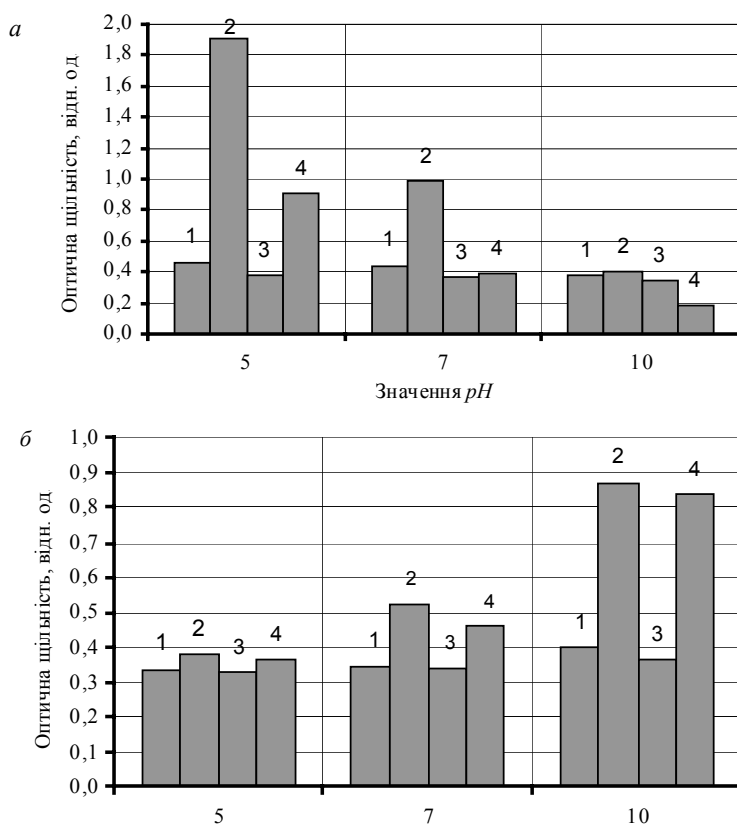


Рис. 3. Ріст культур 1 (а) та 2 (б) на напівсинтетичних середовищах із тирсою та КМЦ при різних значеннях *pH*: 1 – тирса, +45 °С, 2 – КМЦ, +45 °С, 3 – тирса, +25 °С, 4 – КМЦ, +25 °С

Досліджувані культури здатні в процесі свого росту виділяти газ (рис. 4). Для визначення оптимальних умов газоутворення вимірювали об'єм газу при вирощуванні досліджених культур при двох температурних режимах (+45 і +25 °С) на середовищах із тирсою та КМЦ і нейтральному значенні *pH*.

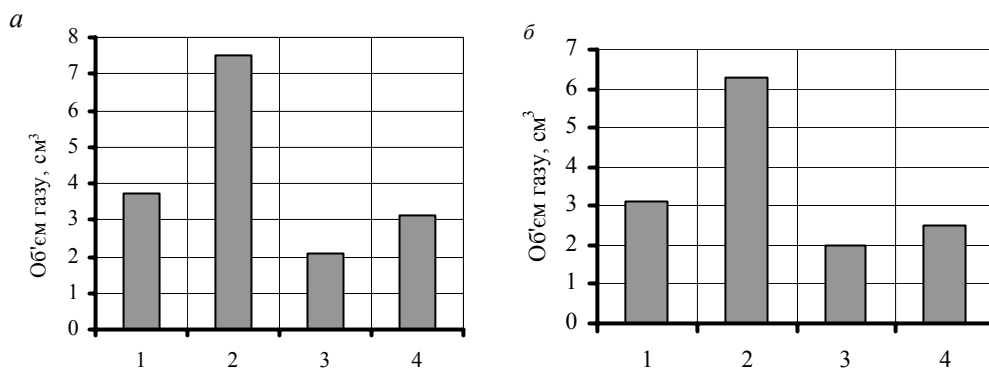


Рис. 4. Показники об'єму виділеного газу дослідними культурами 1 (а) і 2 (б) у процесі культивування на напівсинтетичних середовищах із тирсою та КМЦ: позначення див. рис. 3

Найбільший об'єм газу культури 1 і 2 (див. рис. 4) виділяли при культивуванні на середовищі з КМЦ при температурі +45 °С (відповідно 7,5 і 6,3 см³). При темпера-

турі +25 °С та на середовищі з тирсою кількість виділеного газу була значно меншою. Природу газу буде встановлено в подальшому.

Висновки

Із природних субстратів (компосту та ґрунтової витяжки) виділено два бактеріальні штами – представники родів *Methanobacterium* (культура 1) і *Sporohalobacter* (культура 2). Вони здатні рости на бідних середовищах без додавання органічних речовин, що свідчить про високу метаболічну активність. На розроблених модельних напівсинтетичних середовищах із додаванням КМЦ і тирси встановлено можливість їх використання як біодеструкторів. Отримані культури термотолерантні, оскільки здатні рости при високих температурах, що важливо в умовах переробки відходів. Щодо *pH*, то сприятливіше для росту культури 1 – кисле середовище (*pH* = 5), а для культури 2 – лужне (*pH* = 10). Найкращі показники росту культур спостерігалися при вирощуванні на середовищі з КМЦ і температурі +45 °С, причому культура 1 споживала значно менше глюкози, ніж культура 2. Культура 1 відрізнялася вираженою здатністю до газоутворення. Враховуючи наведене вище, можна рекомендувати використання виділеного штаму метанобактерій (культура 1) для застосування в технології переробки відходів.

Бібліографічні посилання

1. Гальченко В. Ф. Метанобразующие бактерии. – М. : Мир, 2001. – С. 389–464.
2. Гусев М. В. Микробиология / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – М. : Изд-во МГУ, 2004. – 448 с.
3. Данилова Т. Е. Общая биотехнология. Методические указания к выполнению лабораторного практикума. – Ч. 2. – Улан-Уде : Изд-во ВСТГУ, 2007. – С. 70.
4. Родина Е. М. Использование эмиссий метана из отходов для получения биогаза / Е. М. Родина, Ш. А. Ильясов, З. А. Абайханова // Вестник КРСУ. – 2003. – № 6. – С. 3–9.
5. Обоснование комплексных энергетических технологий на полигонах твердых бытовых отходов / В. В. Елистратов, Л. И. Кубышкин, В. И. Масликов, Е. Р. Покровская // Энергетическая политика. – 2001. – Вып. 3 – С. 38–41.
6. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Д. Хоулга, Н. Крига, П. Снита, Д. Стейли, С. Уильямса. – 9-е изд. – В 2 т. – Пер. с англ. под ред. Г. А. Заварзина. – Т. 2. – М. : Мир, 1989. – 400 с.
7. Паницхвала Е. С. Метангенерация твердых органических отходов городов / Е. С. Паницхвала, Е. В. Давиденко // Биотехнология. – 1990. – № 4. – С. 49–57.
8. Сеги Й. Методы почвенной микробиологии. – М. : Колос, 1983. – 295 с.
9. A laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of biowaste used in biogas plants / L. Sahlström, E. Bagge, E. Emmoth et al. // Bioresource Technology. – 2008. – Vol. 99. – P. 7859–7865.
10. Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid – waste / A. H. Igoni, M. J. Ayotamuno, C. L. Eze et al. // Applied Energy. – 2008. – Vol. 85. – P. 403–438.
11. Enhancement of biogas production by addition of hemicellulolytic bacteria immobilized on activated zeolite / S. Weiß, M. Tauber, W. Somitsch et al. // Water Research. – 2010. – Vol. 44. – P. 1970–1980.
12. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques – A review / Y. Santosh, T. R. Sreerishnan, S. Kohli, V. Rana // Bioresource Technology. – 2004. – Vol. 95. – P. 1–10.
13. Identification of biogas microbiological community in biogas systems and evaluation of microbial risks from gas usage / B. Vinnerås, C. Schönning, A. Nordin // Science of The Total Environment. – 2006. – Vol. 367. – P. 606–615.
14. Modeling biogas production at landfill site / L. Manna, M. C. Zanetti, G. Genon // Resources, Conservation and Recycling. – 1999. – Vol. 26. – P. 1–14.

Надійшла до редколегії 07.06.2010

УДК 616.69-008.6-05

Д. З. Воробець, І. І. Горпинченко, З. Д. Воробець

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
Інститут урології АМН України, Київ*

КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ ПОКАЗНИКАМИ ПОВ'ЯЗАНОЇ ЗІ ЗДОРОВ'ЯМ ЯКОСТІ ЖИТТЯ І ФОРМОЮ ЕРЕКТИЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ЧОЛОВІКІВ МОЛОДОГО ТА СЕРЕДНЬОГО ВІКУ

При психогенній еректильній дисфункції (ЕД) не спостерігається сильних кореляційних зв'язків між доменами анкет SF-36 та МІЕФ. При ЕД внаслідок розвитку ендотеліальної дисфункції, показники доменів загального здоров'я, фізичної функції, відчуття болю та життєвої активності сильно корелюють з усіма доменами опитувань МІЕФ, крім домену задоволення від статевого життя. При ЕД, зумовленій наявністю хронічного тазового болю, показники МІЕФ корелюють із доменами фізичного функціонування, відчуття болю, життєвої активності SF-36. За наявності ЕД, що супроводжує передчасну еякуляцію, показники загального здоров'я, інтенсивності болю та життєвої активності погіршуються та корелюють із загальним балом МІЕФ, доменами сексуального бажання та задоволення від статевого акту.

Д. З. Воробець, І. І. Горпинченко, З. Д. Воробець

*Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого
Институт урологии АМН Украины, Киев*

КОРЕЛЯЦІЯ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ АССОЦИИРОВАННОГО СО ЗДОРОВЬЕМ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ И ФОРМОЙ ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У МУЖЧИН МОЛОДОГО И СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА

При психогенной эректильной дисфункции (ЭД) не наблюдаются сильные корреляционные взаимосвязи между доменами анкет SF-36 и МИЭФ. При ЭД вследствие развития эндотелиальной дисфункции показатели доменов общего здоровья, физической функции, чувства боли и жизненной активности сильно коррелируют со всеми доменами опросника МИЭФ, кроме домена удовлетворения от половой жизни. При ЭД, обусловленной наличием хронической тазовой боли, показатели МИЭФ коррелируют с доменами физического функционирования, чувства боли, жизненной активности SF-36. При наличии ЭД, сопровождающей преждевременную эякуляцию, показатели общего здоровья, интенсивности боли и жизненной активности ухудшаются и коррелируют с общим баллом МИЭФ, доменами сексуального желания и удовольствием от полового акта.

D. Z. Vorobets, I. I. Horpynchenko, Z. D. Vorobets

*Danilo Galitsky Lviv National Medical University
Institute of Urology AMS Ukraine, Kyiv*

CORRELATION BETWEEN LIFE QUALITY INDICES AND A FORM OF ERECTILE DYSFUNCTION IN YOUNG AND MIDDLE-AGED MEN

The psychogenic erectile dysfunction (ED) does not show strong correlation between domains of questionnaires SF-36 and IEF. In conditions of ED caused by endothelial dysfunction the domains of general health, physical functioning, bodily pain and vitality strongly correlates with all domains rates of IEF

questionnaire except overall satisfaction. In conditions of erectile dysfunction caused by chronic pelvis pain the rates of IEF correlate with domains of physical functioning, pain, vitality from SF-36. In conditions of premature ejaculation and ED accompaniment the rates of general health, pain intensity and vitality become worth and correlate with total score of IEF, rates of sexual desire and intercourse satisfaction.

Вступ

Якість життя (ЯЖ) з побутового терміна перетворилася на предмет клінічної зацікавленості, наукових досліджень, стала показником, за допомогою якого оцінюють ефективність окремих лікарських препаратів, соціально-економічних, медичних програм [12]. ЯЖ – багатогранне системне поняття, яке складається з багатьох компонентів. Виділяють два типи ЯЖ: ті, що стосуються здоров'я (фізична, психологічна, духовна, соціальна функції) та ті, що стосуються чинників впливу на здоров'я (навколишнє середовище, економічні, суспільні, політичні чинники). Між ними існують складні зв'язки та розподіл на менші складові та їх компоненти. Медичне втручання впливає на ряд фізичних, фізіопсихоемоційних чинників, а це, у свою чергу, впливає на суспільну та соціальну функцію особи. ВООЗ виділено ряд параметрів ЯЖ, які в основному і вивчаються: фізичні (сила, енергія, втома, біль, дискомфорт, сон, відпочинок), психологічні (позитивні емоції, пам'ять, концентрація уваги, самооцінка, вигляд, негативні переживання), рівень самостійності (буденна активність, працездатність, залежність від лікування та ліків), суспільне життя (взаємовідносини, суспільна цінність суб'єкта, сексуальна активність), навколишнє середовище (благополуччя, безпека, побут, забезпеченість, якість і доступність медичного та соціального забезпечення, доступність інформації, можливість освіти та підвищення кваліфікації, дозвілля, екологія), духовність (релігія, особисті переконання) [3].

Одним із найпопулярніших при проведенні медичних, соціально-економічних досліджень є опитувальник Medical Outcomes Study Short Form 36 (MOS SF-36). Опитувальник перекладений з англійської та російської на українську мову та скорегований з досвіду авторів з адаптації SF-36 в Україні [2] та Росії [1]. Також урахована інструкція щодо обробки даних, підготована компанією «Эвиденс-Клинико-фармакологические исследования».

Широко розповсюджене загальновизнане твердження, яке ґрунтується на тривалих спостереженнях клініцистів, що однозначно сексуальна дисфункція пацієнтів негативно відбивається на їхньому фізичному здоров'ї, взаєминах із дружинами, сім'ями та соціумом, проте рідко науковці здійснювали спроби об'єктивізувати ці взаємозв'язки.

Мета даного дослідження – визначити кореляцію показників пов'язаної зі здоров'ям якості життя та показників Міжнародного індексу еректильної функції, залежно від форми ЕД у чоловіків молодого та середнього віку.

Матеріал і методи досліджень

Дизайн. Дослідження базується на результатах анкетування поліклінічних пацієнтів Львівської обласної консультативної поліклініки та кафедри урології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького віком від 20 до 40 років. Дослідження проводили з 2004 по 2010 рік, оцінювали результати детального клініко-інструментального, лабораторного обстеження, а також анкетного опитування 182 чоловіків. Серед обстежених – 20 практично здорових добровольців віком 22–38 років, переважно пацієнтів, які звертались у клініку з приводу перевірки фертильності, у процесі всебічного обстеження яких оцінено сексуальну функцію, проведено анкетування за MIEF та SF-36, не виявлено патоспермії та соматичної патології.

Анкетування та обстеження також пройшли 163 чоловіки відповідної вікової групи з еректильною дисфункцією різної вираженості та генезу.

Застосовувався багаторівневий імовірнісний підхід із прив'язуванням результатів до елементів вибірки. Прив'язування результатів базувалось на групуванні пацієнтів за важкістю та формою еректильної дисфункції.

Брали до уваги три критерії для визначення еректильної дисфункції. Питання 16 базувалось на суб'єктивній загальній самооцінці еректильної функції («просто запитання»), та було першим диференційним критерієм різної важкості еректильної дисфункції (ЕД-пз): «Чи вважаєте, що ви чоловік, котрий ... (а) не має проблем з ерекцією; (б) має мінімальні проблеми у досягненні ерекції; (в) має середньої важкості еректильну дисфункцію; (г) має важке порушення еректильної функції / повну відсутність ерекції?». Другим критерієм у диференціації важкості ЕД була сума балів відповіді на запитання 1–5 та 15 опитувальника МІЕФ [4; 9], яка формує домен еректильної функції (ЕФ-МІЕФ), згідно з наступною шкалою: 26–30 – немає дисфункції, 17–25 – помірна дисфункція, 11–16 – ЕД середньої важкості, 6–10 – важка ЕД (ЕД-ІІЕФ). Третій критерій – загальний бал анкети МІЕФ із мінімальним можливим значенням 5 та максимальним 75. Додатковими критеріями враховувались здатність відчувати оргазм – сума балів відповіді на запитання 9 і 10 із можливими значеннями 0–10; підрахунок балів для оцінки сексуального бажання – сума балів відповіді на запитання 11 і 12 із можливими значеннями 2–10; підрахунок балів для оцінки задоволення статевим актом – сума балів відповіді на запитання 6, 7 і 8 із можливими значеннями 0–15; підрахунок балів для оцінки задоволення статевим життям – сума відповідей на запитання 13 і 14 із можливими значеннями 2–10.

Для визначення пов'язаної зі здоров'ям якості життя (ПЗЯЖ) проводили анкетування за допомогою опитувальника SF-36 [8; 11]. Він включає 36 пунктів, які висвітлюють 8 концепцій здоров'я (шкала загального стану здоров'я (33) – оцінка пацієнтом власного стану здоров'я в даний момент і перспектив лікування; фізичного функціонування (ФФ), що відображає, якою мірою здоров'я лімітує виконання фізичних навантажень – самообслуговування, ходьба, підйом по сходах, перенесення вантажу; рольово-фізичне функціонування (РФ) – вплив фізичного стану на рольове функціонування – роботу, виконання повсякденної діяльності; рольово-емоційне функціонування (РЕ) – вплив емоційного стану на рольове функціонування, передбачає оцінку стану, в якому емоційний стан перешкоджає виконанню роботи чи іншої повсякденної діяльності (включаючи збільшення затрат часу, зменшення обсягу виконаної роботи, зниження якості її виконання тощо); соціальне функціонування (СФ) визначається ступенем, при якому фізичний чи емоційний стан обмежує соціальну активність, спілкування; больові відчуття (БВ) – інтенсивність болю та його вплив на здатність займатись повсякденною діяльністю, включно з роботою; життєва активність – життєздатність (ЖЗ) включає самопочуття сповненим сил і енергії або навпаки, знесиленим; психічне здоров'я (ПЗ) – самооцінка психічного здоров'я, характеризує настрої (нааявність депресії, тривоги, загальний показник позитивних емоцій. Ми не розраховували дві підсумкові компоненти – фізичне та розумове здоров'я через складності та комплексності неавтоматичних обчислень для кожного респондента за відсутності оригінальної програми NSB Calculator із підрахунком цих доменів.

За кожною шкалою SF-36 проведено детальний аналіз, виконано розрахунки статистичних характеристик (дисперсії, середнього значення, стандартного відхилення) для всієї вибірки. Для визначення взаємозв'язків між формою та важкістю ЕД, вирахованими за доменами МІЕФ та ЕД-пз, а також профілем і компонентами ан-

кети SF-36, використовували коефіцієнт кореляції. Для встановлення відмінностей між даними SF-36 та показниками анкет МІЕФ і ЕД-пз застосовували *t*-тест Стьюдента (після виконання тесту Фішера – Снедекера на гомоскедастичність вибірок). Для висновків рівень значущості складав 5 %. Для аналізу даних використовували програмне забезпечення Microsoft Excel 2007 та SPSS 17.

Еректильний домен анкети МІЕФ (запитання 1–5 та 15), анкета ЕД-пз (запитання 16). Список запитань щодо еректильної функції: 1. Як часто вам вдалось досягти ерекції під час сексуальної активності протягом останніх 4 тижнів? 2. Якщо ви мали ерекції при сексуальній стимуляції, як часто вони були достатньо твердими для penetрації протягом останніх 4 тижнів? 3. При спробах сексуальної активності, як часто вам вдалось здійснити penetрацію протягом останніх 4 тижнів? 4. При сексуальній активності протягом останніх 4 тижнів як часто вам вдалось підтримувати ерекцію після penetрації? 5. При сексуальній активності протягом останніх 4 тижнів наскільки важко було підтримувати ерекцію до завершення статевого акту? 6. Скільки раз ви здійснювали спроби статевої активності протягом останніх 4 тижнів? 7. Скільки успішних спроб статевої активності ви завершили протягом останніх 4 тижнів? 8. Наскільки ви задоволені своєю статевою активністю протягом останніх 4 тижнів? 9. Яким відсотком еякуляції завершувалась ваша сексуальна активність протягом останніх 4 тижнів? 10. Як часто ви відчували оргазм або незадоволення (з або без еякуляції) під час статевих контактів протягом останніх 4 тижнів? 11. Як часто у вас виникали сексуальні бажання протягом останніх 4 тижнів? 12. Як ви оцінюєте рівень свого статевого бажання протягом останніх 4 тижнів? 13. Наскільки ви задоволені статевим життям протягом останніх 4 тижнів? 14. Наскільки ви задоволені статевими стосунками з партнеркою протягом останніх 4 тижнів? 15. Наскільки ви оцінюєте рівень впевненості в досягненні та підтриманні ерекції протягом останніх 4 тижнів? 16. Чи бачите ви себе як чоловіка ... (а) без проблем з ерекціями; (б) з мінімальною еректильною дисфункцією; (в) з еректильною дисфункцією середньої важкості; (г) з важкою/повною еректильною дисфункцією?

Результати та їх обговорення

У дослідженні взяли участь 182 чоловіки, при цьому у 89,7 % (163) виявили певний ступінь ЕД. Серед обстежених у 71 (43,6 %) діагностовано психогенну ЕД із провідним синдромом тривожного очікування сексуальної невдачі (СТОСН); у 36 (22 %) – ЕД змішаного генезу, – включено хворих з ендотеліальною дисфункцією, метаболічним синдромом, дисліпідемією, гіпертонічною хворобою, ІХС, цукровим діабетом, гіпогонадизмом; у 33 (20,2 %) ЕД змішаного генезу із провідним синдромом хронічного тазового болю, включено пацієнтів із хронічним простатитом ІІ, ІІа, ІІб категорії; 23 (14,1 %) сексуальну дисфункцію з основною скаргою на передчасну еякуляцію, яка супроводжувала чи була причиною вторинної ЕД.

Нами розраховано взаємозв'язки та виявлено сильну пряму кореляцію між загальним балом МІЕФ та її еректильним доменом, а також слабку, проте вірогідну, кореляцію з доменом задоволення від статевого життя (*t*-критичне – 1,97) (табл. 1). Сильний обернений кореляційний зв'язок спостерігається як між балом ЕД-пз та загальним балом МІЕФ, так і між ЕД-пз та ЕД-МІЕФ.

Той факт, що немає кореляції між показниками оргазмічної функції та задоволення від статевого життя за МІЕФ ($r = -0,06$), а також між балами еректильного домену та оргазмічної функції МІЕФ ($r = 0,07$), може свідчити про те, що чоловіки не надто переймаються оргазмічною функцією, більше зосереджуючи увагу на здатності підтриму-

вати ерекцію, що, мабуть, є більшим мірилом власних можливостей. Для 20 здорових респондентів також проведено кореляційний аналіз, виявлено лише негативну кореляцію між задоволенням від статевого життя та соціальною функцією ($r = -0,49$, $t = 2,3$, $t_{0,05} = 2,1$), між задоволенням від статевого життя та больовими відчуттями ($r = -0,53$, $t = 2,6$), тобто чим менше чоловік задоволений статевим життям, тим гірше його соціальне функціонування. Можливо, це пов'язано із соматичним болем.

Таблиця 1

Кореляційні зв'язки між середніми показниками анкет МІЕФ та ЕД-пз

Характеристика	Коефіцієнт кореляції
МІЕФ загальний бал / бал ЕД-МІЕФ	0,859
МІЕФ загальний бал / 16 запитання	-0,764
бал ЕД-МІЕФ / 16 запитання	-0,871
МІЕФ загальний бал / задоволення статевим життям	0,253
бал ЕД-МІЕФ / задоволення статевим життям	0,209
бал ЕД-МІЕФ / бал оргазмічної функції	0,073
бал оргазмічної функції / задоволення статевим життям	-0,062

При ЕД домен загального здоров'я достовірно корелює з усіма доменами МІЕФ, крім задоволення від статевого життя. Домен фізичної функції корелює із загальним балом МІЕФ, доменами сексуального бажання, оргазмічної функції, задоволення від статевого акту (табл. 2). Зі зростанням балу життєвої активності та відчуття болю достовірно зростають домени сексуального бажання, оргазмічної функції та задоволення від статевого акту.

Таблиця 2

Кореляційні зв'язки між середніми показниками анкет МІЕФ, ЕД-пз та SF-36 усіх чоловіків з ЕД (n = 163)

Характеристика	Концепція здоров'я	МІЕФ загальний бал	Сексуальне бажання	Оргазмічна функція	Задоволення статевим актом	Задоволення статевим життям	Еректильна функція	16-те запитання
Коефіцієнт кореляції	ЗЗ	0,39*	0,34*	0,29*	0,36*	0,08	0,24*	-0,24*
	ФФ	0,28*	0,28*	0,43*	0,39*	0,04	0,01	-0,04
	РФ	0,07	0,12	0,04	0,05	0,01	0,05	-0,02
	РЕ	0,06	0,04	0,05	0,01	0,02	0,08	-0,10
	СФ	0,01	0,06	0,06	0,08	0,02	0,05	0,05
	БВ	0,10	0,19*	0,16*	0,36*	0,04	0,11	0,14
	ЖЗ	0,23*	0,21*	0,44*	0,33*	0,02	0,01	0,00
t-значення	ПЗ	0,13	0,05	0,11	0,16*	0,07	0,07	0,03
	ЗЗ	5,31*	4,57*	3,79*	4,93*	1,03	3,17*	3,10*
	ФФ	3,69*	3,75*	6,01*	5,42*	0,50	0,15	0,50
	РФ	0,92	1,50	0,51	0,60	0,19	0,60	0,26
	РЕ	0,73	0,54	0,62	0,16	0,31	1,07	1,30
	СФ	0,18	0,76	0,72	0,99	0,29	0,60	0,61
	БВ	1,27	2,47*	2,01*	4,90*	0,54	1,34	1,83
ЖЗ	3,03*	2,74*	6,27*	4,46*	0,29	0,15	0,03	
	ПЗ	1,68	0,63	1,45	2,04*	0,92	0,88	0,43

Примітки: * – дані достовірні при $p < 0,05$, $t_{0,05} = 1,97$; концепції здоров'я: ЗЗ – шкала загального стану здоров'я, ФФ – фізичне функціонування, РФ – рольово-фізичне функціонування, РЕ – рольово-емоційне функціонування, СФ – соціальне функціонування, БВ – больові відчуття, ЖЗ – життєва активність (життєздатність), ПЗ – психічне здоров'я.

Також від зростання середнього показника життєвої активності взаємозалежить зростання загального балу МІЕФ. Психічне здоров'я пацієнта достовірно залежить від задоволення статевим актом. Тобто, із порушенням сексуальної функції пацієнти дос-

товірно відмічають упадок сил і енергії, порушення загального здоров'я, фізичної функції, що також пов'язано з виникненням больових відчуттів.

У чоловіків із психогенною ЕД виявлено слабкий вірогідний кореляційний взаємозв'язок між балами рольово-фізичного функціонування анкети SF-36 та балами домену оргазмічної функції, загальним балом МІЕФ, балами ЕД-пз, а також між балами загального здоров'я і ЕД-пз; рольового функціонування, зумовленого емоційним станом і задоволення від статевих актів, балами домену життєвої активності та задоволення від статевих актів (табл. 3). Відсутність чіткої корелятивної тенденції в даній групі пацієнтів пояснюється полісиндромністю та різноманітністю психосоціальних особливостей при ЕД, яку ми трактуємо як психогенну.

Таблиця 3

Кореляційні зв'язки між середніми показниками анкет МІЕФ, ЕД-пз та SF-36 чоловіків із психогенною ЕД (n = 71)

Характеристика	Концепція здоров'я	МІЕФ загальний бал	Сексуальне бажання	Оргазмічна функція	Задоволення статевим актом	Задоволення статевим життям	Еректильна функція	16-те запитання
Коефіцієнт кореляції	ЗЗ	0,176	0,201	0,070	0,141	0,205	0,122	-0,243*
	ФФ	0,051	0,019	0,037	0,032	0,072	0,069	-0,179
	РФ	0,285*	0,048	0,333*	0,122	0,085	0,207	-0,268*
	РЕ	0,050	0,035	0,025	0,256*	0,154	0,024	-0,150
	СФ	0,161	0,077	0,124	0,015	0,167	0,191	-0,112
	БВ	0,021	0,099	0,144	0,041	0,069	0,131	-0,015
	ЖЗ	0,008	0,058	0,015	0,077	0,265*	0,109	0,022
	ПЗ	0,159	0,128	0,006	0,084	0,179	0,177	-0,339*
t-значення	ЗЗ	1,482	1,707	0,587	1,184	1,739	1,019	2,085*
	ФФ	0,427	0,157	0,309	0,269	0,598	0,571	1,510
	РФ	2,471*	0,395	2,938*	1,023	0,712	1,757	2,308*
	РЕ	0,415	0,294	0,205	2,201*	1,299	0,200	1,261
	СФ	1,358	0,641	1,034	0,124	1,404	1,618	0,939
	БВ	0,172	0,823	1,205	0,342	0,573	1,100	0,125
	ЖЗ	0,069	0,484	0,125	0,645	2,280*	0,913	0,185
ПЗ	1,338	1,069	0,047	0,698	1,516	1,496	2,996*	

Примітки: * – дані достовірні при $p < 0,05$, $t_{0,05} = 1,995$; концепції здоров'я – див. табл. 2.

У чоловіків з ЕД змішаного генезу, пов'язаною з переважним розвитком ендотеліальної дисфункції, встановлено чіткий зв'язок домену фізичного функціонування зі всіма складовими анкети МІЕФ, а також з 16-м запитанням. Пряма кореляція виявлена між балами SF-36 загального здоров'я, відчуття болю, життєвої активності, з одного боку, та показниками МІЕФ – загальним балом, доменами оргазмічної функції, еректильної функції, задоволення від статевих актів – з іншого, що підтверджено також кореляцією показників відчуття болю з розвитком еректильної дисфункції згідно ЕД-пз (табл. 4). Отже, розвиток ендотеліальної (еректильної) функції вірогідно пов'язаний із фізичними розладами, погіршенням загального здоров'я, відчуттям болю та втратою життєвої активності.

При розвитку змішаної ЕД, пов'язаної з больовими відчуттями в ділянці тазових органів, показники МІЕФ корелюють із доменами фізичного функціонування, відчуття болю та життєвої активності SF-36 (табл. 5). Розвиток ЕД при цьому достовірно пов'язаний із відчуттям болю та погіршенням життєвої активності.

Таблиця 4

Кореляційні зв'язки між середніми показниками анкет МІЕФ та SF-36 чоловіків з ЕД змішаного генезу (включено хворих з ендотеліальною дисфункцією, метаболічним синдромом, дисліпідемією, гіпертонічною хворобою, ІХС, цукровим діабетом, гіпогонадизмом, $n = 36$)

Характеристика	Концепція здоров'я	МІЕФ загальний бал	Сексуальне бажання	Оргазмічна функція	Задоволення статевим актом	Задоволення статевим життям	Ерекційна функція	16-те запитання
Коефіцієнт кореляції	ЗЗ	0,477*	0,423*	0,363*	0,529*	0,210	0,382*	-0,189
	ФФ	0,742*	0,481*	0,594*	0,586*	0,457*	0,626*	-0,519*
	РФ	0,025	0,202	0,109	0,049	0,141	0,056	0,058
	РЕ	0,150	0,010	0,172	0,046	0,091	0,159	0,155
	СФ	0,027	0,075	0,061	0,104	0,115	0,025	0,152
	БВ	0,623*	0,490*	0,463*	0,555*	0,250	0,524*	-0,396*
	ЖЗ	0,611*	0,476*	0,642*	0,520*	0,190	0,433*	-0,326
	ПЗ	0,248	0,143	0,264	0,244	-0,008	0,192	-0,177
t-значення	ЗЗ	3,162*	2,719*	2,590*	3,639*	1,250	2,407*	1,120
	ФФ	6,455*	3,196*	4,306*	4,221*	2,998*	4,686*	3,539*
	РФ	0,144	1,201	0,639	0,284	0,829	0,329	0,340
	РЕ	0,887	0,056	1,019	0,266	0,536	0,940	0,916
	СФ	0,159	0,440	0,359	0,609	0,673	0,148	0,899
	БВ	4,644*	3,280*	3,045*	3,892*	1,509	3,590*	2,513*
	ЖЗ	4,498*	3,155*	4,886*	3,546*	1,127	2,801*	2,014
	ПЗ	1,495	0,845	1,594	1,466	0,046	1,143	1,046

Примітки: * – дані достовірні при $p < 0,05$, $t_{0,05} = 2,032$; концепції здоров'я – див. табл. 2.

Таблиця 5

Кореляційні зв'язки між середніми показниками анкет МІЕФ, ЕД-пз та SF-36 чоловіків з ЕД змішаного генезу з провідним синдромом хронічного тазового болю (включено пацієнтів із хронічним простатитом ІІ, ІІа, ІІб категорій, $n = 33$)

Характеристика	Концепція здоров'я	МІЕФ загальний бал	Сексуальне бажання	Оргазмічна функція	Задоволення статевим актом	Задоволення статевим життям	Ерекційна функція	16-те запитання
Коефіцієнт кореляції	ЗЗ	0,023	0,372*	0,104	0,043	0,010	0,031	-0,035
	ФФ	0,444*	0,459*	0,403*	0,088	0,368*	-0,474*	-0,286
	РФ	0,170	0,122	0,061	0,283	0,305	0,067	0,018
	РЕ	0,050	0,077	0,146	0,268	0,076	0,167	-0,019
	СФ	0,187	0,149	0,142	0,007	0,091	0,209	-0,196
	БВ	0,425*	0,133	0,107	0,138	0,270	0,380*	-0,339
	ЖЗ	0,386*	0,182	0,572*	0,045	0,563*	0,476*	-0,320
	ПЗ	0,192	0,184	0,123	0,046	0,257	0,176	0,038
t-значення	ЗЗ	0,130	2,231*	0,580	0,241	0,055	0,173	0,195
	ФФ	2,761*	2,879*	2,453*	0,492	2,207*	2,999*	1,661
	РФ	0,960	0,682	0,340	1,642	1,782	0,373	0,101
	РЕ	0,277	0,432	0,822	1,547	0,425	0,943	0,105
	СФ	1,060	0,838	0,800	0,037	0,507	1,188	1,111
	БВ	2,612*	0,745	0,600	0,778	1,560	2,286*	2,006
	ЖЗ	2,327*	1,032	3,886*	0,253	3,790*	3,013*	1,881
	ПЗ	1,088	1,044	0,688	0,254	1,479	0,996	0,210

Примітки: * – дані достовірні при $p < 0,05$, $t_{0,05} = 2,040$; концепції здоров'я – див. табл. 2.

При передчасній еякуляції та ЕД достовірно погіршуються та взаємозалежать загальне здоров'я, відчуття болю та життєва активність із загальним балом МІЕФ, балом сексуального бажання та задоволення від статевого акту МІЕФ (табл. 6). Імовірно, вторинний розвиток ЕД при органічній передчасній еякуляції та дисорганізмі пов'язаний із бо-

льовою симптоматикою ($r = 0,673$) та супутньою втратою життєвої активності ($r = 0,677$). Фізична функція даної групи чоловіків прямо корелює із задоволенням від статевого життя, а психічне здоров'я – із задоволенням від статевого акту.

Таблиця 6

Кореляційні зв'язки між середніми показниками анкет МІЕФ та SF-36 чоловіків із передчасною еякуляцією та еректильною дисфункцією ($n = 23$)

Характеристика	Концепція здоров'я	МІЕФ загальний бал	Сексуальне бажання	Оргазмічна функція	Задоволення статевим актом	Задоволення статевим життям	Еректильна функція
Коефіцієнт кореляції	ЗЗ	0,492*	0,558*	0,399	0,558*	0,127	0,034
	ФФ	0,092	0,240	0,260	0,103	0,529*	0,099
	РФ	0,028	0,186	0,377	0,266	0,143	0,171
	РЕ	0,049	0,443*	0,102	0,380	0,266	0,020
	СФ	0,198	0,185	0,261	0,378	0,230	0,134
	БВ	0,673*	0,550*	0,072	0,551*	0,281	0,411*
	ЖЗ	0,677*	0,489*	0,247	0,568*	0,048	0,408*
	ПЗ	0,328	0,332	0,048	0,466*	0,217	0,117
t -значення	ЗЗ	2,589*	3,082*	1,992	3,078*	0,585	0,156
	ФФ	0,425	1,131	1,234	0,474	2,857*	0,456
	РФ	0,127	0,867	1,864	1,264	0,662	0,797
	РЕ	0,227	2,265*	0,471	1,882	1,266	0,093
	СФ	0,925	0,865	1,238	1,874	1,081	0,619
	БВ	4,170*	3,021*	0,331	3,023*	1,342	2,063*
	ЖЗ	4,213*	2,568*	1,169	3,164*	0,218	2,045*
	ПЗ	1,590	1,612	0,218	2,413*	1,017	0,539

Примітки: * – дані достовірні при $p < 0,05$, $t_{0,05} = 2,080$; концепції здоров'я – див. табл. 2.

Існує декілька досліджень якості життя чоловіків з ЕД, в яких застосовані такі ж концепції, анкети та статистика, що дозволяє виконати порівняння. Основні отримані нами результати узгоджуються з подібними, коли також виявляється зв'язок ЕД з погіршенням здоров'я, емоційними проблемами, стресом [7]. Інші дослідження вказують на взаємозв'язок між психологічними особливостями та еректильною дисфункцією – чоловіки з найвищим рівнем подавлення злості, а також її експресії мають найбільший шанс розвитку помірної чи вираженої ЕД, ніж загальна популяція, так само як і чоловіки з вираженою депресією [5]. Fugl-Meyer зі співавторами [6] виявили, що у чоловіків, які звертаються за медичною допомогою з приводу ЕД та мають низький рівень задоволення від статевого життя, після відповідного лікування рівень задоволення значно зростає. Агауїо зі співавторами [10] доповіли про сильний зв'язок між депресією та еректильною дисфункцією у чоловіків середнього віку. Інші цікаві дані з використання анкети ПЕФ щодо високої соціальної активності при вираженій ЕД відображені в роботах [7]. Важко трактувати ці дані, оскільки вони не відтворені при застосуванні анкет ЕД-пз та МІЕФ. Пояснення може бути подібним до дослідження EDEM: соціальна активність не прив'язується до віку, хоча молодші пацієнти можуть бути менше соціально залученими, ніж старші. Оскільки ступінь ЕД, визначений шляхом анкетування ЕД-пз, не повністю співвідноситься з даними анкетування МІЕФ, пацієнти з помірно вираженою ЕД (за МІЕФ) можуть бути молодшими, ніж чоловіки з помірною ЕД (за ЕД-пз).

Висновки

1. Сильний від'ємний кореляційний зв'язок спостерігається як між ЕД-пз і загальним балом МІЕФ ($r = -0,76$), так і між ЕД-пз та ЕД-МІЕФ ($r = -0,87$).

2. Для всіх респондентів (як хворих ЕД, так і здорових) прослідковуються значущі прямі корелятивні зв'язки між загальним здоров'ям, фізичним функціонуванням, відчуттям болю, життєвою активністю та усіма доменами МІЕФ.

3. Найближче пов'язаними з ЕД показниками анкети SF-36 виявились бали, які відповідали загальному здоров'ю ($r = 0,39$), фізичній функції ($r = 0,28$) за загальним балом МІЕФ, $-0,266$ та $-0,142$ за ЕД-МІЕФ відповідно ($p < 0,05$).

4. Встановлено кореляційні зв'язки між доменами анкет МІЕФ та SF-36 залежно від форми ЕД.

Бібліографічні посилання

1. **Популяционные** показатели качества жизни по опроснику SF-36 / В. Н. Амирджанова, Д. В. Горячев, Н. И. Коршунов и др. // Научно-практическая ревматология. – 2008. – № 1. – С. 36–48.
2. **Фещенко Ю. І.** Процедура адаптації міжнародного опитувальника оцінки якості життя MOS SF-36 в Україні. Досвід застосування у хворих бронхіальною астмою / Ю. І. Фещенко, Ю. М. Мостовой, Ю. В. Бабійчук // Укр. пульмонолог. журн. – 2002. – № 3. – С. 9–11.
3. **Чучалин А. Г.** Качество жизни больных: влияние бронхиальной астмы и аллергического ринита / А. Г. Чучалин, Н. Ю. Сенкевич // Тер. архив. – 1998. – № 9. – С. 53–57.
4. **Cappelleri J. C.** Diagnostic evaluation of the erectile function domain of the international index of erectile function / J. C. Cappelleri, R. C. Rosen, M. D. Smith // Urology. – 1999. – Vol. 54. – P. 346–351.
5. **Melman A.** The epidemiology and pathophysiology of erectile dysfunction / A. Melman, J. C. Gingell // J. Urol. – 1999. – Vol. 161. – P. 5–11.
6. **On life** satisfaction in male erectile dysfunction / A. R. Fugl-Meyer, G. Lodnert, I. B. Branholm et al. // Int. J. Impot. Res. – 1997. – Vol. 9. – P. 141–148.
7. **Sexual Dysfunction** in the United States. Prevalence and Predictors / E. O. Laumann, A. Paik, R. C. Rosen // JAMA–1999. – Vol. 281, N 6. – P. 537–544.
8. **SF-36 health survey** manual and interpretation guide / J. E. Ware, K. K. Snow, M. Kosinski, B. Gandek. – Boston (MA) : New England Medical Center, 1983.
9. **The International** Index of Erectile Function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of Erectile Dysfunction / R. C. Rosen, A. Riley, G. Wagner et al. // Urology. – 1997. – Vol. 49. – P. 822–830.
10. **The relationship** between depressive symptoms and male erectile dysfunction: cross-sectional results from the Massachusetts Male Aging Study / A. B. Araujo, R. Durante, H. A. Feldman et al. // Psychosom. Med. – 1998. – Vol. 60. – P. 458–465.
11. **Ware J. E.** The MOS 36-item short-form health survey (SF-36) I. Conceptual framework and item selection / J. E. Ware, C. D. Sherbourne // Medical Care. – 1992. – Vol. 30, N 6. – P. 473–483.
12. **Ware J. E.** Quality of Life and Pharmaco-economics in Clinical Trials / J. E. Ware, B. Gandek, S. D. Keller. – Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers, 1995. – P. 681–692.

Надійшла до редколегії 17.06.2010

УДК 576.311.34

А. М. Гончаров, В. Г. Гаврилук, О. В. Мацелюх, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

**ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА БІОСИНТЕЗ
ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТНИХ КОМПЛЕКСІВ
*YARROWIA LIPOLYTICA***

Встановлено, що на продукцію протеолітичних ферментів дріжджоподібними грибами впливають джерела вуглецю, нітрогену та енергії. Вивчено вплив різних органічних сполук на протео-, фібрино-, желатино- та гемоглобінолітичну активність ферментів *Yarrowia lipolytica* 2061. Показано позитивний вплив унесення галактози та желатину з гліцином до культурального середовища. Встановлено оптимальну температуру, рН та інші параметри культивування для отримання ферментних комплексів.

А. М. Гончаров, В. Г. Гаврилук, Е. В. Мацелюх, А. И. Винников

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
НА БИОСИНТЕЗ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ
ФЕРМЕНТНЫХ КОМПЛЕКСОВ *YARROWIA LIPOLYTICA***

Установлено, что на продукцию протеолитических ферментов дрожжеобразными грибами оказывают влияние источники углерода, азота и энергии. Изучено влияние различных органических соединений на протео-, фибрино-, желатино- и гемоглобинолитическую активность ферментов *Yarrowia lipolytica* 2061. Показано позитивное влияние внесения галактозы и желатина с глицином в культуральную среду. Установлены оптимальные температура, рН и другие физические параметры культивирования для получения ферментных комплексов.

A. M. Goncharov, V. G. Gavriljuk, E. V. Matseljukh, A. I. Vinnikov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

**CULURAL PARAMETERS EFFECT
OF BIOSYNTHESIS OF PROTEOLYTIC ENZYME COMPLEXES
FROM *YARROWIA LIPOLYTICA***

It was established, that production of proteolytic enzymes from yeasts is effected by sources of Carbon, Nitrogen and energy. The impact of different organic substances to proteo-, fibrino-, gelatine- and haemoglobinolytic enzyme activity from *Yarrowia lipolytica* 2061 is established. Positive effect of addition galactose and gelatin with glycine in cultural liquid is revealed. Optimal temperature, pH and other physical parameters for getting proteolitic enzyme complexes is defined.

Вступ

Нині у багатьох галузях господарства застосовуються технології, пов'язані з перетворенням складних органічних речовин на прості гідролітичним шляхом. У зв'язку з цим перспективне застосування гідролітичних ферментів, які продукуються мікро-

організмами. Але для їх широкого промислового застосування необхідне детальне дослідження процесів синтезу та механізмів дії. Особливо важлива оптимізація умов культивування продуцентів із метою отримання максимального виходу кінцевого продукту за мінімальних затрат. Один із перспективних продуцентів протеолітичних ферментів – дріжджоподібні гриби роду *Yarrowia* [5; 8; 13]. Вони добре вивчені у фізіологічному та генетичному аспектах, не вибагливі до умов існування. Для них розроблені схеми селекційного пошуку, а головне – вони продукують велику кількість протеолітичних ферментів, які можна легко виділити та очистити для подальшого практичного застосування [1; 3]. Мета даної роботи – оцінити вплив складу живильного середовища та умов культивування на приріст біомаси та синтез протеолітичних ферментних комплексів штаму *Y. lipolytica* 2061.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт досліджень – штам *Y. lipolytica* 2061 – продуцент протеолітичних ферментів. Для вирощування накопичувальної культури використовували живильне середовище для дріжджів такого складу (г/л): глюкоза – 20,00, сечовина – 1,00, дріжджовий автолізат – 0,30, KH_2PO_4 – 0,50, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,25, KCl – 0,30; $pH = 6,0$.

Для дослідження впливу концентрації джерел вуглецю та енергії на продукцію протеолітичних комплексів штаму *Y. lipolytica* 2061 висівали на живильне середовище зі змінними концентраціями глюкози та галактози (1, 2, 5, 10, 15, 20, 25 та 30 г/л). Культуру вирощували при інтенсивному перемішуванні протягом 48 годин. У культуральній рідині визначали вміст білка за Лоурі [2; 6; 12], загальну протеолітичну активність – за Ансоном та фібринолітичну активність [3; 5; 11]. Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням критерію Стьюдента (t) на 5 % рівні значимості. На рисунках і в таблицях наводяться середні дані з визначень.

Результати та їх обговорення

Для вибору оптимального джерела вуглецю та енергії, яке забезпечить максимальну продукцію ферментів, проведено аналіз впливу концентрації глюкози та галактози на приріст білка, протеолітичну та фібринолітичну активність. Зі збільшенням концентрації глюкози зростає вміст білка до 0,486 мг/мл, а ферментативна активність досягає максимуму при концентрації глюкози 20 г/л. При більших її концентраціях синтез ферментів зменшується з $4 \cdot 10^{-2}$ до $4 \cdot 10^{-3}$ од./мл, із чого можна зробити припущення про катаболітну репресію синтезу ферментів глюкозою (табл. 1). Щодо впливу концентрації глюкози на ферментативну активність культуральної рідини, то вона також пригнічується при вмісті глюкози понад 20 г/л. При нижчих концентраціях відмінність за рівнем активності незначна ($0,015 \pm 0,005$ од./мл).

Альтернативне джерело вуглецю та енергії – галактоза, тому для неї також проведено дослідження впливу концентрації на біосинтетичну активність (табл. 2). При концентраціях галактози понад 20 г/л також відбувається зменшення протеолітичної активності. Фібринолітична активність не пригнічується при вищій концентрації галактози (на відміну від глюкози) і залишається на рівні $0,25 \pm 0,05$ од./мл. Це можна пояснити тим, що глюкоза частіше за інші вуглеводи викликає катаболітну репресію синтезу ферментів [6; 7; 9]. Таким чином, загальний вміст білка зростає при підвищенні концентрації обох вуглеводів. Протеолітична активність пригнічується як глюкозою, так і галактозою при їх концентраціях понад 20 г/л; фібринолітична – лише відповідними концентраціями глюкози.

Таблиця 1

**Вплив змінних концентрацій глюкози на ферментативну активність
протеолітичних комплексів *Yarrowia lipolytica* 2061**

Концентрація глюкози, г/л	Вміст білка, мг/мл	Протеолітична активність		Фібринолітична активність	
		од./мл середовища	од./мг білка	од./мл середовища	од./мг
1	0,215 ± 0,0010	0,012 ± 0,0006	0,055 ± 0,0027	0,001 ± 0,0000	0,005 ± 0,0003
2	0,210 ± 0,0010	0,015 ± 0,0007	0,070 ± 0,0035	0,002 ± 0,0001	0,010 ± 0,0005
5	0,260 ± 0,0013	0,018 ± 0,0009	0,070 ± 0,0035	0,003 ± 0,0002	0,014 ± 0,0007
10	0,245 ± 0,0012	0,022 ± 0,0011	0,089 ± 0,0044	0,007 ± 0,0004	0,027 ± 0,0013
15	0,238 ± 0,0012	0,016 ± 0,0008	0,069 ± 0,0035	0,006 ± 0,0003	0,024 ± 0,0012
20	0,331 ± 0,0016	0,013 ± 0,0006	0,040 ± 0,0020	0,005 ± 0,0002	0,014 ± 0,0007
25	0,371 ± 0,0018	0,006 ± 0,0003	0,015 ± 0,0007	0,012 ± 0,0006	0,031 ± 0,0015
30	0,486 ± 0,0019	0,002 ± 0,0001	0,004 ± 0,0002	0,002 ± 0,0001	0,003 ± 0,0002

Таблиця 2

**Вплив концентрації галактози на ферментативну активність
протеолітичних комплексів *Yarrowia lipolytica* 2061**

Концентрація галактози, г/л	Вміст білка, мг/мл	Протеолітична активність		Фібринолітична активність	
		од./мл середовища	од./мг білка	од./мл середовища	од./мг білка
1	0,125 ± 0,0062	0,016 ± 0,0008	0,130 ± 0,0065	0	0
2	0,120 ± 0,0060	0,024 ± 0,0012	0,204 ± 0,0102	0,003 ± 0,00015	0,025 ± 0,0012
5	0,125 ± 0,0062	0,042 ± 0,0021	0,343 ± 0,0171	0,003 ± 0,00015	0,026 ± 0,0013
10	0,145 ± 0,0072	0,040 ± 0,0020	0,281 ± 0,0141	0,004 ± 0,00020	0,027 ± 0,0014
15	0,103 ± 0,0051	0,036 ± 0,0018	0,357 ± 0,0179	0,003 ± 0,00015	0,032 ± 0,0016
20	0,215 ± 0,0107	0,040 ± 0,0020	0,190 ± 0,0095	0,003 ± 0,00015	0,017 ± 0,0008
25	0,215 ± 0,0107	0,002 ± 0,0001	0,009 ± 0,0005	0,004 ± 0,00020	0,018 ± 0,0009
30	0,198 ± 0,0099	0,002 ± 0,0001	0,010 ± 0,0005	0,004 ± 0,00020	0,020 ± 0,0010

На наступному етапі проводили дослідження впливу джерел нітрогену на рівень продукції протеолітичних ферментних комплексів. Додавання до живильного середовища *Y. lipolytica* 2061 неорганічних джерел нітрогену не впливало на рівень протеолітичної активності. Використання як єдиного джерела нітрогену пептону або гліцину з желатином призводило до збільшення загальної протеолітичної активності продуцента на 87, 122 та 156 % відповідно, порівняно з контролем, який містив сечовину як єдине джерело нітрогену (рис. 1). Використання комбінацій желатину з неорганічними сполуками не викликало підвищення активності порівняно із застосуванням желатину. Але комбінація пептону та гліцину з желатином дає можливість збільшити протеолітичну активність культуральної рідини на 196 і 222 % відповідно. Таким чином, для синтезу протеолітичного комплексу *Y. lipolytica* 2061 оптимальне джерело нітрогену у живильному середовищі – суміш гліцину з желатином [9].

Оптимальний склад живильного середовища для забезпечення максимального біосинтезу позаклітинного протеолітичного комплексу *Y. lipolytica* 2061 такий (г/л): желатин – 10,0, гліцин – 1,00, галактоза – 20,00, дріжджовий автолізат – 0,30, KH_2PO_4 – 0,50, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,25, KCl – 0,30. Завдяки оптимізації джерел нітрогену живильного середовища вдалося підвищити активність протеолітичних комплексів *Y. lipolytica* 2061 у 2,4 раза. Для визначення впливу речовин білкової природи на синтез протеолітичних комплексів вивчено дію різних індукторів: гемоглобін, казеїн, желатин, бичачої крові (рис. 2).

При вирощуванні *Y. lipolytica* 2061 на середовищі з додаванням казеїну відбувалася активація синтезу протеолітичного комплексу, при цьому в 2,5 раза порівняно з контролем зростала загальна протеолітична та гемоглобінолітична ак-

тивність. Рівень гемоглобінолітичної активності на середовищах із бичачою кров'ю та желатином в 1,6–1,8 раза вищий, ніж у контролі. Під час культивування *Y. lipolytica* 2061 на середовищах із казеїном і желатином вдалося досягти високих показників питомої фібринолітичної активності (0,15–0,16 од./мг), що майже удвічі вище порівняно з контролем.

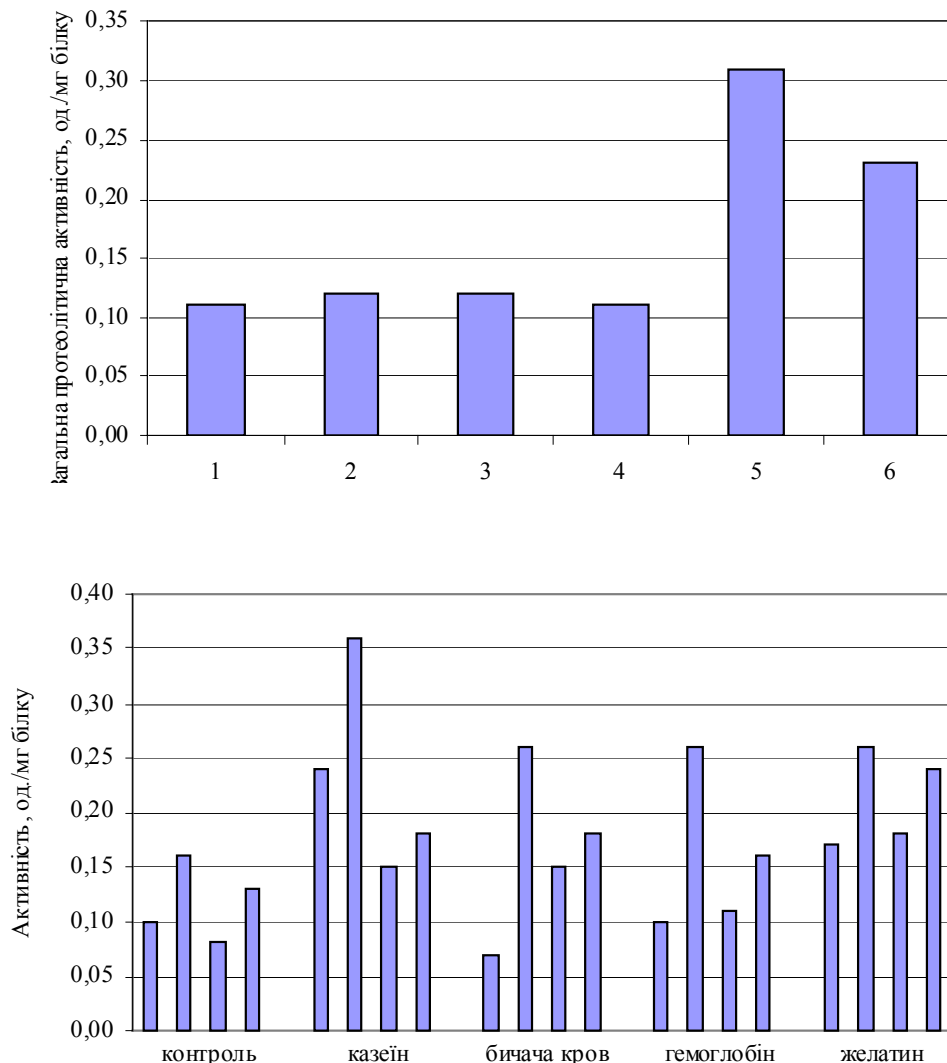


Рис. 2. Вплив речовин білкової природи на продукцію протеолітичних ферментів:
 1 – протеолітична, 2 – гемоглобінолітична, 3 – фібринолітична, 4 – желатиназна активність

На активність протеолітичних ферментних комплексів, окрім складу середовища, впливають також умови культивування продуцентів: *pH*, температура, об'єм живильного середовища та кількість посівного матеріалу. Вивчення впливу різних факторів дозволить керувати процесами, що протікають у клітині мікроорганізму. Для подальшого підвищення активності досліджено вплив різних умов ферментації на біосинтез протеолітичних ферментних комплексів [5]. Збільшення об'єму живильного середовища та викликане цим зниження швидкості розчинення кисню викликає збільшення активності всіх ферментів. Показано, що культивування продуцента в об'ємі середовища 150–200 мл оптимальне для синтезу ферментів.

Дослідження ефективності перемішування та впливу температури показало, що максимальна активність культуральної рідини *Y. lipolytica 2061* спостерігається під час культивування в умовах качалки при 220 об./хв. Тому підбір температурного режиму проводився саме при такій швидкості перемішування. Виявлено, що в діапазоні температур +28...+30 °C відмічався максимальний рівень активності протеаз штаму *Y. lipolytica 2061*.

Висновки

Встановлено оптимальні умови культивування *Y. lipolytica 2061*, за яких активність протеолітичного комплексу найвища: pH 6,0, температура +28...+30 °C, об'єм живильного середовища 150 мл, об'єм посівного матеріалу 20 мл, джерело вуглецю – галактоза, джерело нітрогену – желатин із гліцином.

Бібліографічні посилання

1. **Влияние** координационных соединений германия на активность ряда гликозидаз / Л. Д. Варбанец, О. Н. Рзаева, Е. В. Мишак и др. // Микробиол. журн. – 2007. – Т. 69, № 3. – С. 11–18.
2. **Долгих М. С.** Протеолитическая активность дрожжеподобных грибов рода *Candida* – продуцентов белка / М. С. Долгих, Э. Г. Кравцов, А. В. Ермолаев // Микология и фитопатология. – 1990. – Т. 24, № 3. – С. 229–235.
3. **Петрова И. С.** Определение протеолитической активности ферментных препаратов микробного происхождения / И. С. Петрова, М. Н. Винцонойте // Прикл. биохимия и микробиология. – 1966. – Т. 2, № 1. – С. 322–327.
4. **Польгалина Г. В.** Определение активности ферментов / Г. В. Польгалина, В. С. Чередниченко, Л. В. Римарева. – М.: ДеЛиПринт, 2003. – 250 с.
5. **Andrews P.** Estimation of the molecular weights of proteins by Sephadex gel-filtration // Biochem. J. – 1964. – Vol. 91, N 2. – P. 222–232.
6. **Balaraman K.** Production and purification of fibrinolytic enzyme (trombinase) from *Yarrowia lipolytica* / K. Balaraman, G. Prabakaran // Indian J. Med. Res. – 2007. – Vol. 126, N 5. – P. 459–464.
7. **Barett A. J.** Proteolytic enzymes: aspartic and metalloproteases // Meth. Enzymol. – 1995. – Vol. 248. – P. 183–197.
8. **Genetic control** of extracellular protease synthesis in the yeast *Yarrowia lipolytica* / C. I. Gonzalez-Lopez, R. Szabo, S. Blanchin-Rolanda, C. Gaillardina // Genetics. – 2002. – Vol. 160. – P. 417–427.
9. **Growth and proteolytic activity** of hairy roots from *Yarrowia lipolytica*: effect of nitrogen and sucrose / P. M. L. Lourenço, S. de Castro, T. M. Martins et al. // Enzyme and Microbial Technology. – 2002. – Vol. 31, N 3. – P. 242–249.
10. **pH-regulated expression** of the acid and alkaline extracellular proteases of *Yarrowia lipolytica* / D. J. Glover, R. K. McEven, C. R. Thomas, T. W. Young // Microbiology. – 1997. – Vol. 143. – P. 3045–3054.
11. **The intracellular proteolytic system** of *Yarrowia lipolytica* and characterization of an aminopeptidase / Z. Hernández-Montañez, J. Araujo-Osorio, Y. Noriega-Reyes et al. // FEMS Microbiol. Lett. – 2007. – Vol. 268, N 2. – P. 178–186.
12. **Protein measurement** with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.
13. **Protein expression and secretion** in the yeast *Yarrowia lipolytica* / J. M. Nicaud, C. Madzak, P. van den Broek et al. // FEMS Yeast Res. – 2002. – Vol. 2, N 3. – P. 371–379.

Надійшла до редакції 05.06.2010

УДК 614.2+616.36

Т. В. Ерошкина, Г. Р. Шамычкова, Е. М. Суркова, В. В. Ткаченко

*Днепропетровский национальный университет им. Олеса Гончара
Кировская районная санитарно-эпидемиологическая станция, г. Днепропетровск*

СОСТОЯНИЕ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗОМ НАСЕЛЕНИЯ ПРОМЫШЛЕННОГО РЕГИОНА И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПУТЕЙ ЕЕ ПРОФИЛАКТИКИ

В динамике представлены данные заболеваемости туберкулезом населения промышленного региона и некоторые пути совершенствования борьбы с этой инфекцией. Заболеваемость туберкулезом в Кировском районе, как и в самом Днепропетровске и области, остается на уровне эпидемии. Показатели заболеваемости в нашем регионе в целом выше средних показателей по стране. Для усовершенствования системы профилактики рекомендуется целевое обучение медицинских кадров и улучшение условий их работы. Необходимо также увеличить финансирование комплексной программы, разработанной в целях борьбы с туберкулезом в Украине.

Т. В. Єрошкіна, Г. Р. Шамичкова, Е. М. Суркова, В. В. Ткаченко

*Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара
Кіровська районна санітарно-епідеміологічна станція, м. Дніпропетровськ*

СТАН ЗАХВОРЮВАНОСТІ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ НАСЕЛЕННЯ ПРОМИСЛОВОГО РЕГІОНУ ТА ВДОСКОНАЛЕННЯ ШЛЯХІВ ЇЇ ПРОФІЛАКТИКИ

У динаміці наведено дані захворюваності на туберкульоз населення промислового регіону та деякі шляхи вдосконалення боротьби з цією інфекцією. Захворюваність населення на туберкульоз у Кіровському районі, як і в самому Дніпропетровську та області, залишається на рівні епідемії. Показники захворюваності у нашому регіоні в цілому вищі середніх показників по країні. Для вдосконалення системи профілактики рекомендується цільове навчання медичних кадрів і поліпшення умов їх праці. Необхідно також збільшити фінансування комплексної програми, розробленої з метою боротьби з туберкульозом в Україні.

T. V. Jeroshkina, G. R. Shamichkova, H. M. Surkova, V. V. Tkachenko

*Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University
Kirov District Sanitary-and-Epidemiologic Station, Dnipropetrovsk*

STATE OF TUBERCULOSIS MORBIDITY OF POPULATION IN INDUSTRIAL REGION AND PERFECTION OF PREVENTION WAYS

Dynamics of tuberculosis morbidity of population in industrial region and some ways of perfection of fight against this infection is presented. According to the data tuberculosis of population in Kirov district of Dnipropetrovsk city, as well as Dnipropetrovsk and its province, stays at epidemic level. Rates of morbidity in our region are integrally above the medium rates over the country. Intentional learning of health

manpower and their work conditions improving are recommended for development of prevention system. It's also necessary to increase accounting of complex program, developed for tuberculosis control in Ukraine.

Введение

Туберкулез – инфекционное заболевание, унесшее за последние сто лет более 20 млн. человек [3]. Наиболее крупные вспышки туберкулеза характерны для войн, эпох политических и экономических изменений. Туберкулез – антропозооноз, источником заболевания могут стать больные люди и животные (или бациллоносители), что способствует его широкому распространению [6].

С середины XX века отмечено стремительное снижение заболеваемости и смертности от туберкулеза, связанное с появлением эффективных противотуберкулезных лекарств, разработкой и внедрением противотуберкулезной вакцины (БЦЖ). Но успех оказался временным. С начала 1990-х годов произошел переломный момент в эпидемиологической ситуации – вместо ежегодного снижения заболеваемости начался ее рост. В настоящее время туберкулез является самым распространенным инфекционным заболеванием, занимающим первое место по смертности людей от инфекционной патологии [6].

Ежегодно в мире заболевает туберкулезом более 8 млн. человек, 95 % из них – жители развивающихся стран; 3 млн. человек умирает от этой инфекции [1; 8]. От туберкулеза умирает больше людей, чем от всех других инфекционных и паразитарных болезней вместе взятых. Инфицирована микобактериями туберкулеза почти треть населения планеты и каждую секунду заражается новый человек. Количество больных превысило 60 млн. [5; 9].

Проблема заболеваемости туберкулезом стала чрезвычайно острой в последние годы и для стран Центральной и Восточной Европы. Особую обеспокоенность специалистов вызывают полирезистентные формы туберкулеза, которыми болеют до 14 % пациентов. Сегодня различают триединую эпидемию туберкулеза. Первая ее составляющая – рост заболеваемости типичными формами туберкулеза, вторая обусловлена химиорезистентным туберкулезом, третья – туберкулезом на фоне СПИДа и у ВИЧ-инфицированных, характеризующаяся более тяжелыми формами, массивным и продолжительным бактериовыделением, большей частотой деструктивных осложнений и летальных исходов [4; 7].

Все вышеуказанное побудило ВОЗ объявить туберкулез глобальной опасностью, а 24 марта (начиная с 1982 г.) ООН проводится Всемирный день борьбы с туберкулезом.

Данная проблема актуальна и для Украины. По официальным данным, туберкулезом болеет около 900 тыс. жителей страны (по подсчетам экспертов ВОЗ – более 1,5 млн. чел.). Причем за последние 10 лет в два раза возросла заболеваемость бацилярными (заразными) формами. Наиболее тяжелыми, практически неизлечимыми формами туберкулеза заболевают от 10 до 30 % всех инфицированных. Ежегодно от туберкулеза умирает 11 тыс. наших соотечественников, что составляет 80–90 % от всех умерших от инфекционных болезней [1].

Ежедневно регистрируется 82 новых случая, 30 больных умирают. Значительно возросли темпы роста заболеваемости туберкулезом среди детей и молодежи, все чаще встречаются атипичные формы, не поддающиеся лечению по общепринятым методикам. Особенно это опасно для ВИЧ-инфицированных детей, которые, заразившись туберкулезом, в 90 % случаев умирают [9].

Несмотря на большой медико-социальный и народнохозяйственный ущерб от туберкулеза, в Украине за последние годы ликвидировано более 11 % специализированных туберкулезных клиник, 29 % противотуберкулезных диспансеров, 44 % тубер-

кулезных отделений в больницах, 65 % санаториев для больных туберкулезом. По ряду объективных причин, в том числе и из-за несвоевременной разработки Национальной программы по контролю за туберкулезом, последняя не была обеспечена достаточным финансированием из бюджета в 2006–2009 годах [2].

Указанное делает чрезвычайно актуальными научные исследования по проблеме борьбы с эпидемией туберкулеза. Поэтому цель работы – охарактеризовать в динамике заболеваемость туберкулезом в крупном промышленном регионе Украины – Днепропетровской области, оценить эффективность и своевременность проводимых профилактических мероприятий по ее предупреждению и распространению.

Материал и методы исследований

В работе использованы следующие методы исследования: эпидемиологический, медицинской статистики, непосредственного изучения и экспертной оценки. Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости туберкулезом населения Днепропетровска, отдельных районов города и в целом по Днепропетровской области в динамике за 8 лет, а также углубленный эпидемиологический анализ заболеваемости активными и бациллярными формами туберкулеза за 23 года (1987–2009 гг.) по Кировскому району города.

Изучение заболеваемости туберкулезом проведено путем выборки данных из регистров и статистических отчетов Днепропетровский областной и городской санитарно-эпидемиологических станций, районных СЭС, областного отдела статистики, областного тубдиспансера.

Изучение эффективности и своевременности проводимых профилактических мероприятий по предупреждению распространения туберкулеза проведено на двух промышленных предприятиях (охват флюорографическими профилактическими осмотрами работающих в условиях запыленности и охлаждающего микроклимата); в трех школах (флюорография, туберкулинодиагностика, метеофакторы, освещенность); двух техникумах (флюорография, метеофакторы, освещенность, условия проживания в общежитии); двух ЛПУ (результаты медосмотров, оздоровительные мероприятия по выявляемости, безопасность медперсонала); одной СЭС (эффективность контроля за выполнением плана профилактических осмотров на туберкулез, системой подготовки кадров, проведением вакцинации и ревакцинации, изучение инфицированности населения и др.).

Результаты и их обсуждение

Заболеваемость туберкулезом в Днепропетровской области значительно превышает среднеукраинские показатели (за 2009 год – 87,8 против 67,4 на 100 тыс. населения). Углубленное изучение заболеваемости туберкулезом проведено среди населения Кировского района Днепропетровска (табл.). Здесь отмечается волнообразное течение заболеваемости туберкулезом. Наименьший показатель был в 1974 году – 9,0, тогда как к 2006-му он возрос в 7,9 раза. Очередной подъем заболеваемости отмечен с 1997 года. По определению ВОЗ, эпидемией считается показатель 50,0 на 100 тыс. человек. К этому пороговому показателю в районе приблизились в 2002 году.

Отмечен рост и бациллярных форм туберкулеза (с 5,3 в 1997 до 16,5 – в 2007 году). Показатели заболеваемости активными формами увеличились за этот период с 121,9 до 197,9 на 100 тыс. населения района. Динамика заболеваемости за 1987–2007 годы представлена на рисунке. Удельный вес заболеваемости активными формами туберкулеза в общей инфекционной заболеваемости составил от 11,1 до 22,5 % с тенденцией к росту. По полу в районе болеют туберкулезом преимущественно мужчи-

ны (от 62,5 до 84,6 %), по возрасту – лица 30–40 лет (30 %) и 50–60 лет (23 %). Отмечались единичные случаи заболеваний среди детей – небациллярные формы. По профессиональному признаку в эпидпроцесс в 65,3 % вовлекались неработающие, 34,6 % – работники различных предприятий и профессий, 3,8 % – медицинские работники.

Таблица

Динамика заболеваемости туберкулезом органов дыхания среди населения Днепропетровской области за 2001–2008 гг. (на 100 тыс. человек)

Годы	Днепропетровская область		г. Днепропетровск		Кировский район		Украина	
	активная форма	в том числе ВК+	активная форма	в том числе ВК+	активная форма	в том числе ВК+	активная форма	в том числе ВК+
2001	75,5	20,7	56,7	17,1	26,3	6,0	64,2	25,7
2002	77,9	21,8	62,5	16,2	49,7	9,7	66,0	26,6
2003	77,9	20,7	66,4	12,7	69,4	22,6	67,8	26,3
2004	69,7	20,1	67,4	12,9	60,3	18,7	71,1	28,0
2005	59,7	12,6	64,0	16,6	48,8	11,4	73,4	30,5
2006	89,8	20,0	85,1	22,3	71,4	11,9	73,8	30,1
2007	91,5	35,2	72,9	22,8	63,6	16,5	79,8	30,1
2008	87,4	23,8	73,9	19,4	45,2	10,6	69,4	28,3
2009	87,8	23,7	55,4	20,0	55,3	21,3	67,4	27,8

Примечание: ВК+ – случаи бактериовыделения.

Выявляемость бациллярных форм туберкулеза при профилактических осмотрах составляет от 69,2 до 75,0 %. Абацеллирование составило в среднем 8–10 человек ежегодно. Одним из методов своевременного установления диагноза является туберкулинодиагностика. В районе туберкулинодиагностикой охватывается ежегодно 94,5–100,0 % от подлежащего контингента, выявляется с положительными и сомнительными реакциями значительная численность населения. Среди детей положительные и сомнительные реакции составили до 59,0 %, среди подростков – до 95,9 %.

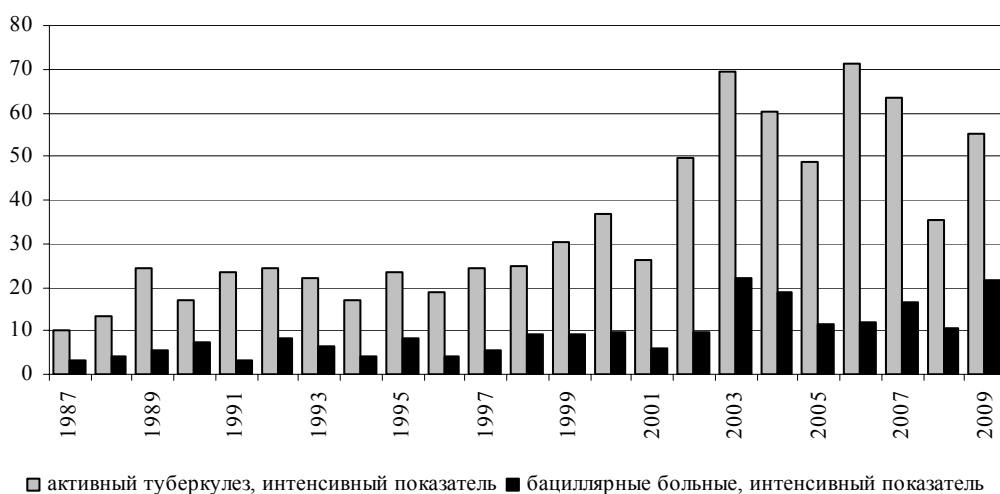


Рис. Динамика заболеваемости туберкулезом в Кировском районе Днепропетровска (на 100 тыс. жителей)

План профилактических прививок против туберкулеза (вакцинация и ревакцинация) ежегодно выполняется. В отдельные годы имелось перевыполнение плана (на 25–59 %), что ставит под сомнение корректность планирования прививок.

В районе, как в целом и в городе, создана система подготовки кадров, проводится частичное финансирование комплексной программы борьбы с туберкулезом, усилены административные меры к руководителям предприятий и организаций в случае невыполнения планов-графиков профилактических осмотров. Однако уровень знаний врачей общей практики по диагностике туберкулеза остается невысоким, о чем свидетельствует значительный процент диагностических ошибок (до 30 %). Это обстоятельство таит в себе опасность не только для населения, но и для самих медицинских работников, темп прироста заболеваемости среди которых значительно увеличился.

Наиболее быстрым, чувствительным и недорогим методом диагностики туберкулеза является микроскопическое исследование мокроты по Цилю – Нильсену, однако внедряется он крайне медленно, не всегда соблюдаются меры предосторожности персонала при заборе материала.

Выводы

Несмотря на принимаемые меры, заболеваемость туберкулезом в Кировском районе, как и в Днепропетровске и области, остается на уровне эпидемии и значительно превышает среднеукраинские показатели. Не в полном объеме осуществляются необходимые мероприятия по предупреждению туберкулеза по причине недостаточного финансирования комплексной программы по этой проблеме. Требуется совершенствования система подготовки медицинских кадров по вопросам лабораторных методов диагностики туберкулеза и микроскопии мазков мокроты по Цилю – Нильсену на кислотоустойчивые микобактерии.

Библиографические ссылки

1. **Волкова К. И.** Туберкулез в период эпидемии ВИЧ/СПИДа и наркомании / К. И. Волкова, А. Н. Кокосов, Н. А. Браженко // Проблемы туберкулеза. – 2001. – № 2. – С. 61–65.
2. **Динамика** и пути профилактики заболеваемости населения туберкулезом в регионе с развитой промышленностью / Г. Р. Шамычкова, А. А. Кононенко, Л. Н. Кучер, В. А. Мороз // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Медицина та охорона здоров'я. – 2008. – Вип. 6, № 8. – С. 122–126.
3. **Загальнодержавна** програма протидії захворюванню на туберкульоз на 2007–2011 рр., затверджена Законом України від 08.02.2007 р. № 648-V // Збірник нормативної та директивної документації. – К., 2007. – С. 611–622.
4. **Мельник В. М.** Клінічні аспекти туберкульозу та СНІДу / В. М. Мельник, П. М. Дорошенко // Журнал практичного лікаря. – 2002. – № 6. – С. 29–34.
5. **Москаленко В. Ф.** Актуальні проблеми туберкульозу в Україні за останні 10 років / В. Ф. Москаленко, Ю. І. Фещенко // Укр. пульмонолог. журн. – 2001. – № 1. – С. 5–8.
6. **Соціальна** медицина та організація охорони здоров'я / Під ред. Ю. В. Вороненка, В. Ф. Москаленка. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. – 680 с.
7. **Bojton R. J.** Pulmonary defences to acute respiratory infection / R. J. Bojton, P. J. Oppenshaw // British Medical Bulletin. – 2002. – Vol. 61. – P. 1–12.
8. **Mc Gowan J. E.** Nosocomial tuberculosis: New progress in control and prevention // Clin. Infect. Dis. – 1995. – Vol. 21. – P. 489–505.
9. **Schluger N. W.** Tuberculosis // Pulmonary / Respiratory Therapy Secrets. – 2nd ed. – 2002. – P. 211–218.

Надійшла до редколегії 14.01.2010

УДК 577.118+574.21

О. А. Земляний

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара

ОСОБЛИВОСТІ НАКОПИЧЕННЯ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ОРГАНАМИ ТА ТКАНИНАМИ МІКРОМАМАЛІЙ У РІЗНИХ ЗА СТУПЕНЕМ ЗАБРУДНЕННЯ БІОГЕОЦЕНОЗАХ

Розглянуто особливості накопичення мікроелементів в організмі мікромамалій із різних за ступенем трансформації біогеоценозів Дніпропетровської області. Визначено показники коефіцієнта накопичення в різних органах і тканинах. В екосистемах із різним рівнем і типом техногенного забруднення накопичення важких металів організмом мікромамалій відбувається неоднорідно. Визначені органи-концентратори (селезінка, серце, гонади) із переважним накопиченням важких металів, а також органи-деконцентратори (печінка, нирки, кишечник), у яких відбувається активне виведення мікроелементів. Встановлено тенденцію зниження інтенсивності накопичення мікроелементів у тварин із сильнотрансформованих біогеоценозів. Утворення спеціальних бар'єрів накопичення та виведення полутантів з організму органами-деконцентраторами свідчить про вироблення адаптивних пристосувань на фізіолого-біохімічному рівні (у першу чергу – інтенсифікація метаболізму).

А. А. Земляной

Днепропетровский национальный университет им. Олеса Гончара

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ОРГАНАМИ И ТКАНЯМИ МИКРОМАМАЛИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ПО УРОВНЮ ЗАГРЯЗНЕНИЯ БИОГЕОЦЕНОЗАХ

Рассмотрены особенности накопления микроэлементов в организме микромаммалий из различных по степени трансформации биогеноценозов Днепропетровской области. Определены показатели коэффициента накопления в различных органах и тканях. В различных экосистемах с разным уровнем и видом техногенного загрязнения накопление тяжелых металлов организмом микромаммалий происходит неоднородно. Определены органы-концентраторы (селезенка, сердце, гонады) с преимущественным накоплением тяжелых металлов, а также органы-деконцентраторы (печень, почки, кишечник), в которых происходит активное выведение микроэлементов. Установлена тенденция снижения интенсивности накопления микроэлементов у животных из сильнотрансформированных биогеноценозов. Образование специальных барьеров накопления и выведения полутантов из организма органами-деконцентраторами свидетельствует о выработке адаптивных приспособлений на физиолого-биохимическом уровне (в первую очередь – интенсификация метаболизма).

O. A. Zemliany

Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University

FEATURES OF HEAVY METALS ACCUMULATION IN SMALL MAMMALS' ORGANS AND TISSUES IN BIOGEOCENOSES OF DIFFERENT LEVEL CONTAMINATION

Microelements accumulation features are considered in micromammals' organism taken from different degrees transformation biogeocoenosis of Dnipropetrovsk region. Coefficients of accumulation are

defined in different organs and tissues. Accumulation of heavy metals in the micromammals' organism in different ecosystems, with a different technogenic contamination is heterogeneous. Organs which defined as concentrators are spleen, heart and gonads. They have primary accumulation of heavy metals. Organs–deconcentrators are those which have active extraction of microelements (liver, kidneys and intestine). Tendency to the decline of microelements accumulation intensity in animals from strongly transformed biogeocoenosis are stated. Formation of the special barriers of accumulation and excretion from organism by organs–deconcentrators testifies to making an adaptive mechanism at the level of physiology-biochemical processes and, first of all, the metabolism intensification.

Вступ

Одне з актуальних завдань екології – оцінка накопичення важких металів у компонентах навколишнього середовища. Ця проблема пов'язана з інтенсифікацією проникнення поллютантів у різні елементи біогеоценозів. Така проблема важлива для України в цілому і, особливо, для Придніпровського промислового регіону, де спостерігається значне надходження важких металів до навколишнього середовища.

Спостерігається прогресуюче насичення біосфери важкими металами. У результаті виробничої діяльності на окремих ділянках суходолу виникають досить значні концентрації металів. Протягом року розсіюється понад 25 % річної продукції заліза. Інші метали розсіюються ще енергійніше: розсіювання ртуті та свинцю складає 80–90 % їх річного виробництва [3].

Факт підвищення вмісту токсичних елементів під впливом забруднення середовища існування безперечної. Середні концентрації металів вищі у звірків «забруднених зон», особливо в органах і тканинах переважного депонування. Як показують численні дослідження, підвищення вмісту токсичних елементів у зовнішньому середовищі, і, насамперед, у рослинності, неминуче веде до підвищених концентрацій цих елементів в організмах ссавців [10–15]. Це відбувається в результаті активного проникнення мікроелементів у процесі дихання і з об'єктами живлення. Збільшення кількості мікроелементів в організмі дрібних ссавців в умовах трансформованих біогеоценозів Придніпровського регіону встановлено в ході наших робіт [4–6].

Специфіка вмісту та накопичення мікроелементів в організмі тварин з екосистем із різним типом і рівнем забруднення важлива та цікава для з'ясування впливу різних видів промислової діяльності на акумуляцію основних інгредієнтів забруднення в органах і тканинах, що мають різну функціональну роль. Мета досліджень – установити особливості накопичення важких металів органами та тканинами мікромамалій у різних за ступенем забруднення біогеоценозах Дніпропетровської області.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили в різних за ступенем і видом техногенного забруднення заплавних біогеоценозах Дніпропетровської області. Як «умовно чисті», фонові території використовували біогеоценози Присамарського лісового масиву та біогеоценози, розташовані на території Дніпровсько-Орільського природного заповідника (ДОПЗ). До техногенно перетворених, імпактних екосистем належать біогеоценози в районі шлаковідвалів Придніпровської теплоелектростанції (ПдТЕС); біогеоценози під впливом хімічних і металургійних підприємств м. Дніпродзержинськ (заплава р. Коноплянка); біогеоценози, що відчувають вплив шахтних розробок Західного Донбасу (наприкладі «Східної» групи шахт); біогеоценози в районі видобутку марганцевої руди м. Орджонікідзе; біогеоценози під впливом видобутку та переробки уранової руди та поліметалів м. Жовті Води та біогеоценози під впливом видобутку та переробки залізної руди м. Кривий Ріг.

Як об'єкт досліджень вибрано лісову мишу (*Silvaemus sylvaticus* L., 1758) – фоновий вид, що живе у більшості досліджених біогеоценозів. Вилловлювали мікромамалій стандартним методом за допомогою давилок Геро. Для аналізу використовували дані щодо вмісту мікроелементів в організмі дорослих особин. Уміст мікроелементів в органах і тканинах тварин і ґрунті визначали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра ААС-30 фірми Карл Цейс Йена, Німеччина. Перерахунок проводили на суху вагу. Одним із показників, що найчіткіше відбивають процеси акумуляції мікроелементів в організмі тварин, є коефіцієнт накопичення [11]. У ході роботи проведено порівняльну характеристику показників даного коефіцієнта (K) різних мікроелементів в органах і тканинах лісової миші з різних за ступенем і характером забруднення місць мешкання:

$$K = \frac{C_1}{C_2},$$

де C_1 – вміст мікроелемента в органі або тканині, C_2 – вміст мікроелемента у ґрунті відповідного біогеоценозу.

Результати та їх обговорення

Техногенне забруднення зумовлює інтенсивне накопичення поллютантів, різними органами та тканинами в організмі дрібних ссавців (табл.). В екосистемах із різним рівнем і видом техногенного забруднення накопичення важких металів організмом мікромамалій відбувається неоднорідно. Із підвищенням рівня забруднення екосистем, як правило, відзначається зменшення показників досліджуваного коефіцієнта, відбувається зниження накопичення поллютантів в органах і тканинах. Це свідчить про прагнення організму тварин обмежити акумуляцію небезпечних для життєдіяльності речовин.

Таблиця

Коефіцієнт накопичення важких металів в органах і тканинах мікромамалій із різних місць існування

Мікроелементи	Біотопи	Органи та тканини											
		кишечник	стінки шлунка	нирки	печінка	кісткова тканина	м'язова тканина	шкіра	легені	серце	селезінка	сім'яники	яйцепроводи
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Fe	1	3,32	10,64	8,65	5,14	12,55	4,25	5,25	10,57	13,66	21,71	4,38	5,57
	2	3,09	4,68	4,31	10,85	18,37	3,30	6,02	11,32	5,42	11,57	6,88	15,63
	3	2,04	2,36	2,35	2,41	9,93	2,64	0,74	10,31	14,23	17,63	7,45	10,47
	4	1,00	0,67	1,10	1,02	1,37	0,98	2,02	1,33	1,57	2,20	0,99	0,99
	5	3,92	1,91	3,21	2,62	5,06	1,83	1,49	2,35	4,94	11,80	0,69	2,13
	6	2,93	6,96	2,71	0,68	3,66	1,45	2,42	5,10	9,03	5,24	2,04	0,92
	7	1,26	1,79	1,10	0,45	2,27	0,60	2,33	1,09	6,78	3,85	2,25	0,00
	8	1,38	1,92	1,49	0,16	4,99	0,55	1,36	1,05	0,79	1,52	2,36	2,46
Mn	1	15,09	4,66	2,71	3,78	3,91	2,34	2,56	2,25	2,60	7,35	2,94	0,97
	2	9,44	4,67	3,53	1,19	8,18	2,77	2,22	9,63	8,99	11,85	4,95	5,31
	3	1,36	1,15	0,48	0,56	2,75	1,06	1,19	2,02	2,88	8,15	5,14	0,42
	4	1,36	1,17	2,78	0,88	3,46	2,33	3,56	5,76	4,36	11,00	5,67	2,60
	5	0,57	0,35	0,25	0,16	0,52	0,21	0,30	0,31	0,47	0,81	0,33	0,55
	6	0,28	0,83	0,73	0,35	0,84	0,80	0,42	0,49	1,32	1,85	0,92	0,23
	7	2,15	2,44	0,00	0,46	0,79	0,37	1,11	0,48	5,65	2,93	0,36	0,00
	8	1,13	1,98	0,96	0,47	4,62	0,59	1,01	2,64	1,72	15,86	25,09	3,57

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Cu	1	1,48	2,94	3,12	2,35	2,93	4,21	3,20	5,76	2,69	7,60	1,54	1,87
	2	6,42	6,84	8,96	5,52	13,49	6,70	6,58	13,15	23,83	29,74	11,69	6,75
	3	0,74	1,03	2,66	1,25	8,69	2,32	2,71	3,86	1,86	4,54	1,02	13,63
	4	0,21	0,14	0,42	0,11	0,40	0,27	1,31	0,43	0,82	1,54	0,67	1,13
	5	2,79	1,91	2,59	1,16	2,42	1,08	1,32	1,83	2,96	8,83	2,05	1,44
	6	0,65	0,86	0,60	0,24	1,12	0,60	0,42	0,80	0,83	3,35	1,04	0,42
	7	0,52	1,03	0,44	0,24	0,88	0,48	0,30	0,41	1,66	2,32	0,68	0,00
	8	0,22	0,28	0,42	0,12	0,78	0,22	0,45	0,34	0,47	2,34	0,60	0,79
Zn	1	6,48	0,48	2,22	2,07	5,17	3,09	0,32	2,17	2,99	2,30	1,88	3,01
	2	9,36	3,25	8,13	4,44	19,15	11,21	5,68	13,93	20,14	28,60	7,36	8,04
	3	1,40	1,69	1,25	1,06	3,08	2,00	2,17	4,21	4,56	12,57	5,23	1,67
	4	1,01	0,59	1,39	0,54	1,55	0,82	2,46	1,68	1,95	10,18	6,12	4,24
	5	7,41	4,30	3,01	1,49	3,86	15,63	2,37	3,72	3,19	7,89	1,79	11,65
	6	1,24	3,06	1,02	0,85	1,59	1,65	0,82	1,25	1,10	2,61	1,68	0,51
	7	0,35	0,39	0,36	0,12	0,99	0,26	0,48	0,16	1,65	0,70	0,56	0,00
	8	0,25	0,18	0,30	0,12	0,84	0,25	0,40	0,29	0,39	0,73	0,20	1,39
Ni	1	3,90	1,17	1,58	19,49	2,46	1,51	1,83	0,99	3,66	1,25	0,51	0,89
	2	2,94	2,16	5,43	4,60	7,39	3,43	8,73	5,62	4,52	4,37	1,39	1,93
	3	0,96	1,05	1,09	0,48	2,87	1,08	2,46	3,33	2,82	6,30	4,01	0,95
	4	4,15	1,00	15,67	1,10	1,80	5,47	10,70	1,62	2,14	12,45	7,69	2,66
	5	12,12	24,69	20,63	23,20	26,80	15,60	9,42	26,75	11,78	66,73	12,21	15,06
	6	3,06	5,38	2,86	1,77	2,65	2,22	2,50	8,12	5,62	8,95	5,99	0,10
	7	5,57	5,15	0,56	2,56	1,22	35,34	0,30	2,77	10,26	11,28	3,86	0,00
	8	8,58	8,69	4,71	2,57	50,64	3,26	5,35	5,99	44,66	89,55	18,96	9,17
Pb	1	1,00	0,84	1,34	1,18	3,38	1,70	1,48	1,53	4,42	2,54	0,47	0,69
	2	0,30	0,42	0,34	0,29	2,15	0,53	0,36	1,20	1,29	1,29	4,07	3,55
	3	5,08	2,75	4,90	1,47	13,40	4,02	3,82	16,96	17,41	31,90	6,14	4,76
	4	1,52	1,31	3,05	0,42	2,63	2,24	4,01	3,58	6,27	18,18	12,67	10,52
	5	3,09	5,62	5,33	7,39	5,94	2,04	0,81	4,08	1,56	4,69	2,32	6,36
	6	1,03	0,74	1,07	1,05	1,54	1,09	0,88	1,04	0,90	2,53	0,47	0,47
	7	1,58	2,63	1,38	0,29	5,45	1,32	0,90	0,50	1,64	1,37	3,87	0,00
	8	0,93	0,84	1,47	0,56	2,40	1,45	2,09	1,95	3,15	8,64	1,25	3,59
Cd	1	1,22	2,69	1,23	0,88	1,33	1,34	1,10	0,59	0,85	1,19	0,63	0,19
	2	1,09	1,73	2,58	1,00	3,09	4,58	6,38	13,16	2,43	9,19	4,02	1,34
	3	1,43	1,34	2,08	1,60	1,99	3,32	3,42	3,56	2,02	42,76	4,38	2,44
	4	3,97	3,49	8,81	1,17	10,19	6,27	18,18	13,91	24,56	61,65	26,70	46,88
	5	10,51	16,03	18,77	13,38	23,75	7,75	4,08	18,04	11,73	37,53	11,36	2,41
	6	3,08	2,45	3,83	4,18	4,79	2,66	2,43	1,73	0,62	0,54	0,95	0,04
	7	2,89	2,29	2,52	0,82	4,49	1,26	2,45	2,34	4,83	10,74	3,79	0,00
	8	1,05	1,01	0,86	0,63	2,91	0,76	0,82	1,79	0,86	2,88	0,73	1,11

Примітки: 1 – біогеоценози Присамарського лісового масиву, 2 – біогеоценози, розташовані на території ДОПЗ, 3 – біогеоценози в районі шлаковідвалів ПдТЕС, 4 – біогеоценози, що перебувають під впливом шахтних розробок Західного Донбасу, 5 – біогеоценози в районі видобутку марганцевої руди м. Орджонікідзе, 6 – біогеоценози під впливом видобутку та переробки уранової руди та поліметалів м. Жовті Води, 7 – біогеоценози під впливом видобутку та переробки залізної руди м. Кривий Ріг, 8 – біогеоценози під впливом хімічних і металургійних підприємств м. Дніпродзержинськ (заплава р. Коноплянка).

Різні органи та їх системи за ступенем накопичення важких металів можна поділити на мікроконцентратори з рисами деконцентраторів з активним виведенням інгредієнтів забруднення (печінка, нирки, кишечник) і на концентратори з поступовим накопиченням і зниженням виведення мікроелементів (селезінка, серце, гонади). Акумуляція небезпечних токсикантів у гонадах тварин досить негативно впливає як на нор-

мальне функціонування даної системи, так і на відтворення популяції в цілому. Це веде до зниження показників плідності у тварин із сильнозабруднених екосистем.

Рівні накопичення важких металів у подібних умовах різні, не мають прямої залежності від їх вмісту в середовищі мешкання. Це зумовлюється як інтенсивністю метаболізму, так і особливістю самих металів, їх синергічністю та антогонізмом.

Для того, щоб протистояти надлишковому надходженню важких металів в організм, тварини та рослини мають у своєму розпорядженні систему захисних реакцій і механізмів, вироблених у процесі еволюції, а також у відповідь на зміну середовища мешкання. При надходженні важких металів із ґрунту в рослини перший бар'єр на їх шляху – це коренева система. Надлишкова акумуляція металів обмежується вибірковою здатністю кореневого поглинання стосовно визначених елементів [2].

При незначному вмісті хімічних елементів у ґрунтах рослини поглинають усі доступні для них форми сполук. При високих концентраціях спостерігається насичення хімічним елементом: кількість у рослинах може залишатися на визначеному рівні або навіть знижуватися при подальшому збільшенні вмісту елемента у ґрунті [1]. Лінійна залежність акумуляції металів у системі «ґрунт – рослина» спостерігається тільки в діапазоні малих концентрацій мікроелементів у середовищі. При високих концентраціях спостерігається зворотна залежність – чим вищий уміст елемента в середовищі, тим нижчий ступінь його поглинання [8].

Проведені дослідження установили аналогічні тенденції. При збільшенні ступеня трансформації екосистем відбувається зниження інтенсивності накопичення мікроелементів у різних органах і тканинах. Причиною цього може бути як існування своєрідного «бар'єру» на рівні кишково-шлункового тракту, який не дозволяє проникати в організм усьому обсягу мікроелементів, що міститься в навколишньому середовищі [9], так і інтенсифікація виведення органами виділителями (кишечником і нирками) мікроелементів з організму при їх значному надходженні. Усе це дозволяє підтримувати вміст мікроелементів в організмі на рівні, що не спричиняє незворотних змін.

Як правило, виявляються межі накопичення важких металів організмом тварин. На рівні шлунково-кишкового тракту утворюється своєрідний бар'єр, що перешкоджає накопиченню полютантів вище визначеної межі незалежно від їх концентрації в середовищі. Це дозволяє тваринам існувати в умовах досить значних концентрацій токсичних елементів у навколишньому середовищі. Утворення спеціальних бар'єрів накопичення і виведення полютантів з організму органами-деконцентраторами свідчить про вироблення адаптивних пристосувань на рівні фізіолого-біохімічних процесів організму й, у першу чергу, підвищення інтенсифікації метаболізму, що дозволяє вижити в умовах трансформації біогеоценозів.

Висновки

Техногенне забруднення зумовлює інтенсивне накопичення полютантів різними органами та тканинами організмів дрібних ссавців. Найінтенсивніше накопичення важких металів відмічається в селезінці, серці та кістковій тканині, менш інтенсивне – у печінці, шкірі та м'язовій тканині. Найбільший індекс накопичення в умовах техногенного забруднення відмічається в органах, що характеризуються високим рівнем метаболізму та беруть участь в адаптаційному процесі (селезінка). Низьке накопичення полютантів у таких органах в умовах інтенсивного забруднення можна розглядати як участь їх у виведенні токсикантів (печінка, нирки).

Бібліографічні посилання

1. **Алексеев Ю. В.** Тяжелые металлы в почвах и растениях. – Л. : Агропромиздат, 1987. – 142 с.
2. **Власюк П. А.** Микроэлементы в обмене веществ растений. – К. : Наукова думка, 1976. – 154 с.
3. **Добровольский В. В.** Некоторые аспекты загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами // Биологическая роль микроэлементов. – М., 1983. – С. 44–55.
4. **Земляной А. А.** Сравнительная характеристика содержания биогенных микроэлементов в организме мелких млекопитающих из биогеоценозов в зоне поступления отходов угледобывающей промышленности и Присамарья / Биоэлементы. – Оренбург, 2004. – С. 115–118.
5. **Земляний О. А.** Біогенні мікроелементи в організмі *Mus musculus* із зони природної геохімічної аномалії Криворізького залізорудного басейну // Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах. – Д. : Вид-во ДНУ, 2009. – С. 338–339.
6. **Земляний О. А.** Використання мікроамалій для біоіндикації впливу джерел розсіювання емісії важких металів на природне середовище / Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2009. – Т. 17. – С. 95–100.
7. **Криволицкий Д. А.** Биоиндикация и экологическое нормирование / Д. А. Криволицкий, Ф. А. Тихомиров, Е. А. Федоров // Влияние промышленных предприятий на окружающую среду. – М., 1987. – С. 18–27.
8. **Кабата-Пендиас А.** Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М. : Мир, 1989. – 436 с.
9. **Мухачева С. В.** Уровни токсических элементов и функциональная структура популяций мелких млекопитающих в условиях техногенного загрязнения (на примере рыжей полевки) / С. В. Мухачева, С. В. Безель // Экология. – 1995. – № 3. – С. 237–240.
10. **Cristald M.** Small mammals as biological indicators of radioactive contamination of the environment / M. Cristald, D. Mascarzon // Sci. Total Envir. – 1990. – Vol. 99. – P. 61.
11. **Cadmium** accumulation in herbivorous and carnivorous small mammals: Meta-analysis of field data and validation of the bioaccumulation model optimal modeling for ecotoxicological applications / K. Veltman, M. Huijbregts, T. Hamers et al. // Environmental Toxicology. – 2009. – Vol. 26. – P. 1488–1496.
12. **Effects** of Ash Application on Cadmium Concentration in Small Mammals / M. Lodenius, A. Soltanpour-Gargari, E. Tulisalo, H. Henttonen // Environ. Qual. – 2002. – Vol. 31, N 1. – P. 188–192.
13. **Saldiva P. H. N.** Animal indicators of adverse effects associated with air pollution / P. H. N. Saldiva, G. M. Bohm // Ecosystem Health. – 2002. – Vol. 4, N 4. – P. 230–235.
14. **The heavy metal** counter of the teeth of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) as an exposure marker of environmental pollution in Poland / J. Appleton, K. M. Lee, K. Sawicka-Kapusta et al. // Environmental Pollution. – 2000. – Vol. 110, N 3. – P. 441–449.
15. **Further** investigation of the heavy metal content of the teeth of the bank vole as an exposure indicator of environmental pollution in Poland / J. Gdula-Argasinska, J. Appleton, K. Sawicka-Kapusta, B. Spence // Environmental Pollution. – 2004. – Vol. 131, N 1. – P. 71–79.

Надійшла до редколегії 12.05.2010

УДК 573.01:341.27.29.25.19

Г. М. Кременчуцький, Д. О. Степанський, Л. Г. Юргель,
І. П. Кошова, Т. Ю. Крушинська, С. О. Вальчук, А. Ю. Кондратьєв

Дніпропетровська державна медична академія

ІНФОРМАЦІЙНІ КОМУНІКАЦІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ

Макроорганізм у комплексі з мікробіотою розглядається як «суперорганізм». Мікроорганізми, що входять до мікробіоти, перебувають у динамічній рівновазі з макроорганізмом. Ця рівновага досягається завдяки молекулярній «мові» спілкування між прокаріотами та еукаріотичними клітинами. Молекулярне спілкування між клітинами дає позитивні та негативні результати. Виявлено велику кількість метаболітів мікроорганізмів, що несуть інформаційне навантаження (аутоіндукторів). Аутоіндуктори впливають на імунні та різноманітні метаболічні процеси. Цей вплив стосується, практично, всіх органів і систем макроорганізмів. Установлено, що метаболіти аерококів впливають на імунні, регенеративні та інші процеси макроорганізму. Проблема інформаційної комунікації прокаріотів і еукаріотів дає нові уявлення про життєдіяльність «суперорганізмів».

Г. Н. Кременчуцкий, Д. А. Степанский, Л. Г. Юргель,
И. П. Кошова, Т. Ю. Крушинская, С. А. Вальчук, А. Ю. Кондратьев

Днепропетровская государственная медицинская академия

ИНФОРМАЦИОННЫЕ КОММУНИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Макроорганизм в комплексе с микробиотой рассматривается как «суперорганизм». Микроорганизмы, входящие в микробиоту, находятся в динамическом равновесии с макроорганизмом. Это равновесие достигается благодаря молекулярному «языку» общения между прокариотическими и эукариотическими клетками. Молекулярное общение между клетками приводит к положительным и отрицательным результатам. Выявлено большое количество метаболитов микроорганизмов, несущих информационную нагрузку (аутоиндукторов). Аутоиндукторы влияют на иммунные и разнообразные метаболитические процессы. Это влияние относится, практически, ко всем органам и системам макроорганизмов. Изучены метаболиты аэрококков, влияющие на иммунные, регенеративные и другие процессы макроорганизма. Проблема информационной коммуникации прокаріотів и эукаріотів дает новые представления о жизнедеятельности «суперорганизмов».

G. N. Kremenchutsky, D. A. Stepansky, L. G. Yurgel,
I. P. Koshevaya, T. Y. Krushynskaya, S. A. Valchuk, F. Y. Kondratiyev

Dnipropetrovsk State Medical Academy

INFORMATIVE COMMUNICATION OF MICROORGANISMS

Macroorganism in combination with microbiota is considered as a “superorganism”. Microorganisms, belonging to the microbiota, are in dynamic equilibrium with a macroorganism. This balance is achieved through a molecular “language” of communication between prokaryotic and eukaryotic cells. Molecular communication between cells leads to positive and negative results. A large number of metabolites of microorganisms that carry the information load: autoinducers is revealed. Autoinducer affect on the immune systems, and variety of metabolic processes. This affects on practically all organs and systems of macroorganism. Studied metabolites of aerococci affect on the immune system, regenerative cycles and

other processes of macroorganism. The problem of informative communication between prokaryotes and eukaryotes provides new insights about vital functions of “superorganisms”.

Вступ

Завдяки дослідженням численної армії вчених, починаючи з Луї Пастера і до наших днів, організм людини розглядається як «суперорганізм», що складається з двох багатокомпонентних систем. По-перше, безпосередньо наш організм, який включає в себе шкіру, слизові оболонки, внутрішні органи, нервову систему і, як ми вважаємо, вершину «вищої» творчості – головний мозок. По-друге, він населений незліченною армією багатоклітинних, одноклітинних, неклітинних мікроорганізмів (гельмінтами, найпростішими, бактеріями, вірусами, бактеріофагами, генетичними елементами і навіть живими білками – пріонами). Часто мікроорганізми, що населяють нас, називають додатковим органом, або мікробіотою.

Мікробіота має детерміновану колоніальну організацію у вигляді біоплівки, в яких одні і ті ж види мікробів представляють різні клітинні кластери з вертикальним шаруванням і горизонтально розділеними зонами. У колоніальній організації мікроорганізмів усередині біоплівки є системи повітроносних мікропорожнин, що перетинаються клітинними тяжами. Для колоній мікроорганізмів характерне формування функціональних органів надорганізмового рівня, що відіграють комунікаційну, захисну, структуротвірну ролі [4].

В. Г. Войцеховським було встановлено, що диференціація клітин бацил відбувається в їх агрегатах, тобто своєрідних біокомплексах. Молекулярним сигналом для розвитку культур служать аутобіополімери глікопротеїдної природи з молекулярною масою 41,0 і 33,5 кДа. Агрегація ініціюється специфічними поверхневими білками клітинної стінки (70,0–72,0 кДа) [2].

У людському організмі «працюють» понад 2 млн. різних хімічних молекул (понад 100 тис. різних білків, 250 тис. ліпідів та інших біологічно активних речовин), гармонійна взаємодія яких і визначає зростання, розвиток і здоров'я людини [11]. Значна кількість цих молекул синтезується та вивільняється мікроорганізмами, які постійно або тимчасово присутні на її шкірі та слизових оболонках.

Роль мікробіоценозів у життєдіяльності «суперорганізму»

На організм людини постійно діють різні «шкідливі» ендогенні та екзогенні фактори (склад їжі, лікарські препарати, захворювання, інші хімічні, фізичні та біологічні агенти, стресові стани тощо). У тих випадках, коли за своєю тривалістю та інтенсивністю негативні впливи перевищують компенсаторні можливості системи «господар – його мікрофлора», виникають порушення, так звані «дисбактеріоз» [7].

Від мікроорганізмів, що населяють нас, залежить злагоджена робота всіх інших органів. Будь-які порушення цієї координованої роботи, що виходять за межі компенсаторних можливостей «суперорганізму», приводять спочатку до функціональних змін фізіологічних функцій і метаболічних реакцій, а потім – до розвитку різноманітних захворювань. Основну функцію взаємодії з нашим організмом виконують пробіотичні мікроорганізми (*pro bios* – для життя), на відміну від антибіотиків (*anti bios* – проти життя).

Однак існують інші молекулярні сигнали, що порушують роботу макроорганізму. Зокрема, специфічні ділянки мембран грамнегативних бактерій здатні активувати різні типи клітин макроорганізму, які залучаються до патогенезу сепсису. Так званий ліпід А, естерифікований глюкозамін, спільно з пірофосфатами та жирними кислотами, пов'язаними з ефірними й амідними групами, формує частину ліпополісахаридної клітинної мембрани. Ця сигнальна частина бактерій формує септичний синдром [8].

Для профілактики та відновлення порушень мікробіоти у світі розроблені та впроваджені у практику понад сто різних пробіотичних лікарських препаратів, біологічно активних добавок і функціональних продуктів харчування. Молекулярні та біохімічні механізми впливу пробіотиків на організм людини багато в чому залишаються не розпізнаними. Залишається незрозумілим, як споживання декількох грамів пробіотичних мікроорганізмів веде до настільки значущих позитивних змін фізіологічних функцій і здоров'я людини в цілому [7].

Явище транслокації мікроорганізмів і їх метаболітів

У 1990-х роках встановлено, що через слизову оболонку кишечника можуть легко проникати різні мікроорганізми, фрагменти їх клітин, колоїдні частинки, гранули харчового крохмалю, інші сполуки, близькі за розміром до бактеріальних клітин або менші. У результаті подібні частки та молекули легко виявляються в крові та сечі людини. Їх появу у біологічних рідинах можна виявити вже протягом декількох хвилин після орального введення тих або інших індикаторних сполук або мікроорганізмів [10].

Експериментально доведено, що мікроорганізми травного тракту здатні активно переробляти складні речовини, що надходять ззовні (харчові продукти) або мають ендогенне походження (компоненти слини, травних соків, злущений епітелій, мертві мікроорганізми тощо). Мікробна трансформація різних субстратів приводить до утворення у травному тракті багатьох сотень (можливо, тисяч) низькомолекулярних біологічно активних функціональних інгредієнтів [9].

Транслокація (тобто проникнення до внутрішнього середовища) бактерій, фрагментів їх клітин і метаболітів, так само як і низькомолекулярних сполук, що утворюються в результаті мікробної деградації епітеліальних клітин, вмісту мукозного шару, харчових субстратів із просвіту кишечника до біологічних рідин, – звичайний фізіологічний процес. Біологічно активні сполуки, пов'язані з пробіотичними мікроорганізмами, здатні модифікувати практично будь-які метаболічні реакції в організмі, причому механізми їх впливу різні для різних пробіотиків [10].

Кворум-системи мікроорганізмів

Системи, що регулюють внутрішні та міжпопуляційні мікробні взаємодії та взаємовідносини бактерій з клітинами господаря, отримали назву Quorum sensing (QS). QS є специфічним варіантом регуляції експресії різних генів, за допомогою яких мікроорганізми здатні розпізнавати навколишнє середовище, взаємодіяти між собою і з клітинами господаря через низькомолекулярні сигнальні молекули, так звані аутоіндуктори (хемокініни, модуліни). Ці молекули запускають каскад процесів у прокариотичних та еукаріотичних клітинах, коли їх кількість досягає певного рівня (quorum). Аутоіндуктори взаємодіють із клітинними регуляторними білками, розпізнають їх і, в кінцевому рахунку, активують (індукують) роботу (експресію) відповідних генів. Завдяки аутоіндукторам бактерії та клітини господаря обмінюються інформацією та координують свою діяльність. Ось чому подібні сигнальні молекули розглядають як «слова» в інформаційній молекулярній «мові». Численні дослідження останніх років показали, що мікроорганізми, включаючи пробіотичні бактерії, синтезують і розпізнають широкий спектр аутоіндукторів різної хімічної природи.

Відомі і потенційні аутоіндуктори пробіотичних бактерій: лактони; пептидні феромони; індуктори AI типу, включаючи фуранони; летючі жирні й інші органічні кислоти; певні групи ферментів (лактонази, глікозидази, оксидази); стресові білки; білки та пептиди, що імітують сигнальні молекули еукаріотичних клітин; деякі амінокислоти

(глутамат, бета-аланін); вітаміни (біотин); аміни (гістамін, серотонін) і поліаміни (спермін, спермідин); деякі ліпополісахариди (пептидоглікан, ліпотейхоєва кислота); антимікробні агенти (бактеріоцини, мікроцини, оксид азоту, активні форми кисню); лектини; біосурфактани [1; 5; 6].

Функціональна та інформаційна роль аерококів, що входять до складу пробіотичного препарату «А-бактерин»

Найвідоміші пробіотичні препарати, розроблені десятиріччя тому – колібактерин, біфідумбактерин і лактобактерин. Технологія приготування цих препаратів заснована на їх вирощуванні на живильному середовищі, змиві з живильного середовища та висушуванні за допомогою ліофільного сушіння. При цьому бактерії занурюються в глибоку «сплячку» (те саме, що анабіоз), що дозволяє їх довгостроково зберігати. Але при цьому при вживанні вони навіть не встигають «прокинутися» і виводяться з нашого організму, так і не виконавши свого призначення. Тому останніми роками розроблено так звані живі рідкі пробіотичні препарати, що містять у своєму складі й аутоіндуктори, й живі клітини, готові до негайного спілкування з нашими клітинами та позитивного впливу на організм.

До цих препаратів належить розроблений вченими та практичними мікробіологами Дніпропетровська «А-бактерин» (оригінальний, який не має аналогів, пробіотичний препарат) [3]. Характерна його особливість – підвищена ефективність при корекції дисбактеріозів і нормалізації багатьох функцій макроорганізму за рахунок аутоіндукторів.

Бактеріальну та бактеріостатичну дію «А-бактерину» зумовлюють його адгезивні властивості, комплекс біологічно активних речовин, синтезованих аерококами (низькомолекулярні пептиди (віридоцини) та інші біологічно активні продукти, сигнальні для мікробіоти та клітин макроорганізму. Препарат виявляє лікувально-профілактичну дію при дисбактеріозах кишечника різної етіології, бактеріоносійства, хронічних колітів, у тому числі неспецифічних. За рахунок аутоіндукції відновних процесів у мікробіоті «А-бактерином» спостерігається повне відновлення нормальної мікрофлори товстого кишечника хворих на дисбактеріоз за основними пробіотичними мікроорганізмами (біфідумбактерії, лактобактерії, колібактерії).

Особливість «А-бактерину» – його здатність стимулювати регенеративні процеси у гнійних і опікових ранах, підвищувати фагоцитарну активність нейтрофілів і нормалізувати інші показники макроорганізму, зокрема, знижувати вміст холестерину в крові. Аерококи, що входять до складу препарату, окислюють молочну кислоту в порожнині рота, знижуючи здатність зубної бляшки демінералізувати зубну емаль. Нейтралізація одного з метаболітів рафінованих вуглеводів має для гомеостазу порожнини рота коригувальне значення, оскільки втручається в тонкі механізми патогенезу карієсу зубів.

У пацієнтів, що вживали «А-бактерин», виявлено зниження рівня молочної кислоти та холестерину крові, інтенсивності перекисного окислення ліпідів, концентрації в сироватці крові *a*-інгібітора протеїнази та інгібітора трипсину. Це розширює показання застосування препарату при захворюваннях, що супроводжуються підвищенням активності протеолізу: гострі, підгострі та хронічні інфекції; відновна фаза термічних опіків; на тлі вакцинації; хронічна втома тощо. Як установили алергологи, «А-бактерин» серед своїх безсумнівних переваг володіє антиалергічною дією та показаний для зниження алергічних реакцій у весняний, літній та осінній сезони.

Ці дані підтверджують високу інформаційну роль аерококів у системі «суперорганізму». Якщо взяти до уваги функціонуючі мільйонні популяції мікроорганізмів у

«суперорганізмі», стає ясным, наскільки складна інформаційно-молекулярна мережа, яка охоплює всі види життєдіяльності, і абсолютно не вивченими залишаються регуляторні системи, які утримують в рамках цієї мережі біохімічний гомеостаз.

Висновки

Система «мікроорганізми – макроорганізм» повинна розглядатися в функціональній, морфологічній та інформаційній єдності як «суперорганізм». Колоніальна та біоплівчаста організація мікробних спільнот у макроорганізмі має складну багаторівневу структуру, що забезпечує щільний взаємозв'язок із макроорганізмом. «Суперорганізм» протистоїть шкідливим впливам навколишнього середовища, які включають екологічні, хімічні, радіаційні фактори, патогенні мікроорганізми, а також коригує внутрішні порушення, що призводять до хвороб.

Виявлена транслокація мікроорганізмів і їх метаболітів у внутрішній системі макроорганізму грає як позитивну роль, стимулюючи імунні процеси, так і негативну – при розвитку неспецифічних запальних процесів. Численні аутоіндуктори, синтезовані мікробіотою, утворюють інформаційно-біохімічну мережу з продуктами метаболізму макроорганізму, спільно регулюючи роботу органів і систем «суперорганізму». У результаті досліджень виявлено, що «А-бактерин» синтезує численні аутоіндуктори – активатори, які виконують роль міжбактеріальної та міжвидової мови; це дозволяє регулювати фізіологічні та метаболічні процеси в мікробіоті та макроорганізмі.

Бібліографічні посилання

1. **Вахитов Т. Ю.** Концепция пробиотического препарата, содержащего оригинальные микробные метаболиты / Т. Ю. Вахитов, Л. Н. Петров, В. М. Бондаренко // Микробиология. – 2005. – № 5. – С. 108–114.
2. **Войцеховський В. Г.** Агрегати бактерій періодичної культури та їх стійкість до антимікробних речовин // Вісник Вінницького держ. мед. ун-ту. – 2000. – № 2. – С. 278–279.
3. **Кременчуцький Г. М.** Спосіб одержання рідкого пробіотика з аерококів / Г. М. Кременчуцький, С. А. Риженко. – Патент на винахід № 85272. – 12.01.2009. – Бюл. № 1.
4. **Межклеточная** коммуникация у бактерий и перспективы создания на ее основе антибактериальных препаратов нового поколения / А. Я. Цыганенко, Н. И. Коваленко, С. И. Степаненко, В. Н. Васильченко. – Харьков : ХГМУ, 2004. – 32 с.
5. **Хмель И. А.** Экспрессия Quorum sensing генов – перспективная мишень для лекарств в отношении патогенности бактерий / И. А. Хмель, А. З. Метлицкая // Молекулярная биология. – 2006. – Т. 40, № 2. – С. 195–210.
6. **Шендеров Б. А.** Базовые механизмы регуляции гомеостаза и их модуляция нутриентами // Клиническая медицина (Санкт-Петербург). – 2004. – № 3. – С. 14–19.
7. **Шендеров Б. А.** Функциональное питание и его роль в профилактике метаболического синдрома. – М. : ДеЛи принт, 2008. – 319 с.
8. **Bone R. C.** Sepsis syndrome. Part 1: The diagnostic challenge / Journal of Critical Illness. – 1991. – N 6. – P. 525–539.
9. **Corthesy B.** Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system / B. Corthesy, H. R. Gaskins, A. Marcenier // J. Nutr. – 2007. – Vol. 137. – P. 7815–7905.
10. **Freter R.** Factors affecting the colonization of the gut by lactobacilli and other bacteria / R. Freter, M.-E. Nader de Macias // Probiotics. Prospects of Use in Opportunistic Infections (Eds. R. Fuller et al.). Old Herborn University Seminar. – 1995. – N 8. – P. 19–34.
11. **Proteomic** and its role in nutrition research / J. Wang, D. Li, L. J. Dangott, G. Wu // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136, N 7. – P. 1759–1762.

Надійшла до редколегії 28.06.2010

УДК 595.142.3

О. М. Кунах

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ОРДИНАЦІЯ ТА СІТЬОВИЙ АНАЛІЗ УГРУПОВАНЬ ПАВУКІВ

Запропоновано сітєвий підхід до вивчення угруповань тварин на прикладі герпетобіонтних павуків Дніпропетровської області. Сітєве відображення – альтернатива ординаційній парадигмі при описі структури угруповань. Показано переваги сітєвого підходу в екологічному аналізі тваринного населення. Встановлено можливі напрями формування угруповань герпетобіонтних павуків степової зони України. Показано вплив на формування тваринного населення степу лісових масивів.

О. Н. Кунах

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ОРДИНАЦИЯ И СЕТЕВОЙ АНАЛИЗ КОМПЛЕКСОВ ПАУКОВ

Предложен сетевой подход для изучения сообществ животных на примере герпетобийнтных пауков Днепрпетровской области. Сетевое отображение – альтернатива ординационной парадигмы в описании структуры сообществ. Показаны преимущества сетевого подхода в экологическом анализе животного населения. Выявлены возможные пути формирования сообществ герпетобийнтных пауков степной зоны Украины. Показано влияние на формирование животного населения степи лесных массивов.

О. М. Kunakh

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

ORDINATION AND NETWORK ANALYSIS OF THE SPIDER COMMUNITY

The network approach is proposed to study the animal community with herpetobiont spiders of Dnipropetrovsk region as an example. The network representation is an alternative of an ordination paradigm in community structure description. The advantages of the network approaches in animal community analysis are shown. The possible directions of the herpetobiont spiders community formation of the steeper zone of Ukraine have been found. The effect of the forests on the steeper animals community is shown.

Вступ

У генетичних дослідженнях широко використовуються технології побудови філогенетичних сіток і дерев на основі відомостей про послідовності структурних компонентів біомолекул (ДНК, РНК, білки). Подібні підходи застосовуються в лінгвістичних дослідженнях. Характерна риса сітєвого аналізу – побудова сітки, що найвірогідніше відбивала б послідовність розвитку дослідженого явища. Сітєвий підхід не новий в екології. Видатні екологи Р. Лінденман і Г. Одум були першими, хто застосував сітки для відображення та опису трофічних взаємозв'язків в угрупованнях [8; 12]. Широко використовується сітєвий підхід для візуалізації трофічних мереж [4; 14], а також нетрофічних екологічних взаємодій [5; 11; 13]. Мережі з прямими ребрами (так звані

плексусні діаграми) давно використовуються як основа вивчення взаємин між видами, взаємодії видів із навколишнім середовищем [6; 7; 9; 10; 17], однак такий підхід не поширений, йому віддають перевагу класифікаційні та ординаційні техніки [15].

Важливий аспект застосування сіток в екології – просторові мережі [3]. Теорія графів, що лежить в основі сітьового підходу, може бути привнесена у ландшафтну екологію як спосіб узагальнення процесу фрагментації територіальних комплексів і його ролі у функціонуванні угруповань. Класична робота у цьому напрямку – дослідження Д. Урбана та Т. Кейта [16].

Сітка – це структурований граф, що складається із сукупності вузлів, пов'язаних між собою ребрами.

Побудова сітки в цьому дослідженні відбувалася за алгоритмом медіанних сіток [2]. Із метою досягти максимальної парсимонії вводяться додаткові вузли – медіанні вектори, або Штейнерові точки. Медіанні вектори з біологічного погляду можуть бути інтерпретовані як існуючі, але не враховані при збиранні даних об'єкти.

Усяке дослідження виконується у рамках тих або інших припущень про властивості дослідженого об'єкта та «дозволених» методів дослідження його властивостей. На ці припущення накладаються обмеження певного роду, що відповідають умові конструктивності. Вони формулюються принципом економії (парсимонії – від англ. parsimony; також простоти), який має загальнонаукове значення [1].

Епістемологічний зміст принципу економії базується на ідеях середньовічного теолога У. Оккама, який проголосив гасло «відтинати все понад необхідне» при поясненні пізнаваних сутностей. Звідси алегорична назва принципу – «лезо Оккама». Уже в наш час це було названо «економією мислення», що означає мінімізацію допущень про причини, що породжують досліджене явище – наприклад, біологічне різноманіття. Іншими словами, чим простіше пояснення, тим більше йому довіри. Із цього погляду, з двох моделей, що однаково ефективно описують об'єкт, спроможніша та, яка включає менше параметрів: вона «ощадливіша».

Онтологічний зміст ґрунтується на тезі одного з ранніх філософів-позитивістів Д. Юма про «простоту Природи». Пізніше це вилилося у формулу розвиненого позитивізму: «світ простий і тому припускає прості описи». Є серйозні підстави сумніватися у розумності цього твердження: насправді світ не настільки простий, щоб його можна було описати простими формулами [1].

У філогенетиці два загальні розуміння принципу економії (парсимонії) реалізовані у двох концепціях. Він або вводиться у явному вигляді як частина онтологічного базису: певний «ощадливий» характер приписується еволюційному процесу. Це – еволюційна парсимонія. Або він неявно присутній в алгоритмах, орієнтованих на мінімізацію вихідних допущень про еволюцію: це – методологічна парсимонія. Наслідок еволюційної парсимонії – модель мінімальної еволюції: вона припускає найменше число подій філогенезу, які призвели до спостережуваного різноманіття організмів. Такі події, у першу чергу, – окремі зміни властивостей організмів. Відповідно, чим рідкісніші повтори цих подій в еволюції (тобто чим менше в ній паралелізмів, що призводять до гомопластичної подібності), тим вона «ощадливіша» [1].

Із погляду принципу максимальної парсимонії в кладистиці віддають перевагу таким філогенетичним деревам, які відповідають найменшим еволюційним змінам. У біогеографії принцип парсимонії використовується для визначення міграції видів і популяцій виходячи з їх географічного поширення. Найімовірнішими приймаються такі міграційні процеси, які вимагають найменших витрат для переміщення.

При методологічному трактуванні принципу економії сам характер еволюційного процесу, строго кажучи, не чіпається: історичному розвитку не приписується неодмінно «ощадливий» характер. У цьому випадку «ощадлива» сукупність суджень про еволюцію: ключовою стає вимога мінімізації обсягу апіорних тверджень про властивості цього процесу. Виходячи з цього приймається, що з філогенетичних гіпотез, при інших рівних, переважніша та, яка отримана при найменшій кількості апіорних допущень про характер еволюції. Відповідно до даного критерію, за допомогою «леза Оккама» у першу чергу відтинаються (як мало обгрунтовані) властиві класичній філогенетиці міркування про адаптивний і спрямований характер еволюції, про ймовірності паралелізмів і реверсій [1].

Матеріал і методи досліджень

Аналізу були піддані дані про структуру населення павуків із таких місцеперебувань (цифри вказують на умовні коди-ідентифікатори, під якими біогеоценози зустрічаються у подальшому у тексті та рисунках).

Байрак Військовий. Північна експозиція, верхня третина: 1000 – степова цілинка, 1001 – бересто-пакленова діброва з грястицею. 1002 – північна експозиція, середня третина, липо-ясенева діброва із зірочником. 1003 – північна експозиція, нижня третина, липо-ясенева діброва з широкотрав'ям. 1004 – тальвег, пакленова діброва з яглицею. 1005 – південна експозиція, нижня третина, бересто-ясенева діброва з келерією лісовою. 1006 – південна експозиція, середня третина, бересто-ясенева діброва з фіалкою шершавою. 1007 – південна експозиція, верхня третина, бересто-чорнокленовий дубняк із грястицею.

Байрак Яців яр. Північна експозиція, верхня третина: 1008 – бересто-пакленова діброва з грястицею, 1009 – степова цілинка. 1010 – північна експозиція, середня третина, липо-ясенева діброва із зірочником. 1011 – північна експозиція, нижня третина, липо-ясенева діброва з широкотрав'ям. 1012 – тальвег, пакленова діброва з яглицею. 1013 – південна експозиція, нижня третина, бересто-ясенева діброва з келерією лісовою. 1014 – південна експозиція, середня третина, степова цілинка.

Балка Бандурка. 1015 – тальвег, пакленова діброва з яглицею. 1016 – південна експозиція, нижня третина, пакленова діброва з яглицею. 1017 – степова цілинка. 1018 – південна експозиція, верхня третина, степова цілинка.

Балка поблизу с. Нововоронцовка (урочище Осокорівка, Херсонська область). 1019 – північна експозиція, нижня третина, лісове насадження. 1020 – тальвег, зарості грецького горіха. 1021 – південна експозиція, нижня третина, лісове насадження, чагарник. 1022 – південна експозиція, середня третина, чагарник у степу. 1023 – петрофільний степ. 1024 – південна експозиція, верхня третина, петрофільний степ.

Заплава р. Оріль. 1025 – бересто-чорнокленовий дубняк із розхідником звичайним. 1026 – бересто-чорнокленовий дубняк із конвалією. 1027 – болотистий луг.

Заплава р. Самара. Прируслена заплава: 1028 – липова діброва з широкотрав'ям, 1029 – липова діброва з грястицею збірною, 1030 – липова діброва із зірочником. Притерасна заплава: 1031 – в'язо-ясенева діброва з яглицею, 1032 – ольс із болотяним великотрав'ям, 1033 – ольс із сирим великотрав'ям. Центральна заплава: 1034 – липо-ясенева діброва з пухнатою осокою, 1035 – липо-ясенева діброва з широкотрав'ям, 1036 – липо-ясенева діброва із зірочником.

Урочище Круглик. 1037 – 100 м на схід від урочища, заплавної луг. 1038 – 200 м від східного узлісся, липо-ільмова діброва з яглицею. 1039 – східне узлісся урочища, паклено-ясенева діброва з широкотрав'ям. 1040 – центр урочища, липо-ільмова діброва з яглицею.

Правий берег р. Самара, пристін. 1041 – верхня третина схилу, бересто-чорнокленовий дубняк із грястицею. 1042 – середня третина, бересто-чорнокленовий дубняк із грястицею.

Чорний ліс (Кіровоградська область). 1043 – північна експозиція, верхня третина, липо-грабова діброва з широкотрав'ям. 1044 – північна експозиція, середня третина, липо-ясенєва діброва з широкотрав'ям. 1045 – північна експозиція, нижня третина, липо-ясенєва діброва з яглицею. 1046 – тальвег, в'язо-ясенєва діброва із сирим великотрав'ям. 1047 – плакор, бересто-пакленова діброва з грястицею.

Для проведення сітьового аналізу використали програму Network 4.5.1.0 (<http://www.fluxus-technology.com>). Ця програма призначена для реконструкції усіх можливих найпростіших філогенетичних дерев на основі наявних відомостей. Нами використаний алгоритм побудови медіанних сіток. За основу взяті бінарні дані. Дані про чисельність тварин попередньо логарифмували та стандартизували. Кожна континуальна змінна замінена трьома бінарними змінними. Перша бінарна змінна набирає значення «0», якщо значення континуальної змінної дорівнює нулю, або «1» – якщо більше нуля. Друга бінарна змінна набирає значення «0», якщо значення континуальної змінної не більше $0,33$ стандартного відхилення ($\sigma < 1/3$) і «1» – у протилежному випадку ($\sigma > 1/3$). Третя бінарна змінна набирає значення «0», якщо значення континуальної змінної не більше $0,66$ стандартного відхилення ($\sigma < 2/3$) і «1» – у протилежному випадку. Для аналізу таксономічної структури угруповань павуків відібрані такі види, які в наших зборах були зустрінуті не менше ніж у 6 біогеоценозах (таких видів виявилось 32).

Результати та їх обговорення

На рисунку 1 можна чітко виділити кілька гілок-кластерів (позначені А–F). Медіанна сітка складається з вузлів і зв'язків між ними. Вузли – досліджувані об'єкти або медіанні вектори. Медіанний вектор – це гіпотетичний об'єкт (вузол), необхідний для об'єднання реальних об'єктів у сітку з найбільшою точністю (збільшена область рис. 1 – рис. 2). Зв'язки між об'єктами встановлюються за ключовими розбіжностями, які виникають у результаті мутацій (за аналогією з вивченням генетичних даних). У випадку з екологічними даними зв'язки відповідають індикаторним видам, які визначають специфіку вузлів.

На рисунку 2 як приклад детально показано природу зв'язку між вузлом 1022 і медіанним вектором mv3. Як видно з рисунка, цей зв'язок утворюють мутації чисельності павука *Asianellus festivus* (C. L. Koch, 1834), які можна інтерпретувати як зменшення чисельності цього виду від вузла 1022 до медіанного вектора mv3. Крім того, у формуванні ребра бере участь *Harpactea rubicunda* (C. L. Koch, 1838): мутація чисельності цього виду $2/3 = \sigma$ є важливою в розмежуванні 1022 і mv3. Із міркувань наочності така інформація не показана на рисунку 2, однак вона важлива для інтерпретації отриманої конфігурації сітки.

На рисунку 1 центральну область займає кластер, складений із біогеоценозів Чорного лісу (кластер А). Характерна риса цього комплексу видів – *Agroeca brunnea* (Blackwall, 1833). З іншими біогеоценозами степового Придніпров'я угруповання павуків Чорного лісу пов'язані через місцеперебування в долині р. Самара (заплава ріки та правий берег). Перехід до інших угруповань пов'язаний з появою високої чисельності *Arctosa lutetiana* (Simon, 1876), що не характерно для угруповань у Чорному лісі та у заплаві р. Самара. До групи угруповань Чорного лісу за складом домінантних видів павуків близькі угруповання прируслової заплави р. Самара (1028).

Можна виділити два напрямки трансформації таксономічної структури угруповань павуків від кореневого комплексу видів у Чорному лісі. Це комплекси лісових угруповань байраків Військовий і Яців яр (кластер С), а також урочища Круглик і заплави р. Оріль (кластер В) – з одного боку, та інші угруповання – з іншого (кластери D, F).

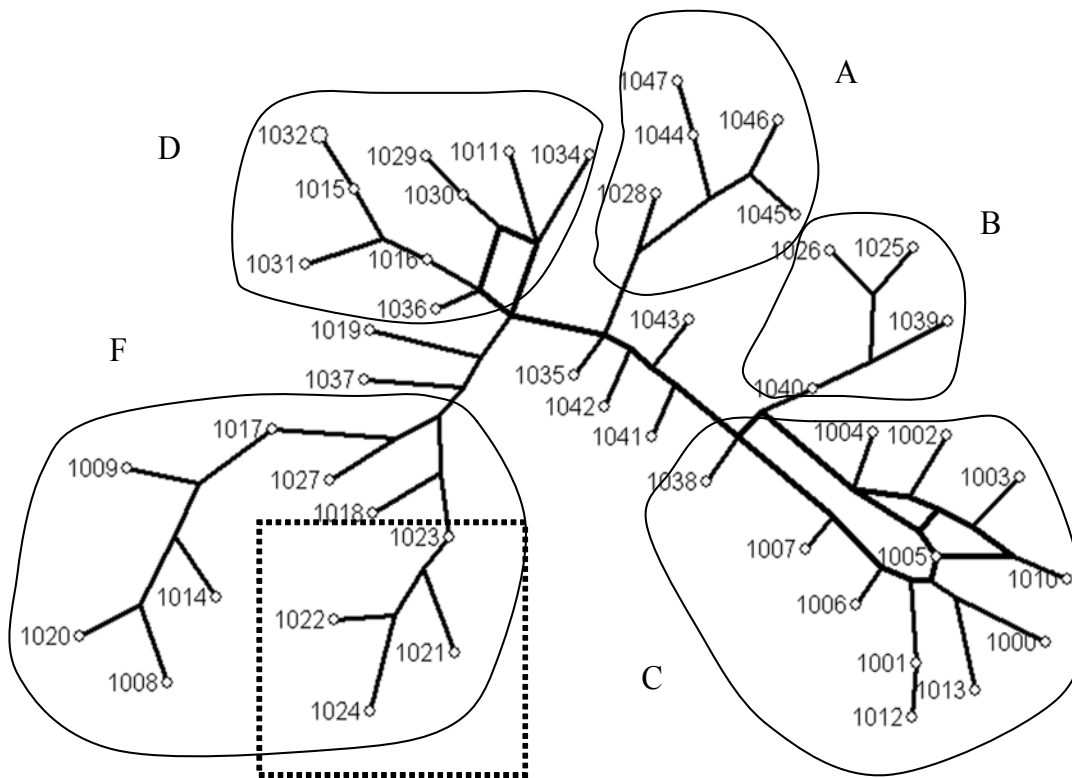


Рис. 1. Сітвовий аналіз структури угруповань павуків на основі даних про чисельність домінантних видів: А–F – кластери; нумерація БГЦ – див. у тексті; прямокутник, позначений штрих-пунктиром – див. рис. 2.

Індикатором комплексу видів байраків Військовий, Яців яр (в останньому випадку – це біогеоценози, наближені до тальвегу), урочища Круглик і заплави р. Оріль (кластери В і С) є *Pisaura mirabilis* (Clerck, 1757). Для заплави р. Оріль (кластер В) характерний *Alopecosa pulverulenta* (Clerck, 1757), де він демонструє високу чисельність. Зустрічається *Zora spinimana* (Sundevall, 1833), однак його чисельність нижча, ніж у байраку Військовий. Також для заплави р. Оріль характерний *Diplocephalus picinus* (Blackwall, 1841), який із вищою чисельністю трапляється також у Чорному лісі. За складом видів-домінантів угруповання урочища Круглик близькі до угруповань павуків у заплаві р. Оріль. Як для заплави р. Оріль, так і для урочища Круглик, характерна висока чисельність *Trochosa terricola* Thorell, 1856 і *T. ruricola* (De Geer, 1778).

Для біотопів південної експозиції байраку Військовий особливо характерні *Agroeca cuprea* Menge, 1873 і *Zelotes electus* (C. L. Koch, 1839). У байраку Військовий і частково у байраку Яців яр, а також у біогеоценозах заплави р. Оріль, часто трапляється *Zora spinimana* (Sundevall, 1833). Типовий для байрачних лісів вид – *Harpactea rubicunda* (C. L. Koch, 1838). Важливий кластер у протилежному напрямку – група угруповань заплави р. Самара та її правий берег (кластер D). До цього кластера примикають балкові

угруповання урочища Яців яр (переважно верхні третини схилів – 1008, 1009, 1014), а також балки Бандурка (1017) і урочища Осокорівка (1020) (кластер F).

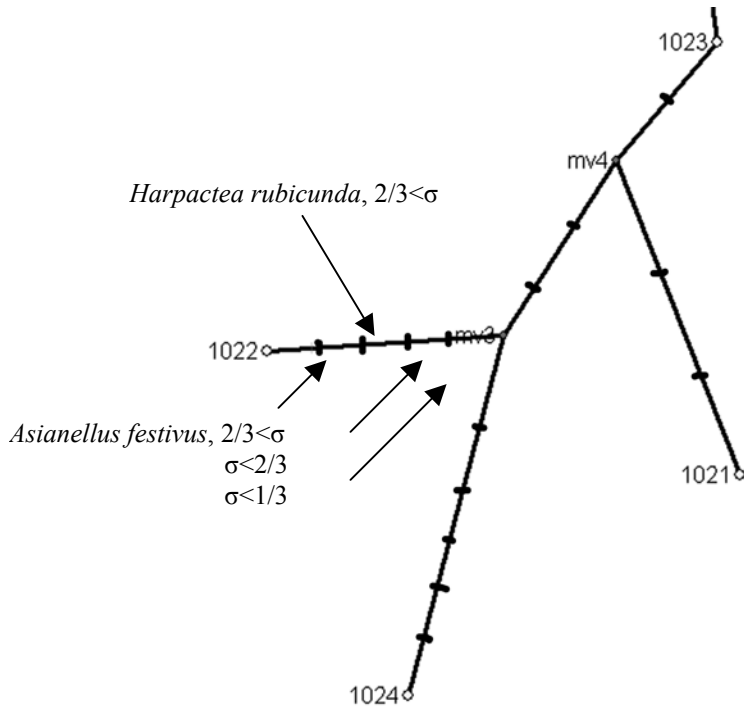


Рис. 2. Збільшена область, позначена на рис. 1 штрих-пунктиром:

1021–1024 – див. текст; mv3, mv4 – медіанні вектори; штрихи на ребрах – позиції мутацій

Кластер F відрізняється від інших угруповань відносно нижчим рівнем чисельності *Ozyptila praticola* (C. L. Koch, 1837) або його відсутністю. У свою чергу, угруповання заплави р. Самара від байрачних комплексів відрізняються відносно низькою чисельністю *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) і *Trochosa terricola* і вищою – *Ozyptila praticola*.

Сітьовий аналіз – не альтернатива ординаційним технікам. Ординаційний підхід або ієрархічний кластерний аналіз – деяке спрощення сітьової структури, яка є природнішим відображенням реальної організації тваринного населення. Ординація у вигляді добре розвинених статистичних процедур (аналіз головних компонент, аналіз відповідностей, багатовимірне шкалювання, градієнтний аналіз тощо) або ієрархічний кластерний аналіз – досить сильні інструменти вивчення угруповань тварин. Але ця сила має свою ціну: передумови, на яких базуються відповідні підходи, можуть значно змінити реальну картину взаємозв'язків природного об'єкта. Існує досить сильна спокуса надати реальному об'єкту властивості, яких у нього немає, але вони виникають внаслідок саме застосування певної статистичної процедури. Від цього недоліку не вільна ніяка процедура, але сітьовий підхід залишає значний простір для можливих у межах модельного підходу комбінацій, які, вірогідно, існують у реальному світі.

Недолік застосованої процедури – груба аналогія з мутаційним процесом, від вивчення якого запозичена сама комп'ютерна програма для обробки даних. Вірогідніший континуальний характер формування зв'язків між угрупованнями. Квантування континуальних взаємозв'язків приховує елемент суб'єктивного визначення меж, яке може суттєво впливати на результати відображення природного процесу.

Визначення стійкості результуючої конфігурації від умов квантування – цікавий напрям дослідження сітьової моделі.

Висновки

Застосування сітьового підходу дозволило встановити, що джерело формування інтразональних фауністичних елементів степової зони – лісові угруповання лісостепу, які в нашому дослідженні представлені комплексами Чорного лісу. Значну близькість за таксономічною структурою до лісостепових комплексів демонструють угруповання байраку Військовий та деякі угруповання заплави р. Самара. Байрак Військовий має щільний контакт із пристінними комплексами р. Дніпро. Очевидно, що проникнення інтразональних елементів у межі степової зони здійснювалося заплавними екосистемами степових рік. Цілком імовірно, що процес розселення складався з декількох етапів, що зумовило фауністичні особливості екологічно подібних комплексів.

Бібліографічні посилання

1. **Павлинов И. Я.** Введение в современную филогенетику (кладогенетический аспект). – М. : КМК, 2005. – 192 с.
2. **Bandelt H.-J.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies / H.-J. Bandelt, P. Forster, A. Rohl // *Mol. Biol. Evol.* – 1999. – Vol. 16 (1). – P. 37–48.
3. **Bascompte J.** Networks in ecology // *Basic and Applied Ecology.* – 2007. – Vol. 8. – P. 485–490.
4. **Interaction** strengths in food webs: issues and opportunities / E. L. Berlow, A.-M. Neutel, J. E. Cohen et al. // *Journal of Animal Ecology.* – 2004. – Vol. 73. – P. 585–598.
5. **Brose U.** From food webs to ecological networks: Linking non-linear trophic interactions with nutrient competition / U. Brose, E. L. Berlow, N. D. Martinez // P. C. de Ruiter, V. Wolters, J. C. Moore (Ed.) *Dynamic Food Webs: Multispecies Assemblages, Ecosystem Development and Environmental Change.* – NY : Academic Press, 2005. – P. 27–36.
6. **Dale M. B.** On plexus representation of dissimilarities // *Community Ecology.* – 2000. – Vol. 1. – P. 43–56.
7. **Gillison A. N.** Minimum spanning ordination – a graphic-analytical technique for three-dimensional ordination display // *Austral Ecology.* – 1978. – Vol. 3. – P. 233–238.
8. **Lindenman R. L.** The trophic-dynamic aspect of ecology // *Ecology.* – 1942. – Vol. 23. – P. 399–418.
9. **Matthews J. A.** An application of non-metric multidimensional scaling to the construction of an improved species plexus // *Journal of Ecology.* – 1978. – Vol. 66. – P. 157–173.
10. **McIntosh R. P.** Matrix and plexus techniques // R. H. Whittaker (Ed.) *Ordination and Classification of Communities.* – Junk : The Hague, 1973. – P. 159–191.
11. **Memmott J.** The structure of a plant-pollinator food web // *Ecological Letters.* – 1999. – Vol. 2. – P. 276–280.
12. **Odum H. T.** Primary production in flowing waters // *Limnology and Oceanography.* – 1956. – Vol. 1. – P. 102–117.
13. **Paine R. T.** Ecological determinism in the competition for space // *Ecology.* – 1984. – Vol. 65. – P. 1339–1348.
14. **Pimm S. L.** The complexity and stability of ecosystems // *Nature.* – 1984. – N 307. – P. 321–326.
15. **Raymond B.** Network-based exploration and visualisation of ecological data / B. Raymond, G. Hosiea // *Ecological Modelling.* – 2009. – Vol. 220, is. 5. – P. 673–683.
16. **Urban D.** Landscape connectivity: A graph-theoretic perspective / D. Urban, T. Keitt // *Ecology.* – 2001. – Vol. 82, N 5. – P. 1205–1218.
17. **Whittaker R. H.** A study of plankton copepod communities in the Columbia Basin, Southeastern Washington / R. H. Whittaker, W. C. Fairbanks // *Ecology.* – 1958. – Vol. 39. – P. 46–65.

Надійшла до редколегії 12.01. 2010

УДК 631.461 (477.63)

К. В. Лаврентьєва, Н. В. Черевач, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ЗАКОНОМІРНОСТІ РОСТУ ФОСФАТМОБІЛІЗУВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ У РІЗНИХ ТИПАХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩ

Досліджено закономірності розвитку двох штамів ґрунтових фосфатмобілізувальних бактерій *Pseudomonas putida* та *Enterobacter dissolvens* у різних типах живильних середовищ. Побудовано криві росту культур і визначено їх фізіологічні параметри. Показано, що кращий ріст досліджених штамів спостерігається в м'ясопептонному бульйоні, ніж у мінеральному рідкому середовищі, причому більше накопичення життєздатних клітин характерне для *E. dissolvens*. Під час росту культур відбувається зниження *pH* елективного мінерального середовища з 7,0 до 4,4–4,5, а *pH* бульйону залишається незмінним на рівні 7,0 протягом усього терміну культивування.

Е. В. Лаврентьєва, Н. В. Черевач, А. И. Винников

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ЗАКОНОМЕРНОСТИ РОСТА ФОСФАТМОБИЛИЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Исследованы закономерности развития двух штаммов почвенных фосфатмобилизирующих бактерий *Pseudomonas putida* и *Enterobacter dissolvens* в различных типах питательных сред. Построены кривые роста культур и определены их физиологические параметры. Показано, что лучший рост исследуемых культур наблюдается при их развитии в мясопептонном бульоне, чем в минеральной жидкой среде, при этом большее накопление жизнеспособных клеток характерно для *E. dissolvens*. Во время роста культур происходит снижение *pH* элективной минеральной среды с 7,0 до 4,4–4,5, а *pH* бульона остается неизменным на уровне 7,0 на протяжении всего термина культивирования.

K. V. Lavrentyeva, N. V. Cherevach, A. I. Vinnikov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

REGULARITIES OF PHOSPHATE-MOBILIZING BACTERIA GROWTH IN DIFFERENT MEDIA

Regularities of two strains of soil phosphate-mobilizing bacteria growth were investigated in different media. Curve of growth and physiological parameters were defined for *Pseudomonas putida* and *Enterobacter dissolvens*. Growth pattern of investigated strains was better in the broth medium than in mineral. In these conditions higher concentration of viable bacterial cells was common for *E. dissolvens*. It was shown that during cultivation *pH* of mineral medium went down to 4.4–4.5, but broth medium had constant *pH* 7.0.

Вступ

Основне завдання будь-якого біотехнологічного процесу – отримання максимальної кількості мікробної біомаси продуцента або цільового продукту [2]. При розробці технологічної схеми отримання біопрепаратів на основі фосфатмобілізувальних бактерій для поліпшення фосфорного живлення сільськогосподарських рослин –

ських рослин – одного з перспективних напрямів сучасного біотехнологічного виробництва [5; 8] – необхідно враховувати ефективність росту штамів у промисловому середовищі, оскільки розвиток культур залежить від його складових [7]. Елективні середовища для вирощування фосфатмобілізувальних бактерій, на яких проводиться дослідження динаміки мобілізації фосфатів, є відносно «бідними». У той же час для реалізації головного завдання виробництва біопрепаратів необхідно підібрати ростове середовище для отримання значної кількості мікробної біомаси за мінімальний час культивування. Ефективність росту промислових штамів оцінюють за параметрами росту: максимальною кількістю клітин у стаціонарній фазі, тривалістю лаг-фази, питомою швидкістю росту, часом генерації тощо [4]. У зв'язку з цим мета даної роботи – охарактеризувати закономірності розвитку двох штамів ґрунтових фосфатмобілізувальних бактерій *Pseudomonas putida* та *Enterobacter dissolvens* у різних типах живильних середовищ та відібрати більш ефективне для накопичення значної кількості мікробної біомаси.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – два штами ґрунтових фосфатмобілізувальних бактерій *P. putida* та *E. dissolvens* із колекції культур кафедри мікробіології та вірусології ДНУ ім. Олеса Гончара. Із метою вивчення закономірностей їх росту штами *E. dissolvens* і *P. putida* вирощували у м'ясопептонному бульйоні (МПБ) та рідкому елективному середовищі Менкіної [6] на шутелі при 2 200 об./хв при температурі +28 °С протягом 7 діб. Інокулятом слугували 12-годинні бульйонні культури, які вносили до середовищ у концентрації 10^7 кл./мл. Для побудови кривих росту відбір проб у першу добу культивування проводили кожні 4 години. Кількість життєздатних клітин (колонієтворних одиниць) визначали методом Коха [3].

Для дослідження параметрів росту (тривалості лаг-фази, питомої швидкості росту, часу генерації та максимальної кількості клітин у стаціонарній фазі росту), які визначали загальноприйнятим способом, проби відбирали кожної години [4].

Результати та їх обговорення

При дослідженні закономірностей росту штамів у елективному середовищі Менкіної із трикальційфосфатом і в МПБ встановлено, що динаміка розвитку культур значно відрізнялася залежно від типу живильного середовища та властивостей штамів (рис. 1 і 2). Інтенсивніший ріст і накопичення біомаси характерні для штаму *E. dissolvens* як у МПБ, так і в елективному середовищі із трикальційфосфатом.

Незважаючи на те, що тривалість лаг-фази (період адаптації штамів до умов середовища) для *P. putida* у МПБ становила лише 1,5, а для *E. dissolvens* – 2,0 години, інші параметри росту значно вищі для останнього штаму (табл. 1). Константа швидкості поділу для *E. dissolvens* становила 1,5 клітинних поділів за годину, час генерації склав 0,7 години, а максимальна концентрація клітин у стаціонарі дорівнювала $10,70 \lg$ КУО. Для *P. putida* ці показники становили відповідно 1,4 поділів за годину, 0,7 години, $9,86 \lg$ КУО.

Менш придатне для росту штамів (особливо для псевдомонади) елективне середовище. Тривалість лаг-фази у *P. putida* збільшилась на 2,5 години, тоді як у *E. dissolvens* лише на одну. Разом із тим змінилися й інші параметри росту культур: константа швидкості поділу *E. dissolvens* зменшилась з 1,5 до 0,7, для псевдомонади – з 1,4 до 0,4 клітинних поділів за годину; подовжився час генерації відповідно до 1,5 і

2,3 години; у стаціонарній фазі росту максимальна кількість життєздатних клітин *E. dissolvens* становила 9,92 lg КУО, а *P. putida* – 8,60 lg КУО.

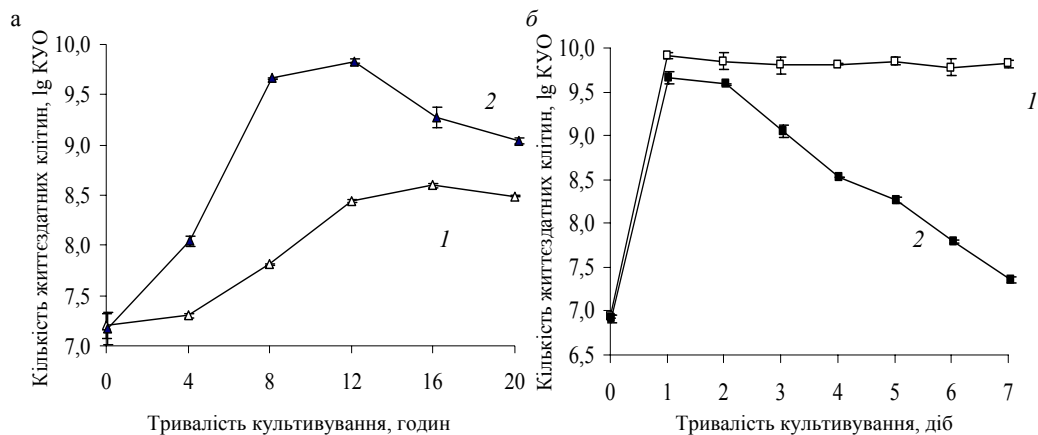


Рис. 1. Динаміка росту *Pseudomonas putida* у живильних середовищах Менкіної та МПБ ($n = 3$):
 а – протягом першої доби культивування, б – протягом 7 діб культивування;
 1 – елективне середовище із трикальційфосфатом, 2 – МПБ

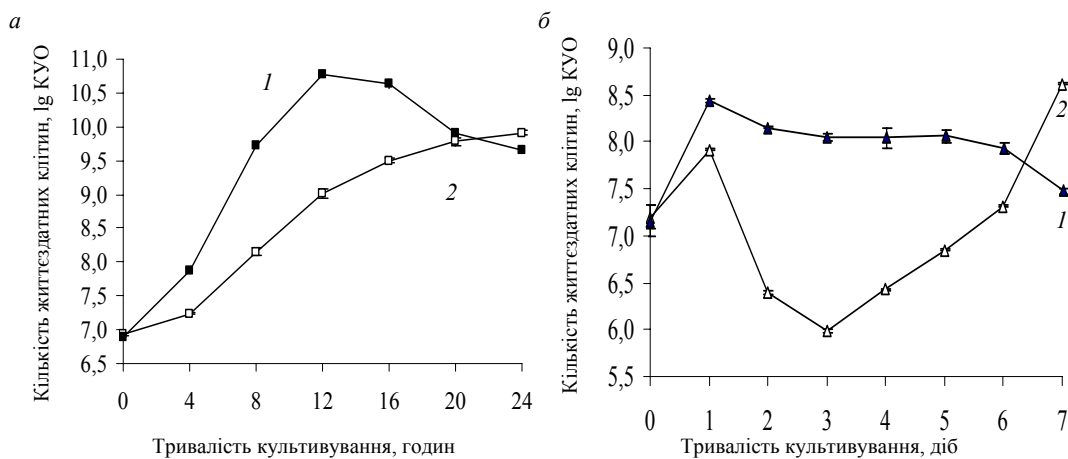


Рис. 2. Динаміка росту *Enterobacter dissolvens* у живильних середовищах Менкіної та МПБ ($n = 3$):
 а – протягом першої доби культивування, б – протягом 7 діб культивування;
 1 – елективне середовище із трикальційфосфатом, 2 – МПБ

Уповільнення ростових процесів при культивуванні штамів у елективному середовищі призвело і до зростання тривалості фаз розвитку культур. Для *E. dissolvens* при культивуванні у МПБ тривалість експоненційної фази становила 6–7 годин, а стаціонарна фаза наставала на 12-ту годину росту (див. рис. 2).

Таблиця 1

Фізіологічні параметри росту штамів *Enterobacter dissolvens* та *Pseudomonas putida* ($n = 3$)

Штами	Тривалість лаг-фази, T_{lag} , год.		Константа швидкості поділу, ν , кількість поділів/год.		Час генерації, g , год.		Максимальна кількість життєздатних клітин, lg КУО	
	МПБ	Менкіної	МПБ	Менкіної	МПБ	Менкіної	МПБ	Менкіної
<i>E. dissolvens</i>	2,0	1,5	1,5	1,4	0,7	0,7	10,70	9,86
<i>P. putida</i>	3,0	4,0	0,7	0,4	1,5	2,3	9,91	8,60

При вирощуванні того ж штаму в елективному середовищі Менкіної спостерігали подовження експоненційної фази до 11 годин і досягнення стаціонару на 20-ту годину культивування. Для *P. putida* експоненційна фаза тривала 6,0–6,5 години при вирощуванні штаму в МПБ і збільшувалась до 9 годин в елективному середовищі. Стаціонар відмічали на 8-му годину культивування псевдомонади в МПБ і на 12-ту годину в елективному середовищі (див. рис. 1).

Таку різницю за характером розвитку штамів і тривалістю фаз росту на різних живильних середовищах можна пояснити впливом складу останніх. Уповільнений характер росту мікроорганізмів на мінеральному середовищі зумовлений часом, необхідним для синтезу ферментів, здатних мобілізувати новий субстрат.

Цікаві результати отримані при культивуванні бактерій протягом 7 діб у МПБ та в елективному середовищі із трикальційфосфатом. Із рисунків видно, що після досягнення стаціонару на 12-ту годину культивування у МПБ розвиток *P. putida* та *E. dissolvens* поступово пригнічувався, що засвідчує зниження кількості життєздатних клітин штамів з $9,86 \pm 8,84$ lg до $7,53 \pm 6,47$ lg КУО та з $10,7 \pm 9,48$ lg до $7,41 \pm 6,11$ lg КУО, відповідно; *pH* культуральної рідини для обох штамів зберігався на рівні 7,0 протягом усього терміну культивування.

Зовсім інший розвиток штамів спостерігали у мінеральному середовищі. Для *E. dissolvens* інтенсивне накопичення життєздатних клітин відмічали практично протягом усього терміну культивування (з $7,0 \pm 6,1$ lg до $9,9 \pm 9,76$ lg КУО). Лише деяке незначне зниження життєздатних клітин (з $9,6 \pm 9,85$ lg до $9,6 \pm 9,42$ lg) відбувалось між першою та другою добами культивування.

Під час росту культури відмічені зміни й у значенні *pH* культуральної рідини (табл. 2). Якщо початковий *pH* середовища становив 7,0, то вже через 24 години культивування *E. dissolvens* він знизився на 2,5 одиниці. Протягом подальших 6 діб культивування *pH* середовища практично не змінювався, його значення підвищилось лише на 0,3 одиниці.

Таблиця 2

Динаміка зміни *pH* елективного середовища Менкіної при культивуванні штамів *Pseudomonas putida* та *Enterobacter dissolvens*

Штами	Термін культивування, доба						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>P. putida</i>	$4,4 \pm 0,06$	$4,4 \pm 0,02$	$4,5 \pm 0,10$	$4,7 \pm 0,05$	$5,0 \pm 0,10$	$5,0 \pm 0,05$	$5,2 \pm 0,10$
<i>E. dissolvens</i>	$4,5 \pm 0,01$	$4,5 \pm 0,06$	$4,5 \pm 0,05$	$4,4 \pm 0,15$	$4,6 \pm 0,10$	$4,8 \pm 0,12$	$4,8 \pm 0,05$

Для культури *P. putida* зниження кількості життєздатних клітин після першої доби культивування було більш різким і на 3-тю добу цей показник становив лише $5,99 \pm 5,7$ lg КУО. З 4-ї доби культивування кількість життєздатних клітин знову почала зростати і на 7-му добу досягала значення $8,6 \pm 7,8$ lg КУО. Що стосується змін *pH* культурального середовища, то вже на 1-шу добу культивування він знизився з 7,0 до 4,4 і не змінювався протягом 3 діб. Починаючи з 4-ї доби відмічене підвищення цього показника на 0,8 одиниці. Таку поведінку культури, вірогідно, можна пояснити репресуванням певних ділянок шляху утилізації глюкози, що входила до складу елективного середовища, кислими продуктами метаболізму (що засвідчувало зниження *pH*), які накопичувались під час активного росту штаму. Це призводило до часткового відмирання клітин, на що вказує зниження кількості КУО з $7,92 \pm 7,47$ lg до $5,99 \pm 5,7$ lg. При поступовому підвищенні *pH* створювались умови, сприятливі для подальшого розвитку штаму.

З іншого боку, відновлення росту псевдомонад з 4-ї доби культивування можна пояснити вже описаним у літературі механізмом регулювання бактеріями *pH* (аутостабілізація *pH*). Відомо, що у деяких мікроорганізмів активний ріст починається при *pH* середовища 7,0, але при цьому швидко знижується до значення 3,0, а їх внутрішній *pH* залишається нейтральним. За таких умов культура «намагається» вирівняти концентрацію іонів водню шляхом синтезу нейтральних продуктів, про що свідчить (як і в нашому випадку) поступове підвищення *pH*. Цей процес буде відбуватися до моменту досягнення оптимуму, характерного для даного штаму, при цьому швидкість аутостабілізації є прямопропорційною до концентрації життєздатних клітин [2].

Висновки

Кращий ріст досліджених штамів спостерігали у м'ясопептонному бульйоні, ніж у мінеральному рідкому середовищі, причому більше накопичення життєздатних клітин характерне для *E. dissolvens*. Під час росту культур відбувалось зниження *pH* елективного мінерального середовища з 7,0 до 4,4–4,5 одиниці, а *pH* бульйону залишався незмінним на рівні 7,0 протягом усього терміну культивування. Доцільне використання м'ясопептонного бульйону для накопичення біомаси досліджених культур із наступним вивченням їх фосфатмобілізувальної активності в елективному середовищі з трикальційфосфатом.

Бібліографічні посилання

1. Арзамасцев А. А. Аутостабилизация *pH* в периодической культуре *Pseudomonas* // Микробиология. – 1987. – Т. 55, вып. 6. – С. 985–989.
2. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Д. Пастернак. – М. : Мир, 2002. – 589 с.
3. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Д. Г. Звягинцев, И. В. Асеева, И. П. Бабьева, Т. Г. Мирчинк. – М. : МГУ, 1980. – 224 с.
4. Мікробіологія / М. Г. Сергійчук, В. К. Позур, А. І. Вінніков та ін. – К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. – 375 с.
5. Мікробні препарати – важливий компонент біологізації вирощування ярої пшениці / В. П. Патица, Є. П. Копилов, Т. І. Патица та ін. // Агроєкологічний журнал. – 2004. – № 4. – С. 3–7.
6. Рой А. А. Новые штаммы бацилл, минерализующие органические соединения фосфора / А. А. Рой, Л. В. Булаченко, И. К. Курдиш // Микробиол. журн. – 2001. – Т. 63, № 4. – С. 9–14.
7. Sridevi M. Phosphate solubilization by *Rhizobium isolates* from *Crotalaria* species / M. Sridevi, K. V. Mallaiiah, N. C. S. Yadav // Journal of Plant Sciences. – 2007. – Vol. 2, N 6. – P. 635–639.
8. Vessey J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer // Plant and Soil. – 2003. – Vol. 255, N 6. – P. 571–586.

Надійшла до редколегії 12.06.2010

УДК 502:616+591.131.3

М. В. Маркіна, О. К. Вяткін, В. П. Ляшенко, А. І. Руденко

*Дніпропетровський регіональний державний науково-технічний центр
стандартизації, метрології та сертифікації
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара
Інститут гастроентерології АМН України*

КАТИОННИЙ СКЛАД СЛИНИ У ЛЮДЕЙ ІЗ ПОРУШЕННЯМИ ДІЯЛЬНОСТІ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

Розглянуто зв'язок між патологіями шлунково-кишкового тракту та змінами концентрацій мікроелементів у слині людини. Показано зменшення вмісту катіонного складу у слині при формуванні та розвитку патологічного процесу у шлунково-кишковому тракті.

М. В. Маркина, О. К. Вяткин, В. П. Ляшенко, А. И. Руденко

*Днепропетровский региональный государственный научно-технический центр
стандартизации, метрологии и сертификации
Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара
Институт гастроэнтерологии АМН Украины*

КАТИОННЫЙ СОСТАВ СЛЮНЫ У ЛЮДЕЙ С НАРУШЕНИЯМИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Рассмотрена связь между патологиями желудочно-кишечного тракта и изменениями концентраций микроэлементов в слюне человека. Показано уменьшение содержания катионного состава в слюне при формировании и развитии патологического процесса в желудочно-кишечном тракте.

M. V. Markina, O. V. Vyatkin, V. P. Lyashenko, A. I. Rudenko

*Dnipropetrovsk Regional State Research-Technical Centre
for Standardization, Metrology and Certification
Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University
Institute of Gastroenterology AMS Ukraine*

SALIVA CATIONS COMPOSITION IN HUMANS WITH THE DISORDERS OF GASTROINTESTINAL TRACT ACTIVITY

Connection between the pathologies of alimentary canal and the changes of concentrations of microelements in human saliva is under consideration. The decrease of the cations content in saliva under forming and developing the pathological process in gastrointestinal tract is shown.

Вступ

Значна поширеність захворювань гастроудоденальної системи, що викликає серйозну загрозу для життя та здоров'я людини, зумовлює необхідність і важливість розробки способів діагностики, методів лікування, а в ряді випадків і попередження прогресування захворювань. При патології порушуються як поодинокі процеси, так і сис-

темна їх організація. Це є принциповим критерієм розмежування патології від передпатології [1–3]. Із біологічного погляду організм являє собою саморегульовальну систему, корисними адаптивними результатами якої є, в першу чергу, електролітичні та гомеостатичні показники, що забезпечують різноманітні сторони метаболічних процесів.

Дослідження та виявлення закономірностей елементного статусу (показника, який оцінює кількість хімічних елементів, що містяться в організмі людини, тобто стан їх дефіциту, надлишку чи дисбалансу) різних груп людей дозволяє розробити рекомендації з метою профілактики виникнення захворювань [7].

Велике значення для діагностики патологій шлунково-кишкового тракту має характеристика хімічного стану слини, рідини, яка є найбільш недооціненою та найменш вивченою з усіх рідин організму, а за значенням – найвпливовішою в життєдіяльності людини. Зіставлення даних щодо концентрації хімічних елементів у слині та плазмі крові може дозволити виявити певні властивості чи навіть закономірності для конкретних груп захворювань, що відкриває можливості використання в клінічних і експериментальних дослідженнях проб слини, доступніших за проби крові [8; 9].

Перевагами даного об'єкта досліджень порівняно з кров'ю є безболісне збирання слини, простота процедури, зручність, відсутність ризику внесення інфекції, травми шкіри чи стінок судин, адекватності концентрації речовини. У клінічній практиці нині домінує визначення загального складу хімічних елементів. Проте визначення іонізованої фракції певного елемента має більше діагностичне значення [5; 10; 14].

Мета дослідження полягала у виявленні можливих кореляційних взаємозв'язків між катіонним складом слини та порушеннями діяльності шлунково-кишкового тракту за допомогою сучасного методу аналізу – системи капілярного електрофорезу.

Матеріал і методи досліджень

У дослідженнях брали участь жінки, вік яких належить до першого періоду зрілого віку згідно зі схемою вікової періодизації онтогенезу людини та складає діапазон 21–35 років. Жінки із захворюваннями органів травлення залежно від діагностичних даних, установлених за допомогою інструментальних методів аналізу, були поділені на групи: I – контрольна (20 жінок), до складу входили практично здорові жінки; II – постхоліцистектомічний синдром (ПХЕС), секреція гіперацидна (20 жінок); III – ПХЕС, секреція анацидна (20 жінок); IV – неспецифічний виразковий коліт (НВК), секреція гіперацидна (15 жінок); V група – НВК, секреція анацидна (15 жінок).

Слину для аналізу відбирали в один і той же час, натще. Для ідентифікації та кількісного визначення катіонів у слині використовували метод капілярного електрофорезу із застосуванням приладу «Капель 103Р» фірми «Льюмэкс» (Росія, 2000).

За допомогою приладу з фотометричним детектором і довжиною хвилі 253,7 нм реєстрували неорганічні катіони з використанням так званого непрямого детектування: до складу електроліту вводили невелику концентрацію речовини, що поглинається при потрібній довжині хвилі. При визначенні катіонів натрію, кальцію, калію та магнію використовували добавку катіонів ароматичних амінів – катіон протонізованого бензimidазолу [11; 12; 15].

Кількісне визначення вмісту катіонів у слині проводили за допомогою градуального графіка та методу добавок. Для побудови градувальних графіків готували серії стандартних розчинів методом розведення визначених порцій вихідних розчинів буфером у пробірках Епендорфа об'ємом 1,5 см³. Для кожної концентрації реєстрували в оптимальних умовах електрофореграми та за ними обчислювали середнє значення площі піку із трьох вимірювань. Для точної побудови градувальної залежності засто-

совували лінійну регресію методом найменших квадратів [4; 16]. Для запису та обробки отриманих результатів у вигляді електрофореграм використовували програму «Мультихром». Результати оброблені статистично методом парних порівнянь.

Результати та їх обговорення

У контрольній групі масова концентрація натрію складала $17,82 \pm 2,10$ ммоль/л, що відповідає нормі (6,5–21,7 ммоль/л) [5]. Визначення вмісту натрію у слині людей із жовчокам'яною хворобою та з патологією кишечника показало, що в II, III та V групах спостерігається достовірне ($p < 0,05$ та $p < 0,001$) відносно контролю зниження концентрації даного елемента порівняно з даними контрольної групи (табл.). Вміст натрію в слині IV групи був на рівні контролю та входив у діапазон норми (6,5–21,7 ммоль/л) [5; 13].

Таблиця

Концентрація катіонів натрію, калію, магнію та кальцію у слині жінок (ммоль/л)

Елемент	I група	II група	III група	IV група	V група
Натрій	$17,82 \pm 2,10$	$9,16 \pm 2,89^*$	$5,64 \pm 1,06^{**}$	$18,33 \pm 5,20$	$4,29 \pm 1,36^{**}$
Калій	$21,91 \pm 1,79$	$9,38 \pm 1,24^{**}$	$8,38 \pm 1,10^{**}$	$9,30 \pm 2,70^*$	$9,69 \pm 2,65^*$
Кальцій	$0,98 \pm 0,05$	$0,21 \pm 0,05^{**}$	$0,09 \pm 0,03^{**}$	$0,22 \pm 0,07^{**}$	$0,49 \pm 0,19^*$
Магній	$0,57 \pm 0,20$	$0,27 \pm 0,01^{**}$	$0,26 \pm 0,02^*$	$0,18 \pm 0,02^*$	$0,27 \pm 0,01^*$

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ відносно контролю.

Концентрація калію в контрольній групі складала $21,91 \pm 1,79$ ммоль/л, що відповідає нормі (11,8–27,6 ммоль/л) для людей даної статі та віку [5]. При дослідженні слини жінок II–V груп вміст калію був меншим порівняно з даними контрольної групи і складав відповідно 42,8, 38,3, 42,4 та 44,2 %. Тобто співвідношення значень концентрації калію в II, IV та V групах було приблизно однаковим. У II та III групах спостерігалось достовірне зменшення концентрації калію відносно контролю при $p < 0,001$, а в IV та V групах – достовірне зменшення при $p < 0,05$. Вміст калію у слині досліджених II–V груп був значно меншим нижньої межі норми, яка складає 11,8 ммоль/л.

У контрольній групі вміст кальцію складав $0,98 \pm 0,13$ ммоль/л, що відповідає нормі (1–2 ммоль/л) [5; 6]. Визначення вмісту кальцію у слині людей із постхолецистектомічним синдромом і з патологією кишечника показало, що в II–V групах спостерігається достовірне зменшення концентрації порівняно з контролем, а також те, що всі концентрації кальцію у дослідних групах були набагато менші нижнього значення норми. Мінімальний рівень концентрації кальцію у слині зареєстровано у людей III групи (ПХЕС, секреція анацидна) – $0,09 \pm 0,03$ ммоль/л, що відповідає 9,2 % контролю. У V групі (у людей з анацидною секрецією при неспецифічному виразковому коліті) вміст Ca^{2+} порівняно з даними контролю складає 50,0 %. У групах досліджених людей із гіперацидною секрецією при НВК і ПХЕС вміст кальцію у слині був відповідно 22,5 та 21,4 % відносно контрольної групи.

Що стосується магнію у слині всіх досліджених, то в контрольній групі його концентрація складала $0,57 \pm 0,20$ ммоль/л (при нормі 0,08–0,53 ммоль/л), а при патологіях вміст магнію значно знижувався порівняно з даними контролю, хоч і входив до діапазону норми. Зниження концентрації магнію в усіх групах досліджених людей було достовірним порівняно з даними контролю, а саме в II групі $p < 0,001$ відносно контролю, а в III–V групах – $p < 0,05$. Мінімальне значення спостерігалось в IV групі (НВК, секреція гіперацидна), що складало 31,6 % від контролю.

При аналізі даних щодо вмісту кальцію та магнію у слині досліджених спостерігався деякий взаємозв'язок між цими характеристиками. При анацидній секреції в III та V групах (при ПХЕС та НВК) відмічається розходження значень концентрації магнію та кальцію, у той час як при гіперацидній секреції в II та IV групах (при ПХЕС і захворюваннях кишечника) вміст Ca^{2+} та Mg^{2+} приблизно однаковий. У контрольній групі також спостерігалась розбіжність значень концентрацій магнію та кальцію, набагато більша, ніж при неспецифічному виразковому коліті (V група) та при постхолецистектомічному синдромі (III група). Крім того, при НВК у V групі розходження вмісту магнію та кальцію більше, ніж при ПХЕС у III групі, а концентрації Ca^{2+} та Mg^{2+} при гіперацидній секреції у людей із неспецифічним виразковим колітом у IV групі ближчі, ніж у III групі при постхолецистектомічному синдромі з гіперацидною секрецією.

Таким чином, при неспецифічному виразковому коліті відмічається явище прямої залежності між секрецією та вмістом магнію та кальцію (кальцію набагато більше, ніж магнію). При постхолецистектомічному синдромі з анацидною секрецією (III група) відмічається обернена залежність між секрецією та вмістом магнію та кальцію (магнію більше, а кальцію набагато менше).

Концентрація кальцію та калію в III групі (ПХЕС, секреція анацидна) значно менша мінімального значення норми, проте в II, IV, V групах вміст у слині калію та кальцію взагалі менший за норму.

Знижений вміст калію у слині може свідчити про наявність астенії (фізичного виснаження, перевтоми), ризику порушення обмінних процесів, розвитку ерозивних утворень у слизових оболонках, зниження працездатності, а також порушення нервово-м'язової провідності.

Співвідношення концентрацій натрію та калію в слині всіх досліджених людей різне, але можна спостерігати також певні закономірності. У контрольній групі вміст калію у слині вищий, ніж натрію. Збільшення концентрації калію у слині після механічного стимулювання, певно, може відповідати підвищенню його вмісту в крові у результаті дегідратації, виходу іонів K^+ з еритроцитів та «депо». Також і в групах з анацидною секрецією при НВК та ПХЕС (III, V) спостерігалось розходження між концентраціями калію та натрію (калію більше, натрію менше). У IV групі відмічаємо протилежну картину. А у II групі, взагалі, значення калію та натрію приблизно збігаються.

Тобто при гіперацидній секреції за умов неспецифічного виразкового коліту та постхолецистектомічного синдрому (II, IV групи) картина змін концентрацій елементів Na^+ та K^+ різна та неоднозначна. При анацидній секреції (III та V групи) співвідношення концентрацій калію та натрію подібне: K^+ більше, Na^+ менше. При патології НВК розходження між концентраціями калію та натрію більше, ніж при ПХЕС. При НВК масова концентрація калію $9,69 \pm 2,65$, натрію $- 4,29 \pm 1,36$ ммоль/л, а при ПХЕС вміст калію $- 8,38 \pm 1,10$, натрію $- 5,64 \pm 1,06$ ммоль/л. Із наведених даних бачимо, що при патології кишечника вміст калію більший, а концентрація натрію менша порівняно з показниками III групи (патологія ПХЕС).

Якщо розглядати слину як похідну плазми крові, можна припустити, що зміни вмісту катіонів у слині певною мірою відображають їх зрушення в крові. У свою чергу, збільшення вмісту натрію у слині, на наш погляд, може відображати підвищення його концентрації в крові, що також є «приспосувальною реакцією організму», спрямованою на підтримання оптимальних для метаболізму величин осмотичного тиску та об'єму циркулюючої крові. Активна реабсорбція іонів Na^+ у слинних протоках пов'язана з впливом альдостерону [2; 3; 17].

На відміну від натрію концентрація калію у слині протягом усіх досліджень фактично була незмінною та залишалась зниженою у представників усіх груп, що може відбуватися внаслідок стабілізації вмісту елемента в крові. Можна припустити, що зменшення концентрації калію у слині досліджених людей із патологічними процесами в шлунково-кишковому тракті у більшості випадків може відповідати зменшенню його вмісту в крові та мати зв'язок з альдостероновим ефектом.

Отримані результати можуть свідчити, що при розвитку патологічних процесів у шлунково-кишковому тракті відбувається зміна секреції перш за все тих компонентів слини, які беруть участь у гомеостатичних реакціях, а саме катіонів, виділення яких може мати значення при аферентації з рецепторів ротової порожнини і таким чином впливати як на систему травлення, так і на організм у цілому.

Аналіз вмісту натрію та калію у слині дозволяє оцінити співвідношення тону симпатичного та парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи. Можна припустити, що співвідношення концентрацій натрію та калію у слині характеризують функціональний стан водно-електролітного обміну регулювальних систем [8].

Тенденція зменшення відносно норми вмісту калію, кальцію, частково натрію та зниження концентрації магнію відносно даних контролю у слині досліджених жінок свідчить про зниження протекторного впливу слини на шлунково-кишковий тракт і відображає низький вміст даних металів в організмі.

Поглиблене дослідження взаємозв'язків допоможе детальніше зіставляти стан електролітного балансу ротової порожнини з активністю секреторних залоз нижче розташованих відділів шлунково-кишкового тракту та може бути одним із діагностичних тестів оцінки діяльності останніх.

Висновки

Виявлено взаємозв'язок між концентрацією іонів Na^+ та K^+ у слинних залозах, зменшення вмісту калію, кальцію, магнію у слині досліджених порівняно з контролем, а також концентрації натрію у II, III, V групах. Результати аналізу свідчать про наявність вираженої видільної функції слинних залоз і патологічних явищ у шлунково-кишковому тракті. Отримані дані щодо вмісту кальцію, калію, натрію та магнію у слині при деяких захворюваннях шлунково-кишкового тракту залежно від ступеня та глибини враження слизових оболонок можуть свідчити про значні порушення секреції та виділення мікроелементів.

Бібліографічні посилання

1. **Горшков В. А.** Кислотозависимые заболевания и кризис функциональных методов исследования желудка // Современная гастроэнтерология. – 2002. – № 3. – С. 7–12.
2. **Хвороби** органів травлення (діагностика і лікування) / П. Я. Григор'єв, Є. М. Стародуб, Є. П. Яковенко та ін. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. – 448 с.
3. **Дегтярева И. И.** Заболевания органов пищеварения. – К., 1999. – 312 с.
4. **Комарова Н. В.** Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель» / Н. В. Комарова, Я. С. Каменцев. – СПб. : ВЕДА, 2006. – 212 с.
5. **Педанов Ю. Ф.** Лабораторные показатели. Нормы взрослого человека. – Одесса, 1992. – 89 с.
6. **Руководство** по капиллярному электрофорезу / Лекции Х. Энгельгардта. Научный совет Российской академии наук по хроматографии. – М., 1996. – С. 45.
7. **Слесарев В. И.** Основы химии живого. – СПб. : Химиздат, 2000. – 529 с.
8. **Харченко Н. В.** Клиническая гастроэнтерология. – К., 2000. – 446 с.
9. **Шубин А. А.** Неорганическая химия. Химия элементов / А. А. Шубин, Г. В. Нужная. – Донецк, 2003. – 324 с.

10. **Altria K. D.** Capillary Electrophoresis Guidebook: Principles, Operation and Applications. – NJ : Humana Press, Totowa, 1996. – 349 p.
11. **Baker D. R.** Capillary Electrophoresis. – NY : John Wiley & Sons Ltd, 1995. – 240 p.
12. **Camilleri P.** Capillary Electrophoresis: The Theory and Practice. – Boca Raton, FL : CRC Press, 1998. – 552 p.
13. **Kuhn R.** Capillary Electrophoresis Principles and Practice / R. Kuhn, S. Hoffstetter-Kuhn. – NY : Springer-Verlag, 1993. – 300 p.
14. **Modlin I. M.** Acid Related Diseases (Biology and Treatment) / I. M. Modlin, G. Sachs. – Schnetzor-Verlad GmbH-Konstanz, 1998. – 368 p.
15. **Righetti P. G.** Capillary Electrophoresis in Analytical Biotechnology. – Boca Raton: CRC Press, 1996. – 551 p.
16. **Wehr N.** Capillary Electrophoresis of Proteins / N. Wehr, R. Rodrigue-Diaz, M. Zhu. – NY : Marsel Dekker, 1998. – 368 p.
17. **Westemeier R.** Electrophoresis in Practice. – Wiley-VCH, 2001 – 368 p.

Надійшла до редколегії 20.02.2010

УДК 612.821-005

А. Г. Моренко

Волинський національний університет ім. Лесі Українки

**ДИНАМІКА θ -РИТМУ ЕЛЕКТРОЕНЦЕФАЛОГРАМИ
ПРИ СЛУХО-МОТОРНИХ КООРДИНАЦІЯХ
ІЗ КОРОТКИМИ ЧАСОВИМИ ІНТЕРВАЛАМИ У ЛЮДИНИ**

Досліджено 30 здорових праворуких чоловіків і жінок 17–21 року. Оцінювали спектральну щільність потужності θ -ритму електроенцефалограми. Установлено, що слухо-моторні координації з інтервалами у 500 мс і, особливо, у 1 000 мс в обох статевих групах забезпечувались зниженням спектральної щільності потужності θ -ритму порівняно з фоном. Зменшення інтервалу між координаціями до 250 мс характеризувалось збільшенням цих показників. Чоловіки відзначались вищою реактивністю при переході до слухо-моторної активності, ніж жінки.

А. Г. Моренко

Волинский национальный университет им. Леси Украинки

**ДИНАМИКА θ -РИТМА ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ
ПРИ СЛУХО-МОТОРНЫХ КООРДИНАЦИЯХ
С КОРОТКИМИ ИНТЕРВАЛАМИ ВРЕМЕНИ У ЧЕЛОВЕКА**

Исследованы 30 здоровых праворуких мужчин и женщин 17–21 года. Оценивали спектральную плотность мощности θ -ритма электроэнцефалограммы. Слухо-моторные координации с интервалами в 500 мс и, особенно, в 1 000 мс в обеих половых группах обеспечивались снижением спектральной плотности мощности θ -ритма электроэнцефалограммы по сравнению с фоном. Уменьшение интервала между координациями до 250 мс характеризовалось увеличением этих показателей. Мужчины отличались более высокой реактивностью при переходе к слухо-моторной деятельности, чем женщины.

A. G. Morenko

Lesya Ukrainka Volyn National University

**DYNAMICS OF ELECTROENCEFALOGRAM θ -RHYTHM
IN AUDITORY AND MOTOR COORDINATION
WITH SHORT TIME INTERVALS IN HUMANS**

30 healthy right-handed women and men in the age of 17–21 were investigated. The power spectrum density of the electroencephalogram θ -rhythm was detected. It is determined, that the auditory and motor coordination with intervals in 500 ms and, especially, in 1000 ms in both sex groups were provided by a decrease in the power spectrum density of the electroencephalogram θ -rhythm in comparison with the background. However, reducing the interval between the coordination to 250 ms was characterized by an increase in measured parameters. The males differed by a higher reactivity in the transition to the auditory and motor activity, compared with the females.

Вступ

Важливе місце у сучасній психофізіології посідають дослідження, пов'язані з вивченням особливостей сприйняття людиною часу. Дане питання розпадається на декілька аспектів. Сприйняття тривалих (дні) та коротких часових інтервалів (хвилини, секунди) може мати різні механізми, які, швидше за все, не пов'язані [16]. Сприйняття тривалих інтервалів зазвичай досліджують, спостерігаючи біоритми людини, ізольованої від об'єктивних датчиків часу (зміна дня та ночі, години) [16]. Сприйняття коротких інтервалів (особливо до 1 000 мс) вивчають за допомогою методу електроенцефалографії, що дозволяє дослідити механізми цього процесу [3; 4; 6–8; 11; 12; 14; 15; 18–21].

З'ясування центрального забезпечення коротких часових відрізків важливе, оскільки у цьому діапазоні тривалостей містяться часові сигнали, що належать до сприйняття мови та рухів [1; 3; 6–9; 17; 18]. Костандов, Генкіна, Захаров [8], Івашенко, Важнова та Генкіна [6] вивчали міжпівкулеві взаємодії при оцінці мікроінтервалів часу. Данилова та Гудков [3] установлювали динаміку та вплив процесу навчання з використанням часових інтервалів як стимулів. У роботах Каменської [7] особливу увагу приділено впливу патологічного функціонального стану мозку на відображення часових стимулів, зв'язок процесу оцінки тривалості з мотиваційно-вольовим станом людини. Данилова та Ханкевич [4] з'ясовували особливості викликаної та індукованої γ -активності при розрізненні часових інтервалів. Москвін [10] зазначав, що велику роль у адекватному відображенні часу відіграють такі когнітивні процеси як пам'ять і увага.

При вивченні особливостей сприйняття людиною коротких часових відрізків велику увагу приділяють сенсорній (слуховій) перцепції та м'язовій діяльності [1; 4; 7; 12; 14; 18–21]. У процесі стабільної ритмічної сенсомоторної активності у людини з'являється певна циклічність змін біоелектричної активності у корі головного мозку відповідно до частоти та інтенсивності сенсорного подразника [1; 3].

За даними різних авторів [11; 12; 14; 15; 18; 19; 21], не існує єдиного механізму сприйняття коротких (до 1 000 мс) тривалостей. Наатанен [11], Ходанович, Єсипенко [14], Pazo-Alvares, Cadaveira, Amenedo [21], досліджуючи механізми виявлення відмінностей тривалості зорових стимулів методом реєстрації потенціалів, пов'язаних із подією, виявили лінійні залежності між амплітудами їх позитивних (300 мс) та негативних компонентів (200–500 мс) і тривалістю стимулів.

Сисоєва та Вартанов [12] установили, що мозок завершує переробку інформації про тривалість зорового стимулу через 300 мс після завершення його подання, а через 250 мс – про тривалість слухового стимулу. Шляхтин [15], Grondin, Ouellette, Rousse [18], Ortega, L'opez [20] установили існування відмінностей у механізмах обробки інформації при суб'єктивній оцінці різних за тривалістю відрізків часу та характеру участі когнітивних факторів при цьому. Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених вивченню психофізіологічних основ сенсомоторної діяльності людини, залишається не дослідженим ряд питань, щодо яких немає одностайної думки у наукових колах. Серед них – з'ясування співвідношення процесів синхронізації / десинхронізації, характеру міжпівкулевих взаємодій за умов перемикання уваги між слуховим сприйняттям і запуском необхідної моторної програми при забезпеченні різних механізмів оцінки коротких часових відрізків.

На шляху до з'ясування зазначених питань виявляється актуальним завдання нашого дослідження: виявлення особливостей електрогенезу кори головного мозку в діапазоні θ -ритму при виконанні слухо-моторних координацій із часовими інтервалами до 500, 500 та понад 500 мс.

Контингент і методи досліджень

У наших дослідженнях взяли участь 30 здорових (медична картка 086/у) право-руких чоловіків (15 осіб) і жінок (15 осіб) 17–21 року. Профіль мануальної асиметрії визначали за самооцінкою та мануальними тестами (переплетення пальців кисті, схрещування рук на грудях, аплодування, теплінг-тест і динамометрія). При проведенні експерименту дотримувались норм біомедичної етики.

Реєстрацію електроенцефалограми здійснювали монополярно з референтним об'єднаним вушним електродом за допомогою апаратно-програмного комплексу «Нейроком» («ХАІ-Медика»). У функціональних пробах аналізували 60-секундні відрізки часу. Епоха аналізу складала 2 с з 50 % перекриттям. Активні електроди розміщували за міжнародною системою 10/20. Під час експерименту досліджувані перебували у звуко- та світлонепрониклій кімнаті. Оцінювали спектральну щільність потужності θ -ритму (тета, 4–8 Гц) електроенцефалограми, значення якої розраховували для усіх пар відведень у всіх тестових ситуаціях.

Під час експерименту досліджувані були із закритими очима, у положенні напівсидячи у кріслі з підголовником, передпліччя зафіксовані на підлокітниках. Електроенцефалограму реєстрували у стані функціонального спокою (фон) і в умовах здійснення ритмічних слухо-моторних координацій (слухового сприйняття та мануального відтворення) з міжстимульними часовими інтервалами 250, 500 та 1 000 мс. Як стимули використовували звуки (електронна версія барабанного бою, Finale 2006) тривалістю у 10 мс, голосністю у 55–60 дБ, частотою у 110 Гц. У відповідь на стимули піддослідні здійснювали реципрокні координації – почергово стискали та розтискали пальці кисті правої (ведучої) руки. Значимість відмінностей показників ($p < 0,05$) між тестами оцінювали за критерієм Вілкоксона для парних вибірок, між статевими групами – за критерієм Манна–Уїтні.

Результати та їх обговорення

Стан функціонального спокою. У чоловіків відзначено значиме переважання спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у лівих бічних лобних і скроневих частках. У жінок виявлена тенденція до превалювання значень у правих лобних і передніх скроневих ділянках (табл. 1, 2).

Здійснення слухо-моторних координацій з інтервалами 500 мс у чоловіків та жінок супроводжується зниженням спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у симетричних скроневих, центральних, тім'яних частках кори головного мозку (рис. 1, 2). Ця закономірність досягає значимого рівня у групі чоловіків. У потиличній зоні у групі чоловіків виявляється значиме зниження показників, у жінок – відповідне переважання, порівняно зі станом функціонального спокою. Зниження потужності потенціалів у діапазоні θ -ритму під час здійснення ритмічних сенсомоторних координацій Фарбер, Анісімова [13], Базанова, Штарк [1], Данько [5], Болдирева, Жаворонкова, Шарова та інші [2] пов'язують із наростанням процесів активації, інтенсифікацією діяльності. Відзначається переважання показників у правій півкулі, що є значимим у тім'яній зоні у жінок, у потиличній зоні – у чоловіків (див. табл. 1, 2).

Виконання слухо-моторних координацій з інтервалами 250 мс в обох статевих групах характеризується значимим посиленням спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у корі головного мозку, особливо у правій півкулі, порівняно зі станом функціонального спокою (див. рис. 1, 2). У групі чоловіків зростання показників у правій півкулі виявляється у бічній лобній, задній скроневій, тім'яній і потиличній ділянках кори, у групі жінок – лише у задній скроневій і тім'яній частках.

Аналіз міжпівкулевих відмінностей указує на значиме превалювання показників у лівій півкулі у передній скроневій частці в обох статевих групах, а також у потиличній ділянці – у чоловіків. Натомість у правій півкулі виявлене відповідне переважання у бічній лобній та тім'яній частках у чоловіків, у задній скроневій та тім'яній ділянках – у жінок (див. табл. 1, 2).

Таблиця 1

Спектральна щільність потужності θ -ритму електроенцефалограми ($M \pm m$, мкВ²/Гц) у чоловіків

Півкулі кори	Відведення	Фон	Часовий інтервал, мс		
			250	500	1000
Ліва	<i>Fp1</i>	8,3 ± 0,0	22,1 ± 1,9	8,2 ± 0,6	9,1 ± 0,8
	<i>F3</i>	13,6 ± 0,7	26,5 ± 1,7	11,9 ± 0,4	10,5 ± 0,6
	<i>F7</i>	13,6 ± 0,2*	16,9 ± 1,3	7,8 ± 0,8	6,6 ± 0,5
	<i>T3</i>	18,2 ± 0,5**	23,5 ± 1,0*	8,7 ± 0,6	5,8 ± 0,6
	<i>T5</i>	12,5 ± 0,4*	13,0 ± 0,2	6,1 ± 0,7	6,2 ± 0,9
	<i>C3</i>	18,3 ± 1,7	27,6 ± 1,5	12,2 ± 0,6	11,5 ± 0,6
	<i>P3</i>	18,6 ± 1,5	20,1 ± 1,8	12,5 ± 0,5	12,0 ± 0,7
	<i>O1</i>	38,1 ± 2,9	31,1 ± 2,7*	19,5 ± 1,9	21,0 ± 0,6
Права	<i>Fp2</i>	8,9 ± 0,2	22,0 ± 1,2	8,3 ± 0,7	9,5 ± 0,8
	<i>F4</i>	12,7 ± 0,5	25,7 ± 1,7	11,6 ± 0,4	10,4 ± 0,9
	<i>F8</i>	10,3 ± 0,8	33,1 ± 2,4**	8,6 ± 0,0	6,7 ± 0,6
	<i>T4</i>	8,5 ± 0,2	19,4 ± 1,8	6,1 ± 0,7	5,8 ± 0,7
	<i>T6</i>	9,5 ± 0,7	15,5 ± 1,6	6,6 ± 0,7	6,3 ± 0,9
	<i>C4</i>	17,0 ± 1,2	27,0 ± 1,6	13,2 ± 0,5	12,8 ± 0,3
	<i>P4</i>	18,8 ± 1,2	27,6 ± 2,4*	13,9 ± 0,5	14,9 ± 0,5*
	<i>O2</i>	36,1 ± 1,4	22,2 ± 14,2	22,9 ± 1,5*	20,6 ± 1,1

Примітки: * – значимі міжпівкулеві відмінності, $0,025 < p < 0,05$; ** – значимі міжпівкулеві відмінності, $p < 0,0249$; *Fp 1, 2*; *F 3, 4*; *F 7, 8* – відповідно передні, задні та бічні лобні частки; *C3, 4* – центральні частки; *T3, 4, T5, 6* – відповідно передні та задні скроневі частки; *P3, 4* – тім'яні частки; *O1, 2* – потиличні частки.

Таблиця 2

Спектральна щільність потужності θ -ритму електроенцефалограми ($M \pm m$, мкВ²/Гц) у жінок

Півкулі кори	Відведення	Фон	Часовий інтервал, мс		
			250	500	1000
Ліва	<i>Fp1</i>	10,1 ± 0,2	22,2 ± 1,4	10,5 ± 0,9	16,2 ± 1,0
	<i>F3</i>	14,7 ± 0,8	19,1 ± 1,2	11,9 ± 1,2	13,1 ± 0,8
	<i>F7</i>	8,5 ± 0,3	17,5 ± 1,7	8,5 ± 0,1	9,9 ± 0,4
	<i>T3</i>	8,6 ± 0,9	14,7 ± 1,3*	7,8 ± 0,1	7,6 ± 0,5
	<i>T5</i>	10,4 ± 0,8	13,6 ± 1,3	8,9 ± 0,8	7,7 ± 0,9
	<i>C3</i>	19,9 ± 1,3	21,5 ± 1,5	13,4 ± 1,1	13,9 ± 0,6
	<i>P3</i>	21,7 ± 1,1	28,6 ± 2,4	17,1 ± 0,6	14,3 ± 0,5
	<i>O1</i>	15,1 ± 0,9	34,8 ± 2,2	21,1 ± 1,1	13,8 ± 0,4
Права	<i>Fp2</i>	11,0 ± 0,9	21,3 ± 1,5	9,9 ± 0,6	16,3 ± 1,2
	<i>F4</i>	16,2 ± 1,2	17,7 ± 1,5	12,4 ± 0,9	14,1 ± 0,7
	<i>F8</i>	9,6 ± 0,6	14,3 ± 0,8	9,7 ± 0,6	11,0 ± 0,4
	<i>T4</i>	10,0 ± 0,8	11,8 ± 0,4	7,3 ± 0,2	7,2 ± 0,7
	<i>T6</i>	9,0 ± 0,3	21,8 ± 1,8*	9,8 ± 0,1	9,9 ± 0,3
	<i>C4</i>	22,9 ± 1,9	22,4 ± 1,7	14,4 ± 0,8	15,3 ± 0,7
	<i>P4</i>	19,4 ± 1,2	40,8 ± 2,0**	19,0 ± 1,2*	14,5 ± 0,7
	<i>O2</i>	16,6 ± 1,0	34,7 ± 1,4	23,5 ± 0,4	18,4 ± 0,6**

Примітки: див. табл. 1.

Скорочення часових інтервалів між слухо-моторними координаціями з 500 до 250 мс в обох статевих групах корелює зі значимим зростанням спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми по всьому «скальпу», що особливо вираженим є у групі чоловіків. На думку Базанової, Штарк [1], зростання потужності θ -ритму електроенцефалограми вказує на деактиваційні зміни у корі та наростання напруженості досліджуваних. Костандов, Курова, Черемушкін [9] синхронізацію в діапазоні θ -активності пов'язують із забезпеченням гнучкої адаптації до умов, що активно змінюються.

Реалізація слухо-моторних координацій з інтервалами 1000 мс у групі чоловіків характеризується значимим зниженням спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у симетричних скроневих, центральних, тім'яних, потиличних частках, порівняно зі станом функціонального спокою (див. рис. 1, 2). Група жінок також відзначається подібною динамікою спектральної щільності потужності θ -ритму, але остання є менш вираженою, порівняно з чоловіками, і здебільшого не досягає значимого рівня, крім лівої тім'яної частки.

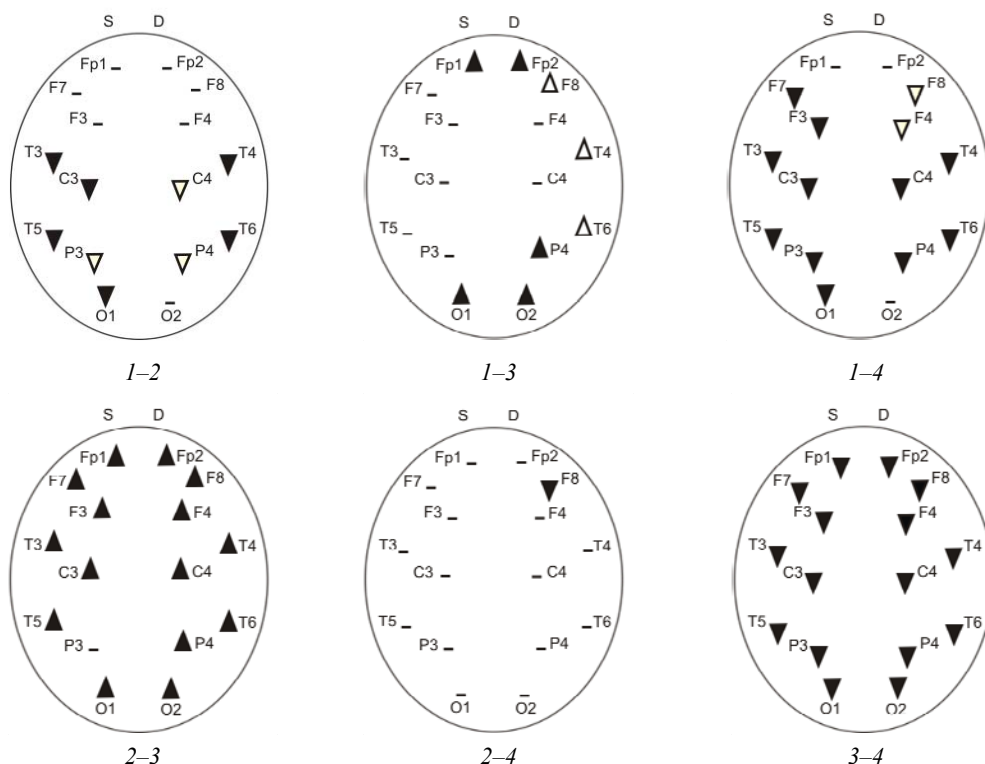


Рис. 1. Динаміка спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у чоловіків під час здійснення слухо-моторних координацій із короткими інтервалами часу: стан функціонального спокою (1); здійснення слухо-моторних координацій з інтервалами часу у 500 (2), 250 (3) та 1000 мс (4); Fp1, 2, F3, 4, F7, 8 – відповідно передні, задні та бічні лобні частки; C3, 4 – центральні частки, T3, 4, T5, 6 – відповідно передні та задні скроневі частки, P3, 4 – тім'яні частки, O1, 2 – потиличні частки в лівій (s) і правій (d) півкулях кори головного мозку; ▽(▲) – зростання (зниження) показників у другому тесті, $0,025 < p < 0,05$; ▼(▲) – зростання (зниження) показників у другому тесті, $p < 0,0249$

Показники у симетричних передніх лобних частках у групі чоловіків не зазнали значимих змін, у групі жінок – відзначилися зростанням. Костандов, Курова, Черемуш-

кін [9] зростання потужності θ -активності у лобних ділянках пов'язують із необхідністю розподілу ресурсів уваги при виконанні поставлених завдань. Підвищення активності передніх відділів кори великих півкуль, на думку авторів, полегшує процес зміни установок, що сприяє гнучкішому пристосуванню до ситуації. Установлене значиме превалювання показників у правій півкулі: у тім'яній частці у чоловіків, у потиличній ділянці у жінок (див. табл. 1, 2). Зростання часових інтервалів між слухомоторними координаціями з 500 до 1000 мс у групі чоловіків відзначається тенденцією до зниження спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у лівій бічній лобній і симетричних передніх скроневих частках, у групі жінок – значимим зростанням показників у симетричних передніх лобних частках і відповідним зниженням у тім'яно-потиличній зоні обох півкуль кори. Порівняно зі сприйняттям і відтворенням часових інтервалів 250 мс, зростання інтервалів між координаціями до 1000 мс супроводжується значимим зниженням спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми по всьому «скальпу» у групі чоловіків, переважно у лівій півкулі – у групі жінок. Посилення процесів десинхронізації в діапазоні θ -ритму електроенцефалограми за умов зростання тривалості часових інтервалів (до 1000 мс), що оцінювались, на нашу думку та відповідно до даних літератури [1; 2; 5; 13], свідчить про посилення активаційних процесів у корі головного мозку.

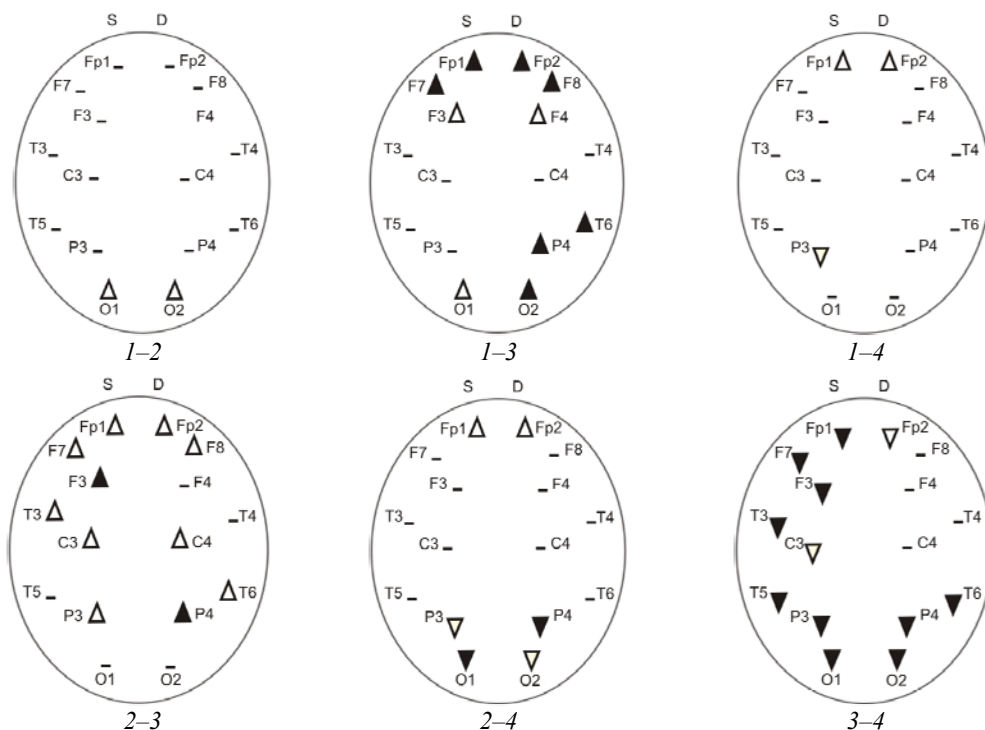


Рис. 2. Динаміка спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у жінок під час здійснення слухо-моторних координацій з короткими інтервалами часу: примітки див. рис. 1.

У цілому, реалізація слухо-моторних координацій із короткими часовими інтервалами в обох статевих групах досліджуваних супроводжувалась подібною динамікою електрогенезу в корі, порівняно зі станом функціонального спокою. Найбільш задіяними були задні скроневі, центральні, тім'яні, потиличні частки кори, а у жінок і

лобні ділянки. Виконання слухо-моторної діяльності у корковій організації супроводжувалось не лише участю центрів моторної кори, які складають ядро рухового аналізатора, а й інших – проєкційних і асоціативних полів неокортексу (лобних, задніх скроневих, тім'яних і потиличних зон).

На думку авторів [2; 13; 22], залученість цих ділянок кори створює умови для об'єднання роботи багатьох центрів у єдину функціональну систему, що і забезпечує довільні моторні дії. У жінок виявлено нижчі показники спектральної щільності потужності θ -діапазону електроенцефалограми у потиличних ділянках у різних тестових ситуаціях ($0,025 < p < 0,05$) (див. табл. 1, 2). Разом із тим, у чоловіків устанавлюється вища реактивність динамічних змін у просторовому розподілі спектральної щільності потужності θ -ритму при переході до слухо-моторної діяльності з різними міжстимульними інтервалами.

Результати наших досліджень указують на характерну специфіку коркових активаційних процесів при забезпеченні стабільної ритмічної діяльності, що змінювалась залежно від тривалості часових інтервалів між слухо-моторними координаціями.

Висновки

Здійснення слухо-моторних координацій з інтервалом 500 мс і, особливо, у 1 000 мс в обох статевих групах супроводжувалось зниженням спектральної щільності потужності θ -ритму у корі головного мозку, переважно у скроневих, центральних та тім'яних частках. У симетричних передніх лобних частках відзначили зростання показників, особливо у групі жінок. Виконання слухо-моторних координацій з інтервалом 250 мс в обох статевих групах відзначається значимим зростанням спектральної щільності потужності θ -ритму електроенцефалограми у корі головного мозку, особливо у правій півкулі, порівняно зі станом функціонального спокою. Установлено більшу реактивність чоловіків (вищий рівень значимості змін показників) в умовах слухо-моторної діяльності з короткими часовими інтервалами, порівняно з жінками.

Бібліографічні посилання

1. **Базанова О. М.** Биоправление в оптимизации психомоторной реактивности. Сообщ. 1. Сравнительный анализ биоправления и обычной исполнительской практики / О. М. Базанова, М. Б. Штарк // Физиол. человека. – 2007. – Т. 33, № 4. – С. 24–32.
2. **фМРТ-ЭЭГ-исследование** реакций мозга здорового человека на функциональные нагрузки / Г. Н. Болдырева, Л. А. Жаворонкова, Е. В. Шарова и др. // Физиол. человека. – 2009. – Т. 35, № 3. – С. 20–30.
3. **Данилова Н. Н.** Применение метода вызванных потенциалов для изучения и диагностики функциональных состояний и процесса сенсорного обучения / Н. Н. Данилова, В. Н. Гудков // Практикум по физиологии. – М. : Изд-во МГУ, 1984. – С. 72–85.
4. **Данилова Н. Я.** Гамма-ритм в условиях различения временных интервалов / Н. Я. Данилова, А. А. Ханкевич // Вестн. Моск. ун-та. – 2001. – Сер. 14. Психология. – № 1. – С. 51–64.
5. **Данько С. Г.** Об отражении различных аспектов активации мозга в электроэнцефалограмме: что показывает количественная электроэнцефалография состояний покоя с открытыми и закрытыми глазами // Физиол. человека. – 2006. – Т. 32, № 4. – С. 5–17.
6. **Иващенко О. И.** Оценка коротких интервалов времени и вызванная корковая активность у человека / О. И. Иващенко, Т. Н. Важнова, О. А. Генкина // Принципы и механизмы деятельности мозга человека. – Л. : Наука, 1985. – С. 88.
7. **Каменская В. Г.** Время в процессе отражения и как фактор организации целенаправленных акустико-моторных реакций человека: Автореф. дисс. ... д-ра психол. наук. – СПб., 1995. – 40 с.

8. **Костандов Э. А.** Динамика корковой вызванной активности в процессе обучения человека различению микроинтервалов времени с помощью обратной связи / Э. А. Костандов, О. А. Генкина, Н. Н. Захаров и др. // Журн. высш. нервн. деят. – 1985. – № 5. – С. 833–841.
9. **Костандов Э. А.** Изменения корковой электрической активности при формировании установки в условиях увеличения нагрузки на рабочую память / Э. А. Костандов, Н. С. Курова, Е. А. Черемушкин // Журн. высш. нервн. деят. – 2004. – Т. 54, № 4. – С. 448–454.
10. **Москвин В. А.** Проблема связи латеральных профилей с индивидуальными различиями человека: Автореф. дисс. ... д-ра психол. наук. – Оренбург, 2002. – 40 с.
11. **Наатанен Р.** Внимание и функции мозга / Под ред. Е. Н. Соколова. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 560 с.
12. **Сысоева О. В.** Две мозговые подсистемы кодирования длительности стимула / О. В. Сысоева, А. В. Вартаков // Психол. журнал. – 2005. – Т. 26, № 2. – С. 81–90.
13. **Фарбер Д. А.** Функциональная организация коры больших полушарий при выполнении произвольных движений. Возрастной аспект / Д. А. Фарбер, И. О. Анисимова // Физиол. человека. – 2000. – Т. 26, № 5. – С. 35–43.
14. **Ходанович М. Ю.** Связанные с событиями потенциалы мозга при отмеривании времени человеком. I. Различные стратегии выполнения моторных задач на время / М. Ю. Ходанович, Е. А. Есипенко // Вестн. Томск. гос. ун-та. – 2007. – № 298. – С. 231–236.
15. **Шляхтин Г. С.** Сенсорно-перцептивная концепция восприятия времени // Ежегодник Российского психологического общества. Матер. III Всероссийского съезда психологов. – СПб.: СПб. гос. ун-т, 2003. – Т. 8. – С. 473–477.
16. **Aschoff J.** Human time perception in temporal isolation: Effects of illumination intensity / J. Aschoff, S. Daan // Chronobiology International. – 1997. – Vol. 14, N 6. – P. 585–596.
17. **Bradley M.** Natural selective attention: Orienting and emotion // Psychophysiology. – 2009. – Vol. 46, N 1. – P. 1–11.
18. **Benefits** and limits of explicit counting for discriminating temporal intervals / S. Grondin, C. Ouellette, M. E. Roussel, J. Can // Exp. Psychol. – 2004. – Vol. 58. – P. 1–12.
19. **Increased** synchronization of cortical oscillatory activities between human supplementary motor and primary sensorimotor areas during voluntary movements / S. Ohara, T. Mima, K. Baba et al. // J. Neurosci. – 2001. – Vol. 21. – P. 9377–9386.
20. **Ortega L.** Effects of visual flicker on subjective time in a temporal bisection task / L. Ortega, F. L'opez // Behavioural Processes. – 2008. – Vol. 78. – P. 380–386.
21. **Pazo-Alvares P.** MMN in the visual modality: A review / P. Pazo-Alvares, F. Cadaveira, E. Amenedo // Biol. Psychol. – 2003. – Vol. 63. – P. 199–212.
22. **Rykhlevskaia E.** Combining structural and functional neuroimaging data for studying brain connectivity: A review / E. Rykhlevskaia, G. Gratton, M. Fabiani // Psychophysiology. – 2008. – Vol. 45, N 2. – P. 173–187.

Надійшла до редколегії 07.02.2010

УДК 577.156:612. 015+576.311

Н. В. Недзвецька, Н. І. Ташевська

*Дніпропетровська державна медична академія
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

ЕФЕКТИ МЕЛАТОНІНУ НА КОГНІТИВНІ ПРОЦЕСИ ТА СТАН АСТРОГЛІЇ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ДІАБЕТОМ

Досліджено протекторну дію хронічного введення мелатоніну на розвиток пізнавального дефіциту у стрептозотозин-діабетичних щурів. Виявлено гальмування розвитку астрогліозу та пізнавального дефіциту у групі тварин, які отримували ін'єкції мелатоніну. Отримані результати свідчать на користь того, що мелатонін може попереджати розвиток пізнавального дефіциту у діабетичних тварин через зниження рівня оксидативного стресу та гальмування розвитку астрогліозу.

Н. В. Недзвецкая, Н. И. Ташевская

*Днепропетровская государственная медицинская академия
Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара*

ЭФФЕКТЫ МЕЛАТОНИНА НА КОГНИТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ И СОСТОЯНИЕ АСТРОГЛИИ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ

Исследовано протекторное действие хронического введения мелатонина на развитие познавательного дефицита у стрептозотозин-диабетических крыс. Выведено торможение развития астроглиоза и познавательного дефицита в группе животных, которые получали инъекции мелатонина. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что мелатонин может предупреждать развитие познавательного дефицита у диабетических животных путем снижения уровня оксидативного стресса и торможения развития астроглиоза.

N. V. Nedzvetskaya, N. I. Tashevskaya

*Dnipropetrovsk State Medical Academy
Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University*

EFFECTS OF MELATONIN ON COGNITIVE PROCESSES AND ASTROGLIA STATE IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

There was investigated protective effect of chronic melatonin injection on the development of cognitive deficit in rats with streptozotocine induced diabetes. There were observed decrease of astrogliosis and of cognitive deficit in animals that were injected with melatonin. Presented results are evidence that melatonin can prevent the development of cognitive deficit in diabetic animals by decreasing oxidative stress level and astrogliosis inhibition.

Вступ

Діабет (*Diabetes mellitus*) – захворювання, що характеризується гіперглікемією в результаті дефіциту секреції інсуліну, ефективності дії цього гормона або спільного впливу цих факторів. Діабет часто супроводжується порушеннями пізнавальної актив-

ності, пізнавальним дефіцитом і підвищеним ризиком розвитку деменцій, особливо в літньому віці [9]. Відомо, що при патологічних станах, пов'язаних із нейродегенеративними та віковими змінами, посилюється генерація активних форм і продуктів кисню, нервові ж клітини надзвичайно чутливі до оксидативного стресу [6]. Ці спостереження підтверджують уявлення про те, що мнестичні дисфункції значною мірою пов'язані з розладом метаболізму глюкози та розвитком оксидативного стресу в клітинах головного мозку.

Мелатонін, гормон, що продукується епіфізом, здатний активно зв'язувати радикали атомарного кисню, супероксидні та пероксидні радикали та стимулювати активність деяких антиоксидантних ферментів [14]. В експериментальних моделях діабету, гіперглікемії та пригнічення утилізації глюкози спостерігаються метаболічні порушення в нейронах і гліальних клітинах [2]. Такі порушення, у свою чергу, можуть бути причиною швидкого розвитку нейродегенеративних змін.

Передбачається, що структурна основа формування умовних рефлексів, процесів навчання та пам'яті – модифікації міжклітинних контактів у ЦНС [11]. До реорганізації синапсів залучаються не лише нейрони, а також гліальні клітини. Визнаним маркером астроглії є гліальний фібрилярний кислий білок (ГФКБ).

У наших експериментах вивчено вплив уведення мелатоніну на характеристики процесу навчання щурів із СТЗ-індукованим діабетом і експресію та поліпептидний склад ГФКБ у ряді структур головного мозку таких тварин.

Матеріал і методи досліджень

Експерименти проводили на щурах лінії Вістар (статевозрілі самці, вік 14–16 тижнів). Тварини розділені на три групи ($n = 8$). Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин. Щурам другої та третьої груп інтраперитонеально вводили одноразово 50 мг/кг СТЗ, розчиненого в 0,05 М натрійцитратному буфері. Рівень глюкози у венозній крові вимірювали через три доби після ін'єкції СТЗ. Для подальшого дослідження відібрані тварини з концентрацією глюкози у венозній крові понад 250 мг/л, що свідчило про розвиток у цих щурів вираженого стану СТЗ-індукованого діабету (далі – СТЗД). Тварини третьої групи щодня після введення СТЗ одержували ін'єкцію 10 мг/кг мелатоніну протягом 21 доби.

Характеристики процесу навчання та формування пам'ятного сліду оцінювали з використанням водного тесту Морріса [6]. Фракції цитоскелетних білків одержували з тканин гіпокампа, кори великих півкуль і мозочка, як було описано раніше [1]. Білкові фракції розділяли електрофоретично в градієнті поліакриламідного гелю 7,5–17,5 % [10]. Поліпептидний склад і вміст ГФКБ визначали за допомогою імуноблотингу з використанням моноспецифічної антисироватки [3], вміст загального білка – використовуючи метод Лоурі в модифікації Міллера [12]. Визначення відносної інтенсивності поліпептидних зон проводили за допомогою комп'ютерної обробки сканованих результатів імуноблотингу. Кількісний аналіз ГФКБ проводили шляхом порівняння інтенсивностей забарвлення відповідних поліпептидних зон між експериментальними та контрольними пробами, віднесених до кількості загального білка у фракціях.

Одержані дані опрацьовували методами математичної статистики для малих вибірок. Відносний вміст ГФКБ виражали у вигляді середньої величини \pm стандартна похибка середньої, достовірну різницю між групами оцінювали із застосуванням t -критерію Стьюдента ($p < 0,05$).

Результати та їх обговорення

Процес навчання та формування пам'ятних слідів в експериментальних групах щурів оцінювали у ході виконання водного тесту Морріса протягом 7 днів. Час, який витрачали тварини для виявлення підводної платформи, погресивно скорочувався (рис. 1). На сьомий день щури контрольної групи виконували завдання тесту за $8,0 \pm 1,6$ с. Щури другої СТЗД – за $23,6 \pm 4,1$ с, тобто витрачали майже втричі більше часу ($p < 0,001$). Настільки істотні відмінності свідчать про різко виражений пізнавальний дефіцит у тварин з експериментальним діабетом (СТЗД).

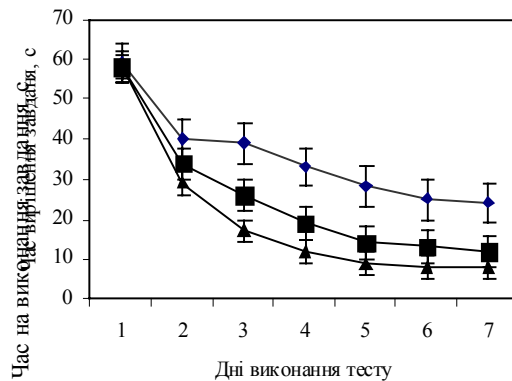


Рис. 1. Результати виконання щурами контрольної (Δ), СТЗД (◇) та СТЗД + мелатонін (□) груп тесту Морріса

СТЗД щури, що отримували щоденні ін'єкції мелатоніну, витрачали на пошуки платформи в середньому $11,8 \pm 2,3$ с. Цей показник був удвічі меншим порівняно з другою групою тварин. Міжгрупові відмінності показників при порівнянні груп 2 і 3 були високодостовірними ($p < 0,01$) (див. рис. 1). У такий спосіб курсове введення мелатоніну у фармакотерапевтичних дозах істотно перешкоджало розвитку пізнавального дефіциту у тварин з СТЗД.

Рівень ГФКБ і поліпептидний склад визначали у трьох білкових фракціях (розчинній, цитоскелетній і Тритон X-100-екстрагованій) гіпокампа, кори великих півкуль і мозочка. Значне збільшення вмісту розчинної форми ГФКБ виявлене в усіх трьох відділах мозку ($p < 0,01$). У мозку щурів через 21 добу після ін'єкції СТЗ виявлене підвищення вмісту деградованих поліпептидів 40–47 кДа в усіх досліджених фракціях. Найінтенсивніші продукти деградації цитоскелетної фракції ГФКБ (35–37 кДа) виявлені в мозочку та гіпокампі групи діабетичних щурів (рис. 2). У цих відділах виявлене збільшення вмісту ГФКБ у тритоновій фракції ($p < 0,01$), цитоскелетній ($p < 0,05$), а також загального вмісту ГФКБ ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою.

Збільшення деградації ГФКБ у ході астрогліозу може бути результатом дегенеративних ефектів оксидативного стресу та відображає загальні риси метаболічного розладу в астрогліальних клітинах при СТЗ-індукованому діабеті. Значні зміни вмісту та поліпептидного складу білка гліальних філаментів свідчать про інтенсивні цитоскелетні перебудови. Інтенсивний фібрилогенез – головний показник реактивної відповіді астроцитів на нейрональне пошкодження.

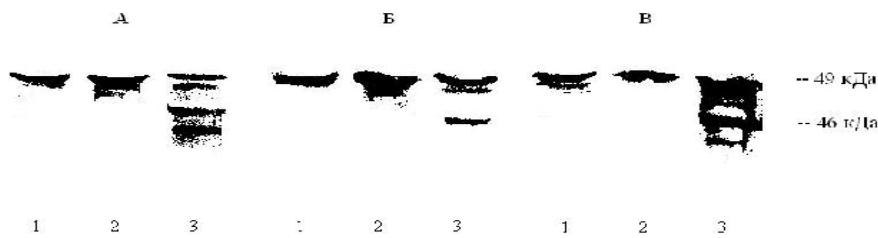


Рис. 2. Імуноблотинг цитоскелетних фракцій ГФКБ із мозку контрольних (1), СТЗД (2) та СТЗД+мелатонін (3) груп щурів

Істотні відмінності поліпептидного складу та вмісту ГФКБ виявлені також між другою групою щурів із СТЗД і третьою групою тварин із СТЗД, що отримували щоденні ін'єкції мелатоніну. Відносний вміст ГФКБ у групи щурів із СТЗД, що отримували ін'єкції мелатоніну, був достовірно знижений порівняно з групою СТЗД тварин. У такий спосіб уведення мелатоніну перешкоджає розвитку оксидативних пошкоджень, які викликають надмірну експресію гліальних проміжних філаментів у мозку щурів із СТЗД.

Патогенез діабетичної енцефалопатії – багатофакторний – поки залишається не цілком зрозумілим. Вважається, що діабет асоційований з енцефалопатією, яка характеризується повільним розвитком і поступово приводить до клінічно вираженого пізнавального дефіциту. Отримані результати водного тесту Морріса вказують на те, що щури із СТЗД набагато повільніше адаптують поведінкову стратегію у виборі вірного варіанта, ніж тварини контрольної групи.

Стан гіперглікемії стимулює переключення клітинного метаболізму на «поліольний шлях». Підвищення рівня сорбітолу веде до змін активності протеїнкінази *C*. Надлишок глюкози також відбивається на кальцієвому гомеостазі. Загалом це призводить до дисбалансу генерації та видалення реактивних сполук O_2 і виникнення оксидативного стресу [5]. Розвиток оксидативного стресу може бути зумовлений двома основними причинами – активацією аутооксидативних процесів у результаті підвищення рівня глюкози та зниженням рівнів ендogenous антиоксидантів.

Один з основних біохімічних механізмів дії мелатоніну на клітини – антиоксидантний [14]. Погіршення пізнавальної та моторної функції корелює з оксидативними молекулярними ушкодженнями в різних відділах мозку [16]. Хронічне уведення мелатоніну знижує пізнавальний дефіцит і зменшує амнестичний ефект [2]. Недавно показано, що мелатонін поліпшує короточасну пам'ять і впливає на процес збереження надбаних навичок [1].

Курс щоденних ін'єкцій 10 мг/кг мелатоніну щурам третьої групи протягом трьох тижнів у нашому експерименті забезпечував достовірне зниження часу виконання водного тесту Морріса. Таким чином, мелатонін може перешкоджати розвитку пізнавального дефіциту в мозку діабетичних щурів. Дія мелатоніну на нервові клітини опосередкована специфічними мелатоніновими рецепторами, що присутні у цій тканині [13]. Передбачається, що механізм протективної дії мелатоніну на виживаність нейронів опосередкований його дією на гліальні клітини [4]. Показано, що астрогліальні клітини мають надзвичайно глибокий ефект на головні нейрональні функції та інтегративні процеси в нервовій системі. Астроцити мають фізіологічні та метаболічні властивості, важливі для нейронального розвитку й інтеграції мозкових функцій. Гліальні клітини експресують широкий спектр нейротропних факторів і є головними протекторами нейронів проти нейротоксичного впливу вільних радикалів.

Глія має вирішальне значення для виживання нейронів в умовах оксидативного стресу. Глутатіонпероксидаза виявляється переважно в астроцитах, які також мають вищий вміст глутатіону відновленого, ніж нейрони [15].

Порушення астроцитарного транспорту метаболітів та сигнальних молекул може бути причиною модуляції взаємодії великої кількості астроцитів, нейронів і ендотеліальних клітин, що, у свою чергу, відбивається на функціонуванні мозку за умов діабету [8]. На важливу роль астроцитів та нейроваскулярних елементів вказують також результати останніх досліджень формування астроцитарного рубця в мозку діабетичних щурів [7].

Виявлені в нашому експерименті зміни цитоскелетного маркера астроцитів індукуються щільно зв'язаними метаболічними процесами гліальних клітин і нейронів. Це відбивається на процесах нейрональної пластичності, що, у свою чергу, вважається структурною основою процесів навчання та пам'яті. Цитоскелетні перебудови, подібні до спостережених у нашому експерименті, можуть бути частиною процесу формування пам'яті. З огляду на раніше отримані результати можна припустити, що даний гормон активно залучається до пластичних перебудов синаптичних контактів у зрілій нервовій системі при метаболічних порушеннях [2].

Висновки

Хронічне введення мелатоніну у фармакотерапевтичних дозах може помітно модулювати експресію ГФКБ і розвиток астрогліозу в мозку щурів з експериментальним діабетом. Скорочення часу виконання шурами із СТЗД завдань в умовах водного просторового тесту дозволяє припустити вплив мелатоніну на нейрональну пластичність і пізнавальні процеси. Результати демонструють ефективність мелатоніну в попередженні розвитку пізнавального дефіциту у щурів із СТЗД і підтверджують його потенційну можливість використання при вікових нейродегенеративних патологіях із метою зниження оксидативного стресу та пізнавального дефіциту.

Бібліографічні посилання

1. **Недзвецкий В. С.** Влияние мелатонина на познавательную способность и экспрессию молекулы адгезии нервных клеток NCAM при стрептозототин-индуцированном диабете / В. С. Недзвецкий, П. А. Неруш, С. В. Кириченко // *Neurophysiology / Нейрофизиология.* – 2003. – Т. 35, № 6. – С. 463–469.
2. **Baydas G.** Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus / G. Baydas, V. S. Nedzvetskii, P. A. Nerush // *Life Sci.* – 2003. – Vol. 73. – P. 1907–1916.
3. **Baydas G.** Increase of glial fibrillary acidic protein and S-100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: Effects of vitamin E / G. Baydas, V. S. Nedzvetskii, M. Tuzcu // *European Journ. of Pharmacol.* – 2003. – Vol. 462. – P. 67–71.
4. **Baydas G.** Altered glial acidic protein content and its degradation in the hippocampus, cortex and cerebellum of rats exposed to constant light: reversal by melatonin / G. Baydas, R. J. Reiter, V. S. Nedzvetskii // *J. Pineal Res.* – 2002. – Vol. 33. – P. 1–6.
5. **Biessels G. J.** The calcium hypothesis of brain aging and neurodegenerative disorders: Significance in diabetic neuropathy // *Life Sci.* – 1996. – Vol. 59. – P. 379–387.
6. **Coyle J. T.** Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders / J. T. Coyle, P. Puttfarcken // *Science.* - 1993, - V. 262, № 1, - P. 689-695.
7. **Frontczak-Baniewicz M.** Ultrastructural and immunohistochemical studies of glial scar formation in diabetic rats / L. Struzynska, J. Andrychowski, J. Opertowska et al. // *Acta Neurochir. Suppl.* – 2010. – Vol. 106, N 1. – P. 251–255.

8. **Hyperglycaemia** and diabetes impair gap junctional communication among astrocytes / G. K. Gandhi, K. K. Ball, N. F. Cruz, G. A. Diemel // *ASN Neuro.* – 2010. – Vol. 5, N 2. – P. 130–136.
9. **Gispén W. H.** Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus / W. H. Gispén, G-J. Biessels // *Trends Neurosci.* – 2000. – Vol. 23, N 2. – P. 542–549.
10. **Laemmli O. H.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – Vol. 227, N 1. – P. 243–246.
11. **Litvin O. O.** Mechanisms of memory reorganization during retrieval of acquired behavioral experience in chicks: the effects of protein synthesis inhibition in the brain / O. O. Litvin, K. V. Anokhin // *Neurosci Behav. Physiol.* – 2000. – Vol. 30, N 6. – P. 671–678.
12. **Miller G. L.** Protein determination for large numbers of samples // *Anal. Chem.* – 1959. – Vol. 31, N 5. – P. 964–966.
13. **Noslean O.** Comparative pharmacological studies of melatonin receptors MT1, MT2 and MT3/QR2. Tissue distribution of MT3/QR2 / O. Noslean, J. P. Nicolas, F. Klupsh // *Biochem. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 61, N 11. – P. 1369–1379.
14. **Free radical-mediated molecular damage.** Mechanisms for the protective actions of melatonin in central nervous system / R. J. Reiter, D. Acuna-Castroviejo, D. X. Tan, S. Burkhardt // *Ann. of the N. Y. Acad. of Sci.* – 2001. – Vol. 939. – P. 200–215.
15. **Ridet J. L.** Reactive astrocytes: Cellular and molecular cues to biological function / J. L. Ridet, S. K. Malhotra, A. A. Privat // *Trends Neurosci.* – 1997. – Vol. 20, N 12. – P. 570–577.
16. **Sharma M.** Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment / M. Sharma, Y. K. Gupta // *Life Sci.* – 2001. – Vol. 68. – P. 1021–1029.
17. **Teunissen C. E.** Behavioural correlates of striatal glial fibrillary acidic protein in the 3-nitropropionic acid rat model: Disturbed walking pattern and spatial orientation / C. E. Teunissen, H. W. Steinbusch, M. Angevaren // *Neurosci.* – 2001. – Vol. 105, N 1. – P. 153–167.

Надійшла до редколегії 04.07.2010

УДК 579.8:546.4

О. Ф. Рильський

Запорізький національний університет

УТВОРЕННЯ МАЛОНОВОГО ДІАЛЬДЕГІДУ ПІД ДІЄЮ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ЯК ІНДИКАТОРА РУЙНУВАННЯ ПІГМЕНТСИНТЕЗУВАЛЬНИХ МЕМБРАННИХ ЦЕНТРІВ БАКТЕРІЙ

Встановлено, що з ростом концентрацій іонів металів Hg^{2+} та Cu^{2+} у живильному середовищі зростає концентрація малонового діальдегіду у клітинах бактерій *Serratia marcescens*. Різке зростання концентрації малонового діальдегіду ($Hg^{2+} - 14,37 \pm 0,76$ та $Cu^{2+} - 24,75 \pm 0,59$) збігається з концентраціями, з яких починається втрата пігментсинтезувальної здатності бактерій під впливом цих металів. Це свідчить, що одним із вірогідних механізмів втрати пігментів у бактерій може бути ураження вільними радикалами пігментсинтезувальних ділянок мембран.

А. Ф. Рыльский

Запорожский национальный университет

ОБРАЗОВАНИЕ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ КАК ИНДИКАТОРА РАЗРУШЕНИЯ ПИГМЕНТСИНТЕЗИРУЮЩИХ МЕМБРАННЫХ ЦЕНТРОВ БАКТЕРИЙ

Установлено, что с ростом концентраций ионов металлов Hg^{2+} и Cu^{2+} в питательной среде увеличивается концентрация малонового диальдегида в клетках бактерий *Serratia marcescens*. Резкое увеличение концентрации малонового диальдегида ($Hg^{2+} - 14,37 \pm 0,76$ и $Cu^{2+} - 24,75 \pm 0,59$) совпадает с концентрациями, с которых начинается потеря пигментсинтезирующей способности бактерий под влиянием этих металлов. Это свидетельствует, что одним из вероятных механизмов потери пигментов у бактерий может быть повреждение свободными радикалами пигментсинтезирующих участков мембран.

A. F. Rylsky

Zaporizhzhya National University

FORMATION OF MALONIC DIALDEHYDE UNDER HEAVY METALS INFLUENCE AS AN INDICATOR OF DESTRUCTION OF PIGMENT- SYNTHESIZING MEMBRANOUS CENTRES OF BACTERIA

It was established that with Hg^{2+} and Cu^{2+} ions' concentrations increasing in a nutrient medium the concentration of malonic dialdehyde in cells of bacteria *Serratia marcescens* increases. The sharp raise of malonic dialdehyde (14.37 ± 0.76 for Hg^{2+} and 24.75 ± 0.59 for Cu^{2+}) coincides with metals' concentrations which entail the loss of pigment-synthesizing ability of bacteria. It specifies that one of possible mechanisms of pigments loss in bacteria can be a damage by free radicals of pigment-synthesizing sections of membranes.

Вступ

Важкі метали – один із найнебезпечніших поллютантів навколишнього середовища, кількість яких у доквіллі постійно зростає. Зважаючи на те, що метали є важливою складовою частиною земної кори та широко розповсюджені в біосфері, вірогідно з

прадавніх часів багато з них стали використовуватися клітинами організмів різних еволюційних рівнів як необхідні компоненти для нормального функціонування живих систем. У ході еволюції бактерії адаптувалися до підвищеного вмісту іонів металів у навколишньому середовищі.

Виділяють декілька механізмів стійкості бактерій до іонів важких металів: позаклітинний бар'єр, активний транспорт іонів металів із клітини, відновлення іонів металів, внутрішнє та зовнішнє зв'язування іонів металів специфічними компонентами клітини в цитоплазмі або в периплазматичному просторі чи у зовнішній мембрані [5; 8; 10].

Незважаючи на існуючі механізми захисту від підвищених концентрацій металів у середовищі, за дуже високих концентрацій починається руйнування клітинних структур. Важливий індикатор руйнування мембранних структур – поява малонового діальдегіду (МДА), який з'являється в результаті перекисного окислення ліпідів. У відповідь на різні стресові впливи (зневоднення, ультрафіолетове опромінення, високі концентрації важких металів, низькі та високі температури), у клітинах відбувається збільшення вмісту МДА, що пов'язано з активацією у цих умовах вільнорадикальних реакцій. МДА – біфункціональний альдегід, здатний утворювати шифові основи з аміногрупами білка, виступаючи як зшивальний агент. У результаті утворюються нерозчинні білок-ліпідні комплекси, що мають назву пігментів зношення або ліпофусцинів. Таким чином, вміст МДА може бути показником активності окисних процесів, зумовлених кисневими радикалами [1; 3; 7].

Відомо, що пігменти бактерій *S. marcescens* локалізуються в мембрані та клітинній стінці [9; 11]. Тому пошкодження мембранних структур вільними радикалами, які утворюються при «металевому» стресі, можуть призводити до зниження пігментсинтезувальної здатності бактерій та появи малонового діальдегіду в клітині.

Зважаючи на це, мета нашої роботи – встановити зв'язки між впливом металів на пігментсинтезувальну здатність бактерій та концентрацією МДА в бактеріальній культурі.

Матеріал і методи досліджень

У роботі використовували 18-годинну культуру бактерій *Serratia marcescens* MP-141, отриману з колекції мікроорганізмів відділу мікробіології очищення води Інституту колоїдної хімії та хімії води НАН України. Контролем були бактерії, вирощені на твердому середовищі МПА без металу.

Культивування проводили в термостаті при температурі +28...+29 °С. Бактерії засівали на поверхню МПА, приготування якого вели на розчинах солей металів. Щільність бактеріальної суспензії була 10^6 кл./мл. Бактеріальну культуру засівали суцільним газоном. Облік результатів проводили через 48 годин культивування. У дослідженнях використовували солі: $Cu(NO_3)_2$ та $Hg(NO_3)_2$.

Визначення вмісту МДА у бактеріальній біомасі засноване на його реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК), у результаті якої утворюється забарвлений продукт із максимумом поглинання при $\lambda = 532$ нм.

Бактеріальну біомасу отримували шляхом змиву культури *S. marcescens* з МПА та 15-хвилинного центрифугування при $n = 7\ 000$ обертів/хв. Наважку бактеріальної біомаси (0,35 г) подрібнюють і розтирають у фарфоровій ступці з 3 мл дистильованої води. До гомогенату додають 3 мл трихлороцтової кислоти (ТХО) й гомогенізують вдруге. З отриманого гомогенату відбирають у мірні пробірки з притертими пробками 2 проби по 2 мл. До однієї з них додають рівний об'єм (2 мл) ТХО і цю пробу у подальшому використовують як контроль при спектрофотометрії. До другої проби додають 2 мл розчину ТБК. Проби прогривають 30 хв на киплячій водяній бані, потім

охолоджують і центрифугують 10 хв при 3000 об./хв. Супернатант відбирають шприцом у пробірки та аналізують значення оптичної густини на спектрофотометрі СФ-42 ($\lambda = 532$ нм).

Кількість МДА (X) в бактеріальній біомасі виражають у наномолях МДА на 1 г сухої маси та розраховують за формулою:

$$X = \frac{D_{532} * 1000000 * V * A}{H * \varepsilon},$$

де X – кількість МДА у бактеріальній біомасі (нмоль/г), D_{532} – значення оптичної густини при ($\lambda = 532$ нм), V – об'єм реакційної суміші (мл), A – відношення загального об'єму витяжки до об'єму проби, взятої для визначення МДА, H – наважка бактеріальної біомаси (г), ε – молярний коефіцієнт екстинції, рівний 155 000 л/(см·моль) [6].

Статистична обробка отриманих результатів проведена стандартними методами варіаційної статистики [4].

Результати та їх обговорення

Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що пігментсинтезувальна здатність *S. marcescens* пригнічується повністю за концентрації Cu^{2+} в межах 90–100 мг/л, а ріст культури припиняється при 120–140 мг/л. Зважаючи на це, для дослідження зв'язку пігментсинтезувальної здатності бактерій *S. marcescens* із рівнем маломовного діальдегіду в клітинах були вибрані концентрації 80 та 100 мг/л: 80 мг/л Cu^{2+} – концентрація, яка межує з початком втрати пігментсинтезувальної здатності клітин, а 100 мг/л – концентрація, за якої пігмент не синтезується.

Аналіз отриманих результатів (табл.) показує, що за концентрації 80 мг/л Cu^{2+} у середовищі концентрації МДА в контролі ($11,24 \pm 1,50$) і в досліді ($10,87 \pm 0,49$) достовірно не відрізняються. А для культури бактерій *S. marcescens*, що зазнала впливу Cu^{2+} в концентрації 100 мг/л, – вміст МДА становить $24,75 \pm 0,59$, що більше ніж удвічі перевищує концентрацію МДА в контролі ($11,24 \pm 1,50$).

Таблиця

Вплив Cu^{2+} на пігментсинтезувальну здатність *S. marcescens* та утворення МДА

Показники	Контроль на МПА	Концентрація Cu^{2+} , мг/л	
		80	100
Ріст	++++	+++	+
Пігмент	++++	+	–
МДА	$11,24 \pm 1,50$	$10,87 \pm 0,49$	$24,75 \pm 0,59$

Примітки: ++++ – суцільний ріст або пігментоутворення, +++ – добрий ріст або пігментоутворення, ++ – помірний ріст або пігментоутворення, + – слабкий ріст або пігментоутворення, – – відсутність росту або пігментоутворення.

Це свідчить, що наявність у живильному середовищі іонів Cu^{2+} у концентрації 80 мг/л ще не викликає суттєвого пошкодження мембранних структур, на яких відбувається синтез продигіозину – пігменту *S. marcescens*. Таке пошкодження починається лише за концентрації Cu^{2+} 100 мг/л, що збігається з утратою пігментсинтезувальної здатності.

Як у випадку з Cu^{2+} , так і у випадку Hg^{2+} попередньо встановлювали концентрацію Hg^{2+} , з якої втрачається синтез пігменту в *S. marcescens* та припиняється ріст культури. Втрата синтезу пігменту спостерігається за концентрації ртуті 1,5–2,0 мг/л, а припинення росту культури – з 2,5–3,0 мг/л. Тому у досліді використано концентрації 0,5 мг/л, за якої пігментсинтезувальна здатність майже не відрізняється від контролю, і 1,5 мг/л – концентрація, з якої починається повна втрата пігменту.

Отримані результати свідчать, що рівень МДА за дії іонів Hg^{2+} зростає пропорційно концентрації металу. За концентрації Hg^{2+} 0,5 мг/л вміст МДА становить $12,15 \pm 0,69$ нм/г, а за концентрації Hg^{2+} 1,5 мг/л – $14,37 \pm 0,76$ нм/г.

Встановлена залежність є достовірною лише для концентрації іонів Hg^{2+} – 1,5 мг/л. Ці дані корелюють (із ростом концентрації металу зростає концентрація МДА) із результатами дослідів, які проводились на рослинах [2; 7].

Висновки

Значне зростання концентрації МДА в клітинах *S. marcescens* (до $24,75 \pm 0,59$ – Cu^{2+} , до $14,37 \pm 0,76$ – Hg^{2+}) відповідає концентраціям металів, з яких спостерігається втрата пігментсинтезувальної здатності бактерій. Така залежність між зростанням концентрації МДА та втратою пігменту вказує на те, що одним із вірогідних механізмів втрати пігментсинтезувальної здатності бактерій може бути ураження вільними радикалами пігментсинтезувальних ділянок на мембранах.

Бібліографічні посилання

1. **Герасько Т. В.** Вплив препарату АОК-М на пероксидне окиснення ліпідів у насінні та в проростках озимої пшениці / Т. В. Герасько, В. В. Калитка // Фізіологія і біохімія культурних рослин. – 2006. – Т. 38, № 6. – С. 339–343.
2. **Калинкина Л. Г.** Развитие окислительного стресса в клетках *Chlorella stigmatophora* и их обесцвечивание при ингибировании гликолатного пути на фоне засоления / Л. Г. Калинкина, Т. Б. Ясюкова // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 5. – С. 746–752.
3. **Колупаєв Ю. С.** Вплив екзогенного кальцію на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів в колеоптилях озимої пшениці і їх теплостійкість / Ю. С. Колупаєв, Ю. В. Карпець // Фізіологія і біохімія культурних рослин. – 2003. – Т. 35, № 1. – С. 68–72.
4. **Лакин Г. Ф.** Биометрия. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
5. **Механизмы выживания бактерий** / О. В. Бухарин, А. Л. Гинцбург, Ю. М. Романова, Г. И. Эль-Регистан. – М. : Медицина, 2005. – 367 с.
6. **Мусієнко М. М.** Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний. – К. : Фітосоціоцентр, 2001. – 245 с.
7. **Платонова А. А.** Вміст маленового діальдегіду та активність антиоксидантних ферментів у проростках гороху за дії йонів кадмію / А. А. Платонова, С. С. Костишин // Фізіологія і біохімія культурних рослин. – 2000. – Т. 32, № 2. – С. 146–149.
8. **Bruins M. R.** Microbial resistance to metals in the environment / M. R. Bruins, S. Kapil, F. W. Oehme // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2000. – Vol. 45, N 2. – P. 198–207.
9. **Burkholderia cenocepacia** C5424 produces a pigment with antioxidant properties using a homogentisate intermediate / K. E. Keith, L. Killip, P. He et al. // Journal of Bacteriology. – 2007. – Vol. 189, N 24. – P. 9057–9065.
10. **Microbial** reduction and precipitation of vanadium by *Shewanella oneidensis* / W. Carpentier, K. Sandra, I. De Smet et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – Vol. 69, N 6. – P. 3636–3639.
11. **Possible** involvement of red pigments in defense against mercury in *Pseudomonas* K-62 / H. Fujimori, M. Kiyono, K. Nobuhara, H. Pan-Hou // FEMS Microbiology Letters. – 1996. – Vol. 135. – P. 317–321.

Надійшла до редколегії 14.06.2010

УДК 612.017.1 + 616.61-089:843.076-037

Н. І. Ташевська, В. С. Недзвецкий, Л. К. Перстньова

*Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова
Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара*

ПЕРЕВАГА СЕЛЕКЦІЇ ПАР ДОНОР – РЕЦИПІЄНТ ЗА МНС АНТИГЕНАМИ II КЛАСУ HLA-DR

Вивчено перевагу селекції за антигенами II класу HLA-DR, які визначаються методом ДНК-типуювання, порівняно із селекцією за антигенами I класу HLA для трансплантації нирки. Проаналізовано співвідношення відсотка сприятливих результатів до кількості та типу антигенів гістосумісності. Генотипування має високу чутливість і специфічність, підбір за антигенами HLA-DR раціональніший.

Н. И. Ташевская, В. С. Недзвецкий, Л. К. Перстнева

*Днепропетровская областная клиническая больница им. И. И. Мечникова
Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара*

ПРЕИМУЩЕСТВО СЕЛЕКЦИИ ПАР ДОНОР – РЕЦИПИЕНТ ПО АНТИГЕНАМ II КЛАССА HLA-DR

Изучено преимущество селекции по антигенам II класса HLA-DR, определяемым методом ДНК-типирования по сравнению с селекцией по антигенам I класса HLA для трансплантации почки. Генотипирование обладает высокой чувствительностью и специфичностью, подбор по антигенам HLA-DR более рационален.

N. I. Tashevskaya, V. S. Nedzvetsky, L. K. Perstneva

*I. I. Mechnikov Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital
Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University*

ADVANTAGES OF THE DONOR – RECIPIENT PAIRS SELECTION ACCORDING TO ANTIGENS OF SECOND GRADES HLA-DR

The advantage of donor-recipient pairs' selection HLA for kidneys transplantation by the second grades HLA-DR determined by a method of DNA typing as compared with the selection based on the antigens of the first grade has been studied. It has been found that genetic typing is highly sensitive and specific. The results of the research show that the selection by the antigens HLA-DR is more efficient.

ВСТУП

За даними численних епідеміологічних досліджень, як вітчизняних, так і зарубіжних, щорічно відмічається 30–50 уперше виявлених випадків термінальної хронічної ниркової недостатності (ТХНН) на 1 млн. населення. Відомі методи лікування хронічної ниркової недостатності в термінальній стадії – програмний гемодіаліз, перитоніальний діаліз і трансплантація нирки [5]. Практично для всіх хворих із ТХНН переважний метод замісної ниркової терапії – трансплантація нирки. Основна проблема, незважаючи на зростаючу ефективність трансплантації нирки, – гостре та хронічне

відторгнення трансплантата [1]. Особливу біологічну роль при пересадках родинних і неродинних трансплантатів *postmortem* відіграє регіон HLA (Human Leucocyte Antigens), який є генетично детермінованим. Саме локуси генів HLA кодують антигени поверхні клітин, що відіграють вирішальну роль в ініціації та регуляції імунної відповіді реципієнта. Продукти алельних варіантів генів HLA виступають головним бар'єром для трансплантації органів і тканин.

Основний чинник тривалого функціонування донорської нирки – імунологічна сумісність донора та реципієнта за HLA-антигенами I (HLA-A і B) і II класів (HLA-DR). Унаслідок надзвичайно високого ступеня поліморфізму підбір за HLA – набагато складніше завдання, ніж підбір трансплантатів, сумісних за груповими антигенами системи ABO, поліморфізм якої відносно незначний [8].

Серологічне виявлення HLA-антигенів I і II класів – основа тканинного типування, що традиційно використовується для селекції пар донор – реципієнт при клінічній трансплантації [4]. Останнім часом, завдяки суттєвому прогресу методів молекулярної біології, у клінічних лабораторіях антигени HLA-системи II класу визначають методом ДНК-типуювання. Порівняно із серологією ДНК-типуювання має ряд принципових переваг. Селективність ДНК-типуювання набагато вища, ніж серологічного. Дослідження ДНК донора та реципієнта дозволяє виявити тонкі та складні відмінності структури HLA-локусів, тобто ті розбіжності структури антигенів MHC, які можуть бути ідентифіковані кожною антисироваткою або важкодоступними алоантисироватками з високою специфічністю [8].

Мета даного дослідження – оцінити переваги селекції за антигенами II класу HLA-DR порівняно із селекцією за антигенами I класу HLA (A і B локуси).

Матеріал і методи досліджень

Проведено обстеження 189 реципієнтів із ТХНН, що перебували на гемодіалізі, та 65 донорів. Визначення антигенів MHC проводили методом ДНК-типуювання. Генотипування проводили методом ПЛР із використанням діагностичних наборів для HLA ДНК-типуювання (НВФ «ДНК-технологія», Москва). Ампліфікацію проводили на генному ампліфікаторі «Gene Amp PCR System 2400» («Applied Biosystems», США) у режимі активного регулювання температури реакційної суміші. Детекцію ампліфікованої ДНК проводили електрофорезом у 3 % агарозному гелі з візуалізацією її на транслюмінаторі «Vilber Lourmat» (Франція). Антигени A та B-локусів визначали лімфоцитотоксичним тестом [5]. Як матеріал для дослідження використовували кров хворих і селезінку донорів.

Результати та їх обговорення

Аналіз співвідношення випадків сприятливого результату трансплантації до загальної кількості трансплантатів нирки показав прогресивну залежність (рис. 1). За весь період спостереження реакцій відторгнення у реципієнтів після трансплантації нирки була виявлена загальна залежність співвідношення випадків сприятливого результату трансплантації до кількості антигенів комплексу HLA, за якими проводили відбір пар донор – реципієнт.

Аналіз результатів проведених досліджень і порівняльної оцінки підбору пар донор – реципієнт показав, що генотипування має високу чутливість і специфічність. Результати генотипування за певним спектром антигенів відповідно відбиваються на репрезентативності проведених досліджень і є важливою умовою для проведення успішної трансплантації. Селекція пар донор – реципієнт за антигенами II класу HLA-

DR має переважний ефект, оскільки забезпечує краще приживання трансплантата та високий відсоток виживання нирки у реципієнтів порівняно з селекцією за антигенами I класу HLA-A і B-локусів. У першу чергу, це можна пояснити різницею структури антигенів MHC I і II класів. Структура антигенів I класу має вирішальне значення для цитотоксичного ефекту Т-кілерів, а антигенів II класу – для процесу презентації антигену регуляторним субпопуляціям Т-хелперів [11].

Підбір за антигенами HLA-DR раціональніший, оскільки дозволяє проводити селекцію лише за двома антигенами, що збільшує ймовірність сумісності.

Система HLA складається з групи генів, розташованих на короткому плечі шостої хромосоми, її розмір складає 3,0–3,5 сантиморгана або приблизно 3 500 кілобаз (тисяч пар нуклеотидів). Висока генетична складність і поліморфізм системи HLA зумовлює той факт, що продукти генів головного комплексу гістосумісності (MHC) надзвичайно мінливі навіть у межах близькородинних груп. Із боку біологічного сенсу різноманіття антигенних властивостей продуктів MHC генів має велике значення для забезпечення цілісності організму та підтримання імунологічного гомеостазу. До генів або локусів системи HLA входять три регіони. Кожний із цих регіонів має характерні продукти та відповідає за певні функції. Ці регіони носять назви: клас I, клас II, клас III [2].

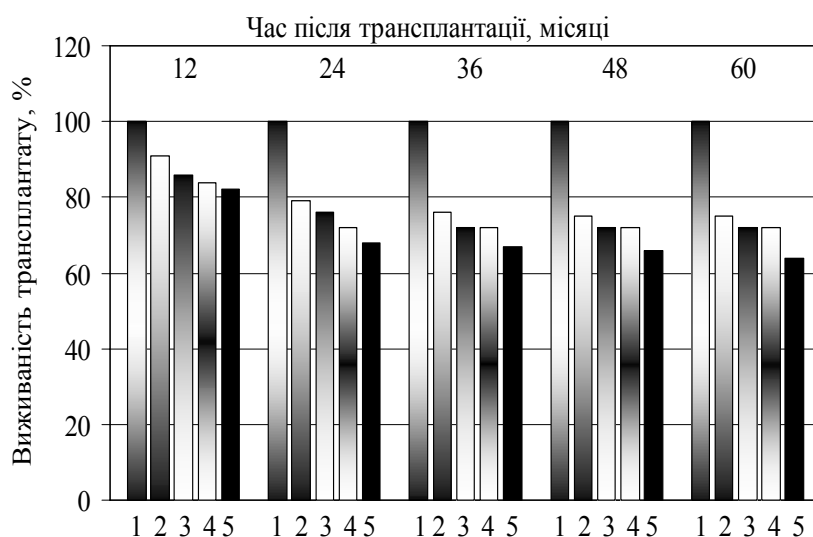


Рис. 1. Виживаність трансплантатів нирки в групах пацієнтів із різною кількістю незбігання A+B+DR антигенів у парах донор – реципієнт:
 1 – незбігання за 2 антигенами; 2 – за 3 антигенами; 3 – за 4 антигенами;
 4 – за 5 антигенами; 5 – за 6 антигенами

HLA-антигени I класу (HLA-A, B, C) представлені глікопротеїновими молекулами, що експресуються на мембрані майже всіх ядровмісних клітин. Ці молекули складаються з одного високополіморфного поліпептидного α -ланцюга (важкий ланцюг), мономорфного ланцюга та β -2-мікроглобуліну, який кодується генами на 15-й хромосомі. Алоспецифічність молекули класу I характерна для поліпептидного α -ланцюга, структура якого формує особливу ділянку – специфічну конформаційну запалість. Ця ділянка – антигенфіксувальна зона, де чужорідні протеїни формують комплекс із молекулами HLA для подальшої презентації Т-клітинам. Формування таких комплексів – загальна риса молекул класів I і II. Вони здатні зв'язувати чужорідні білкові антигени, складати комплекси, які потім специфічно розпізнаються антигенспе-

цифічними рецепторами Т-лімфоцитів. Молекули класу I діють як зони імунної ідентифікації чужорідних екзогенних пептидів або пептидів, що синтезовані ендегенно (наприклад вірусних білків і пухлинних антигенів) [3].

На відміну від антигенів класу I, антигени класу II (HLA-DR, DP і DQ) розташовані на значно меншій кількості клітин. Ці антигени звичайно експресуються, в першу чергу, в антиген-презентувальних клітинах: В-клітинах, моноцитах, макрофагах, мезангіальних клітинах нирок, Т-лімфоцитах і епітеліальних клітинах тимуса.

Антигени класу II складаються з двох нековалентно зв'язаних поліморфних ланцюгів, які кодується генами МНС (α - і β -ланцюги). Кожен α - і β -ланцюг вміщує два позаклітинні домени (α -1, α -2, β -1 і β -2). Якщо молекули класу I мають одну специфічну конформаційну запасть, то для молекул класу II характерні дві такі окремі ділянки, утворені доменами α -1 і β -1. За рахунок такої конформаційної особливості забезпечується зв'язування пептидних фрагментів, які складаються приблизно з 12 амінокислотних залишків, а не з 9, як для молекул класу I [7].

В ініціації імунної відповіді на трансплантаційні антигени головну роль відіграють молекули класу II.

Регіон класу III містить гени структури компонентів комплементу c_2 і c_4 , які безпосередньо залучені до імунних функцій [6].

Успадкування HLA-генів відбувається за кодомінантним типом, при якому у нащадків однаковою мірою експресуються HLA-алелі, отримані від кожного з батьків. Комбінація алелей різних локусів на одній хромосомі, яка має назву HLA-гаплотип, успадковується окремим блоком. Як виняток, у випадках кросинговеру успадкування блоком може порушуватись, унаслідок чого утворюється рекомбінантний гаплотип. Два гаплотипи від батьків відповідно утворюють фенотип [10].

Особливий інтерес становлять випадки наявності антигену II класу HLA-DRw6 у реципієнтів і донорів. DRw6-позитивні реципієнти складають близько 25 % від загальної кількості в «аркуші чекання». Для них показана виражена кореляція з кризом відторгнення трансплантата порівняно з DRw6-негативними реципієнтами [9]. Ефект від DR-сумісності значно вираженіший для DRw6-позитивних реципієнтів, які мають несприятливий прогноз у випадку, якщо не отримують сумісну за цим антигеном донорську нирку. З іншого боку, DRw6-позитивні донорські нирки мають високий відсоток виживання незалежно від кількості HLA-DR-несумісних антигенів із реципієнтом. Таким чином, DRw6-позитивний донор може розглядатися як універсальний при проведенні селекції.

Висновки

Отримані результати підтверджують перспективність оцінки комплексу генетичних локусів HLA для попередження відторгнення трансплантата нирки. На підставі проведеного дослідження можна зробити висновок, що селекція за антигенами II класу HLA-DR має перевагу і є важливим критерієм для сприятливого результату трансплантації нирки.

Бібліографічні посилання

1. **Алексеев Л. П.** Строение главного комплекса гистосовместимости HLA // Иммунология. – 1985. – № 1. – С. 10–16.
2. **Дранник Г. Н.** Иммунитет и инфекция при пересадке почки / Г. Н. Дранник, Е. Я. Баран, А. В. Руденко. – К. : Здоров'я, 1986. – С. 10–25.

3. **Дранник Г. Н.** Иммунонефрология / Г. Н. Дранник, Г. М. Дизик. – К. : Здоров'я, 1990. – С. 97–115.
4. **Зарецкая Ю. М.** Клиническая иммуногенетика. – М. : Медицина, 1983. – С. 115–145.
5. **Никоненко А. С.** Современный подход к оценке состояния почечного аллотрансплантата / А. С. Никоненко, А. В. Траилин, Т. Н. Никоненко // Сучасні медичні технології. – 2009. – № 1. – С. 64–72.
6. **Pelz S.** Evaluation of posttransplantation soluble CD_{30} for acute renal allograft rejection / S. Pelz, G. Opelz, V. Daniel // Transplantation. – 2003. – Vol. 75, N 3. – P. 421–425.
7. **Dysregulated** cytokine responses during cytomegalovirus infection in renal transplant recipients / M. Sadeghi, V. Daniel, C. Naujokat, P. Schnitzler // Transplantation. – 2008. – Vol. 86, N 2. – P. 275–285.
8. **Volz A.** Genesis of the ILTVLIR/MIR clusters within the human leukocyte receptor complex / A. Volz, H. Wende, K. Laun // Immunol. Rev. – 2001. – Vol. 181, N 3. – P. 39–51.
9. **Regulation** and privilege in transplantation tolerance / H. Waldmann, E. Adams, P. Fairchild, S. Cobbold // J. Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 28, N 6. – P. 716–725.
10. **Switch** from cyclosporine *A* to tacrolimus in renal transplant recipients: impact on Th_1 , Th_2 and monokine responses / R. Weimer, A. Melk, V. Daniel et al. // Hum. Immunol. – 2000. – Vol. 61, N 9. – P. 884–897.
11. **Wende H.** Extensive gene duplications and a large inversion characterize the human leukocyte receptor cluster / H. Wende, A. Volz // Immunogenetics. – 2000. – Vol. 51. – P. 703–713.

Надійшла до редколегії 11.06.2010

УДК 616.89-008.444.9:591.51

А. В. Шляхова

Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины

ОСОБЕННОСТИ СИТУАТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ КРЫС-АГРЕССОРОВ В ТЕСТЕ «ПЕРЕГОРОДКА»

Исследованы особенности реакций крыс-агрессоров на замену партнера в тесте «перегородка» при моделировании сенсорного контакта в условиях агонистических столкновений. Корреляционные связи между показателями, характеризующими направленность на партнера, а также между моторными и эмоциональными реакциями, свидетельствуют о повышенном интересе к незнакомому партнеру-жертве, двигательной активности и нервном возбуждении, связанными с высоким уровнем агрессивной мотивации.

А. В. Шляхова

Институт неврології, психіатрії та наркології АМН України

ОСОБЛИВОСТІ СИТУАТИВНОЇ ПОВЕДІНКИ ЩУРІВ-АГРЕСОРІВ У ТЕСТІ «ПЕРЕГОРОДКА»

Досліджено особливості поведінкових реакцій щурів-агресорів на зміну партнера в тесті «перегородка» при моделюванні сенсорного контакту в умовах агоністичних зіткнень. Кореляційні зв'язки між показниками, що характеризують спрямованість на партнера, а також між моторними та емоційними реакціями, свідчать про підвищений інтерес до незнайомого партнера-жертви, рухову активність і нервові збудження, пов'язані з високим рівнем агресивної мотивації.

A. V. Shlyahova

Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of AMS of Ukraine

FEATURES OF SITUATIONAL BEHAVIOUR OF RATS-AGGRESSORS IN A «PARTITION» TEST

The peculiarities of behaviour reactions of rats-aggressors to the change of a partner in a «partition» test has been investigated under modelling of sensory contact under the conditions of agonistic collisions. Correlations between indices of the orientation to a partner, and between motor and emotional reactions testify to the increasing interest in the unknown partner with the submissive type of behaviour and to activity and nervous excitement, related to a high level of aggressive motivation.

Введение

В настоящее время исследователи проявляют большой интерес к изучению агрессии и агрессивного поведения. Некоторые особенности агрессивного поведения у животных удовлетворяют формальным критериям преднамеренной агрессии у людей [5; 8; 9]. Для развития специфической формы общественного поведения – межсамцовых агрессивных взаимодействий, с помощью которых устанавливаются иерархические взаимоотношения в популяциях или территориальное превосходство, необходима оценка обонятельных, слуховых или визуальных раздражителей, источником которых

является другая особь [3; 6; 7; 12]. В экспериментах по изучению агонистического поведения у мышей показано, что поведение животных различается в зависимости от экспериментальной ситуации [1; 4; 10; 11]. Исходя из вышеизложенного, цель настоящего исследования – выяснить особенности реакций крыс-агрессоров на смену партнера в тесте «перегородка» при моделировании сенсорного контакта в условиях агонистических столкновений.

Материал и методы исследований

Исследования проведены в хроническом эксперименте на 14 половозрелых нелинейных белых крысах-самцах. Для моделирования агонистических столкновений выбрана модель сенсорного контакта, которая допускает одновременное формирование агрессивного и подчинительного типов поведения в результате последовательного приобретения опыта побед и поражений [2; 3]. Животных попарно размещали в экспериментальные клетки, разделенные на два равных отсека прозрачной перегородкой с отверстиями, которая позволяла видеть, слышать и воспринимать запахи друг друга, но предупреждала физический контакт. Для оценки поведенческой активности крыс в этих условиях использован тест «перегородка» [3], который проводили до агонистического столкновения (незнакомый партнер) и на следующий день после агонистического столкновения (знакомый партнер) во второй половине суток.

Для количественной оценки поведения крыс возле перегородки использовали такие показатели: латентный период первого подхода, число подходов к перегородке, общее время пребывания возле перегородки и среднее время одного подхода. Общим временем пребывания возле перегородки считали период, на протяжении которого крысы прикасались к перегородке передней частью туловища. Среднее время пребывания возле перегородки за один подход вычисляли как отношение общего времени пребывания возле перегородки к числу подходов к перегородке за время тестирования. Также учитывали выраженность ориентировочно-исследовательской и двигательной активности животных: вертикальные стойки, груминг, пароксизмальные реакции.

После тестирования в течение 5 мин, для инициации «социального конфликта» перегородку на 10 мин убрали и фиксировали успех или поражение для каждой крысы в агрессивном столкновении. На основании количественной оценки поведения крыс в условиях клетки без перегородки (по показателям латентные периоды перехода на территорию партнера и первой атаки, число и общее время атак, интенсивность агрессии) выделяли группы животных с агрессивным и подчинительным типом поведения. Через день к крысам-агрессорам подсаживали нового партнера. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программ Statistica 6, используя непараметрический *t*-критерий Вилкоксона и корреляционный анализ.

Результаты и их обсуждение

Анализ результатов исследований показал, что при агонистических столкновениях 6 крыс из экспериментальной группы имели агрессивное поведение. В первый день исследований в тесте «перегородка» крысы быстро, на $23,8 \pm 8,9$ с подходили к перегородке, за которой находился незнакомый партнер, обнюхивали ее, просовывали нос в отверстия, иногда становились в вертикальные стойки, опираясь передними лапами на перегородку, при этом среднее число подходов к перегородке было равным $5,7 \pm 1,8$. Однако они недолго задерживались возле перегородки, поэтому общее время подходов и среднее время одного подхода к перегородке соответствовали $19,5 \pm 5,9$ с и $3,9 \pm 1,1$ с (рис. 1). Груминг и пароксизмальные реакции у крыс были слабо выражены (рис. 2).

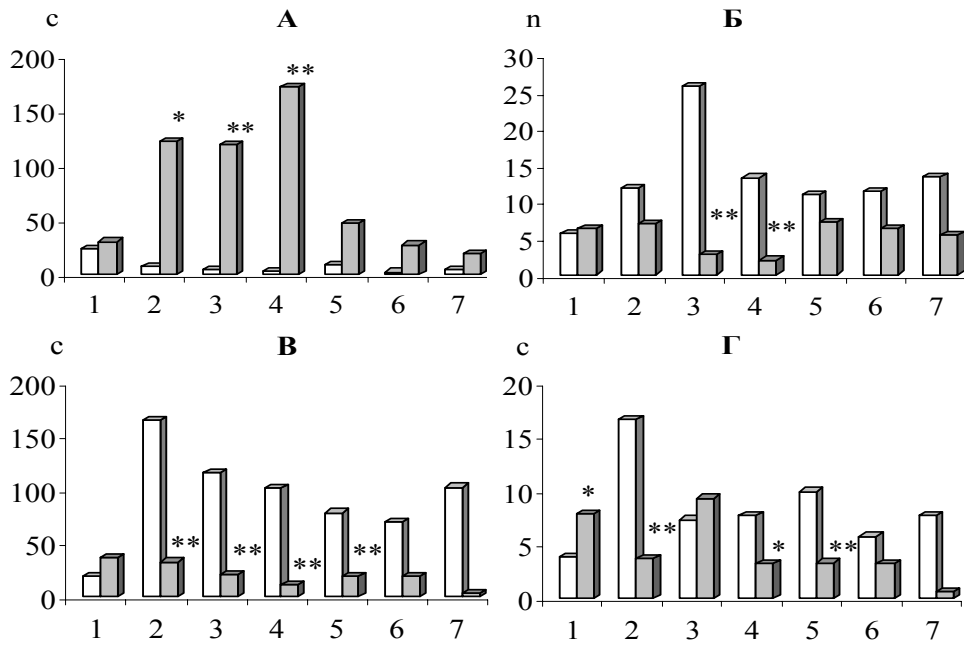


Рис. 1. Поведение крыс-агрессоров в тесте «перегородка»: А – латентный период первого подхода к перегородке, Б – число подходов, В – общее время подходов, Г – среднее время одного подхода; □ – незнакомый партнер, ▨ – знакомый партнер; 1–7 – дни наблюдений; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с реакцией на незнакомого партнера

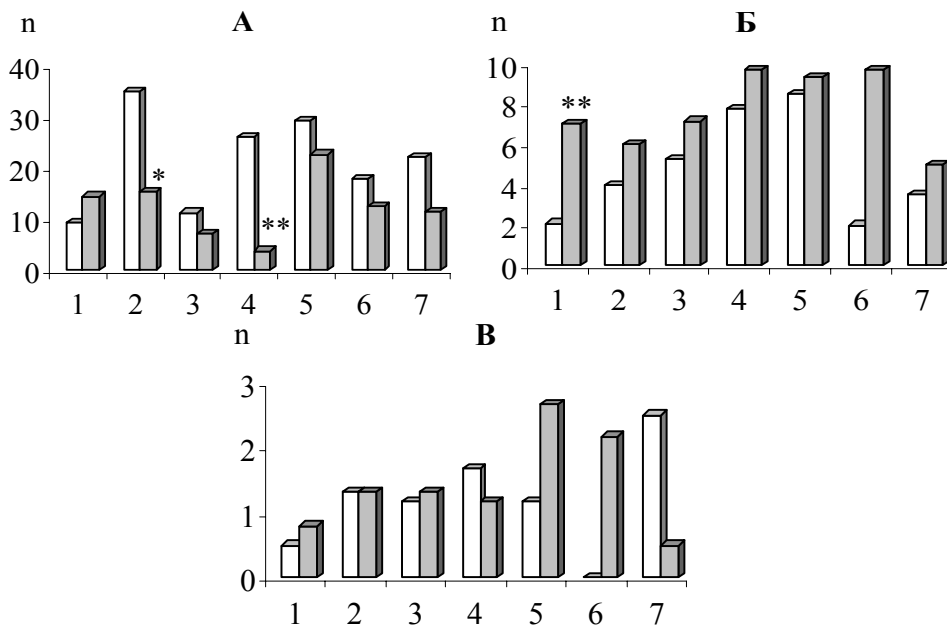


Рис. 2. Динамика двигательных и пароксизмальных реакций у крыс-агрессоров в тесте «перегородка»: А – вертикальные стойки, Б – груминг, В – пароксизмальные реакции; □ – незнакомый партнер, ▨ – знакомый партнер; 1–7 – дни наблюдений; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с реакцией на незнакомого партнера

На следующий день после победы в первом агонистическом столкновении при тестировании поведения животных со знакомым партнером за перегородкой крысы-агрессоры стали активнее, подвижнее, у них усилилась выраженность вертикальных стоек и пароксизмальных реакций, а также достоверно повысился груминг (см. рис. 2). При этом достоверных отличий в количественной оценке поведения крыс возле перегородки не выявили (за исключением среднего времени одного подхода к перегородке, которое увеличилось до $7,9 \pm 2,7$ с ($p < 0,05$)). В последующие дни отмечали усиление реакции на незнакомого партнера в соседнем отсеке клетки, о чем свидетельствовали низкие латентные периоды первого подхода и длительное пребывание возле перегородки (см. рис. 1) с нарастанием двигательного и эмоционального компонентов (см. рис. 2). Реакция на знакомого партнера в этот период слабо выражена, что подтверждается достоверным возрастанием латентного периода первого подхода к перегородке до максимального значения, с постепенным снижением числа подходов к перегородке до минимального значения на 4-й день (см. рис. 1). Общее время пребывания возле перегородки и среднее время одного подхода достоверно не изменялись (см. рис. 2). Следует отметить достоверное повышение латентного периода первого подхода к перегородке, снижение числа, общего времени подходов и среднего времени одного подхода к перегородке при тестировании со знакомым партнером за перегородкой. В поведении крыс в этот период наблюдали снижение вертикальной активности, усиление груминга и пароксизмальных реакций, что свидетельствует об эмоциональном напряжении животных с агрессивной направленностью.

В конце эксперимента (5–7-й дни) достоверных различий в реакции животных на знакомого и незнакомого партнера не наблюдали. Значительно снижался латентный период первого подхода к знакомому партнеру при стабильно низком латентном периоде первого подхода к незнакомому партнеру за перегородкой, сокращалось общее время пребывания у перегородки с незнакомым партнером и оставалось постоянным общее время пребывания у перегородки со знакомым партнером. В этот период у животных отмечались пароксизмальные реакции, усиление ориентировочно-исследовательской активности и груминга (см. рис. 2).

Метод корреляционного анализа показал существование 3 сильных и 1 умеренной положительной связей между уровнем интереса к партнеру за перегородкой (общее время подходов к перегородке), ориентировочно-исследовательской реакцией (вертикальными стойками) и грумингом, а также между латентным периодом первого подхода и числом подходов к перегородке в первый день исследования с незнакомым партнером.

После первого агонистического столкновения у крыс-агрессоров формировались 1 положительная сильная и 1 положительная умеренная связи между показателями исследовательской и двигательной активности: общим и средним временем подхода к перегородке, числом подходов к перегородке и вертикальными стойками.

Во второй день наблюдений с незнакомым партнером за перегородкой уменьшалось общее количество связей: выявлены 1 положительная сильная (между общим и средним временем подходов к перегородке) и 1 отрицательная умеренная (между латентным периодом подходов к перегородке и вертикальными стойками).

В эксперименте со знакомым партнером происходило значительное увеличение количества связей (4 сильные и 4 умеренные положительные, 1 сильная и 3 умеренные отрицательные). В корреляционных взаимоотношениях задействованы показатели коммуникабельности, ориентировочно-исследовательских, двигательных и эмоциональных реакций.

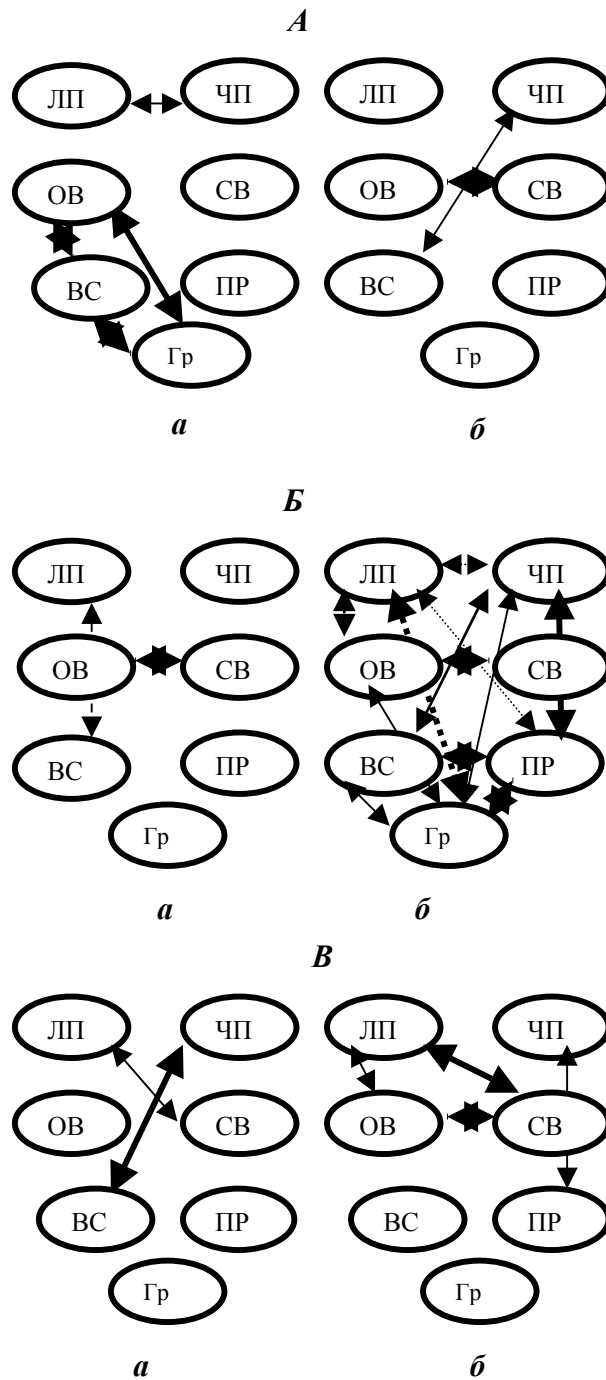


Рис. 3. Динамика корреляционных взаимосвязей между элементами поведенческой активности в тесте «перегородка»: А, Б, В – 1-й, 2-й, 5-й дни эксперимента; а – реакция на незнакомого партнера, б – реакция на знакомого партнера; ЛП – латентный период первого подхода, ЧП – число подходов к перегородке, ОБ – общее время пребывания возле перегородки, СВ – среднее время одного подхода, ВС – вертикальные стойки, Гр – груминг, ПР – пароксизмальные реакции; \longleftrightarrow – умеренные и \longleftrightarrow – сильные позитивные связи, \longleftrightarrow – умеренные и \longleftrightarrow – сильные негативные связи

В конце эксперимента исследование корреляционных взаимосвязей этологических показателей при помещении за перегородку незнакомого партнера показало, что количество связей оставалось прежним: 1 сильная (между числом подходов к перегородке и вертикальными стойками) и 1 слабая положительная связь (между латентным периодом подходов к перегородке и средним временем подхода к перегородке), а знакомого партнера – уменьшалось (2 сильные и 1 слабая положительные связи). Корреляционная связь между латентным периодом первого подхода и средним временем одного подхода к перегородке, за которой находился незнакомый партнер, трансформировалась в сильную положительную. Необходимо отметить, что после агонистических столкновений в тесте «перегородка» закреплялись и усиливались прямые связи между общим и средним временем подходов к перегородке, латентным периодом и общим временем подходов к перегородке, числом подходов к перегородке и судорожными реакциями (рис. 3).

Заключение

В первый день наблюдений крысы имели приблизительно одинаковые показатели уровня реакции на партнера за перегородкой (латентные периоды первого подхода, число подходов к перегородке и общее время пребывания возле нее), исследовательской активности (вертикальные стойки) и пароксизмальных реакций, что подтверждалось результатами анализа корреляционных взаимоотношений между показателями двигательной и исследовательской активности. Реакция на знакомого побежденного партнера более выражена, отличалась достоверным увеличением среднего времени одного подхода и груминга (крысы подолгу сидели возле перегородки и умывались).

В середине эксперимента после агонистических столкновений у крыс-агрессоров интерес к незнакомому партнеру за перегородкой становился выше, чем к знакомому партнеру, о чем свидетельствуют достоверные отличия изучаемых показателей: короткий латентный период первого подхода, увеличение числа, общего времени подходов, среднего времени одного подхода к перегородке и вертикальных стоек (рис. 1). Независимо от типа партнера в соседнем отсеке клетки у крыс хорошо выражены груминг и пароксизмальные реакции. Реакция крыс на знакомого партнера отличалась множественными корреляционными взаимосвязями между показателями теста «перегородка», что свидетельствовало о формировании жесткого стереотипа поведения с агрессивной направленностью.

К концу наблюдений крысы-агрессоры по-прежнему проявляли больший интерес к незнакомому партнеру за перегородкой, однако показатели коммуникабельности, двигательных и пароксизмальных реакций не имели достоверных отличий. В ходе трансформации корреляционных взаимоотношений установились жесткие прямые связи между показателями, характеризующими силу и уровень интереса к партнеру, что свидетельствует о повышенном интересе к партнеру, двигательной активности и нервном возбуждении, связанными с высоким уровнем агрессивной мотивации.

Библиографические ссылки

1. **Динамические изменения** серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование / Д. Ф. Августинovich, О. В. Алексеенко, И. В. Бакштановская и др. // *Успехи физиологических наук.* – 2004. – Т. 35, № 4. – С. 19–40.

2. **Веселовська О. В.** Особливості формування підлеглого типу поведінки шурів при агоністичних зіткненнях / О. В. Веселовська, А. В. Шляхова // Фізіологічний журнал. – 2007. – Т. 53, № 2. – С. 41–47.
3. **Кудрявцева Н. Н.** Применение теста «перегородка» в поведенческих и фармакологических экспериментах // Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2002. – № 1. – С. 90–105.
4. **Кудрявцева Н. Н.** Влияние повторного опыта агрессии на агрессивную мотивацию и развитие тревожности у самцов мышей / Н. Н. Кудрявцева, Н. П. Бондарь, Д. Ф. Августинович // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2003. – Т. 53, № 3. – С. 361–371.
5. **Мейшвили Н. В.** О причинах внутригрупповой агрессии макак-резусов / Н. В. Мейшвили, В. Г. Чалян, Я. Ю. Рожкова // Рос. физиол. журн. – 2008. – Т. 94, № 1. – С. 20–26.
6. **Новиков С. Н.** Феромоны и размножение млекопитающих. – Л. : Наука, 1988. – 211 с.
7. **Шляхова А. В.** Особенности поведения крыс с исходно высоким уровнем тревожности в условиях агонистических столкновений / А. В. Шляхова, Е. В. Веселовская // Системна організація психофізіологічних та вегетативних функцій. Матер. наук. конф. – Луцьк, 2009. – С. 127–128.
8. **Physical aggression** and depression: Gender asymmetry in effects? / S. R. H. Beach, S. Kim, J. Cercon-Keeney et al. // J. Soc. Pers. Relat. – 2004. – Vol. 21. – P. 341–360.
9. **Brain P. F.** Aggression, stress and psychostimulants / P. F. Brain, L. N. Marrow, P. G. Overton // Aggress. Behav. – 2001. – Vol. 27, N 3. – P. 160–161.
10. **Aggressive** behavioral phenotypes in mice / K. A. Miczek, S. C. Maxson, E. W. Fish, S. Faccidomo // Behav. Brain. Res. – 2001. – Vol. 125, N 1–2. – P. 167–181.
11. **Effects** of acute restrains stress on tyrosine hydroxylase mRNA expression in locus coeruleus of Wistar and Wistar-Kyoto rats / S. A. Sands, R. Strong, J. Corbitt, D. A. Moriak // Brain Research. – 2000. – Vol. 75, N 1. – P. 1–7.
12. **Vegas O.** Social stress, coping strategies and tumor development in male mice: Behavioral, neuroendocrine and immunological implications / O. Vegas, E. Fano, P. F. Brain // Psychoneuroendocrinology. – 2006. – Vol. 31. – P. 69–77.

Надійшла до редколегії 05.07.2010

ЗМІСТ

Абраїмова О. Є., Піралов Г. Р., Сатарова Т. М. Біотехнологічна характеристика калусо-генезу в культурі незрілих зародків кукурудзи під впливом абсцизової кислоти та 6-бензиламінопурину	3
Алексеєнко Е. Н., Полишко Т. М., Винников А. И. Особенности выращивания мицелия грибов <i>Pleurotus ostreatus</i>	9
Алиева Д. Р., Бабаев Г. Г., Азизов И. В. Активность и изоферментный состав пероксидазы клеток <i>Dunaliella salina</i> при солевом стрессе	16
Алиева С. И. Видовое разнообразие эпифитных дрожжевых сообществ биогеоценозов Азербайджана	22
Бабій С. О., Дьомшина О. О., Штеменко Н. І. γ -Глутамілтрансфераза в моделі канцерогенезу у щурів	28
Виграєнко Т. Є., Соколова І. Є. Деструкція органічних речовин і продукція біогазу мікроорганізмами, виділеними із природних субстратів	34
Воробець Д. З., Горпинченко І. І., Воробець З. Д. Кореляція між показниками пов'язаної зі здоров'ям якості життя і формою ерекційної дисфункції у чоловіків молодого та середнього віку	41
Гончаров А. М., Гаврилюк В. Г., Мацелюх О. В., Вінніков А. І. Вплив умов культивування на біосинтез протеолітичних ферментних комплексів <i>Yarrowia lipolytica</i>	50
Ерошкіна Т. В., Шамьчкова Г. Р., Суркова Е. М., Ткаченко В. В. Состояние заболеваемости туберкулезом населения промышленного региона и совершенствование путей ее профилактики	55
Земляний О. А. Особливості накопичення важких металів органами та тканинами мікромамалій у різних за ступенем забруднення біогеоценозах	60
Кременчуцький Г. М., Степанський Д. О., Юргель Л. Г., Кошова І. П., Крушинська Т. Ю., Вальчук С. О., Кондратьєв А. Ю. Інформаційні комунікації мікроорганізмів	66
Кунах О. М. Ординація та сітвовий аналіз угруповань павуків	71
Лаврентьєва К. В., Черевач Н. В., Вінніков А. І. Закономірності росту фосфатомобілізувальних бактерій у різних типах живильних середовищ	78
Маркіна М. В., Вяткін О. К., Лященко В. П., Руденко А. І. Катіонний склад слини у людей із порушеннями діяльності шлунково-кишкового тракту	83
Моренко А. Г. Динаміка Θ -ритму електроенцефалограми при слухо-моторних координаціях із короткими часовими інтервалами у людини	89
Недзвецька Н. В., Ташевська Н. І. Ефекти мелатоніну на когнітивні процеси та стан астроглії у щурів з експериментальним діабетом	97
Рильський О. Ф. Утворення малонітрату під дією важких металів як індикатора руйнування пігментсинтезувальних мембранних центрів бактерій	103
Ташевська Н. І., Недзвецький В. С., Перстньова Л. К. Перевага селекції пар донор – реципієнт за МНС антигенами II класу HLA-DR	107
Шляхова А. В. Особенности ситуативного поведения крыс-агрессоров в тесте «пергородка»	113

**ВІСНИК ДНІПРОПЕТРОВСЬКОГО
УНІВЕРСИТЕТУ**

Біологія. Медицина

Заснований у 1993 р.

Випуск 1, том 1

Українською, російською та англійською мовами

Свідоцтво державної реєстрації серія КВ № 7898 від 17.09.2003 р.

Редактор В. Д. Маловик
Технічний редактор В. А. Усенко
Коректор В. Д. Маловик
Оригінал-макет виготовив В. В. Бригадиренко

Підписано до друку 20.10.2010. Формат 70×108 ¹/₁₆. Папір друкарський. Друк плоский.
Ум. друк. арк. 10,5. Ум. фарбовідб. 10,96. Обл.-вид. арк. 10,0. Тираж 100 пр. Вид. № 1485.
Замовлене

Свідоцтво державної реєстрації № ДК – 289 від 21.12.2000 р.

Видавництво Дніпропетровського університету,
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010

Друкарня ДНУ, вул. Наукова, 5, м. Дніпропетровськ, 49050

УДК 57+574.581
ББК 28

*Друкується за рішенням вченої ради
Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара
згідно з планом видань на 2010 рік*

Приведены результаты научных исследований, посвященных актуальным проблемам биохимии, микробиологии, физиологии человека и животных, медицины.

Для широкого круга научных сотрудников, преподавателей, аспирантов, студентов, работников здравоохранения.

Наведено результати наукових досліджень, присвячених актуальним проблемам біохімії, мікробіології, фізіології людини та тварин, медицини.

Для широкого кола науковців, викладачів, аспірантів, студентів, працівників охорони здоров'я.

Редакційна колегія:

д-р біол. наук, проф. О. Є. Пахомов (відп. редактор); канд. біол. наук, доц. В. В. Бригадиренко (відп. секретар); д-р психол. наук, проф. І. Ф. Аршава; д-р мед. наук, проф. П. П. Бачинський; д-р мед. наук, проф. Я. С. Березницький; д-р біол. наук, проф. Н. А. Білова; д-р біол. наук, проф. О. М. Вінниченко; д-р біол. наук, проф. А. І. Вінніков; канд. біол. наук, доц. В. Я. Гассо; д-р біол. наук, проф. Ю. І. Грицан; д-р біол. наук, проф. А. І. Дворецький; д-р біол. наук, проф. Л. Г. Долгова; д-р мед. наук, проф. А. Д. Дюдюк; д-р мед. наук, проф. Т. М. Єрошкіна; д-р біол. наук, проф. В. М. Зверковський; д-р мед. наук, проф. Г. М. Кременчуцький; канд. біол. наук, ст. н. с. А. Ф. Кулик; д-р мед. наук, проф. Ф. Й. Куликова; д-р біол. наук, проф. Ю. В. Лихолат; д-р мед. наук, проф. О. Є. Лоскутов; д-р біол. наук, проф. В. П. Ляшенко; канд. біол. наук, проф. О. Б. Мурзін; д-р біол. наук, проф. Л. П. Мицик; д-р біол. наук, проф. В. С. Недзвецький; канд. мед. наук, доц. Н. М. Поліон; канд. біол. наук, доц. Т. М. Полішко; д-р біол. наук, проф. Т. М. Сатарова; д-р біол. наук, проф. О. В. Севериновська; д-р мед. наук, проф. О. П. Татаровський; д-р мед. наук, проф. С. М. Тимчук; чл.-кор. НАНУ, д-р біол. наук, проф. А. П. Травлеєв; д-р біол. наук, проф. Г. О. Ушакова; д-р біол. наук, доц. О. В. Федоненко; д-р біол. наук, проф. Н. М. Цветкова; д-р біол. наук, проф. Н. І. Штеменко; д-р біол. наук, проф. О. О. Шугуров.