

УДК 579.87:631.46

А. Р. Абушова, С. А. Гасанова, М. А. Касимзаде

Бакинський державний університет, Азербайджан

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕДКИХ РОДОВ АКТИНОМИЦЕТОВ В ПОЧВАХ АЗЕРБАЙДЖАНА

Исследованы редкие роды актиномицетов в некоторых почвах Азербайджана. На селективных средах выявляются представители родов *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Actinomadura*, *Microbispora*, *Saccharopolyspora* и *Saccharomonospora*. Представители родов *Streptomyces* и *Micromonospora* доминируют в горно-лесных экосистемах (60 %). Среди стрептомицетов встречаются виды секции *Cinereus* серии *Violaceus*, секции *Helvolo-Flavus* серии *Helvolus*, секции *Roseus* серии *Fuscus*, секции *Azureus* серии *Coerulescens*. Численность термотолерантных актиномицетов в исследованных пустынных почвах Азербайджана зависит от температуры инкубации. Из пустынных почв Азербайджана выделены термотолерантные представители родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Saccharopolyspora* и *Actinomadura*.

А. Р. Абушова, С. А. Гасанова, М. А. Касимзаде

Бакинський державний університет, Азербайджан

ЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РІДКІСНИХ РОДІВ АКТИНОМІЦЕТІВ У ҐРУНТАХ АЗЕРБАЙДЖАНУ

Досліджено рідкісні роди актиноміцетів у деяких ґрунтах Азербайджану. На селективних середовищах виявляються представники родів *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Actinomadura*, *Microbispora*, *Saccharopolyspora* та *Saccharomonospora*. Представники родів *Streptomyces* і *Micromonospora* домінують у гірсько-лісових екосистемах (60 %). Серед стрептомицетів трапляються види секції *Cinereus* серії *Violaceus*, секції *Helvolo-Flavus* серії *Helvolus*, секції *Roseus* серії *Fuscus*, секції *Azureus* серії *Coerulescens*. Чисельність термотолерантних актиноміцетів у досліджених пустельних ґрунтах Азербайджану залежить від температури інкубації. З пустельних ґрунтів Азербайджану виділені термотолерантні представники родів *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Saccharopolyspora* та *Actinomadura*.

A. R. Abushova, S. A. Gasanova, M. A. Kasimzade

Baku State University, Azerbaijan

ECOLOGICAL FEATURES OF RARE ACTINOMYCETES GENERA IN SOILS OF AZERBAIJAN

The results of the research of rare species of actinomycetes in some soils of Azerbaijan were studied. On the selective media the representatives of *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Actinomadura*, *Microbispora*, *Saccharopolyspora* and *Saccharomonospora* were revealed. Species of *Streptomyces* and *Micromonospora* dominate in mountain-wood ecosystems (60 %). It was established that among streptomycetes species of *Cinereus* section of *Violaceus* series; *Helvolo-Flavus* sections of *Helvolus* series, *Roseus* sections of *Fuscus* series; *Azureus* sections of *Coerulescens* series. It was established that amount of termotolerant actinomycetes in the investigated desert soils of Azerbaijan depends on the incubation temperature. The species of *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Saccharopolyspora* and *Actinomadura* genera were isolated from desert soils of Azerbaijan.

Введение

Азербайджан является развивающейся промышленной страной, для которой сельскохозяйственное производство имеет большое значение. Для дальнейшего развития и интенсификации сельскохозяйственного производства необходимо углубленное изучение свойств почв и их микробиологической активности как фактора почвообразования и плодородия почв. Микроорганизмы ответственны за многие экологические функции почв [7; 12]. В настоящее время почва рассматривается «как банк, в котором хранятся самые разнообразные виды микроорганизмов, или как генофонд микромира», и соответственно подобному взгляду на почву разрабатываются теоретические основы и методические подходы к оценке природных ресурсов микроорганизмов в почвах и растительных субстратах [5].

Актиномицеты представляют собой единое звено в трофической цепи экосистемы, осуществляя функции редуцентов. Основная роль мицелиальных прокариот состоит в разложении сложных полимеров (лигнин, хитин, ксилан, целлюлоза, гумусовые соединения) [13; 14; 17; 18]. Отдельные представители родов *Nocardia*, *Micromonospora* способны окислять гуматы, принимая участие в минерализации гумусовых веществ в почве [10]. Увеличение численности почвенных актиномицетов происходит на поздних этапах микробной сукцессии, когда биомасса грибов начинает снижаться [9].

Микробиологические исследования почв в Азербайджане начаты в 1960-х годах Г. С. Касимовой с сотрудниками на кафедре микробиологии [1; 8]. Основное внимание таксономических исследований при этом было уделено из актиномицетов только роду *Streptomyces*.

С 1994 г. начато изучение редких родов почвенных актиномицетов Азербайджана. Однако до настоящего времени не ясна роль редких родов актиномицетов в почвообразовании, плодородии и сукцессиях микроорганизмов в разных типах почв и экосистем, что определяет актуальность и практическую значимость проводимых исследований. Представляет несомненный интерес исследование биологии и экологии актиномицетов, в частности, их редких форм в почвах Азербайджана.

Материал и методы исследований

Исследовали основные типы почв Азербайджана. Методика исследования включала проведение полевых изысканий, постановку модельных опытов, проведение лабораторных анализов. Для наиболее полного выделения редко встречающихся форм актиномицетов из почвы использован комбинированный метод (селективные среды с пропионатом натрия [4], гумус – витаминный агар [15], КАА, казеин-глицериновый агар и Гаузе-1 [3], состоящий из селективных приемов, направленных на подавление роста немитцелиальных бактерий, грибов и стимуляцию роста представителей редких родов актиномицетов. Почвенные образцы перед посевом прогревали при +120 °С в течение 1 часа (для селективной среды).

Идентификацию выделенных штаммов проводили согласно определителю Гаузе [3], Берджи [11] и руководству «The Prokaryotes» [15], используя морфологические показатели, а также хемотаксономические признаки: присутствие в гидролизатах целых клеток *LL-* или мезо-ДАПк (диаминопимелиновые кислоты) и диагностических сахаров в гидролизатах целых клеток. Меланоидные пигменты определяли на среде с тирозином и пептонно-дрожжевым экстрактом [6].

Результаты и их обсуждение

На селективных средах выявляются представители рода *Streptomyces* – во всех экосистемах, *Streptosporangium* и *Micromonospora* – чаще в горно-лесных экосистемах, *Actinomadura* и *Microbispora* – чаще в степных, *Saccharopolyspora* и *Saccharomonospora* – во всех, кроме горно-лесных экосистем, *Microtetraspora* и *Dactylosporangium* – в полупустынных экосистемах (рис. 1). Во всех экосистемах в комплексе доминируют стрептомицеты. Представители рода *Streptomyces* и *Micromonospora* доминируют в горно-лесных экосистемах (60 %).

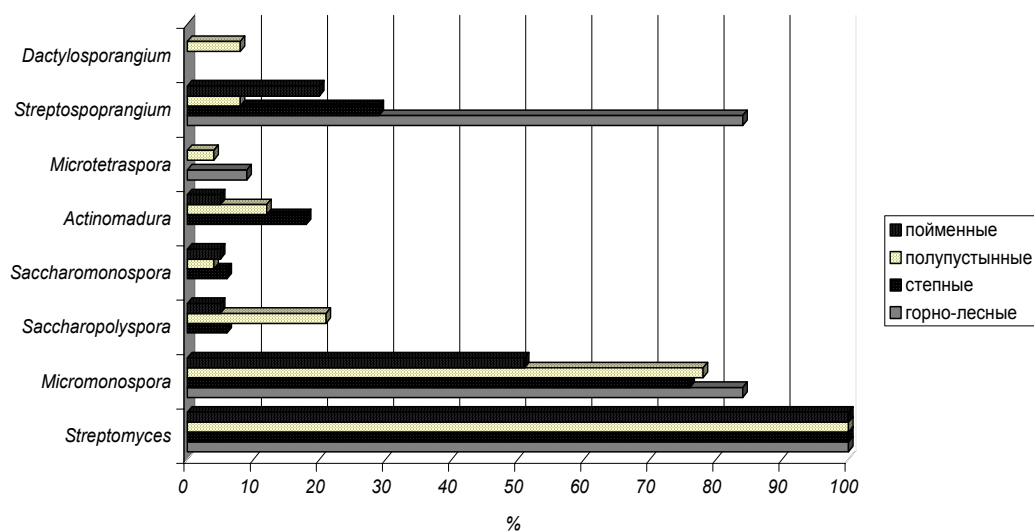


Рис. 1. Частота встречаемости отдельных родов актиномицетов в разных экосистемах на среде с пропионатом натрия

Среди стрептомицетов встречаются виды секции *Cinereus* серии *Violaceus* в горно-лесных и степных экосистемах, секции *Helvolo-Flavus* серии *Flavus* и секции *Roseus* серии *Fuscus* – только в полупустынных, секции *Azureus* серии *Coeruleascens* – в пойменных экосистемах Азербайджана.

Активность термотолерантных актиномицетов в почве связывают с синтезом и разложением гумусовых веществ, продукцией антибиотических веществ и азотным балансом почвы. Некоторые их представители являются активными утилизаторами целлюлозы в процессе компостирования городских отходов. В настоящее время термотолерантные актиномицеты активно изучаются как продуценты различных ферментов, в том числе синтезирующих комплекс протеолитических ферментов. Большинство термотолерантных актиномицетов растут быстрее актиномицетов мезофильных, имеют более термоустойчивые споры и низкий антагонистический потенциал [2].

Численность термотолерантных актиномицетов в исследованных пустынных почвах Азербайджана колеблется от сотен до десятков тысяч колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г почвы в зависимости от ее типа. Границы общей численности мезофильных актиномицетов не выходят за указанные пределы (сотни – десятки тысяч КОЕ/г), однако представители разных родов ведут себя по-разному при определенных температурах выделения. Из пустынных почв Азербайджана выделены (при инкубировании посевов при +35, +37 и +45 °С) термотолерантные представители родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Saccharopolyspora* и *Actinomadura* (рис. 2).

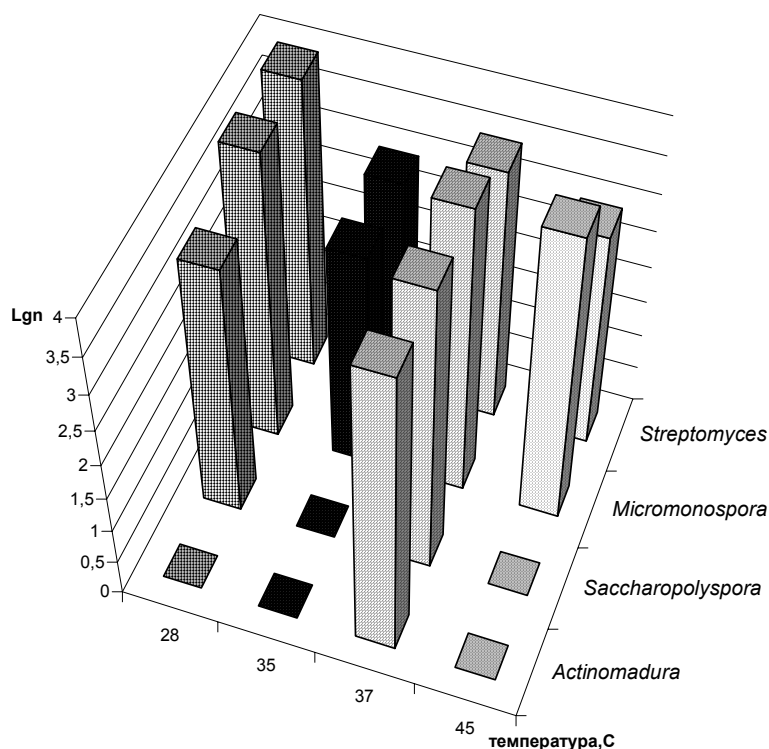


Рис. 2. Численность актиномицетов отдельных родов в бурой полупустынной почве при разных температурах инкубации посевов

Выводы

Во всех экосистемах в комплексе доминируют стрептомицеты. Представители рода *Streptomyces* и *Micromonospora* доминируют в горно-лесных экосистемах (60 %). Численность термотолерантных актиномицетов в исследованных почвах Азербайджана колеблется от сотен до десятков тысяч колониеобразующих единиц в 1 г в зависимости от типа почвы.

Библиографические ссылки

1. **Абушов Р. А.** Физиолого-биохимические свойства актиномицетов Азербайджана и их народнохозяйственное значение: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – Баку, 2004. – 54 с.
2. **Агре Н. С.** Систематика термофильных актиномицетов. – Пушино, 1986. – 130 с.
3. **Определитель актиномицетов** / Г. Ф. Гаузе, Т. П. Преображенская, М. А. Свешникова и др. – М. : Наука, 1983. – 248 с.
4. **Добровольская Т. Г.** Методы выделения и идентификации почвенных бактерий / Т. Г. Добровольская, И. Н. Скворцова, Л. В. Лысак. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – 72 с.
5. **Звягинцев Д. Г.** Экология актиномицетов / Д. Г. Звягинцев, Г. М. Зенова. – М. : ГЕОС, 2001. – 253 с.
6. **Зенова Г. М.** Почвенные актиномицеты редких родов. – М. : Изд-во МГУ, 2000. – 81 с.
7. **Карпачевский Л. О.** Экологические почвоведение. – М. : Изд-во МГУ, 1994.
8. **Касимова Г. С.** Актиномицеты почв Кура-Араксинской низменности // Ученые записки АГУ. – Баку, 1973. – Сер. биол., № 2. – С. 26–29.
9. **Полянская Л. М.** Микробная сукцессия в почве Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – М. : МГУ, 1996. – 96 с.
10. **Теппер Е. И.** Микроорганизмы рода *Nocardia* и разложение гумуса. – М. : Наука, 1976. – 199 с.

11. **Bergey's manual** determinative bacteriology / Eds. J. A. Holt et al. – Baltimore : Williams and Wilkins, 1994. – 787 p.
12. **Actinomycetes** isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences / I. Gonzalez, A. Ayuso-Sacido, A. Anderson, O. Genilloud // FEMS Microbiol. Ecology. – 2005. – Vol. 54, N 3. – P. 401–415.
13. **Microbial** cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology / L. R. Lynd, P. J. Weimer, W. H. Van Zyl, I. S. Pretorius // Microb. Mol. Biol. Rev. – 2002. – Vol. 66. – P. 506–577.
14. **Mc Carthy A. J.** Methods for studying the ecology of actinomycetes / A. J. Mc Carthy, S. T. Williams // Methods in Microbiology. – 1990. – Vol. 29. – P. 563–583.
15. **Nonomura H.** New methods for selective isolation of soil actinomycetes / H. Nonomura, M. Hayakawa // Y. Okami, T. Beppu, H. Ogawara (Eds.) Biology of Actinomycetes. – Tokyo : Japan Sci. Sec. Press, 1988. – P. 288–293.
16. **The Prokaryotes.** A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria / Eds. M. P. Starr et al. – Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1991. – Vol. 2. – P. 1913–2125.
17. **Trigo C.** Is the solubized product from the degradation of ligno-cellulose by actinomycetes as precursor of humic substances? / C. Trigo, A. S. Ball // Microbiology. – 1994. – Vol. 140. – P. 3145–3152.
18. **Williamson N.** Molecular detection of bacterial and streptomycete chitinases in the environment / N. Williamson, P. Brian, E. M. H. Wellington // Antonie van Leeuwenhoek. – 2000. – Vol. 78. – P. 315–321.

Надійшла до редколегії 14.01.2010

УДК 616.89 – 008.444.9

Д. О. Бевзюк

*Харківський національний медичний університет
Інститут неврології, психіатрії та наркології АМН України*

РОЛЬ SEPTUM ТА ЙОГО ВЗАЄМОДІЙ ЗІ СТРУКТУРАМИ ЕМОЦІОГЕННОГО МОЗКУ В ІНІЦІАЦІЇ ТА РОЗВИТКУ АГРЕСИВНОЇ ПОВЕДІНКИ

Вивчено роль septum у механізмах формування агресивної поведінки. Встановлено, що примусове стимулювання septum зумовлює зменшення агресивних проявів у поведінці, а електролітичне пошкодження – вибух неконтрольованої агресії, яка супроводжується значним підвищенням судомової пароксизмальної активності. Нейрохімічним субстратом забезпечення цієї поведінки є моноаміни (адреналін, норадреналін, серотонін, дофамін), які вступають при цьому в складні ієрархічні взаємовідносини.

Д. А. Бевзюк

*Харьковский национальный медицинский университет
Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины*

РОЛЬ SEPTUM И ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ СО СТРУКТУРАМИ ЭМОЦИОГЕННОГО МОЗГА В ИНИЦИАЦИИ И РАЗВИТИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ

Изучена роль septum в механизмах формирования агрессивного поведения. Установлено, что принудительное стимулирование septum приводит к уменьшению агрессивных проявлений в поведении, а электролитическое повреждение – к взрыву неконтролируемой агрессии, которая сопровождается значительным повышением судорожной пароксизмальной активности. Нейрохимическим субстратом обеспечения этого поведения являются моноамины (адреналин, норадреналин, серотонин, дофамин), которые вступают при этом в сложные иерархические взаимоотношения.

D. A. Bevzyuk

*Kharkiv National Medical University
Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology, AMS of Ukraine*

ROLE OF SEPTUM AND ITS INTERRELATIONS WITH STRUCTURES OF EMOTIONAL BRAIN IN BEGINNING AND DEVELOPMENT OF AGGRESSIVE BEHAVIOUR

The role of septum in the mechanisms of aggressive behaviour formation has been studied. It has been established, that forced stimulation of septum leads to diminution of aggressive manifestations in behaviour. Electrical destructions lead to outburst of strong aggression in behaviour. Behaviour is accompanied by a considerable increase of convulsive paroxysmal activity. Monoamines are neurochemical substances ensuring this behaviour. They form complicated hierarchical interrelations between each other.

Вступ

Кризові процеси, які відбуваються в сучасному суспільстві, негативно впливають на психіку людини. Вони викликають у неї неспокій, напругу, жорстокість, схильність до гвалтування. Усі ці прояви лежать в основі агресивної форми поведінки. Ось чому вивчення механізмів формування агресії – один з актуальних напрямів медико-біологічних і соціальних досліджень [4–6; 8; 9; 11–13]. Агресія – складний мотиваційний стан, який базується на агресивності та відрізняється великим поліморфізмом своїх проявів, направлених на те, щоб завдати біль чи пошкодження, що супроводжується позитивними емоційними переживаннями. Звісно, що будь-яка цілеспрямована поведінка має своє емоційне забезпечення. У попередньому дослідженні виявлена значна роль заднього вентромедіального гіпоталамуса, центральної сірої речовини, гіпокампа в механізмах формування агресії [1]. Зважаючи на те, що гіпоталамус має тісні не тільки структурні та функціональні зв'язки з septum, який є «релейною станцією» перемикачів неспецифічних лімбічних шляхів, що піднімаються до гіпокампа та лімбічної кори, участь septum становить інтерес у формуванні агресії. Тому мета цієї роботи – з'ясувати роль septum у механізмах формування агресивної поведінки.

Матеріал і методи досліджень

Експеримент виконано на 14 безпородних щурах-самцях вагою 280–300 г. Із них 8 щурів склали дослідну, а 6 – «біохімічну» групу. Для виявлення ступеня агресивності відібраних щурів протягом 5 діб піддавали дії стресу (методика зоосоціального конфлікту) [1; 2; 6]. Залежно від наявності специфічних поведінкових проявів відібрані щури з агресивними тенденціями в поведінкових реакціях.

Для вживлення ніхромових електродів у скляній ізоляції в емоціогенні структурі мозку, застосовували метод стереотаксії з використанням атласу Фифкової та Маршала за Бурешом [3]. Запис ЕЕГ виконували на енцефалографі «Медикор-8». Вимірювання порогів больової чутливості виконували в камері з металевою підлогою, через дротини якого подавали електричний струм, плавно підвищуючи напругу до моменту візуально реєстрованих ознак дискомфорту тварини. Білатеральне електролітичне пошкодження виконували за допомогою електростимулятора ЕСЛ-2 постійним струмом 10–20 мкА (з анода) протягом 20 с. Пороги больової чутливості реєстрували з екстерорецепторів лапок (у межах 20–28 В). Для оцінки реакції самостимулювання використовували метод самоподразнення за Олдсом і Мілнером [10]. Артеріальний тиск вимірювали плетизмографічним методом за Пінелісом [7]. Статистичну обробку даних робили за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона, Манна, Уїтні.

Результати та їх обговорення

За допомогою методики зоосоціального конфлікту відібрано щурів з агресивними поведінковими реакціями. Для щурів з агресивною формою поведінки характерні погрози, вертикальні стійки, переслідування. Все це нерідко супроводжувалось вокалізацією, вираженими оральними автоматизмами та негативним грумінгом. Найхарактерніша реакція агресорів – вертикальна стійка у протистоянні з супротивником із найвищими її значеннями з 15 до 17 хв експерименту. Очевидно, в цей час тварина перебувала на піку своєї фізіологічної активності для досягнення бажаного результату: реалізації агресивної поведінки. Реакцій погроз і атак було також досить багато, вони повторювалися кожної хвилини експерименту. Реакції завмирання, покусання, проб, обнюхувань мали несуттєвий і переривчастий характер. У агресорів значно збільшувався систолічний артеріальний тиск ($125,0 \pm 4,5$ мм рт. ст.) порівняно з початковими показ-

никами ($107,0 \pm 7,5$ мм рт. ст.). В електричній активності нової кори щурів на фоні змішаної активності чітко прослідковувалася тенденція до десинхронізації в лобових відділах і регулярних комплексах «альфа-тета» (рис.). У подальшому проведена серія досліджень для з'ясування значення septum у системних структурно-функціональних механізмах агресивної поведінки.

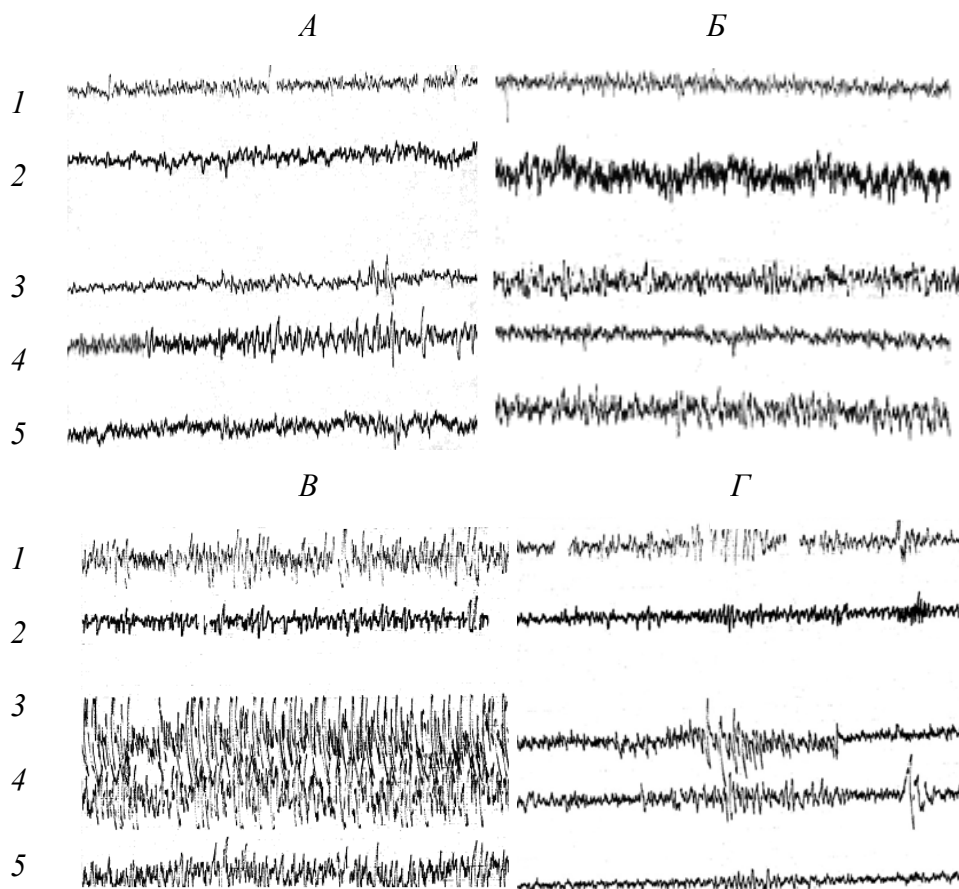


Рис. Зміна електричної активності щурів з агресивними тенденціями в поведінці на прикладі ЕЕГ щура № 2: А – фоновая активність, Б – після примусової стимуляції septum, В – після руйнування septum, Г – після реакції самостимуляції із заднього вендролатерального гіпоталамуса; 1 – неокортекс, 2 – гіпоталамус, 3 – гіпокамп, 4 – мигдалеподібний комплекс, 5 – septum

Для електростимуляції septum використовували струм частотою 50 Гц і силою струму 100 мкА з подачею через кожні 10 с протягом однієї хвилини. Стимуляція septum супроводжувалася численними судовими реакціями, оральними автоматизмами, посиленням фізіологічних відправлень, зацікавленістю власне підлогою. Пороги реакцій уникання, що виникають при стимуляції вендромедіального гіпоталамуса, підвищувалися. В електричній активності мозку відзначалося погасання за типом arousal, у всіх структурах відбувалося збагачення гострими ритмами, особливо в septum. Тобто стимуляція septum підвищувала загальну збудливість, при цьому знижувалися реакції агресивної спрямованості. Після електролітичного ушкодження septum у щурів пороги реакцій уникання і агресії з вендромедіального гіпоталамуса знижувалися до 50 мкА (40–60 мкА), а пороги больових реакцій знижувалися до 20 В (17–25 В).

Пороги уникання з вентромедіального гіпоталамуса на фоні ушкодження septum знижувалися. Тварини приходили в стан люті, що супроводжувався вираженим спастичним скреготанням зубів, численними вертикальними стійками, атаками в протистоянні, що переходили в агоністичну сутичку з неможливістю роз'єднати супротивників. Електрографічними корелятами такої поведінки в щурів є трансформація основної ритміки у бік епілептиформної судомної активності, найвиразнішої у гіпокампі та мигдалеподібному комплексі (див. рис., В).

Становлять інтерес серії досліджень, в яких на фоні ушкодження septum і високої агресивності, посиленої в умовах зоосоціального конфлікту, тварини здійснювали самостимуляцію латерального гіпоталамуса. Виявилось, що самостимуляція латерального гіпоталамуса приводить до купірування агресивних реакцій, підвищення порогів їх виклику, при цьому практично нормалізується артеріальний тиск (від 120 до 90 мм рт. ст.). Підвищуються пороги больових реакцій при впливі на екстерорецептори електричним струмом (до 40 В). При аналізі ЕЕГ чітко спостерігається перебудова початкової електричної активності у бік пароксизмальної. Дифузні пароксизми реєструються в усіх досліджених структурах, більше виражені в неокортексі, мигдалеподібному комплексі, гіпокампі та гіпоталамусі, менше – у septum. Останнє, ймовірно, пов'язано з тим, що ця структура була не повноцінною (див. рис., Г).

Аналіз результатів біохімічних досліджень показав, що в septum щурів дослідженої групи відбувалося різке зменшення концентрації основних медіаторів катехоламінів: адреналіну, норадреналіну, дофаміну, серотоніну.

Таблиця

Зміна вмісту моноамінів (мкг/г тканини) у структурах мозку після електролітичного пошкодження septum

Група щурів	Назва структури	Адреналін	Норадреналін	Дофамін	Серотонін
Контрольна, n = 4	Septum	0,17 ± 0,02	8,48 ± 0,36	0,94 ± 0,06	7,73 ± 0,28
	Amigdal	0,47 ± 0,04	19,53 ± 0,81	10,30 ± 0,75	14,60 ± 0,70
	Hip	0,61 ± 0,04	3,70 ± 0,23	185,50 ± 5,26	3,20 ± 2,59
	Htp	0,27 ± 0,03	8,17 ± 0,44	9,60 ± 0,60	19,20 ± 1,52
	Cor	0,45 ± 0,04	2,10 ± 0,08	0,18 ± 0,01	0,30 ± 0,02
Дослідна, n = 7	Septum	0,02 ± 0,01	0,70 ± 0,07	0,14 ± 0,02	0,50 ± 0,06
	Amigdal	0,40 ± 0,02	13,00 ± 1,00**	13,10 ± 0,79*	17,00 ± 0,70*
	Hip	0,57 ± 0,02	4,40 ± 0,70	177,40 ± 29,60	0,42 ± 0,28**
	Htp	0,45 ± 0,03*	9,15 ± 1,09	10,87 ± 0,80	13,90 ± 0,80
	Cor	0,17 ± 0,02	2,05 ± 0,13	0,37 ± 0,03	0,11 ± 0,01

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

Це свідчило як про ушкодження даної структури, так і про її значення в нейрохімічних механізмах агресії. У гіпокампі спостерігалось значне зниження серотоніну, що знижувало його регуляторні функції в інтеграції адаптивної поведінки (агресії). У мигдалеподібному комплексі кількість серотоніну незначно підвищувалася, а в гіпоталамусі зменшувалася. Вміст дофаміну (як і серотоніну) у мигдалеподібному комплексі підвищувався, а в гіпокампі – наближався до контрольних величин. Підвищення концентрації даних моноамінів у мигдалеподібному комплексі свідчило про його контроль гіпоталамічних адаптивних реакцій. Вміст норадреналіну був значно меншим у мигдалеподібному комплексі, ніж в інших структурах, що можна пояснити попереднім механізмом. У гіпоталамусі концентрація норадреналіну та адреналіну була вищою, що, очевидно, зумовлено підвищенням його синтезу в норадренергічних нейронах, які поставляють норадреналін і адреналін для реалізації реакції самостимуляції.

Висновки

Щурам з агресивними тенденціями у поведінці характерні погрози, вертикальні стійки в протистоянні із супротивником, які нерідко супроводжувались вокалізацією переслідування. Примусова стимуляція septum призводила до змін у поведінці у бік зростання судомної реакції, оральних автоматизмів, підвищенням порогів реакцій уникання. Знижувалися реакції як агресивних проявів, так і електричної активності мозку у бік зростання низькоамплітудних високочастотних хвиль.

Ушкодження septum призвело до вибуху неконтрольованої агресії, що корегувало з трансформацією електричної активності у бік епілептиформної та судомної активності.

Аналіз біохімічних досліджень показав, що septum має безпосереднє відношення до формування агресивної поведінки, його нейрохімічним субстратом полегшення є моноаміни (адреналін, норадреналін, дофамін, серотонін). Власне зниження концентрації серотоніну в лімбічних структурах свідчить про втрату ролі, що модулює, гіпокамп у структурно-функціональній організації агресивної поведінки.

Бібліографічні посилання

1. **Бевзюк Д. О.** Нейробиологические особенности поведения у крыс-агрессоров в условиях влияния на эмоциогенные структуры гипоталамуса и центрального серого вещества // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2006. – № 3. – С. 37–42.
2. **Бевзюк Д. О.** ЭЭГ – пароксизмальные проявления агрессивного поведения у крыс после направленного воздействия на гипоталамус и центральное серое вещество // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. – 2006. – № 1 (9). – С. 203–204.
3. **Буреш Я.** Электрофизиологические методы исследования / Я. Буреш, М. Петрань, И. Захар. – М. : Изд-во иностр. лит-ры, 1962. – 466 с.
4. **Клинико-психопатологические** особенности агрессивного поведения у лиц молодого возраста при аддикциях / Т. М. Воробьева, Д. А. Бевзюк, Л. Н. Пайкова, А. Г. Плотников // Український медичний альманах. – 2005. – Т. 8, № 4 (додаток). – С. 30–31.
5. **Воробьева Т. М.** Системно-нейробиологические механизмы агрессивного поведения / Т. М. Воробьева, С. П. Колядко, Д. А. Бевзюк // Нейронауки: теор. и клин. аспекты. – 2005. – Т. 1, № 1. – С. 20.
6. **Кудрявцева Н. Н.** Социобиология агрессии: мыши и люди // Химия и жизнь. – 2004. – № 5. – С. 13–17.
7. **Состояние** резистивных сосудов конечностей крыс с наследственно обусловленной гипертензией / В. Г. Пинелис, Т. П. Вакулин, А. В. Козлова, Х. М. Марков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1982. – Т. 94, № 10. – С. 31–36.
8. **Chronic** glucocorticoid deficiency-induced abnormal aggression, autonomic hypoarousal, and social deficit in rats / J. Haller, J. Halász, É. Mikics, M. R. Kruk // Journal of Neuroendocrinology. – 2004. – Vol. 16, N 16. – P. 550–557.
9. **Kudryavtseva N. N.** The psychopathology of repeated aggression: a neurobiological aspect // Perspectives on the Psychology of Aggression / Ed. J. P. Morgan. – NY : Nova Science Publishers Inc. Chapter, 2006. – P. 35–64.
10. **Olds J. A.** Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain / J. A. Olds, P. Milner // J. Com. Physiology and Psychology. – 1954. – Vol. 47. – P. 419–427.
11. **The role** of violent media preference in cumulative developmental risk for violence and general aggression / P. Boxer, L. R. Huesmann, B. J. Bushman et al. // Journal of Youth and Adolescence. – 2009. – Vol. 38, N 3. – P. 142–151.
12. **Ricci L. A.** Lasting changes in neuronal activation patterns in select forebrain regions of aggressive, adolescent anabolic/androgenic steroid-treated hamsters / L. A. Ricci, J. M. Grimes, R. H. Jr Melloni // Behav. Brain Res. – 2007. – Vol. 176. – P. 344–352.
13. **Tomatzky W.** Accumbal dopamine and serotonin in anticipation of the next aggressive episode in rats / W. Tomatzky, K. A. Miczek // European Journal of Neuroscience. – 2003. – Vol. 17, N 2. – P. 371–378.

Надійшла до редколегії 17.02.2010

УДК 612.821:599.323.4

Е. В. Веселовская

Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины

**ЗАВИСИМОСТЬ ЭТОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ
КРЫС С ПОДЧИНИТЕЛЬНЫМ ПОВЕДЕНИЕМ
ОТ ТИПА ПАРТНЕРА В ТЕСТЕ «ПЕРЕГОРОДКА»**

Исследована динамика этологических реакций крыс с подчинительным типом поведения на знакомого и незнакомого партнера при моделировании сенсорного контакта в тесте «перегородка» в условиях агонистических столкновений. Тестирование крыс с подчинительным типом поведения после серии агонистических столкновений свидетельствовало о повышении страха перед знакомым партнером-агрессором, однако у них сохранялся интерес к незнакомому партнеру в тесте «перегородка».

О. В. Веселовська

Институт неврології, психіатрії та наркології АМН України

**ЗАЛЕЖНІСТЬ ЕТОЛОГІЧНИХ РЕАКЦІЙ
ЩУРІВ ІЗ ПІДЛЕГЛОЮ ПОВЕДІНКОЮ
ВІД ТИПУ ПАРТНЕРА У ТЕСТІ «ПЕРЕГОРОДКА»**

Досліджено динаміку етологічних реакцій щурів із підлеглим типом поведінки на знайомого та незнайомого партнера при моделюванні сенсорного контакту в тесті «перегородка» в умовах агоністичних зіткнень. Тестування щурів із підлеглим типом поведінки після серії агоністичних зіткнень свідчило про підвищений страх перед знайомим партнером-агресором, проте у них зберігався інтерес до незнайомого партнера в тесті «перегородка».

E. V. Veselovskaya

Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of AMS of Ukraine

**DEPENDENCE OF ETHOLOGICAL REACTIONS
OF RATS WITH SUBMISSIVE BEHAVIOUR TYPE
ON THE PARTNER IN A «PARTITION» TEST**

The dynamics of the reactions of rats with submissive type of behaviour to known or unknown partners has been investigated under modelling of sensory contact in a «partition» test under the conditions of agonistic collisions. Testing the rats with submissive type of behaviour testifies to the fact that after the series of agonistic collisions the rats demonstrate increasing fear of a known partner-aggressor, but they keep the interest in an unknown partner in a «partition» test.

Введение

Экспериментальными исследованиями показано, что опыт агрессии в условиях агонистических столкновений у особей с разными наследственно обусловленными свойствами нервной системы приводит к изменениям в нейромедиаторных системах головного мозга [8; 9], которые оказывают определяющее влияние на различные фор-

мы индивидуального и социального поведения [1; 4]. Вследствие конфликтных взаимодействий у крыс с подчинительным типом поведения в условиях агонистических столкновений со знакомым партнером закрепляется опыт «социальных» поражений, что приводит к развитию эмоционального напряжения и отказу от активных действий на устранение создавшейся ситуации [6; 7; 10; 12].

Поскольку ведущую роль в поведенческом ответе на действие партнера за перегородкой отведена феромонным стимулам [5], было интересно оценить этологические реакции крыс с подчинительным типом поведения на смену партнера за перегородкой при моделировании сенсорного контакта в тесте «перегородка» 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 в конфронтациях между особями в ограниченном пространстве [2; 3; 11]. Животных попарно размещали в экспериментальные клетки, разделенные на два равных отсека прозрачной перегородкой с отверстиями, которая позволяла животным видеть, слышать и воспринимать запахи друг друга, но предупреждала физический контакт.

Для оценки поведенческой активности крыс в этих условиях использован тест «перегородка», 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 в тесте «перегородка» использовали такие показатели как латентный период первого подхода, число подходов к перегородке, общее время пребывания возле перегородки и среднее время одного подхода. Общим временем пребывания возле перегородки считали срок, 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 (судорожные отряхивания).

После тестирования в течение 5 мин для инициации «социального конфликта» перегородку убрали на 10 мин 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. Крысу, потерпевшую поражение в агонистическом столкновении, на следующий день подсаживали к новому партнеру-агрессору.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Statistica 6, используя непараметрический *t*-критерий Вилкоксона и корреляционный анализ.

Результаты и их обсуждение

Нашими исследованиями показано, что при агонистических столкновениях у 8 крыс, из всей экспериментальной группы, формировалось пассивное подчинительное

поведение. В первый день исследования в тесте «перегородка» крысы проявляли интерес к «незнакомому» партнеру за перегородкой. Латентный период первого подхода к перегородке составлял $98,9 \pm 39,3$ с. При этом среднее число подходов к перегородке было $6,5 \pm 1,6$. Общая длительность подходов и среднее время одного подхода составляли $36,3 \pm 12,3$ и $5,0 \pm 1,6$ с (рис. 1). Вместе с тем, в поведении животных отмечали проявления ориентировочно-исследовательских реакций и эмоциональной активности. Крысы становились в вертикальные стойки, опираясь передними лапами на перегородку, просовывали нос в отверстия, обнюхивали клетку, опилки, у них отмечали положительный груминг (умывание, почесывания), пароксизмальные реакции были слабо выраженными (рис. 2).

На следующий день, после поражения в первом агонистическом столкновении, у этих крыс со знакомым партнером за перегородкой количественные показатели теста значимо не изменялись (см. рис. 1). При этом груминг и пароксизмальные реакции у них были более выражены (см. рис. 2). В дальнейшем в ходе наблюдений отмечали, что при смене партнера за перегородкой на «незнакомого» крысы быстрее и чаще подходили к перегородке и дольше задерживались возле нее. На 3–6-й смене партнера отмечали достоверное снижение показателя латентный период первого подхода к перегородке до минимальных значений (6–10 с) и увеличение общего, среднего времени подходов и числа подходов к перегородке (см. рис. 1).

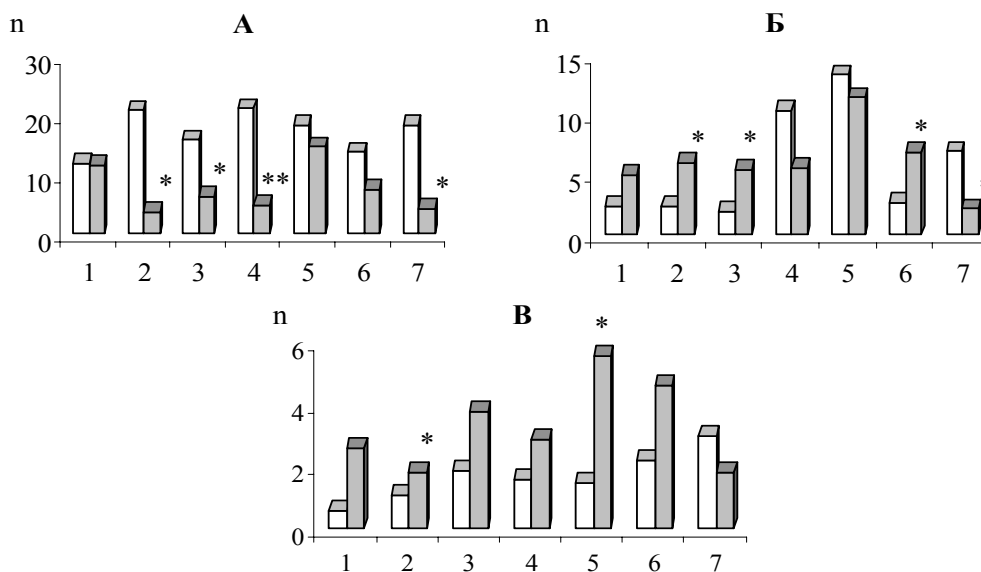
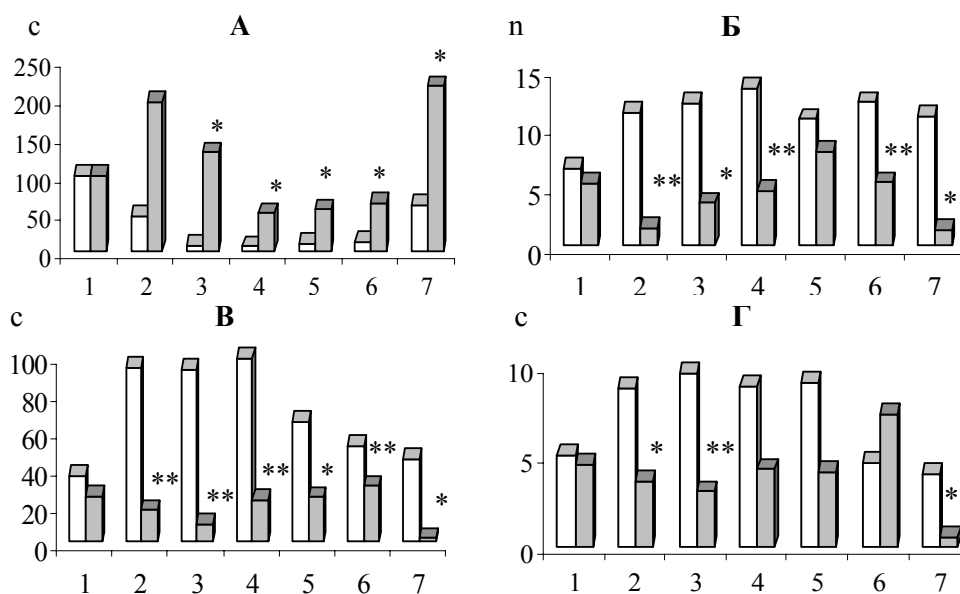
У крыс с подчинительным типом поведения более выражены ориентировочно-исследовательские реакции на незнакомого партнера, о чем свидетельствовало увеличение числа вертикальных стоек (см. рис. 2А). Наиболее высокое эмоциональное напряжение отмечали на 4–5-ю смену партнера – максимальное значение показателей груминга (см. рис. 2Б). После агонистических столкновений со знакомым партнером крысы были малоактивны, не проявляли интерес к партнеру за перегородкой, чаще сидели в дальнем углу клетки спиной к перегородке, подолгу умывались, иногда спали, у некоторых крыс отмечались навязанные круговые движения и частые проявления элементов повышенной пароксизмальной готовности (см. рис. 1, 2).

С помощью метода корреляционного анализа исследовали взаимосвязь элементов поведенческой активности крыс с подчинительным типом поведения в тесте «перегородка». В первый день эксперимента между исследуемыми показателями поведения крыс в реакции на незнакомого партнера существовали две корреляционные связи: обратная сильная связь между латентным периодом первого подхода к перегородке и числом подходов и прямая умеренная связь между общим временем подходов к перегородке и пароксизмальными реакциями.

После первого поражения в агонистическом столкновении имела место одна сильная положительная связь между показателями груминга и пароксизмальных реакций (рис. 3А). На следующий день эксперимента в реакции на незнакомого партнера возникали новые позитивные связи между показателями, которые характеризуют активность крыс возле перегородки в условиях ограниченного пространства (общего времени подходов со средним временем одного подхода к перегородке и количеством вертикальных стоек) и сохранялась позитивная, но умеренно выраженная связь между грумингом и пароксизмальными реакциями.

В реакции на знакомого партнера эти связи сохранялись с более высокой степенью достоверности. При этом возникли семь новых корреляционных связей, в том числе три негативные умеренные связи у показателя латентный период первого подхода (с числом подходов, общим временем подходов к перегородке и вертикальными стойками) и четыре позитивные сильные связи, в том числе три – у показателя число

подходов к перегородке (с общим временем подходов, средним временем одного подхода к перегородке и вертикальными стойками), и одна – между средним временем одного подхода к перегородке и количеством вертикальных стоек (см. рис. 3Б).



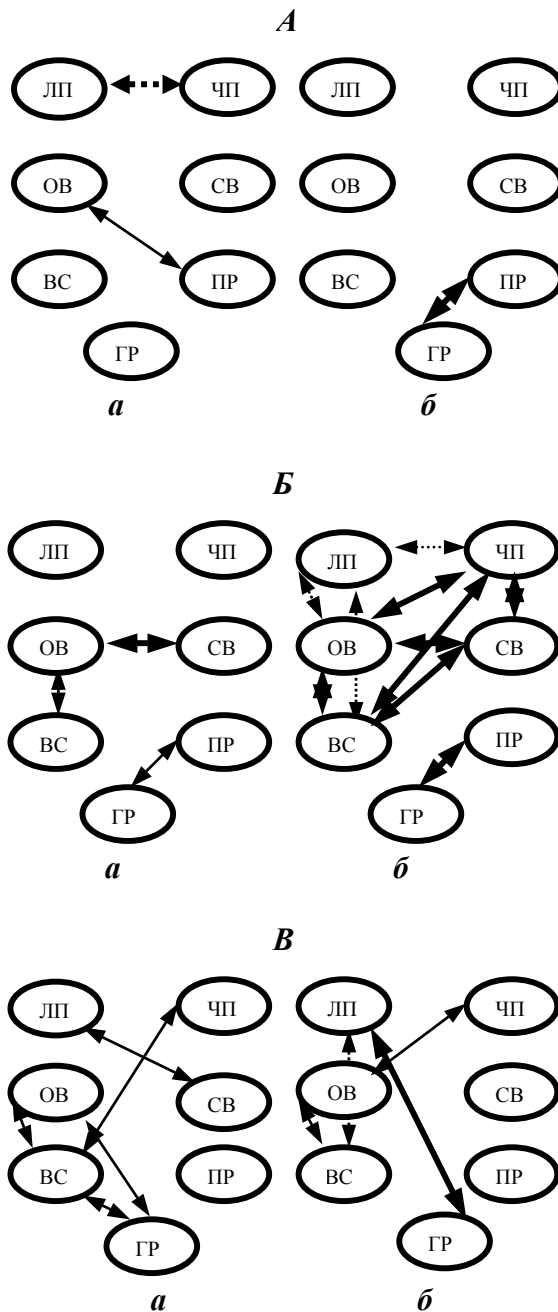


Рис. 3. Динамика корреляционных взаимосвязей между элементами поведенческой активности в тесте «перегородка»: А, Б, В – 1-й, 2-й, 5-й дни эксперимента; а – реакция на незнакомого партнера, б – реакция на знакомого партнера; ЛП – латентный период первого подхода, ЧП – число подходов к перегородке, ОБ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

В конце эксперимента отмечали увеличение общего количества связей между показателями поведенческих реакций на незнакомого партнера. Наибольшее число связей выявлено у показателя вертикальные стойки: с общим временем подходов, числом подходов и грумингом. Кроме этого существовали позитивные умеренные связи между латентным периодом первого подхода и средним временем одного подхода к перегородке, а также между общим временем подходов к перегородке и грумингом. В реакции на знакомого партнера сохранилась только одна связь между общим временем подходов к перегородке и вертикальными стойками, при этом образовались новые корреляционные взаимоотношения между латентным периодом первого подхода к перегородке и грумингом (сильная положительная связь), латентным периодом первого подхода к перегородке и вертикальными стойками (умеренная отрицательная связь), а также между числом подходов и общим временем подходов к перегородке (умеренная положительная связь) (см. рис. 3В).

Заключение

Результаты проведенных исследований особенностей реакций крыс на знакомого и незнакомого партнера в условиях сенсорного контакта показали, что уже после первого агрессивного столкновения у животных с подчинительным типом поведения при неизменившихся количественных показателях в тесте «перегородка» на знакомого партнера-агрессора усиливаются эмоциональные и пароксизмальные реакции, которые коррелируют между собой.

В дальнейшем после агрессивных столкновений интерес к незнакомому партнеру был выше, чем к знакомому, что подтверждалось достоверными отличиями количественных показателей двигательных и пароксизмальных реакций. Необходимо отметить трансформацию корреляционных связей в ходе эксперимента в сторону усиления и увеличения их количества при сенсорном контакте со знакомым партнером-агрессором.

В конце эксперимента в результате многочисленных атак и притеснений со стороны крыс-агрессоров у животных с подчинительным типом поведения закреплялся опыт социальных поражений. Тестирование после серии агонистических столкновений со знакомым партнером за перегородкой свидетельствовало о преобладании страха перед агрессором, поэтому крысы при закрытой перегородке практически не подходили к ней, чаще сидели в дальнем углу клетки и наблюдали за каждым движением партнера. Однако у них сохранялся интерес к незнакомому партнеру в тесте «перегородка»: крысы достаточно быстро и часто подходили к перегородке и подолгу задерживались возле нее, груминг и пароксизмальные реакции у них были более выражены, что характерно для состояния эмоционального напряжения.

Библиографические ссылки

1. **Динамические изменения** серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование / Д. Ф. Августинович, 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 щурів 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. **Новиков С. Н.** Феромоны и размножение млекопитающих. – Л. : Наука, 1988. – 211 с.
6. **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.
7. **Avgustinovich D. F.** Effects of chronic treatment with ipsapirone and buspirone on the C57BL/6J strain mice under social stress / D. F. Avgustinovich, O. V. Alekseyenco, M. V. Koryakina // Life Sci. – 2003. – Vol. 72, N 13. – P. 807–815.
8. **Devoino L.** Immunological consequences of the reversal of social status in C57BL/6J mice / L. Devoino, E. Alperina, T. Pavina // Brain. Behav. Immun. – 2003. – Vol. 17, N 1. – P. 28–34.
9. **Dremencov E.** The serotonin-dopamine interaction is critical for fast-onset action of anti-depressant treatment: *In vivo* studies in animal model of depression / E. Dremencov, I. Gispan-Herman, M. Rosenstein et al. // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2004. – Vol. 28, N 1. – P. 141–147.
10. **MacQueen G. M.** Course of illness, hippocampal function and hippocampal volume in major depression / G. M. MacQueen, S. Campbell, B. S. MacEwen et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, N 3. – P. 1387–1392.
11. **Wilner P.** The validity of animal models of predisposition to depression / P. Wilner, P. J. Mitchell // Behav. Pharmacol. – 2002. – Vol. 13, N 3. – P. 169–188.

Надійшла до редколегії 15.06.2010

УДК 574.4(477.75)

В. М. Громенко, А. В. Ивашов

Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЛОРИСТИКО-ФАУНИСТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ В БИОГЕОЦЕНОЗАХ КРЫМСКОГО ПРИСИВАШЬЯ

Присивашье является сложной экологической системой, которая относится к рангу ландшафтной. В то же время в состав последней входит ряд экосистем более низкого уровня – биогеоценозов. Установлен и изучен видовой состав флористических и фаунистических комплексов каждого биогеоценоза. Проведен сравнительный анализ комплексов с использованием коэффициента сходства Жаккара, выявлена степень их сходства.

В. М. Громенко, А. В. Ивашов

Таврійський національний університет ім. В. І. Вернадського

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ФЛОРИСТИЧНО-ФАУНІСТИЧНИХ КОМПЛЕКСІВ У БІОГЕОЦЕНОЗАХ КРИМСЬКОГО ПРИСИВАШІЯ

Присивашія – складна екологічна система, яка належить до рангу ландшафтної. У той же час до складу останньої входить ряд екосистем нижчого рівня – біогеоценозів. Установлено і досліджено видовий склад флористичних і фауністичних комплексів кожного біогеоценозу. Проведено порівняльний аналіз комплексів із використанням коефіцієнта подібності Жаккара, виявлено ступінь їх подібності.

V. M. Gromenko, A. V. Ivashov

V. I. Vernadsky Taurida National University

COMPARATIVE ANALYSIS OF FLORISTIC-FAUNISTIC COMPLEXES IN CRIMEAN PRISIVASHIE BIOGEOCENOSES

Prisivachie is the complicated ecological system which is considered as a landscape rank. At the same time the structure of the landscape includes a number of ecosystems of lower level – biogeocenoses. The specific structure of floristic and faunistic complexes of each biogeocenosis is established and studied. The comparative analysis of the complexes with the use of Jacquard's similarity coefficient has been carried out; the degree of their similarity has been revealed.

Введение

Современные биогеоценозы Присивашья – наиболее молодые и уязвимые экосистемы на Крымском полуострове. Это связано с тем, что территории Северо-Крымской низменности одними из последних осушились на границе неогенового и антропогенного периода [17]. Дальнейшая их эволюция непосредственно связана с неуклонной регрессией, прерываемой периодическими трансгрессиями морей: Древнеэквинского, Узунларского, Карангатского, Новозквинского, Древнечерноморского, современного Азовского и Сиваша [8]. Следовательно, биогеоценологическая организация шла по пути постепенного континентального развития экосистем от прибрежно-

морских до степных. В результате сформировались уникальные экологические системы, в своей комплексности несущие и хранящие информацию о прошлом, настоящем и будущем Крымского Присивашья. Проведенные в разное время исследования касались изучения только отдельных компонентов биогеоценозов: растений, животных, почв, климата [1–7; 9–16; 18]. Анализ экосистемы в целом, так же как и взаимосвязей между ее биогеоценозами, до настоящего времени не проводился.

Цель работы – оценить биогеоценотическую организацию Крымского Присивашья в аспекте видового состава флоры и фауны. Без понимания этого аспекта невозможно разработать правильную стратегию их охраны и рационального использования.

Материал и методы исследований

Основой настоящей работы послужили материалы, полученные при изучении флоры и фауны Крымского Присивашья за одиннадцатилетний период (1998–2008 гг.). По результатам анализа почв, растительного и животного компонентов на данной территории выделено шесть типов биогеоценозов: 1 – солончаковые, 2 – степные, 3 – луговые, 4 – водно-болотные, 5 – сорно-полевые, 6 – древесно-кустарниковые. Для каждого из них установлен таксономический состав фауны и флоры, который и составил основу для сравнительного анализа. С целью определения степени сходства между биогеоценозами использовали коэффициент сходства Жаккара. Результаты вычисления представлены в виде сводной таблицы или вторичной матрицы, на основе которой построена неориентированная графовая модель, отражающая фаунистическое и флористическое сходство изучаемых биогеоценозов. При этом толщина и характер линий, показывающих связи, соответствуют определенному интервалу значений коэффициента сходства.

Результаты и их обсуждение

В результате исследований установлено, что таксономическая структура флористического комплекса экосистемы Крымского Присивашья включает 2 класса, 38 порядков, 51 семейство, 176 родов и 278 видов высших покрытосеменных растений. Это составляет около 10 % от общего видового богатства флоры Крыма. Таксономическая структура фаунистического комплекса включает 6 типов, 10 классов, 54 отряда, 215 семейств, 742 рода и 1198 видов или 28,9 % от видового богатства фауны, известной для полуострова. Сопоставление этих данных показывает, что представительство животного населения гораздо выше, чем растительного, и априори свидетельствует о большем разнообразии экологических ниш в экосистеме Присивашья.

Разнообразие экологических условий Присивашья оказывает значительное влияние на формирование видового богатства флористико-фаунистических комплексов как в целом для ландшафтной экосистемы, так и для ее отдельных биогеоценозов (рис. 1). Наибольшим видовым богатством флоры (92) и фауны (701) характеризуются степные БГЦ. Несколько меньшим количеством видов представлены луговые БГЦ (соответственно 58 и 601). Практически на одном уровне по видовому богатству (487 и 467) находятся фаунистические комплексы сорно-полевых и древесно-кустарниковых биогеоценозов, при этом их видовой состав флоры отличается более чем в два раза. На последнем месте по богатству видов фауны стоят водно-болотные (273) и солончаковые (239) БГЦ, хотя по количеству видов их флористические комплексы отличаются почти в три раза. Сравнение биогеоценозов позволило выявить как отличия, так и определенное сходство флоры и фауны. Мера фаунистического и флористического соответствия в биогеоценозах Присивашья отражена на рисунке 2 в виде стрелок, обозначающих меру сходства.

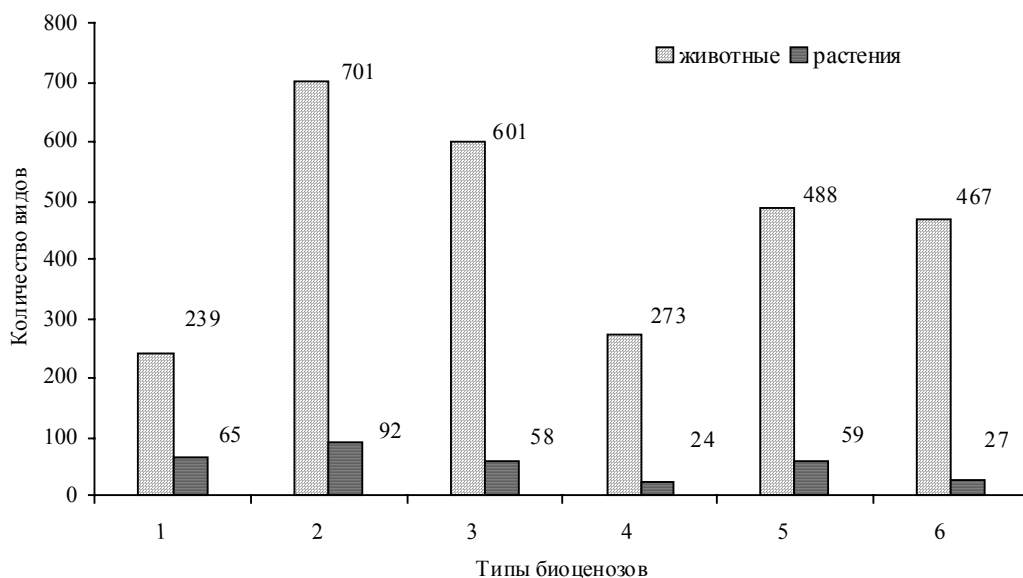


Рис. 1. Число видов животных и растений в биоценозах Крымского Присивашья:
 1 – солончаковые, 2 – степные, 3 – луговые, 4 – водно-болотные,
 5 – сорно-полевые, 6 – древесно-кустарниковые

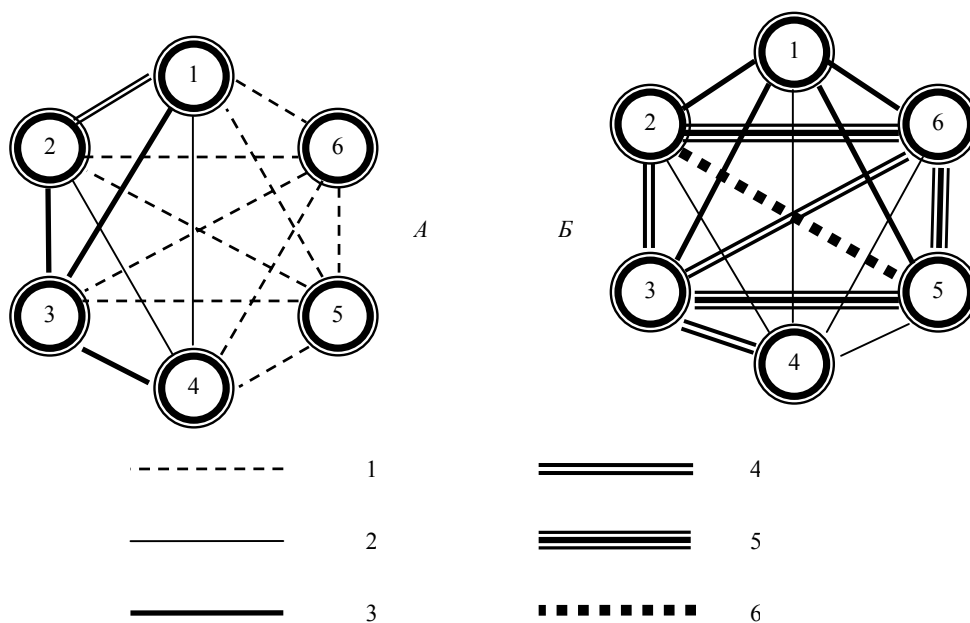


Рис. 2. Сходство биоценозов по флоре (А) и фауне (Б):
 типы биоценозов см. рис. 1; значение коэффициентов Жаккара обозначено линиями
 в интервалах: 1 – 0, 2 – 1–10, 3 – 11–20, 4 – 21–30, 5 – 31–40, 6 – 41–50 %

Коэффициенты сходства биоценозов Присивашья по флоре очень незначительны: лишь степные БГЦ, как коренные, показывают свое определенное родство с луговыми и солончаковыми. Что касается фауны, то здесь иная картина – все БГЦ в сильной или очень сильной мере связаны между собой. Обращают на себя внимание

степные и сорно-полевые БГЦ, которые, очевидно, составляют ядро фауны Присивашья. Ось между ними является центральной во всем комплексе.

Среди флористических комплексов заметным подобием (интервал 21–30), характеризуются солончаковые и степные биогеоценозы, меньшим (11–20) – солончаковые и луговые, степные и луговые, а также луговые и водно-болотные БГЦ. Сходство остальных биогеоценозов между собой по флоре незначительно или полностью отсутствует.

Среди фаунистических комплексов самым высоким сходством (интервал 41–50) обладают степные и сорно-полевые биогеоценозы. Это связано с тем, что большая часть сорно-полевых БГЦ является производными от степных, поэтому их видовой состав приближается к последним. Не менее высокие интервалы подобия (31–40) прослеживаются между степными и древесно-кустарниковыми, а также сорно-полевыми и древесно-кустарниковыми биогеоценозами. В этом случае древесно-кустарниковые БГЦ выступают для значительного количества фауны из различных систематических групп в качестве места убежищ и зимовки. Также заметным (21–30) оказалось сходство по фауне таких биогеоценозов как луговые и водно-болотные, луговые и степные. В этом случае определяющим фактором является их смежное расположение с наличием приграничных экотонных полос.

Выводы

Флористическая и фаунистическая насыщенность территории Крымского Присивашья представлена 278 видами флоры и 1198 видами фауны. Видовое богатство флористических комплексов возрастает в ряду от водно-болотных к древесно-кустарниковым, луговым, сорно-полевым и солончаковым биогеоценозам, достигая максимального значения в степных.

Видовое богатство фаунистических комплексов увеличивается в ряду биогеоценозов: солончаковые, водно-болотные, древесно-кустарниковые, сорно-полевые, луговые, степные. В целом сходство флористических комплексов биогеоценозов Присивашья существенно ниже, чем фаунистических.

Работа выполнена в рамках проекта «BisCrim»: создание биогеоинформационной модели Крыма с использованием ГИС-технологий.

Библиографические ссылки

1. **Важов В. И.** Агроклиматическое районирование Крыма // Тр. Гос. Никит. ботан. сада. – Ялта, 1977. – Т. 71. – С. 92–120.
2. **Воронцов С. М.** До пізнання орнітофауни Присивашья і Сивашів // Праці н.-д. зоол-біол. ін-ту. – 1937. – Т. 4. – С. 83–124.
3. **Гаркуша Л. Я.** Тенденции трансформации растительного покрова центрального Присивашья под влиянием орошения / Л. Я. Гаркуша, Л. М. Соцкова // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – Симферополь, 2006. – С. 161–168.
4. **Голубев В. Н.** Эколого-биологическая структура растительности песчаной степи и галофитных сообществ Присивашья / В. Н. Голубев, Т. А. Волкова. – Ялта, 1985. – 233 с. – (Рук. деп. в ВИНТИ 10.10.1985, № 7177).
5. **Дзен-Литовская Н. Н.** Почвы и растительность Присивашья // Изв. Всес. геогр. о-ва. – 1951. – № 5. – С. 463–467.
6. **Драган Н. А.** Водно-солевой режим почв орошаемых виноградников Присивашья Крыма: Автореф. дисс. ... канд. с-х. наук. – Симферополь, 1972. – 24 с.
7. **Драган Н. А.** Проблемы и задачи охраны почв равнинного Крыма / Н. А. Драган, Ф. С. Альшебви // Природа. – 1996. – № 3–4. – С. 10–12.

8. **Журавель П. А.** Акклиматизация кормовой лиманно-каспийской фауны в водохранилищах и озерах СССР. – Д., 1974. – С. 13–14.
9. **Зубакин А. А.** Гнездящиеся птицы Чонгарских островов / А. А. Зубакин, Ю. В. Костин // Орнитология. – 1977. – Вып. 13. – С. 49–55.
10. **Король Э. Н.** Роль наземных моллюсков в циркуляции гельминтов на территории Крыма // Проблемы формирования экологического мировоззрения. Тр. Междунар. научн. конф. – Симферополь, 1998. – С. 173–174.
11. **Костин Ю. В.** Птицы Крыма. – М. : Наука, 1983. – 240 с.
12. **Котенко Т. И.** Роль Присивашья и Керченского полуострова в сохранении редких видов пресмыкающихся фауны Украины: 2. Анализ ситуации // Актуальні питання збереження та відновлення степових екосистем. – Асканія-Нова, 1998. – С. 280–283.
13. **Котов С. Ф.** Структура сообществ ассоциации *Salicornietum bassiosum (hirsutii)* на охраняемых территориях Крымского Присивашья // Заповедники Крыма на рубеже тысячелетий: Матер. республ. конф. – Симферополь, 2001. – С. 68–71.
14. **Котов С. Ф.** Взаимодействие между растениями в моноценозах и смешанных сообществах *Salicornia perennans* Willd. и *Suaeda prostrata* Pall. // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – Симферополь, 2002. – С. 3–8.
15. **Котов С. Ф.** Суккулентно-травянистая настоящая солончаковая растительность урочища «Калиновка» // Заповедники Крыма: Биоразнообразие на приоритетных территориях: 5 лет после Гурзуфа. Матер. II научн. конф. – Симферополь, 2002. – С. 134–136.
16. **Лоскот Н. В.** К вопросу о генезисе Присивашских степей // Актуальные вопросы современной ботаники. – К. : Наук. думка, 1976. – С. 92–100.
17. **Подгородецкий П. Д.** Палеогеография плейстоцена // Вопросы развития Крыма. – Вып. 11: Биологическое и ландшафтное разнообразие Крыма: проблемы и перспективы. – Симферополь : Сонат, 1999. – С. 9.
18. **Скарлыгина М. Д.** Эколого-биологический состав растительных формаций Крымского Присивашья // Вестник ЛГУ. – 1961. – Вып. 1, № 6. – С. 39–45.

Надійшла до редколегії 07.04.2010

УДК 612.176:612/014.4

Г. О. Задорожна, В. П. Ляшенко, Т. Г. Чаус, А. О. Ліс, Я. О. Ткаченко

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВИХРОВИЙ ВПЛИВ ІМПУЛЬСНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ НА ОСМОТИЧНУ РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ

Досліджено динаміку осмотичної резистентності еритроцитів щурів за умов вихрового впливу імпульсним магнітним полем (5–10 мТл, 80 Гц). Встановлено, що тривалий магнітний вплив протягом 21 тижня суттєво модулює досліджуваний показник. Розглядаються особливості дії право- та лівонаправлених вихрових впливів магнітного поля при тривалому їх використанні. При тривалій дії ефекти впливу вихрового магнітного поля різних напрямків обертання були різними та проявили себе з початку дослідження. Дія правонаправленого магнітного поля зумовлювала відновлення морфофункціонального стану еритроцитів, тоді як лівонаправлене магнітне поле його погіршувало.

Г. А. Задорожная, В. П. Ляшенко, Т. Г. Чаус, А. А. Лис, Я. А. Ткаченко

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ВИХРОВОЕ ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ОСМОТИЧЕСКУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС

Исследована динамика осмотической резистентности эритроцитов крыс в условиях воздействия вихревым импульсным магнитным полем. Длительное магнитное воздействие в течение 21 недели значительно изменяет исследуемый показатель. Рассматриваются особенности действия право- и левонаправленных вихревых влияний магнитного поля при длительном их использовании. При длительном действии эффекты влияния вихревого магнитного поля различной направленности были различными и проявились в начале исследования. Влияние правонаправленного магнитного поля приводило к возобновлению морфофункционального состояния эритроцитов, тогда как лево-направленное магнитное поле его ухудшало.

G. O. Zadorozhna, V. P. Lyashenko, T. G. Chaus, A. Lis, J. O. Tkachenko

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

VORTICAL INFLUENCE OF AN IMPULSIVE MAGNETIC FIELD ON OSMOTIC RESISTANCE OF RATS' ERYTHROCYTES

The research of the dynamics of the osmotic resistance of erythrocytes of rats in the conditions of the influence of the vortical impulsive magnetic field has been provided. It has been discovered that the protracted magnetic field during 21 weeks modulates (changes) the studied index. The peculiarities of the action of right- and left-directed vortical influences of the magnetic field at their protracted use are examined. Under the prolonged action the effects of the vortical magnetic field of different orientation were different and became apparent at the beginning of the research. The action of the right-directed magnetic field caused the revival of the morphofunctional state of erythrocytes, while the left-directed one worsened it.

Вступ

Низькочастотні магнітні поля (МП) – один із факторів навколишнього середовища, який здатен викликати значні зміни функціонального стану біологічних систем

різного рівня організації. У зв'язку з прогресом розвитку технології, систем і засобів зв'язку, природний електромагнітний фон зазнав суттєвих змін унаслідок появи модульованих магнітних полів техногенного походження з різноманітними видами модуляції [4; 6]. Із погляду широкого використання магнітних сигналів у медичній практиці, гігієнічного їх нормування, а також враховуючи можливість їх несприятливої дії на людину та тварин, дослідження біологічних ефектів низькочастотних магнітних полів дозволить розкрити механізми їх дії на біооб'єкти та дасть змогу прогнозування біотропної дії магнітної компоненти біосфери.

Біологічна дія МП зумовлена змінами, які відбуваються в перебігу природних електрофізіологічних процесів, але залишається деяка невизначеність у тому, як відбувається трансформація фізичної енергії МП в реакцію цілісної високоорганізованої системи. Досить цікавими у даній галузі є питання значущості анізотропії магнітного сигналу, коли МП однієї інтенсивності і частоти, але різні за своєю структурою, викликають не однакові за розміром і навіть направленістю біологічні реакції [3; 16; 17].

Найчутливішими до різноманітних хімічних і фізичних агентів є мембрани [6; 11]. Низькочастотне МП досить сильно впливає на структуру мембран клітин крові [1], що є показником функціонального стану організму людини та тварин. Найдоступнішим, і в той же час достатньо інформативним методом дослідження функціонального стану еритроцитів, є дослідження їх осмотичної резистентності. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів – метод оцінки їх фізико-хімічних властивостей, який відображає сталість клітинних мембран до різних дій. Порушення осмотичної резистентності еритроцитів відбувається внаслідок змін структурних і функціональних властивостей мембран еритроцитів і є частим наслідком стресів, несприятливої екологічної ситуації, інтоксикацій тощо.

Висвітлення питань залежності функціонального стану мембран еритроцитів від впливу вихрового МП може наблизити до розкриття механізму дії поля на живий організм і встановлення закономірностей анізотропних впливів. Тому мета даної роботи – охарактеризувати осмотичну резистентність еритроцитів при впливі право- та лівонаправлених вихорів низькочастотного імпульсного МП.

Матеріал і методи досліджень

Всі експерименти виконані відповідно до існуючих міжнародних вимог і норм гуманного ставлення до тварин. Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях, яких поділили на три групи. Перша, контрольна група ($n = 35$) складалася з тварин, які перебували у стандартних умовах віварію. На щурів другої групи ($n = 27$) здійснювали вихровий вплив імпульсним МП правого напрямку обертання. Тварини третьої групи ($n = 28$) зазнавали вихрового впливу МП лівого напрямку обертання. У нашому дослідженні МП створювали за допомогою магнітотерапевтичного апарату «Магнітер-01» [13]. Випромінювальну частину приладу (магнітна голівка) встановлювали над твариною, яка перебувала у коробці з магнітопрозорого матеріалу. Експозиція загального опромінення для тварин тривала 15 хв щоденно в один і той же час. Параметри МП складали: індукція магнітного поля – 5–10 мТл, частота – 80 Гц.

Експеримент тривав 21 тиждень із реєстрацією показників осмотичної резистентності еритроцитів через кожні три тижні, тобто через 3, 6, 9, 12, 15, 18 та 21 тиждень. Для цього дослідним тваринам під час експерименту здійснювали декапітацію та проводили забір крові. До пробірки додавали одну–дві краплі гепарину. Далі здійснювали кількісне визначення ступеня гемолізу еритроцитів у буферних розчинах хлориду натрію [5].

Готували основний робочий розчин, що відповідав за своєю осмотичною концентрацією 1 % розчину хлориду натрію. У ряд центрифужних пробірок розливали по 5 мл робочого розчину хлориду натрію концентрацією від 1 до 0,1 %. До кожної центрифужної пробірки додавали по 0,02 мл перемішаної гепаринізованої крові та залишали на 30 хв. Центрифугували суміш крові з розчинами хлориду натрію при 2000 об./хв протягом 5 хвилин. Із кожної пробірки зливали надосадову рідину та вимірювали оптичну щільність розчину на фотоелектроколориметрі за довжини хвилі 500–560 нм (зелений світлофільтр) у кюветі з товщиною шару 10 мм проти холостої проби. За 100 % гемолізу приймали гемоліз у пробірці, яка містила 0,1 % розчину хлориду натрію. Виразовували відсоток гемолізу у кожній пробірці, порівнюючи величину екстинкції надосадової рідини з екстинкцією, яку приймали за 100 %.

Усі отримані результати оброблялись методом парних порівнянь. Зміни вважалися вірогідними при рівні значимості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

У процесі проведених досліджень встановлено, що у щурів, які перебували за стандартних умов віварію, показники концентрації сольового розчину, при якому спостерігався гемоліз еритроцитів, коливались в межах 0,38–0,46 % розчину $NaCl$ протягом усього експерименту (рис. 1). Слід підкреслити, що за таких умов спостерігалась тенденція до підвищення цього показника з часом експерименту. Отримані значення осмотичної резистентності еритроцитів тварин контрольної групи впродовж усього експерименту були в межах норми (0,36–0,48 %) для тварин даного виду та статі [11]. Коливання цього показника протягом дослідження пов'язані з нормальними фізіологічними процесами в організмі.

Під вихровим правонаправленим впливом МП спостерігалась інша динамічна картина. Вже через 3 тижні експерименту показники концентрації розчину, в якому спостерігався гемоліз еритроцитів щурів другої групи, були достовірно більшими за показники щурів контрольної групи та дорівнювали $0,48 \pm 0,05$ %. Підвищення показників спостерігалось протягом 12 тижнів експерименту, але вже через 15 тижнів і до кінця дослідження показники осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) щурів другої групи поверталися до норми. Значення, отримані за цих умов, через 9–12 тижнів дослідження перевершують дані норми для тварин даного віку.

Концентрація сольового розчину, в якому спостерігався гемоліз еритроцитів щурів третьої групи, які перебували під вихровим лівонаправленим впливом МП весь час дослідження, була вищою за подібну щурів інших експериментальних груп. Цей показник коливався в межах 0,54–0,69 % та підвищувався протягом усього експерименту. Наприкінці дослідження концентрація суміжного розчину у щурів третьої групи була в 1,5 раза вищою за подібну у щурів першої та другої груп.

В ізотонічному розчині еритроцити зберігають свій об'єм, у гіпертонічному – втрачають воду, зморщуються. У гіпотонічному розчині вони поглинають воду, їх об'єм збільшується до «критичного» рівня, підвищення якого супроводжується гемолізом, виходом гемоглобіну у кров. Тобто осмотична резистентність еритроцитів – це сталість їх у гіпотонічних розчинах і підвищення концентрації такого розчину в експерименті відповідає зниженню сталості еритроцита до ушкодження. Враховуючи наведене, можна говорити про те, що під впливом вихрового МП обох напрямків обертання перші 12 тижнів експерименту осмотична резистентність еритроцитів достовірно зменшувалась порівняно з показниками тварин контрольної групи. Через 15 тижнів дослідження під впливом вихрового МП правого напрямку обертання згадані показни-

ки поверталися до норми і залишалися такими до кінця терміну спостереження. Цілком імовірно, що через 15 тижнів впливу правонаправленого МП відбувалась адаптація організму щурів другої групи до зовнішньої дії. Як наслідок, показники ОРЕ через даний проміжок часу повертались до аналогічних даних щурів, які перебували весь час експерименту за стандартних умов.

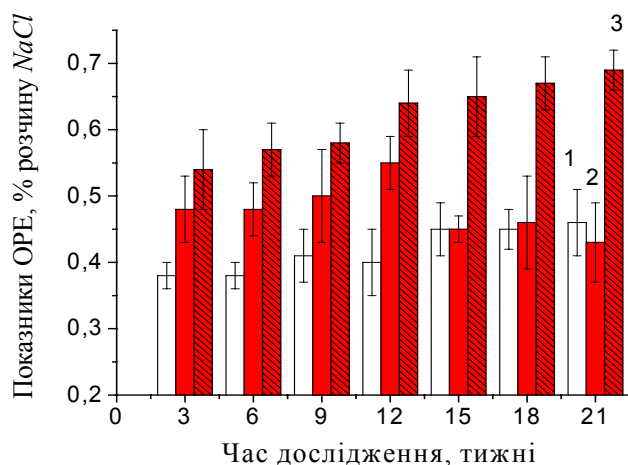


Рис. 1. Динаміка осмотичної резистентності еритроцитів (концентрація $NaCl$) щурів контрольної групи (1), тих, що перебували під впливом правонаправленого МП (2) і МП лівого напрямку обертання (3): вісь абсцис – час проведення експерименту (тижні), вісь ординат – концентрація розчину $NaCl$, в якому спостерігався гемоліз еритроцитів, %

За умов дії вихрового МП із лівим напрямом обертання осмотична резистентність еритроцитів щурів була зниженою вже з початку експерименту і зменшувалась протягом усього часу дослідження. Тобто адаптації до дії лівонаправленого МП не спостерігалось, а навпаки, із часом експерименту резистентність еритроцитів щурів третьої групи зменшувалась.

Мішенню для ініціації фізіологічної відповіді на вплив зовнішнього чинника є, перш за все, клітинні мембрани. Мембрани – рідкокристалічні системи [6]. Рідкі кристали – органічні рідини, які мають анізотропію (залежність фізичних властивостей, зокрема електромагнітних, від напрямку), що полягає в орієнтації молекул як у твердих кристалів. Більшість біологічних молекул, які входять до складу клітин, а також внутрішньоклітинних і позаклітинних морфофункціональних систем, мають властивості рідких кристалів. Рідкі кристали формують мембрани клітин і відіграють важливу роль у системних ефектах, контролюють зміни температури, рівень мембранних потенціалів, реагують на найменші зміни функціональних властивостей. Властивості рідких кристалів лежать в основі роботи фундаментальних механізмів живих систем. Завдяки рідким кристалам організми в змозі реагувати на сенсорні реакції, викликати реакції інших систем, наприклад відповіді імунної системи, продукцію мелатоніну тощо. Структура та властивості рідких кристалів можуть легко модифікуватись при зміні МП [4; 6; 12; 18]. Здатність МП до переорієнтування рідких кристалів може пояснити високу біологічну ефективність вихрових магнітних впливів, які теж мають анізотропну структуру.

Отже, біологічну активність мало вихрове імпульсне МП із правим та лівим напрямом обертання магнітної голівки. Але за тривалої дії ефекти впливу вихрового МП

різних напрямів обертання були різними. Можливо, дія правонаправленого МП призводить до більш переважного напрямку орієнтації рідкокристалічних утворень у мембранах клітин, ніж дія поля з лівим напрямком обертання. Цікава аналогія такого результату з висновками, отриманими в експериментах, в яких вплив надвисокочастотного випромінювання на амплітуду альфа-ритму ЕЕГ людини був більшим при використанні правополяризованого випромінювання, ніж лівополяризованого [7]. Встановлена також різна чутливість ока до лівої та правої компонент циркулярно поляризованого світла [8]. Результати наших експериментів відображали певну універсальну закономірність дії електромагнітних випромінювань на біооб'єкти.

Порушення сталості клітинних мембран пов'язане з біохімічними перетвореннями у їх біліпідному шарі, які призводять до зниження в'язкості мембрани. Унаслідок цього мембрана стає більш ламкою. Порушуються процеси, пов'язані зі змінами поверхні мембрани (фагоцитоз, піноцитоз, клітинна міграція тощо). Значно знижується чутливість клітини до ряду гормонів. Такі перетворення на клітинному рівні можуть бути причиною різноманітних процесів на системному, рефлекторно-гуморальному фізіологічному рівні. У сучасних дослідженнях розглядається механізм впливу МП на живий організм як стрес-фактора. Авторами [14; 15] встановлено, що підвищення загальної резистентності організму, індуковане використанням слабких МП, формується за механізмом адаптаційного синдрому при провідній ролі системних нейрогуморальних механізмів регуляції функцій. У наших попередніх дослідженнях знайдено високі кореляційні коефіцієнти між динамікою електричної активності гіпоталамуса щурів за дії МП і при формуванні стрес-відповіді організму [9], а також зміни вмісту кортистерону у сироватці крові щурів, які перебували в умовах тривалої дії МП даних параметрів [10]. Результати цього дослідження можуть бути поясненням знайдених системних реакцій у відповідь на дію МП на субклітинному рівні.

Висновки

Ефекти впливу вихрового імпульсного магнітного поля залежали як від терміну дії МП, так і від обраного напрямку обертання магнітної голівки. Осмотична резистентність еритроцитів щурів за умов дії лівонаправленого магнітного сигналу знижувалась уже на перших етапах дослідження та залишалась такою до кінця експерименту. При використанні правонаправленого магнітного сигналу осмотична резистентність щурів знижувалась перші 12 тижнів дослідження. Через 15 тижнів і до кінця експерименту досліджений показник повертався до значень норми. Такі відмінності пов'язані зі здатністю МП до переорієнтування рідких кристалів, що є основою зміни під дією полів структури та властивостей клітинних мембран. Саме анізотропними властивостями рідких кристалів пояснюється поведінка молекул, клітин і складних організмів у МП. Можливо, дія правонаправленого МП призводить до більш переважного напрямку орієнтації рідкокристалічних утворень у мембранах клітин, ніж дія поля з лівим напрямком обертання. Такі перетворення відобразились на зміні проникності мембран, що є причиною морфофункціональних змін мембрани еритроцитів.

Бібліографічні посилання

1. **Бордюшков Ю. Н.** Структурно-функциональные изменения мембран лимфоцитов и эритроцитов под воздействием переменного магнитного поля / Ю. Н. Бордюшков, И. А. Горошинская, Е. М. Франциянц // Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 1. – С. 76.

2. **Берлин Ю. В.** Некоторые особенности действия импульсных магнитных полей на электропроводные жидкости и биологические системы / Ю. В. Берлин, Г. М. Бувин, В. И. Белькевич // Реакции биологических систем на магнитные поля. – М. : Наука, 1978. – С. 39–48.
3. **Бурлакова Е. Б.** Сверхслабые воздействия химических соединений и физических факторов на биологические системы / Е. Б. Бурлакова, А. А. Конрадов, Е. Л. Мальцева // Биофизика. – 2004. – Т. 49, вып. 3. – С. 551–564.
4. **Винер Н.** Кибернетика, или управление и связь в животном и машине. – М., 1983. – 294 с.
5. **Владимиров Ю. А.** Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М. : Наука, 1972. – С. 35–48.
6. **Гуляр С. А.** Постоянные магнитные поля и их применение в медицине / С. А. Гуляр, Ю. Л. Лиманский. – К. : Ин-т физиол. им. А. А. Богомольца НАН Украины, 2006. – 320 с.
7. **Дмитриевский И. М.** Воздействие поляризованного света на глаз человека (новое объяснение зрительного феномена, обнаруженного И. М. Фейгенбергом). – М., 1985. – С. 19–24. – (Препринт МИФИ 014-85).
8. **Дмитриевский И. М.** Космофизические корреляции в живой и неживой природе как проявление слабых воздействий // Биофизика. – 1992. – Т. 37, вып. 4. – С. 674–680.
9. **Задорожна Г. О.** Вплив вихрового імпульсного магнітного поля на біоелектричну ритмічну активність задньої зони гіпоталамуса щурів за умов зооконфліктної ситуації / Г. О. Задорожна, В. П. Ляшенко, Т. Г. Чаус // Ученые записки Таврич. нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Биология и химия. – 2008. – Т. 21 (60), № 2. – С. 35–45.
10. **Задорожна Г. О.** Вплив вихрового імпульсного магнітного поля на біоелектричну активність гіпоталамуса щурів за фізіологічних умов та умов стресу: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 2009. – 20 с.
11. **Катюхин Л. Н.** Динамика изменений красной крови у крыс при острой иммобилизации / Л. Н. Катюхин, Н. Н. Маслов // Косм. биология и авиакосм. – 1994. – Т. 18, № 3. – С. 43–47.
12. **Моисеева Н. И.** Временная среда и биологические ритмы / Н. И. Моисеева, В. М. Сысуев. – Л., 1981. – 126 с.
13. **Пристрій** для генерування магнітних полів. Патент 29009 А Україна, 6 А61N2/02./ Ю. О. Філіпов, І. І. Соколовський, І. І. Гриценко та ін.; Заяв. 15.01.1993 р. № 3687–ХІІ; опубл. 01.06.2000 р. Бюл. № 5–11.
14. **Сидякин В. Г.** Влияние флуктуаций солнечной активности на биологические системы // Биофизика. – 1992. – Т. 37, вып. 4. – С. 647–652.
15. **Сидякин В. Г.** Магнитоиндуцированные реакции в механизмах радиорезистентности организма / В. Г. Сидякин, А. М. Сташков // Ученые записки Таврич. нац. ун-та. – 2001. – № 7 (46). – С. 46–54.
16. **Хоменко О. М.** Вплив вихрового імпульсного магнітного поля на функції органів травлення та крові (моделі та механізми): Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Д., 2002. – 20 с.
17. **Хоменко О. М.** Вплив змінних магнітних полів на функціональний стан печінки при хронічному активному гепатиті / О. М. Хоменко, А. І. Руденко, О. Б. Мурзін // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2002. – Вип. 10, т. 2. – С. 32–36.
18. **Шноль С. Е.** Макроскопические флуктуации – общее свойство биологических и физико-химических процессов. Проблемы «дифференциальной диагностики» макроскопических флуктуаций и автоколебаний. Возможная физиологическая роль макроскопических флуктуаций // Механизмы временной организации клетки и их регуляция на различных уровнях. Матер. Всесоюз. симпоз. – Пушкино, 1983. – С. 3–6.

Надійшла до редколегії 05.03.2010

УДК 628.168:582.26(045)

В. І. Карпенко, Л. П. Голодок, М. В. Водка, О. А. Дяченко, Л. А. Сіренко

*Національний авіаційний університет, м. Київ
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОСТЕЙ ВИКОРИСТАННЯ ПОЛІФЕРМЕНТНИХ СИСТЕМ ВОДОРОСТЕЙ MYCROCYSTIS AERUGINOSA ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ПИТНОЇ ТА ТЕХНОЛОГІЧНОЇ ВОДИ

Для досліджень поліферментних систем синьо-зелених водоростей *Myrocystis aeruginosa* розроблено методики та лабораторний стенд, який дозволяє регулювати силу освітлення, перемішування суспензії, вивчати розмноження клітин, проводити хімічний аналіз води. Встановлено можливість використання водоростей у біофільтрі для зниження низьких концентрацій загального заліза у воді до значень, які відповідають вимогам ГОСТ 2874-82. Розмноження клітин водоростей при очищенні води від заліза в біофільтрі вказує, що кількість ферментних систем та їх активність збільшуються. Перевага використання поліферментних систем синьо-зелених водоростей для підготовки води у тому, що вони не потребують вуглецевих енергетичних субстратів і тривалий час зберігають активність.

В. И. Карпенко, Л. П. Голодок, М. В. Водка, А. А. Дяченко, Л. А. Сиренко

*Национальный авиационный университет, г. Киев
Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ ВОДОРΟΣЛЕЙ MYCROCYSTIS AERUGINOSA ДЛЯ ПОДГОТОВКИ ПИТЬЕВОЙ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ВОДИ

Для исследований полиферментных систем сине-зеленых водорослей *Myrocystis aeruginosa* разработаны методики и лабораторный стенд, позволяющий регулировать силу освещения, перемешивания суспензии, изучать размножение клеток, проводить химический анализ воды. Установлена возможность использования водорослей в биофильтре для снижения низких концентраций общего железа в воде к значениям, соответствующим требованиям ГОСТ 2874-82. Размножение клеток водорослей при очистке воды от железа в биофильтре указывает на то, что количество ферментных систем увеличивается, увеличивается также их активность. Преимуществом использования полиферментных систем сине-зеленых водорослей для подготовки воды является то, что они не нуждаются в углеродсодержащих энергетических субстратах, длительное время сохраняют свою активность.

V. I. Karpenko, L. P. Golodok, M. V. Vodka, A. A. Dyachenko, L. A. Sirenko

*Kiev National Aviation University
Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University*

RESEARCH OF POSSIBILITIES FOR THE USE OF MULTIENZYME COMPLEX OF ALGAE MYCROCYSTIS AERUGINOSA FOR TREATMENT OF DRINKABLE AND PROCESS WATER

The methods and a laboratory bench have been developed for research of the multienzyme systems of cyanobacteriae *Mycrocystis aeruginosa*. The bench allows regulating the luminous intensity and suspension agitation, studying the cells reproduction and conducting the chemical analysis of water. It has been established that algae can be used in a biofilter for reducing low concentrations of total iron in water to the levels which meet state standard (GOST 2874-82) requirements. Algae cells reproduction during water treatment from iron in a biofilter indicates that the number of enzyme systems and their activity increase. The advantage of the algae multienzyme systems use for the water treatment is the fact that they maintain their activity for a long time and do not need any carbonaceous energy substrata.

Вступ

Наша країна має найменше забезпечення прісною водою серед європейських країн. В Україні не залишилось жодного озера чи річки, де людині можна вживати воду без попередньої обробки. У місцях водозаборів у техногенних регіонах концентрації небезпечних для здоров'я людини речовин уже наближаються до гранично допустимих, і навіть перевищують їх [14–18].

Технологічні можливості застосування традиційних хімічних схем підготовки питної води обмежені. Аналіз якості води різних регіонів України показав, що існує проблема перебільшення загальної кількості заліза у воді в основному на півночі та у центрі України. Також досить поширені на всій території країни відхилення від норм ГОСТ 2874-82 таких неорганічних показників як марганець, кальцій, магній, калій, вміст хлоридів та сульфатів, за органолептичними показниками – кольоровість, мутність, сухий залишок і жорсткість. Проблема якості води для випуску продукції існує і на заводі ТОВ «Тетерів» смт. Іванків Київської області. У той же час існують пропозиції використання водоростей для очищення стічних вод різних підприємств [19–25]. Тому мета цієї роботи – створити нові підходи до водопідготовки, що мають відповідати вимогам ресурсо- та енергозбереження.

Матеріал і методи досліджень

Для досліджень поліферментних систем синьо-зелених водоростей *Mycrocystis aeruginosa* розроблені методики та лабораторний стенд, який дозволяє регулювати оптимальну силу освітлення, перемішування суспензії, ріст клітин, проводити операції з хімічного аналізу води. На аналіз відбирали воду із заводу ТОВ «Тетерів» (свердловина № 3) смт. Іванків Київської області перед технологічною підготовкою та аналізували за органолептичними та фізико-хімічними показниками.

При проведенні досліджень використовували методи, що відповідають державним, міжнародним і галузевим стандартам. Відбір проб здійснювали згідно з ГОСТ 18963-73 [13], визначення запаху, смаку та кольору води – згідно з ГОСТ 3351-74 [3], встановлення pH води – згідно з вимогами ДСТУ 4077-2001 [16], визначення загальної жорсткості води – згідно з ГОСТ 4151-72 [4], масової концентрації загального заліза – згідно з ГОСТ 4011-72 [5], мінеральних азотумісних речовин – згідно з ГОСТ 4192-82 [6], вмісту хлоридів – згідно з ГОСТ 4245-72 [7], сульфатів – згідно з ГОСТ 4389-72 [8], нітратів – згідно з ГОСТ 18826-73 [9], кальцію та магнію – згідно з ГОСТ 23268.5-78 [10], визначення окислюваності – згідно з ГОСТ 23268.12-78 [11], визначення сухого залишку – згідно з ГОСТ 18164-72 [12].

Оцінку можливості зменшення концентрацій заліза у воді синьо-зеленими водоростями перевіряли у лабораторних умовах у скляних флаконах. У дослідях використовували альгологічно чисті водорості *Mycrocystis aeruginosa*, представлені відділом водоростей Інституту гідробіології НАН України [1; 14; 17; 19]. Методика підрахунку клітин – у рахунковій камері Горяєва. Синьо-зелені водорості культивували на мінеральному живильному середовищі Прата, яке рекомендується для одноклітинних

водоростей (KNO_3 – 0,10 г/л, K_2HPO_4 – 0,01, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01, $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,001, $CaCO_3$ – 0,01 г/л). Моделювання води у лабораторних умовах до відповідності зі скважини № 3 смт. Іванків проводили додаванням надлишкової кількості заліза у середовище Прата до концентрації ($FeCl_2 \cdot 6H_2O$) 0,00066 г/л, додаванням такої ж надлишкової кількості заліза у водопровідну воду м. Київ. Змодельовану воду (45 мл) разом із відібраними водоростями вносили у скляні флакони для культивування їх з метою оцінки очищення води від заліза до встановлених норм за ГОСТ 2874-82 [2]. Скляні флакони з водоростями у подальшому використовували як біофільтри на базі альгологічно чистих *M. aeruginosa*.

Досліди з перемішування суспензії у біофільтрі проводили з використанням магнітної мішалки (при 500 об./хв). Освітлювання культури водоростей забезпечувалося денним світлом або люмінесцентними лампами у 40 Вт (освітленість складала 9000 Лк), тривалість освітлення змінювали залежно від умов експериментів, культивували водорості при кімнатній температурі. Морфологічні властивості *M. aeruginosa* під час очищення води у біофільтрі від заліза розглядали під світлооптичним мікроскопом ЛОМОМІКМЕД 1 при збільшенні $\times 400$. Аналізували воду для технологічних потреб лікєро-горілчаного заводу ТОВ «Тетерів» зі свердловин № 1, 2, 3 смт. Іванків Київської області. На аналіз відбирали воду перед технологічною водопідготовкою та аналізували за органолептичними, фізико-хімічними показниками.

Результати та їх обговорення

Якість води у свердловинах № 1 і 2 відповідає ГОСТ 2874-82 (табл.).

Таблиця

Фізико-хімічні показники води з артезіанських свердловин смт. Іванків Київської області

Найменування показників	Місце взяття аналізу, № свердловин			Норми ГОСТ 2874-82
	1	2	3	
Запах, бали ($t = 20$ °C)	1	1	2	2
Запах, бали ($t = 60$ °C)	1	1	2	2
Кольоровість, градуси	2	2	60	20
Мутність, мг/дм ³	0,2	0,3	0,1	1,5
Сухий залишок, мг/дм ³	125	385	572	100–1000
pH	6,2	6,3	6,2	6,0–9,0
Жорсткість, мг-екв./дм ³	0,02	5,3	5,0	1,5–7,0
Лужність, мг-екв./дм ³	1,6	6,0	6,4	0,5–6,5
Окислюваність перманганатна, г O_2 /дм ³	1,0	1,0	0,8	4,0
Азот амонійний, мг/дм ³	0,05	0,30	0,09	1,50
Залізо загальне, мг/дм ³	0,01	0,12	0,60	0,30
Калій, мг/дм ³	0,5	12,0	65,6	–
Натрій, мг/дм ³	38,0	38,0	38,0	200,0
Кальцій, мг/дм ³	58,0	66,0	60,0	50,0–70,0
Магній, мг/дм ³	22,0	24,0	24,0	10,0–80,0
Нітриги, мг/дм ³	0,04	0,02	0,40	0,50
Нітрати, мг-екв./дм ³	1,2	1,0	1,7	45,0
Сульфати, мг/дм ³	12,0	33,0	0,1	500,0
Хлориди, мг/дм ³	4,3	24,0	8,7	350,0

Примітки: встановлені відхилення від норм ГОСТ 2874-82 тільки у воді зі свердловини № 3 за вмістом заліза та за кольоровістю; «–» – показник не аналізується.

Свердловина № 3 на підприємстві не працює. Аналіз її води показав перевищення ГОСТ 2874-82 за такими параметрами: вміст загального заліза та кольоровість. Ми-

нулий досвід працівників підприємства підтверджує недоброякісні властивості води. Навіть після водопідготовки для технологічних потреб і подальшого використання для приготування лікєро-горілочаних настоїв у готовій продукції з'являлося помутніння, осад, а іноді й непріємний запах. Існуючі на підприємстві фізико-хімічні методи іноді не дозволяють виконати доброякісну підготовку води.

Клітини водоростей здатні акумулювати з води різні хімічні елементи, причому коефіцієнти їх накопичення для певних сполук можуть бути достатньо високими. Тому ми запропонували для поліпшення якості води використовувати біофільтри на біологічній основі з альгологічно чистих синьо-зелених водоростей *M. aeruginosa*. Воду свердловини № 3 заводу ТОВ «Тетерів» смт. Іванків Київської області спочатку моделювали за концентрацією заліза у середовищі Прата. Результати експерименту зі зменшення концентрації заліза у середовищі Прата (контроль) та у середовищі Прата з надлишковим вмістом заліза, як у воді свердловини № 3, переконливі (рис. 1а). Початкова кількість заліза у середовищі Прата менша, ніж у воді за стандартом ГОСТ 2874-82. Залізо як хімічний елемент живильного середовища для вирощування водоростей має бути обов'язково присутнім. Масова концентрація заліза у середовищі Прата з надлишковим вмістом заліза зменшується до норми за стандартом ГОСТ 2874-82 за 6 діб культивування водоростей при початковій заданій їх концентрації 1 800 кл./мл середовища. При подальшому спостереженні, концентрація загального заліза у воді продовжувала знижуватись. На рисунку 1б показано динаміку збільшення кількості клітин синьо-зелених водоростей під час очищення води від надлишків заліза.

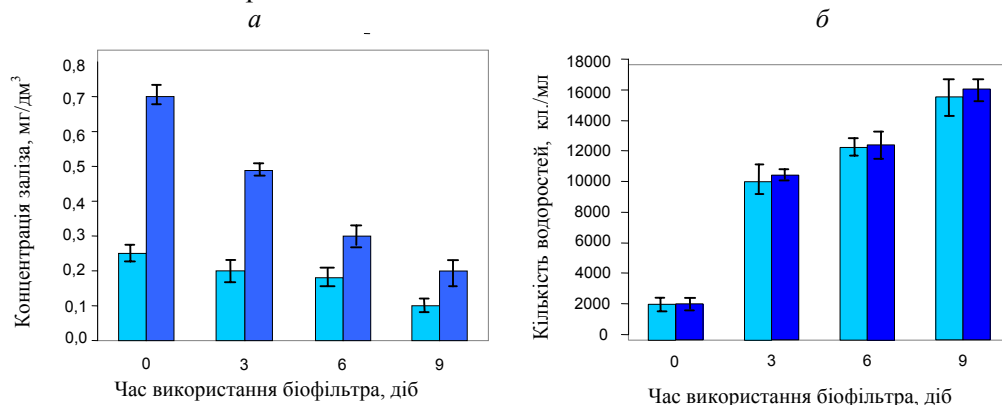


Рис. 1. Зміна масової концентрації заліза (а) та кількості клітин водоростей (б) у середовищі біофільтра: 0 – вихідні дані; ■ – модельована вода, середовище Прата з підвищеним умістом заліза; □ – контроль, середовище Прата

При культивуванні *M. aeruginosa* у біофільтрі на безазотному середовищі Прата та на водопровідній воді м. Київ із концентрацією заліза як у свердловині № 3 заводу ТОВ «Тетерів» також спостерігалось зменшення концентрації заліза (рис. 2а) до норми за стандартом ГОСТ 2874-82 і накопичення біомаси водоростей (рис. 2б).

Відбувається кореляція між збільшенням кількості клітин водоростей і зменшенням концентрації заліза у біофільтрі (див. рис. 1, 2), причому кількість синьо-зелених водоростей у перші три доби їх культивування збільшилась більше ніж у 4,5 раза. При подальшому культивуванні водоростей їх кількість збільшилася у 1,3 раза. Отримані дані також указують, що ці процеси у біофільтрі взаємопов'язані, клітини водоростей можуть очищати воду у біофільтрі від надлишкових концентрацій заліза до вста-

новленої концентрації за ГОСТом для питної води. Причому морфологія клітин водоростей у воді не змінювалася під час експерименту протягом 6 діб.

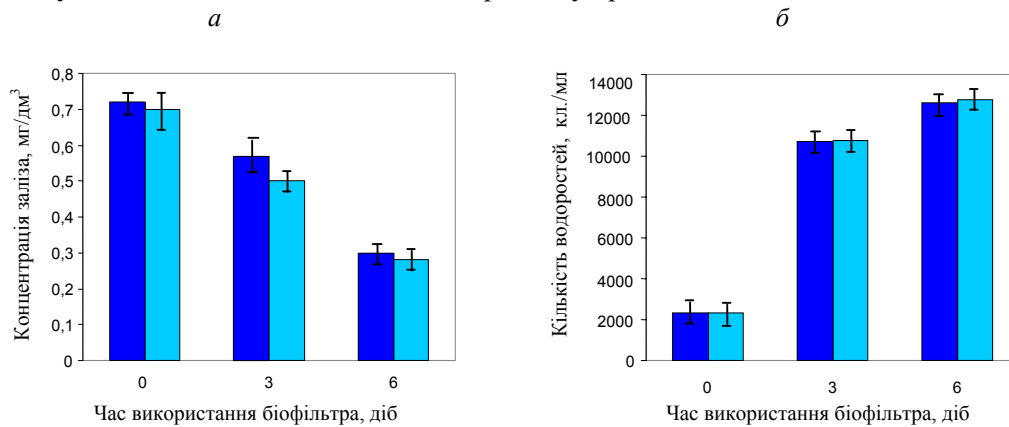


Рис. 2. Зміна масової концентрації заліза (а) та кількості клітин водоростей (б) у воді біофільтра: 0 – вихідні дані, ■ – модельована вода свердловини № 3 ТОВ «Тетерів» (водопровідна вода з концентрацією заліза як у свердловині), ▨ – контроль, беззотне середовище Прата з концентрацією заліза, як у свердловині

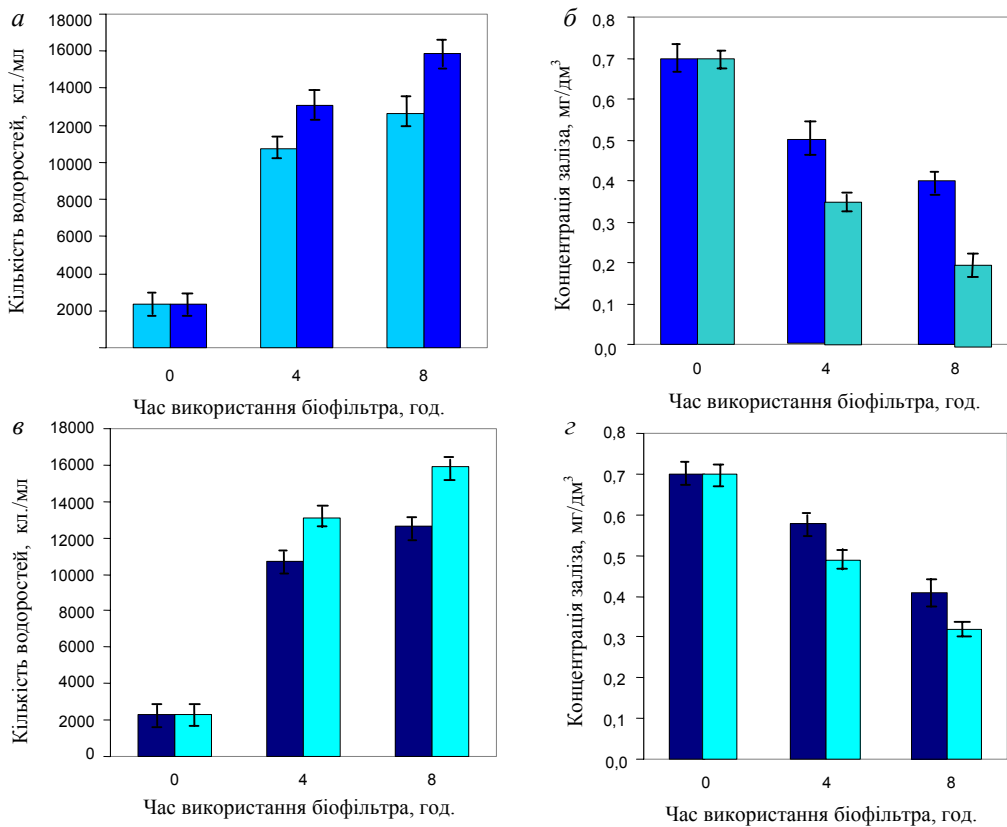


Рис. 3. Зміна фізіологічної активності водоростей у біофільтрі при очищенні води від заліза залежно від перемішування (а, б) та освітлення (в, г): 0 – вихідні дані: концентрація заліза (б, г), кількість водоростей (а, в); ■ – без перемішування, ▨ – безперервне перемішування; ▨ – безперервне освітлення, ■ – освітлення відсутнє

Організація перемішування (рис. 3а, б) та безперервного освітлення (рис. 3в, г) у біофільтрі сприяє інтенсифікації процесів очищення води від заліза (рис. 3б, г) та зростанню кількості клітин водоростей (рис. 3а, в). У заводських умовах тривалий підготовчий процес не доцільний з економічних причин. Тому вирішили перевірити можливість очищення води при підвищеній концентрації водоростей. При концентрації клітин водоростей у біофільтрі $5,8 \times 10^4$ кл./мл води спостерігали зниження загальної кількості заліза у модельованій воді до норм ГОСТ 2874-82 за одну добу.

Таким чином, експериментально доведено можливість при підготовці питної води проводити очищення води у біофільтрі від надлишків заліза, використовуючи альгологічно чисті синьо-зелені водорості *M. aeruginosa*.

Висновки

Збільшення кількості клітин *M. aeruginosa* при створенні умов роботи біофільтра при очищенні води від низьких концентрацій заліза вказує на те, що кількість ферментних систем збільшується, як і їх активність. Морфологічні ознаки клітин водоростей під час очищення води від заліза у біофільтрі не змінюються. Експериментально встановлена можливість використання синьо-зелених водоростей у біофільтрі для зниження низьких концентрацій загального заліза у воді до значень, що відповідають вимогам ГОСТ 2874-82.

Бібліографічні посилання

1. **Величко И. М.** Экологическая физиология зеленых нитчатых водорослей. – К. : Наук. думка, 1982. – 196 с.
2. **Вода питьевая.** Гигиенические требования и контроль за качеством: ГОСТ 2874-82. – [Введ. 1982-01-01]. – М. : Изд-во стандартов, 1982. – 5 с.
3. **Вода питьевая.** Методы определения вкуса, запаха, цветности и мутности: ГОСТ 3351-74. – [Введ. 1975-07-01]. – М. : Изд-во стандартов, 1974. – 8 с.
4. **Вода питьевая.** Метод определения общей жесткости: ГОСТ 4151-72. – [Введ. 1972-10-09]. – М. : Изд-во стандартов, 1972. – 7 с.
5. **Вода питьевая.** Методы измерения массовой концентрации общего железа: ГОСТ 4011-72. – [Введ. 1972-10-09]. – М. : Изд-во стандартов, 1972. – 12 с.
6. **Вода питьевая.** Метод определения минеральных азотсодержащих веществ: ГОСТ 4192-82. – [Введ. 1982-01-25]. – М. : Изд-во стандартов, 1982. – 10 с.
7. **Вода питьевая.** Метод определения содержания хлоридов: ГОСТ 4245-72. – [Введ. 1972-10-09]. – М. : Изд-во стандартов, 1972. – 6 с.
8. **Вода питьевая.** Метод определения содержания сульфатов: ГОСТ 4389-72. – [Введ. 1972-11-28]. – М. : Изд-во стандартов, 1972. – 8 с.
9. **Вода питьевая.** Методы определения содержания нитратов: ГОСТ 18826-73. – [Введ. 1973-05-25]. – М. : Изд-во стандартов, 1973. – 8 с.
10. **Воды минеральные** питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Методы определения ионов кальция и магния: ГОСТ 23268.5-78. – [Введ. 1980-01-01]. – М. : Изд-во стандартов, 1979. – 11 с.
11. **Воды минеральные** питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Метод определения перманганатной окисляемости: ГОСТ 23268.12-78. – [Введ. 1980-01-01]. – М. : Изд-во стандартов, 1979. – 4 с.
12. **Вода питьевая.** Метод определения содержания сухого остатка: ГОСТ 18164-72. – [Введ. 1972-10-06]. – М. : Изд-во стандартов, 1972. – 3 с.
13. **Вода питьевая.** Отбор проб: ГОСТ 24481-80. – [Введ. 1980-12-29]. – М. : Изд-во стандартов, 1980. – 5 с.

14. **Голлербах М. М.** Распространенность водорослей в современных водоемах, их биомасса и продукция. – М. : Просвещение, 1977. – 364 с.
15. **Гончарук В. В.** Экологические аспекты современных технологий охраны водной среды. – К. : Наук. думка, 2005. – 375 с.
16. **Гумбатова Т. Ф.** Биохимическая очистка сточных вод сахарных заводов / Т. Ф. Гумбатова, О. В. Демидов // Сахарная промышленность. – 1978. – № 7. – С. 6–11.
17. **Дедусенко-Щеголева Н. Т.** Зеленые водоросли / Н. Т. Дедусенко-Щеголева, А. М. Матвиенко. – М. : Просвещение, 1959. – 231 с.
18. **Журба М. Г.** Современное состояние и перспективы биологической очистки природных вод. – М. : ВНИИНТПИ, 2006. – 72 с.
19. **Масюк Н. П.** Водорості в системі органічного світу. – К. : Академперіодика, 2002. – 178 с.
20. **Biffel W.** Versuch zur Reinigung von Pulpenpre Oasser aus Zuckerfabriken / W. Biffel, K. Pinz // Zeitschrift fur die Zuckerindustrie. – 1971. – Bd. 21, N 2. – S. 69–72.
21. **Black I. G.** Microbiology: Principles and Applications. – Englewood Cliffs Prentice Hall, 1993. – 775 p.
22. **Harremoes H.** Wastewater Treatment. Biological and Chemical Processes / H. Harremoes, J. Arvin. – Germany, 1995. – 383 p.
23. **Kaiser G.** Waste water as a new raw material in the sugar industry / G. Kaiser, A. Dziengel, W. Mauch // The Sugar Journal. – 1979. – Vol. 41, N 11. – P. 13–16.
24. **Microbial Enzymes in Aquatic Environments** / Ed. R. J. Chrost. – New York, 1991. – 317 p.
25. **The Procarriotes** / A. Balovs, H. G. Truper, M. Dvorkin et al. – 2nd ed. – New York, 1992. – 126 p.

Надійшла до редколегії 21.01.2010

УДК 59.089

М. О. Кісякова, Г. П. Гаврилюк, Т. Н. Полішко, В. М. Моїсеєнко, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ЛІПОСОМ ДЛЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ФОРМ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Наведено дані про структуру та фізико-хімічні властивості фосфоліпідних везикул (ліпосом) – ефективних природних носіїв лікарських речовин. Описані різновиди ліпосом, методи їх отримання, механізми проникнення в клітини організму та функціональні особливості ліпосомальних препаратів. Наведено дані щодо отримання ліпосом із безклітинним гомогенатом лактобактерій, а також методи контролю структури ліпосом.

М. А. Кисьякова, А. Ф. Гаврилюк, Т. Н. Полишко, В. Н. Моисеенко, А. И. Винников

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИПОСОМ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ФОРМ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Представлены данные о структуре и физико-химических свойствах фосфолипидных везикул (липосом) – эффективных природных носителей лекарственных веществ. Описаны разновидности липосом, методы их получения, механизмы проникновения в клетки организма и функциональные особенности липосомальных препаратов. Приведены данные по получению липосом с бесклеточным гомогенатом лактобактерий, а также методы контроля структуры липосом.

М. А. Kisjakova, A. F. Gavrylyuk, T. N. Polishko, V. M. Moiseenko, A. I. Vinnikov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

PROSPECTS OF LIPOSOMES USING FOR CREATING OF NEW FORMS OF THE MEDICINAL AND PREVENTIVE PREPARATIONS

Information on the structure, physical and chemical characteristics of the phospholipid vesicles (liposomes) – the effective natural drug delivery system is presented. Types of liposomes, procedures of its productions, penetration mechanisms into cells and functional features of liposomal drugs are described. Data on production of liposomes with lactobacilli acellular homogenates and the methods of the liposomes structure control are demonstrated.

Перспективи впровадження лікарських засобів у ліпосомальній формі

Застосування нових ефективних лікарських засобів з мінімальною побічною дією для лікування захворювань різної етіологічної природи різних органів і систем – актуальний напрям сучасної медицини. Більшість лікарських препаратів, що вживаються в традиційних формах, досить обмежено проникають через клітинні мембрани та після надходження в організм піддаються істотній біотрансформації, унаслідок чого втрачають свою фармакологічну активність. Саме тому сьогодні при розробці нових лікарських засобів увага багатьох авторів зосереджена на дослідженні можливості збільшення здатності препаратів легко проникати через бар'єри біомембран у клітини-

мішені, а також пролонгуванні їх дії. Перспективне у цьому напрямку використання як транспортного засобу ліпідних везикул, що отримали назву «ліпосоми» [8; 13; 18; 20].

Загальні уявлення про будову та використання ліпосом

Ліпосоми – штучні сферичні частки, які складаються з бішарів фосфоліпідів, що оточують центральну водну порожнину та самоорганізуються при фазовому переході завдяки амфіфільній структурі ліпиду [1; 9; 13].

Ліпосоми вперше отримано та описано у 1964 році американським ученим Алексом Бенгхемом, який працював над вивченням властивостей фосфоліпідів – основних компонентів клітинних мембран [3; 4]. Ліпосоми швидко стали предметом численних досліджень, спочатку як моделі клітинних мембран, а потім уже як носії ліків [1]. Пік розвитку досліджень ліпосомних структур спостерігався у 1980-х роках, коли було запатентовано основні методи отримання різноманітних фосфоліпідних везикул [4].

Зараз ліпосоми – широко розповсюджений комерційний продукт. За даними реферативного збірника «Винаходи країн світу», опубліковано понад 670 патентних документів, що є результатом вивчення ліпосом. У цій галузі лідерами є Японія, США, Німеччина, Франція, Великобританія та Швейцарія.

За оцінками американських фахівців, до 2000 року сума продажів ліпосом як засобів транспортування становила 2–5 млрд. доларів США, або 20–25 % світового ринку засобів доставки лікарських препаратів [10].

Кількість мембранних шарів у ліпосомі може бути різною, що впливає на її розміри та будову. Ліпосоми бувають одношарові розміром 25–50 нм (МОВ – малі одношарові везикули, SUV – small unilamellar vesicles) та понад 50 нм (ВОВ – великі одношарові везикули, LUV – large unilamellar vesicles); багатошарові (БШВ – багатошарові везикули, MLV – multilamellar vesicles), розміром 100 нм – 3 мкм [4; 11; 18]. Найпоширеніші ліпосомальні засоби з препаратом гідрофільної природи, що міститься у водній порожнині ліпосоми. Це пояснюється відносною простотою створення таких ліпосомальних систем за умови якщо терапевтична концентрація лікарської субстанції не впливає негативно на стабільність самої ліпосоми. До ліпосомних препаратів другої генерації належать ліпосоми, що містять водонерозчинні (суспендовані) та жиророзчинні лікарські речовини, які включаються безпосередньо у фосфоліпідний бішар. Технологія їх отримання значно складніша, проте такі препарати мають цінні фармакологічні властивості [1; 4; 19].

Перспективні для використання стійкі до впливу фізико-хімічних факторів ліпосоми. Важливим кроком стала модифікація поверхні ліпосом полімерами з гнучким гідрофільним ланцюгом, найчастіше поліетиленгліколем, які отримали назву «стерично стабілізовані», або «ліпосоми-невидимки» – stealth liposomes. Такі ліпосоми характеризуються збільшеним часом циркуляції в системі кровообігу та стабільністю, завдяки тому що не можуть «виловлюватися» клітинами ретикуло-ендотеліальної системи [1; 4; 5; 17; 20; 21]. Із метою керованого транспорту біологічно активної речовини до поверхні ліпосоми приєднують молекули, споріднені до конкретного органа чи клітини-мішені, наприклад, імуноглобуліни, лектини, глікопротеїни, ліпіди чи екстракти певних клітин і тканин. Такі ліпосоми отримали назву «автоліпосоми», «імуносоми», «протеоліпосоми», «вірусосоми» тощо [2; 4; 10; 21].

Запропоновано використання ліпосом для створення штучних еритроцитів (гемосоми), транспортування генетичного матеріалу, радіоактивних і контрастних речовин [1; 10; 11].

Взаємодія ліпосом із клітинами здійснюється за кількома основними механізмами: проникнення крізь пори клітинної мембрани, адсорбція на поверхні клітин, ендо- або фагоцитоз ліпосом, злиття чи обмін фосфоліпідів із плазматичною мембраною, взаємодія з поверхневими рецепторами клітин [1; 7; 13].

Механізм проникнення ліпосом у клітини залежить від їх розміру та фізичних властивостей, які залежать від хімічної природи компонентів ліпідного бішару, технології отримання ліпосом, а також від морфологічного типу клітини та наявності в ній специфічних рецепторів. Жоден механізм проникнення не виключає іншого, і, як правило, шляхи можуть поєднуватися [4; 11; 13].

Дія препарату багато в чому залежить від того, який із механізмів буде переважати. Особливості будови ліпосом і їх біологічна сумісність із клітиною, здатність утримувати у водній і жировій фазі різноманітні речовини та здатність до біодеградації в організмі характеризують їх як ефективні носії лікарських субстанцій [4; 5; 14].

Як стверджує більшість дослідників, у ліпосому може бути включено практично будь-яку сполуку. Як носії лікарських препаратів ліпосоми, безумовно, мають ряд переваг: можливість включення в них малорозчинних і токсичних речовин, біологічна сумісність із ферментними та імунними системами організму, особлива сукупність біологічних властивостей, характерних для функцій клітинної мембрани, адгезивність, стимуляція фагоцитозу, імунокорегуючий або імуносупресивний (залежно від складу ліпосом) ефекти. Крім того, доведено, що ліпосоми мають антиоксидантні властивості [4; 13; 21].

Отже, ліпосомні препарати мають низку незаперечних переваг:

- захищають клітини організму від токсичної дії лікарських засобів;
- пролонгують дію введеного в організм лікарського засобу;
- захищають лікарські речовини від деградації;
- сприяють спрямованій специфічності за рахунок селективної проникності з крові у тканини;
- змінюють фармакокінетику лікарських препаратів, підвищуючи їх фармакологічну ефективність;
- дозволяють створювати водорозчинну форму низки лікарських субстанцій, таким чином збільшуючи їх біодоступність [4; 13].

Упродовж останніх 20 років у практиці світової фармакології інтенсивно застосовують ліпосомні препарати (близько 20 комерційних ЛСП) у різних галузях медицини – онкології, пульмонології, гастроентерології, офтальмології, кардіології тощо [8; 13–16; 19].

Створення ліпосом

При створенні ліпосом найширше використовуються фосфоліпід фосфатидилхолін (стара назва якого лецитин) і холестерин, який надає щільності створюваній мембрані. Порівняно з іншими ліпідами фосфатидилхолін має вищий рівень стабільності та легко утворює стійкі везикули, є природним антиоксидантом, підвищує пластичність мембран клітин [4; 13]. На даний час існує багато способів отримання ліпосом із заданими властивостями та функціями, до складу яких уходять різноманітні сполуки різного походження та природи.

Нами проведено серію експериментів з отримання ліпосом двома з найпоширеніших способів.

У першій серії експериментів використовували соєвий лецитин, який розчиняли в органічному розчиннику, перемішували на магнітній мішалці, додавали стабілізатор

та буферний розчин. Отриману суспензію ліпосом розглядали під мікроскопом при збільшенні $\times 630$ (рис. 1).

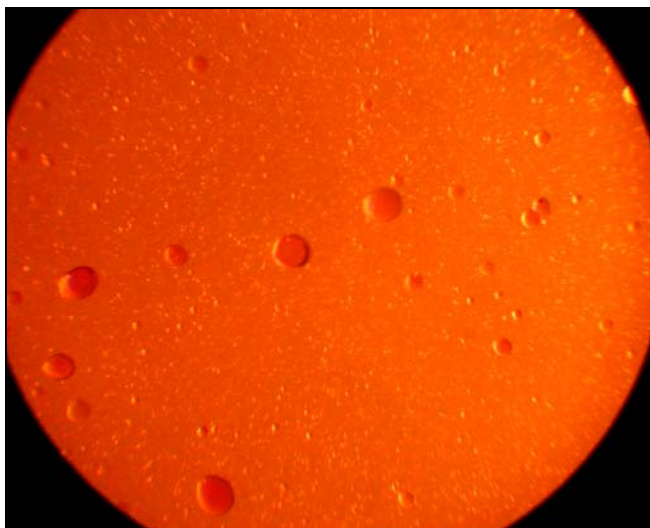


Рис. 1. Суспензія ліпосом (збільшення $\times 630$)

У другій серії експериментів використовували соєвий лецитин, який розчиняли в органічному розчиннику, додавали стабілізатор та обробляли ультразвуком [11]. Отриману суспензію ліпосом розглядали під мікроскопом при збільшенні $\times 500$ (рис. 2). У наступній серії експериментів поставили завдання отримати тест-системи з включення безклітинного гомогенату лактобактерій у ліпосоми. Для цього суспензію лактобактерій забарвлювали флуоресцентним барвником акридиновим оранжевим, обробляли ультразвуком і центрифугували. Після цього отриманий таким чином безклітинний гомогенат поміщали в ліпосоми останнім із вищенаведених способів (рис. 3).



Рис. 2. Суспензія ліпосом (збільшення $\times 500$)

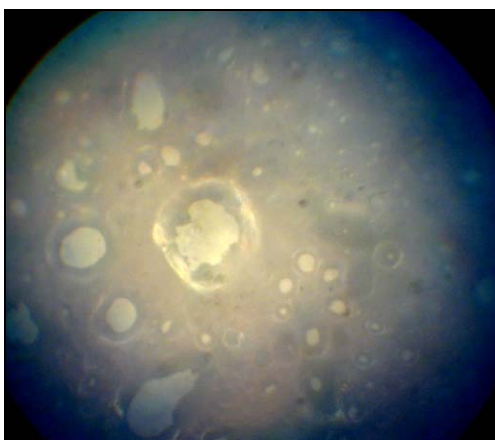


Рис. 3. Ліпосоми з безклітинним гомогенатом лактобактерій (збільшення $\times 500$)

Можна констатувати, що отримання ліпосом із безклітинним гомогенатом лактобактерій дозволяє вирішити проблему визначення ліпосом усередині організму експериментальних тварин, а також безклітинний гомогенат лактобактерій є біологічно-активним компонентом, що зміцнює та стимулює імунну систему організму.

Висновки

Достатня кількість методів отримання ліпосом дає можливість цілеспрямовано розробити різні варіанти лікарських засобів на основі ліпосом, що дає можливість зменшити концентрацію лікарської речовини та продовжити термін її дії в організмі.

Бібліографічні посилання

1. **Барсуков Л. И.** Липосомы // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 10. – С. 2–9.
2. **Березов Т. Т.** Направленный транспорт лекарственных средств с помощью липосом / Т. Т. Березов, Н. В. Яглова, Т. Б. Дмитриева // Вестник РАМН. – 2004. – № 5. – С. 42–47.
3. **Берник О. Р.** Природный контейнер з ліками – так спеціалісти називають ліпосоми // Ваше здоров'я. – 1997. – № 11. – С. 5–7.
4. **Гавкалюк М. І.** Використання ліпосом у медицині та косметичі / М. І. Гавкалюк, Н. С. Леочко // Діабет і серце. – 2009. – № 10. – С. 123–126.
5. **Галицька С. М.** Біологічні властивості ліпосом та їх практичне використання / С. М. Галицька, І. С. Нікольський // Фізіол. журн. – 2008. – Т. 54, № 5. – С. 99–105.
6. **Корда М. М.** Використання ліпосом у клінічній медицині / М. М. Корда, С. В. Бродін, Я. С. Стравський // Ліки. – 1997. – № 5. – С. 67–71.
7. **Марголис Л. Б.** Липосомы и их взаимодействие с клетками. – М. : Наука, 1986. – 134 с.
8. **Матвиенко П. В.** Липосомы – «скафандр» для лекарств // Провизор. – 2004. – № 15. – С. 44–48.
9. **Овчинников Ю. А.** Биоорганическая химия. – М. : Просвещение. – 1987. – 731 с.
10. **Остапченко Л. І.** Біологічні мембрани: методи дослідження структури та функцій. – К. : ВПЦ «Київський університет», 2006. – 215 с.
11. **Рашке Т.** Обзор современных методов инкапсулирования // Косметика и медицина. – 2003. – № 2. – С. 44–52.
12. **Рыбальченко В. К.** Структура и функции мембран. Практикум. – К. : Вища школа, 1988. – 313 с.
13. **Чекман І. С.** Ліпосомальні форми лікарських засобів: від експерименту до клініки / І. С. Чекман, Л. В. Савченкова, Н. О. Горчакова // Журн. АМН України. – 2006. – Т. 12, № 4. – С. 653–667.
14. **Чернуцкий В. Г.** Влияние различных липосомальных форм препаратов на состояние гуморального и клеточного иммунитета у детей, больных бронхиальной астмой // Врач. практика. – 2002. – № 1. – С. 96–100.
15. **Шальков Ю. Л.** Опыт и перспективы использования липосомальной формы противоопухолевых препаратов в клинической онкологии / Ю. Л. Шальков, А. С. Дудниченко, Ю. М. Краснопольский // Клін. хірургія. – 1995. – № 5. – С. 21–23.
16. **Шраер Т. И.** Применение липосом в раннем лечении экспериментальных ран / Т. И. Шраер, Ю. Г. Шапошников, В. М. Крейнес // Хирургия. – 1994. – № 12. – С. 35–38.
17. **Preparation of PEGylated liposomes of docetaxel using supercritical fluid technology / M. Ambikanandan, N. Sachin, P. Deepa, S. Naazneen // The Journal of Supercritical Fluids. – 2010. – P. 48–56.**
18. **Barry B. W.** Liposomes and skin: From drug delivery to model membranes / B. W. Barry, G. M. Maghraby, A. C. Williams // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2008. – Vol. 34, is. 4–5. – P. 203–222.
19. **Dorotkiewicz-Jach A.** Liposomes as delivery systems for antibiotics / A. Dorotkiewicz-Jach, Z. Drulis-Kawa // International Journal of Pharmaceutics. – 2010. – Vol. 387, is. 1–2. – P. 187–198.
20. **Evaluation of cationic liposomes composed of an amino acid-based lipid for neuronal transfection / Y. Obata, G. Ciofani, V. Raffa et al. // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2010. – Vol. 6, is. 1. – P. 70–77.**
21. **Spleen plays an important role in the induction of accelerated blood clearance of PEGylated liposomes / T. Ishida, M. Ichihara, X. Y. Wang, H. Kiwada // Journal of Controlled Release. – 2006. – Vol. 115, is. 3. – P. 243–250.**

Надійшла до редколегії 15.07.2010

УДК 597.08:639.053

В. М. Кочет, О. О. Христов

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

ВПЛИВ ПРОМИСЛОВИХ ЕЛЕКТРИЧНИХ ЗНАРЯДЬ ЛОВУ НА ІХТІОФАУНУ ІЗОЛЬОВАНИХ ШТУЧНИХ ВОДОЙМ ДНІПРОПЕТРОВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Досліджено вплив промислового електротрала ЕЛУ-4М на іхтіофауну в умовах штучно створених водойм. Наведено порівняльний аналіз матеріалів власних досліджень із літературними джерелами, визначено негативні та позитивні елементи застосування електротрала у процесі промислового вилову риби та регламентацію його застосування. Установлено, що експлуатація промислового електротрала, при всьому його неоднозначному (спірному) впливі на біоту, у штучно створених, ізольованих водоймах, катастрофічно не впливає на їх гідроекосистему. Регламентація роботи трала полягає в обмеженні застосування за сезонами та часу доби, а також – у межах застосування (місцях лову).

В. Н. Кочет, О. А. Христов

Днепрпетровский национальный университет им. Олеся Гончара

ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ОРУДИЙ ЛОВА НА ИХТИОФАУНУ ИЗОЛИРОВАННЫХ ИСКУССТВЕННЫХ ВОДОЕМОВ ДНЕПРОПЕТРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Исследовано влияние промышленного электротрала ЭЛУ-4М на ихтиофауну в условиях искусственно созданных водоемов, приведен сравнительный анализ материалов собственных исследований с литературными источниками, определены отрицательные и положительные элементы применения электротрала в процессе промышленного лова рыбы и регламентация его применения. Установлено, что эксплуатация промышленного электротрала, при всем его неоднозначном (спорном) влиянии на биоту, в искусственно созданных, изолированных водоемах, катастрофически не влияет на их гидроекосистему. Регламентация работы трала заключается в ограничении применения по сезонам и времени суток, а также – в границах применения (местах лова).

V. M. Kochet, O. O. Khristov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

INFLUENCE OF INDUSTRIAL ELECTRICAL FISHING GEARS ON ICHTHYOFAUNA IN ISOLATED ARTIFICIAL PONDS OF DNIPROPETROVSK PROVINCE

The influence of the fishing electrical trawl ELU-4M on ichthyofauna in artificial ponds is studied. The comparative analysis of the results obtained and the literature sources is presented. Negative and positive consequences of the electrical trawl application for industrial fishery and regulation of its use are described. It is determined that the exploitation of the industrial electrical trawl (taking into account some ambiguous influence to the biota) in artificial isolated ponds doesn't influence catastrophically on a hydroecosystem. The work regulation of trawl consists in limitation of its seasonable and diurnal uset, and also in the fishing locations.

Вступ

Промисловий електролов, як один зі способів видобутку риби у світовій практиці рибальства, поширився в 1960-ті роки. Широке впровадження даного знаряддя лову зумовлене необхідністю підвищення ефективності вилучення водних живих ресурсів. У процесі теоретичної розробки параметрів електролову та спостереження за дією дослідних і промислових зразків електричних тралів встановлено [2; 6–12], що комплекс фізіологічних проявів, які спостерігаються у риб при проходженні електричного струму по їх тілу, має характер безумовної оборонної, стосовно подразника, реакції. Ця обставина вигідно відрізняла електричний струм від фізичних засобів впливу (звуку, хімікатів, повітряних завіс тощо) і визначила ефективність його застосування для нових сіткових, безсіткових, безперервних та інших методів лову. Виявлена закономірність лягла в основу розробки різних способів видобутку риби за допомогою впливу на неї електричного струму. Однак зазначені знаряддя викликали й у даний час викликають неоднозначну реакцію в наукових колах, а також у фахівців рибоохоронних і природоохоронних організацій.

Актуальність даної роботи полягає у необхідності розробки заходів зі збереження біологічного різноманіття екосистем (у тому числі – іхтіофауни) на фоні інтенсифікації рибогосподарської діяльності у водоймах регіону в умовах неупорядкованості законодавчої бази щодо процесу експлуатації водних живих ресурсів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені у період 1996–2009 рр. на акваторії штучно створених малих водойм Дніпропетровської області (Зеленодольська водойма-охолоджувач ТЕС та Південне водосховище), де у промислі застосовується промисловий електротрал ЕЛУ-4М. Здійснене спостереження 150 тралень, проаналізовано 2 350 екземплярів риб. Обробка отриманого матеріалу проводилася згідно із загальноприйнятими іхтіологічними методиками [1; 3–5]. Досліджували реакції риб на вплив електричного струму електротрала: стадії відновлення функцій у часі, стан внутрішніх органів, селективність і ефективність вилучення.

Результати досліджень та їх обговорення

Основним, стосовно промислового електролову, залишається питання про вплив електричного струму на всі елементи гідробіоти – від нижчих організмів до риб. На початку 1970-х років доведено [7], що основною із трьох фаз впливу (стимуляція, депресія, смерть), найбільш розповсюдженою (переважаючою над іншими) при застосуванні електротрала є стадія депресії. Саме наслідки такого впливу найбільш доцільно й логічно розглянути докладніше.

Оскільки мова йде саме про вплив, навмисно не акцентуємо увагу на ефективності вилучення, хоча дослідження інших спеціалістів [6; 7], а також наші спостереження свідчать про те, що ефективність вилову за допомогою електротрала, зокрема рослиноїдних риб, збільшується у 10–50 разів.

У межах Дніпропетровської області у промислових цілях застосовується електротрал ЕЛУ-4М тільки на двох штучно створених водоймах питного й промислового водопостачання м. Кривий Ріг (Південне водосховище та Зеленодольська водойма-охолоджувач ТЕС). Лов, згідно зі спеціально розробленим режимом рибогосподарської експлуатації, проводиться винятково в осінньо-зимовий період (із жовтня до льодоставу). Проведений аналіз власних даних, а також доступних літературних джерел, дозволяє виділити основні положення.

1. Насамперед доведеним вважається, що рухливіші риби (із підвищеним рівнем метаболічного обміну) мають нижчі граничні значення реакцій. Такими у період переважного застосування електротрала у досліджених водосховищах (вересень–січень) є рослиноідні риби (товстолобик білий, строкатий, їх гібридна форма). Це перший факт на користь позитивної селективності вилучення даним знаряддям лову видів-інтродуцентів. По-друге, нашими дослідженнями підтверджено встановлене в минулому положення [7], що підвищення вікової опірності великих риб придушується зростанням загального струму в їх тілі (через збільшення різниці потенціалів за довжиною тіла). Переважний вплив припадає на старші вікові групи, що також забезпечує селективність при застосуванні електротрала. Таким чином, відбувається вилучення старших вікових груп риб (у даному випадку – крупнорозмірних особин товстолобика) без масштабного захоплення інших видів у сезон роботи даного знаряддя (жовтень–листопад). Ця концепція, експериментально доведена ще наприкінці 1960-х років, підтверджується також нашими даними. У контрольних ловах електротралом частка товстолобика за кількістю становить від 75 до 80 %, а за біомасою – від 90 до 99 %.

2. Травмування риб при впливі електротрала найчастіше відбувається не в результаті впливу безпосереднього електричного струму, а при перебуванні риби в зоні поблизу електродного простору, а також при торканні риб до електродів. Однак сама зона цього простору та площа електродів складають невеликий відсоток (до 10 %) порівняно із зоною опосередкованого впливу полем. Основна кількість риб реагує на вплив електротралом стадією депресії й приспання ще до потрапляння в зону можливого травмування та накопичується в матні трала у неушкодженому стані. У цьому полягає вигідна відмінність електротрала від інших знарядь лову – після настання стадії депресії й приспання травмування риб не відбувається.

3. Найчутливіші на стадії торкання електродів і перебування в електродному просторі хижі риби (судак, щука, окунь). У 30 % випадків (за нашими даними) контакт з електродами закінчується летальним результатом. Відбувається це з причин порушення дихальної функції. Хижі оксифільні риби, особливо судак, «оживають» набагато довше (до 3 хв). Перебуваючи у стадії шоку, ці риби не устигають відновити процеси, необхідні для поновлення дихальних функцій.

4. Близько 20 % молодших вікових і дрібнорозмірних риб, що потрапили в поле дії трала в денний час, але пройшли крізь вічко і потрапили на поверхню, поїдаються чайками, решта встигають піти в нижні шари води. Процентне співвідношення загиблих екземплярів і особин, що пройшли процес релаксації і відновлення життєвих функцій у придонних шарах, із технічних причин установити не можливо. Згідно з упродовженим режимом рибогосподарської експлуатації, крок вічка у кутку електротрала становить не менше 40 мм, у крилах – 70 мм. Таким чином, більшість перших поколінь аборигенних риб електротралом не вилучається.

5. Серед летальних наслідків, як у літературних джерелах, так і за нашими даними, відзначаються окремі функціональні порушення (травми, синці, розриви м'язів і деякі аномалії у складі крові). Інші відзначені порушення у вигляді зниження рухової активності, зміни стадних поведінкових ознак, зміни пігментації тощо – найчастіше цілком відновлюються.

6. Час повного відновлення до норми корошових риб коливається, залежно від виду, розміру тіла та температури води, від декількох десятків секунд до двох годин. Нашими спостереженнями встановлено, що риби молодших вікових груп при вилученні з трала відновлюють активність через 20–30 секунд. Хронометраж «оживання» також показав, що найбільші особини рослиноїдних риб (від 70 см і вище) виходять із

шоку в період 30–60 с і надалі не виявляють ознак повторного приспання або снулості, а при розміщенні в садках поводяться абсолютно адекватно аж до вилучення (у проведених спостереженнях – до двох тижнів). Факт повного відновлення зазначених функцій не викликає сумнівів і пояснюється механізмом впливу струму на організм риб: основною причиною прояву депресивних функцій у результаті впливу електричного струму є порушення регуляційних механізмів організму, що призводять до тимчасового нервового виснаження, а не до незворотних змін.

7. При роботі електротрала в пелагічній частині досліджених водосховищ в осінньо-зимовий період, прилов, здебільшого, не реєструється або не перевищує 5 % від кількості вилучених риб. Основну масу прилову складають особини вирощуваних (рослиноїдних) видів риб.

8. Особини, вилучені за допомогою електротрала, легше переносять період перебування в садках, ніж вилучені звичайним неводом і, тим більше, сітками. Риби при потраплянні в електротрал під впливом електроструму впадають у стан «наркозу», не доходять до стресового стану, у тому числі гіперактивності і пов'язаних із нею механічних ушкоджень різного ступеня ваги, що може спричинити прискорену елімінацію.

9. З проявів, що не спостерігалися у риб інших водойм Дніпропетровської області, відзначена резорбція однієї гонади (у декількох особин ляща; у 1996–2009 рр. встановлено 6 таких особин). Однак у основної маси риб обидві гонади розвинуті нормально, а для доказу резорбції як реакції на дію електричного струму електротрала необхідна набагато більша кількість зафіксованих особин із даним відхиленням.

10. Як указувалося вище, Південне водосховище та Зеленодольська водойма-охолоджувач ТЕС не належать до природних водойм. Вони штучно створені як водойми-накопичувачі питної та виробничих вод, тобто функціонують у режимі, що задається людською діяльністю. Рибогосподарське використання цих водойм повинне враховувати весь комплекс діючих факторів і бути спрямованим на максимально ефективне використання продуктивних можливостей цих штучних екосистем, у тому числі за рахунок використання різних способів і типів знарядь лову. Однак така діяльність повинна враховувати комплекс охоронних заходів, спрямованих на збереження біорізноманіття компонентів середовища мешкання.

12. Основний негативний вплив електротрала – шкода, заподіяна риbam побічно (тим риbam, що піддалися впливові електротрала, але з якихось причин не потрапили до його кутка). Установити кількість загиблих риб від хижаків, у результаті вилучення птахами чи занурення, проблематично. Необхідні спеціальні дослідження із залученням аквалангістів.

13. Проблема впливу електролову на кормові організми вивчена набагато детальніше в силу простоти проведення експериментів і доступності одержання безпосередніх даних під час роботи електротрала. Інформаційний пошук показав, що більшість авторів погоджується з тим, що зі зменшенням розмірів і рівня організації гідробіологічних об'єктів небезпека наслідків зменшується через спрощення або відсутність основного об'єкта впливу – нервової системи. Чисельні значення загибелі зоопланктону й бентосу в результаті дії електролову не були виявлені. Тралення із застосуванням електричного струму, безумовно, впливає на інші об'єкти гідробіоти, однак, оскільки проводиться воно у пізньоосінній і зимовий періоди, після того, як більшість гідробіонтів або припинили існування, або перейшли у фазу зимівлі, установити його вплив на цих тварин не вдалося. У Південному водосховищі трал експлуатується винятково у пелагічній глибоководній зоні, у товщі води. Таким чином, вплив

на мілководні й придонну глибоководну зони й організми, що там живуть, або мінімальний, або відсутній. Оскільки ступінь впливу на гідробіонтів не встановлений, застосування трала в мілководній зоні на акваторії Південного водосховища було заборонене.

14. Особливо варто підкреслити, що мова йде про промислові трали з чітко вивіреними експериментально та закладеними технологічно параметрами струму. Аматорські електроловні пристрої завдають величезної безсумнівної шкоди водним живим ресурсам, оскільки параметри струму, закладені в них, розраховані на ефективність ураження, тобто на летальний результат. Крім того, саморобні електроловні пристрої «електровудки», в основному, застосовуються у прибережній зоні. За нашими спостереженнями, до 70 % уражених цим знаряддям риб складають малорозмірні особини та молодь. Виходячи з доведеної ще в 1960–1970 роки більшої стійкості малорозмірних риб до впливу струму, можна припустити, що значна частина крупнорозмірних риб не вилучається, а гине й залишається на дні водойми.

Висновки

Короткочасний шоківий стан риб є, головним чином, результатом загального пригнічення периферичної й центральної нервової систем, а не результатом яких-небудь органічних змін інших функціональних систем або тканин. Небезпеку безпосередніх і, тим більше, віддалених наслідків на даному етапі вивченості питання можна вважати недоведеною. Кількісно неясним залишається збиток від загибелі шоківаних риб, які не потрапили до трала у результаті поїдання птахами, хижаками або від занурення в мул, до моменту відновлення їх функцій.

Вплив промислового електротрала не може бути ідентифікований як абсолютно негативний і катастрофічний. Його не можна вважати досконально вивченим, що викликає необхідність постійного контролю за його діяльністю. Експлуатація промислового електротрала, при всьому його неоднозначному впливі на біоту, у штучно створених, а також ізольованих водоймах, в обмежених тимчасових рамках і межах застосування (місцях лову), катастрофічно не впливає на гідроекосистему.

Отримані результати свідчать про можливість застосування електротрала на акваторії штучно створених водойм згідно з регламентаціями, викладеними у режимах експлуатації, під регулярним контролем наукових і природоохоронних організацій.

Промисловий електролов рекомендується обмежити штучними водоймами, що не мають повних характеристик природних і орієнтовані на вузькоспрямоване специфічне інтенсивне рибництво, з акцентом на рослиноїдні або інші види-інтродуценти. Безпечно з екологічного погляду застосування електротрала може бути забезпечене його застосуванням у пелагічній частині цих водойм, винятково в осінньо-зимовий період (із жовтня поточного року до льодоставу, у випадку відсутності льодоставу – до другої декади лютого). Доцільне також застосування трала з вічком не менше 70 мм не тільки в крилах, а й у кутку.

Бібліографічні посилання

1. **Інструкція** про порядок спеціального використання риби та інших водних живих ресурсів. – Мін-во аграрної політики України, наказ від 11.11.2005 р., № 623/404. – К., 2005. – 18 с.
2. **Извеков И. П.** Экологическая безопасность электролова рыбы и эффективность промысла во внутренних водоемах / И. П. Извеков, Г. А. Асланов // ВНИЭРХ, ОИ. – 2000. – № 2. – 68 с.
3. **Методи** гідроекологічних досліджень поверхневих вод / О. М. Арсан, О. А. Давидов, Т. М. Дьяченко та ін. – К. : Ін-т гідробіол. НАНУ, 2006. – 406 с.

4. **Методика** збору і обробки іхтіологічних і гідробиологічних матеріалів з метою визначення лімітів промислового вилову риби із великих водосховищ і лиманів України. – К. : ІРГ УААН, 1998. – 47 с.
5. **Правдин И. Ф.** Руководство по изучению рыб / И. Ф. Правдин. – М. : Пищевая пром-сть, 1966. – 243 с.
6. **Христенко Д. С.** Використання електротрала ЕЛУ-4М для організації спецлову рослиноїдних риб на водоймі-охолоджувачі Бурштинської ТЕС // Рибне госп-во. – К., 2005. – С. 127.
7. **Стернин В. Г.** Электролов. Основы теории и практика / В. Г. Стернин, И. В. Никоноров, Ю. К. Бумейстер. – М. : Пищевая пром-сть, 1972. – 223 с.
8. **Lamarque P.** Electrophysiology of fish in electric fields / P. Lamarque, I. G. Cowx // Fishing with electricity, applications in freshwater fisheries management. Fishing News Books. – Oxford : Blackwell Scientific Publications Ltd. – P. 4–33.
9. **Khakimullin A. A.** Effect of pulse electric shock on reproductive ability and progeny of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* (Acipenseridae) / A. A. Khakimullin, N. A. Parfenova // Journal of Ichthyology. – 1984. – Vol. 24. – P. 122–129.
10. **Marrriott R. A.** Effects of electric shocking on fertility of mature pink salmon // Progressive Fish-Culturist. – 1973. – Vol. 35. – P. 191–194.
11. **Snyder D. E.** Effects of electrofishing on fish embryos, larvae, and early juveniles // American Fisheries Society Early Life History Section Newsletter. – 1994. – Vol. 15, N 1. – P. 10–13.
12. **Vibert R.** General report of the working party on the applications of electricity to inland fishery biology and management // R. Vibert (ed.) Fishing with electricity, its application to biology and management. – London : Fishing News (Books) Ltd., 1967. – P. 3–51.

Надійшла до редколегії 23.03.2010

УДК 581.5:470.44/47

О. В. Ляпустіна

Український державний хіміко-технологічний університет

**КУЛЬТУРА ІЗОЛЬОВАНИХ ЗЕРНІВОК
ЯК БІОТЕХНОЛОГІЧНА СИСТЕМА ДОРОЩУВАННЯ
ЗИГОТИЧНИХ ЗАРОДКІВ КУКУРУДЗИ *IN VITRO***

З'ясовано можливість отримання життєздатних зародків повної зрілості в культурі ізольованих зернівок кукурудзи на штучному живильному середовищі в умовах *in vitro* від зиготи / проембрію та глобулярної стадії. Встановлено факт накопичення крохмалю в ендоспермі під час культивування на штучному живильному середовищі. Внутрішній стан зернівки може слугувати маркерною ознакою дозрівання зародків і накопичення крохмалю в ендоспермі незалежно від генотипу. Генотип, вік культивованих зернівок і концентрація сахарози впливають на розвиток ендосперму, накопичення у ньому крохмалю та дорощування зародків від зиготи / проембрію та глобулярної стадії.

Е. В. Ляпустина

Украинский государственный химико-технологический университет

**КУЛЬТУРА ИЗОЛИРОВАННЫХ ЗЕРНОВОК
КАК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДОРАЩИВАНИЯ
ЗИГОТИЧЕСКИХ ЗАРОДЫШЕЙ КУКУРУЗЫ *IN VITRO***

Установлена возможность получения жизнеспособных зародышей полной спелости в культуре изолированных зерновок кукурузы на искусственной питательной среде в условиях *in vitro* от зиготы / проэмбрио и глобулярной стадии. Установлен факт накопления крахмала в эндосперме во время культивирования на искусственной питательной среде. Внутреннее состояние зерновки может служить маркерным признаком созревания зародышей и накопления крахмала в эндосперме, независимо от генотипа. Генотип, возраст культивированных зерновок и концентрация сахарозы влияют на развитие эндосперма, накопление в нем крахмала и доращивание зародышей от зиготы/проэмбрио и глобулярной стадии.

Е. V. Lyapustina

Ukrainian State University of Chemical Engineering

**CULTURE OF ISOLATED CARYOPSIS
AS A BIOTECHNOLOGICAL SYSTEM FOR THE UPGROWING
OF MAIZE ZYGOTIC EMBRYOS *IN VITRO***

The investigation established the possibility of production of maize embryo in culture of isolated caryopsis on artificial nutrient medium *in vitro* conditions from a zygote / proembryo and globular stage up to the full maturity. It was determined that the cultivation of caryopsis on artificial nutrient medium provides the accumulation of starch in endosperm. The internal state of cultured caryopsis can be considered as a marker of embryo upgrowing and starch accumulation in endosperm, irrespective of the genotype. The genotype, the age of cultured caryopsis and concentration of sucrose influence on the development of endosperm, accumulation of starch in endosperm and embryo upgrowing from the zygote / proembryo and globular stage.

Вступ

Розвиток у культурі *in vitro* елементів чоловічої та жіночої генеративної сфери від ранніх етапів до зрілості, що передбачає культивування на штучних живильних середовищах – перспективний напрям моделювання та пояснення процесів регенерації рослин [9]. Поширені дослідження *in vitro* культур зигот, зародкових мішків і зародків [3]. Ці елементи становлять великий інтерес для широкого кола генетичних маніпуляцій: ізолювання гамет, їх злиття, дорощування отриманих зигот і ізолюваних зародкових мішків, що вміщують зиготу або проембрію, дорощування ізолюваних незрілих зародків. Процедура ізоляції елементів зернівки працезатратна, тривала, потребує застосування ферментів, що дають обмежені перспективи для використання досліджуваних об'єктів, через їх сумнівну життєздатність [1; 5; 16].

Умови під час культивування повинні максимально наблизитися до умов на рослині. Тому проводять культивування із частиною тканин материнського або батьківського організму для тривалого росту [6]. Умови розвитку ендосперму та зародків не збігаються, кожен із них потребує особливих умов культивування [4; 8]. У кукурудзи позитивні результати отримано при культивуванні запліднених зародкових мішків із тканинами нуцелусу, покривами насіння [1; 15]. Для тютюну, пшениці та рису використовували яйцеклітини під час культивування ізолюваних зигот [5; 14; 17].

Ізолювані зернівки – вдалий об'єкт дослідження факторів, що істотно впливають на регенераційні процеси рослин. З'ясуванню підлягають вплив генотипу та віку культивованих об'єктів, тривалість культивування, встановлення оптимальної концентрації вуглеводів і фітогормонів, необхідність застосування субкультури тощо. Культивування цілих зернівок дозволить детальніше вивчити фізіологію розвитку ендосперму, зародка та зернівки в цілому. Шляхами дослідження можуть бути ембріологічний і метаболічний напрями, тобто як з погляду формування та розвитку ендосперму, зародка, так і з погляду вуглеводного та азотного обміну речовин. Культура зернівок кукурудзи, ізолюваних від качана, в умовах *in vitro* донині не вивчалася. У культурі *in vitro* зернівки кукурудзи із сегментами качана були використанні у дослідженнях вуглеводного та білкового метаболізму [2; 12; 13]. В умовах *in vivo* в ізолюваних зернівках досліджено крохмале-ліпідний баланс [10].

Вибір живильного середовища досить важливий, він вказує на спроможність і компетентність системи *in vitro*. Середовище впливає на розвиток експлантатів, не тільки забезпечуючи умови для розвитку, а й діючи на можливість прискорення розвитку досліджених об'єктів. Базовим і універсальним середовищем для багатьох видів рослин різного віку, різного типу експлантатів є середовище Мурасиге – Скуга. Але універсальне не означає краще. Залишається проблема оптимізації живильного середовища для кожного виду рослин і для кожного випадку окремо.

Під час культивування ізолюваних об'єктів різних генотипів можуть бути відсутні відмінності відносно часу першого поділу зиготи, і на перший погляд вибрані генотипи мають рівні вірогідності розвитку. Але головна відмінність полягає у потенціалі зиготи при подальшому розвитку та утворенні багатоклітинних структур. Генотип впливає на можливість розвитку зиготи шляхом прямого ембріогенезу, утворення калусу або декількох зародків з однієї зиготи. Є свідчення про вплив генотипу на культуру зигот тютюну [5], рису [11], пшениці [7]. Незважаючи на наявність свідчень щодо важливості впливу генотипу в процесі культивування рослин, цьому питанню для кукурудзи було приділено недостатньо уваги. Вік культивованих об'єктів також має суттєвий вплив на подальший розвиток. Це може бути пов'язано з рівнями ендогенних гормонів, склад яких у різному

віці різний. У зв'язку з цим існує необхідність оптимізації складу живильного середовища відповідно до віку культивованого матеріалу та навпаки [1; 5].

Зважаючи на наведене вище, мета даної роботи – оцінити можливості зиготичного розвитку в культурі ізольованих зернівок кукурудзи *in vitro* та з'ясувати оптимальні умови для цього, встановити вплив генотипу та віку на розвиток складових елементів зернівки, концентрації вуглеводів і фітогормонів.

Матеріал і методи досліджень

Матеріал для дослідження – інбредна лінія кукурудзи ДК366, прості гібриди кукурудзи А22хДК307, ДК2/477-322хА22, ДК675хYuR75 та популяція ДК377. Для експлантації на живильне середовище використовували ізольовані зернівки у віці 1–3-ї та 5–7-ї доби після запилення. Качани без обгорток поверхово стерилізували у 70° етиловому спирті протягом 1–2 с і триразово промивали у стерильній дистильованій воді.

Основне індуктивне середовище у культурі зернівок – модифіковане живильне середовище NBM за R. Mol [8], яке вміщувало макросолі N₆, мікросолі B₅, 0,1 мг/л тіаміну гідрохлориду, 0,5 мг/л піридоксину гідрохлориду, 0,5 мг/л нікотинової кислоти, 7 г/л агару, 90, 120, 150 та 200 г/л сахарози та 1, 2 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП). Ізольовані зернівки культивували у чашках Петрі, у положенні зародком до середовища. Культивування проводили при температурі +26 °С у темряві. Розвиток зернівок і зародків *in vitro* оцінювали за такими показниками як довжина зернівки, зовнішній і внутрішній стан зернівки, наявність розвиненого ендосперму та зародка, правильність сформованих зародків, присутність крохмалю у ендоспермі. Для виявлення крохмалю використовували реактив Люголя. Зародки та зародкові мішки пророщували на середовищах: P₅ і P₆, що містили макро- та мікросолі MS у половинній концентрації, 0,1 мг/л тіаміну гідрохлориду, 0,5 мг/л піридоксину гідрохлориду, 0,5 мг/л нікотинової кислоти, 15 г/л сахарози, 50 мг/л мезоінозиту, 25 мг/л вітаміну C, 6 г/л агару, середовище P₆ додатково містило 2,5 г/л активованого вугілля.

Вплив генотипів на розвиток зернівок кукурудзи та їх складових від стадії зиготи / проембрію вивчали при культивуванні ізольованих зернівок генотипів ДК675хYuR75 та ДК377 у віці другої доби після запилення на середовищі NBM з 150 г/л сахарози та 1 мг/л БАП. Від глобулярної стадії зародка вивчали ізольовані зернівки генотипів ДК366, А22хДК307, ДК2/477-322хА22 у віці 5–7 діб після запилення під час культивування на середовищі NBM з 90 г/л сахарози та 1 мг/л БАП. Вплив віку культивованих об'єктів, концентрацій сахарози та 6-бензиламінопурину вивчали при культивуванні ізольованих зернівок кукурудзи гібриду ДК675хYuR75. Концентрацію сахарози досліджували на середовищі NBM з 1 мг/л БАП для зернівок у віці другої доби після запилення, концентрацію 6-бензиламінопурину – NBM з 150 г/л сахарози, для зернівок у віці третьої доби після запилення. Культивування для встановлення впливу віку зернівок проводили на середовищі NBM з 150 г/л сахарози та 1 мг/л БАП, для зернівок у віці першої–третьої доби після запилення.

Результати та їх обговорення

На момент експлантації довжина зернівки кукурудзи генотипів ДК675хYuR75, ДК377 у віці 1–3-ї доби після запилення та генотипів А22хДК307, ДК2/477-322хА22, ДК366 у віці 5–7 діб після запилення складала приблизно 2,0–3,0 та 4,5–5,0 мм відповідно. Досліджені зернівки належать до незрілих. На 1–3-ю добу після запилення зернівка містила зародковий мішок (рис. 1а, б), довжиною приблизно 0,1 мм, зиготу або проембрію та декілька ядер ендосперму. На 5–7-му добу після запилення зернівка вмі-

щувала зародковий мішок (рис. 1в, з) довжиною приблизно 1,2 мм і зародок – 0,1 мм. Зародок перебував на глобулярній стадії. Ендосперм у цей час перебуває у процесі клітиноутворення, крохмаль в ендоспермі відсутній.

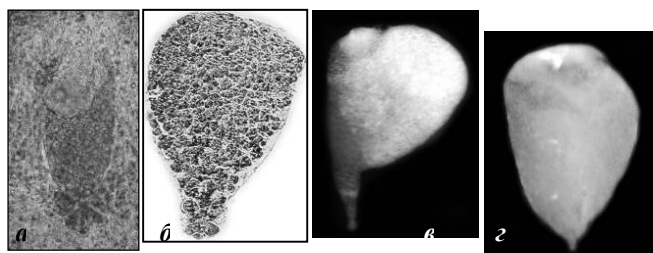


Рис. 1. Зародкові мішки кукурудзи: а – зародковий мішок на 1-шу добу після запилення; б – ізолюваний зародковий мішок на 3-тю добу після запилення; в – ізолюваний зародковий мішок на 5-у добу після запилення; з – ізолюваний зародковий мішок на 7-му добу після запилення; а, б – $\times 400$, в, з – $\times 64$

При культивуванні ізолюваних зернівок спостерігалось збільшення їх довжини, але достовірної різниці між різними генотипами не виявлено (табл. 1, 2). Це справедливо для культивування зернівок і від зиготи / проембрію, і від стадії глобулярного зародка. При культивуванні зернівок від стадії зиготи / проембрію, їх довжина на 50-ту добу збільшилася на 53,6 % для гібриду ДК675хYuR75 та на 54,8 % для популяції ДК377, порівняно з довжиною зернівки на момент експлантації (див. табл. 1). Зернівки від глобулярної стадії зародка зросли на 17 % для лінії ДК366, на 18 % – для гібриду А22хДК307 та на 22,4 % – для гібриду ДК2/477-322хА22 порівняно з довжиною зернівки на момент експлантації (див. табл. 1). Встановлена закономірність відповідає динаміці розвитку *in vivo*, але меншою мірою, оскільки зернівки у природних умовах виростають приблизно до 8 мм. Довжина зернівок досліджених генотипів на 27-му добу після запилення склала приблизно 8,4 мм.

Таблиця 1

Вплив генотипу на розвиток зернівок кукурудзи та їх складових від стадії зиготи / проембрію на 2-гу добу після запилення

Генотип	Вивчено зернівок, екз.	Довжина зернівки після культури, мм*	Частота зернівок (%), що містили			
			розвинений ендосперм із крохмалем	сформований зародок	сформований зародок правильної будови	життєздатний зародок
ДК675хYuR75	100	3,84 \pm 0,14	2,0	2,0	2,0	2,0
ДК377	61	3,87 \pm 0,20	0	0	–	–

Примітка: * – дані представлено у вигляді $x \pm m$.

Таблиця 2

Вплив генотипу на розвиток зернівок кукурудзи та їх складових від глобулярної стадії зародку на 5–7-му добу після запилення

Генотип	Вивчено зернівок, екз.	Довжина зернівки після культури, мм*	Частота зернівок (%), що містили			
			розвинений ендосперм із крохмалем	сформований зародок	сформований зародок правильної будови	життєздатний зародок
ДК366	149	5,95 \pm 0,17	14,1	11,4	8,1	7,3
А22хДК307	98	6,08 \pm 0,17	1,0	1,0	1,0	0
ДК2/477-322хА22	57	6,12 \pm 0,27	1,8	1,8	1,8	0

Примітка: див. табл. 1.

При культивуванні змінювався внутрішній стан зернівок. Зернівки, що містили сформовані зародки (із точками зростання стебла та кореня, із сформованим щитком) та крохмаль у ендоспермі, були із білою, виповненою, м'ясистою, щільною або білою висохлою внутрішністю (рис. 2а). Зернівки, що мали добре розвинені, міцні покриви та рідинне або драглисте наповнення, не накопичували крохмаль у ендоспермі та не містили розвинутого зародка (рис. 2б). Внутрішній стан зернівки може слугувати маркерною ознакою дозрівання зародків і накопичення крохмалю в ендоспермі під час культивування ізольованих зернівок.

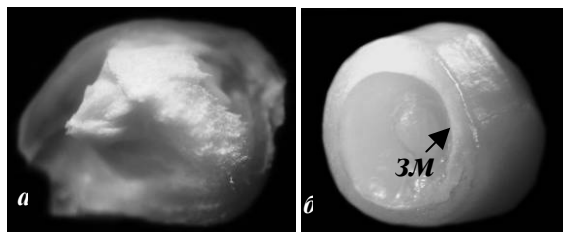


Рис. 2. Зернівка кукурудзи у розрізі після культивування *in vitro*: а – зернівка (поздовжній зріз), що містила розвинутий зародок та ендосперм; б – зернівка (поперечний зріз) із міцно розвинутими покривами, що містила нерозвинутий зародковий мішок; зм – зародковий мішок; оптичне збільшення $\times 32$

Дослідження впливу генотипу на розвиток ендосперму та накопичення у ньому крохмалю виявило стійку залежність від генотипу. Незрілі зернівки у віці 1–3-ї доби після запилення містили у зародковому мішку лише декілька ядер ендосперму. При наступному культивуванні спостерігався розвиток ендосперму (2%), що одночасно накопичував крохмаль, у одного з двох досліджених генотипів ДК675хYuR75 (див. табл. 1). Незрілі зернівки у віці 5–7-ї доби після запилення містили ендосперм, що закінчував процес клітиноутворення. У інбредної лінії ДК366 накопичення крохмалю після культивування йшло інтенсивніше (14,1%) порівняно з гібридами А22хДК307 та ДК2/477-322хА22, у яких лише одиничні зернівки накопичували крохмаль під час культивування (див. табл. 2).

Дозрівання зародків у культурі ізольованих зернівок кукурудзи також залежить від генотипу. Це справедливо для дозрівання зародків від зиготи / проембрію і від глобулярної стадії (див. табл. 1, 2). У ранньостиглої лінії ДК366 отримано 11,4% сформованих зародків, 70,6% з яких правильної будови (у тому числі зародок зі збільшеними точками зростання та зародок, що проріс у зернівці), що дали рослини при наступній регенерації (рис. 3а–в) (див. табл. 2). Інші зародки були сформовані, але не правильної будови (рис. 3г). Оцінка життєздатності виявила, що 64,3% зародків інбредної лінії, з усіх дозрілих, були життєздатними, тобто спроможними дати зелені пагони довжиною 1,5–13,5 мм і довжиною кореневої системи 0,2–10,5 мм (рис. 3г, д). У гібридів А22хДК307 та ДК2/477-322хА22 нормальні зародки отримано, але вони не проявили себе як життєздатні. Зародки, що перебували на глобулярній та перехідній стадії, при підрахунках не враховували. Довжина зародка після культивування склала 1,75–2,05 мм для інбредної лінії ДК366.

Під час культивування ізольованих зернівок у віці 1–3-ї доби після запилення відбувалося дозрівання зародків від стадії зиготи / проембрію (див. рис. 1а, б) до повністю зрілого сформованого стану (рис. 4а, б), що проросли у 2% зернівок гібриду ДК675хYuR75 (див. табл. 1). Проросток спрямований до середовища (рис. 4в), ззовні зернівки спостерігався отвір (рис. 4г).

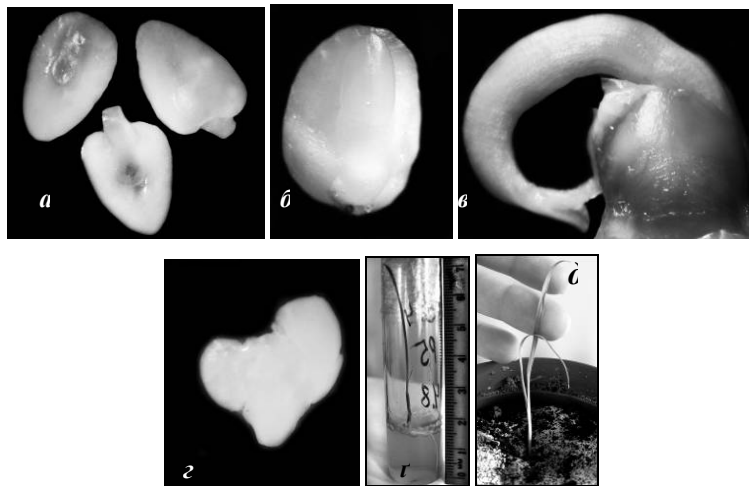


Рис. 3. Зародки кукурудзи та проростки з них після культивування *in vitro*:
a – сформовані зародки правильної будови; *б* – сформований зародок зі збільшеними точками зростання; *в* – зернівка, в якій проріс зародок; *г* – сформований зародок неправильної будови;
г – проросток на 14-у добу при регенерації ізольованих зародків;
д – проросток у ґрунті; *а, б, г* – $\times 64$, *в* – $\times 32$

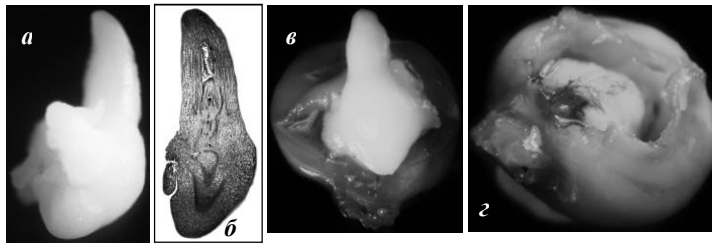


Рис. 4. Зародок та зернівка 2-ї доби після запилення, в якій він проріс до 50-ї доби культивування: *а* – зародок (живий), *б* – зародок (фіксований препарат),
в – зародок, що проріс у зернівці, спрямований до живильного середовища;
г – зернівка, в якій проріс зародок, мала отвір ззовні; *а, в, г* – $\times 32$, *б* – $\times 400$

Під час дослідження віку культивованих незрілих ізольованих зернівок відмічено тенденцію, що зернівки різного віку потребують різних умов культивування. Встановлено, що досліджені умови культивування (середовище NBM з 150 г/л сахарози та 1 мг/л БАП) однозначно не підходять для культивування зернівок у віці 1-ї доби після запилення, бо вони всі повністю луснули (рис. 5), не містили розвиненого ендосперму та зародка (табл. 3). Майже половина зернівок 3-ї доби також луснули, а зернівки 2-ї доби луснули лише у 9 % (див. табл. 3). Приблизно чверть досліджених зернівок кожного віку виявилися пустими та повністю висохлими після культивування (див. табл. 3). Достовірної різниці між довжиною зернівки 2 та 3-ї доби після культивування не виявлено (див. табл. 3). Зернівки 2 та 3-ї доби після запилення містили приблизно однакову кількість розвиненого ендосперму, що при цьому накопичив крохмаль (див. табл. 3). Зернівки 2-ї доби після запилення одночасно містили й розвинені зародки, що проросли у зернівках (див. табл. 3, рис. 4в), їх ендосперм був дещо більшого розміру (3,5 мм, на відміну від 2 мм ендосперму, який містили зернівки 3-ї доби після культивування).

Таким чином, вік і генотип досліджуваних ізольованих незрілих зернівок кукурудзи мають суттєвий вплив при культивуванні, з метою розвинення ендосперму та

зародків від стадії зиготи / проембрію. Це може бути пов'язано з різним рівнем ендогенних гормонів і генетичним потенціалом узагалі.

Таблиця 3

Вплив віку на культуру незрілих зернівок кукурудзи

Доба після запилення	Вивчено зернівок, екз.	Довжина зернівки після запилення, мм	Довжина зернівки після культури, мм*	Частота зернівок (%), що луснули	Частота зернівок (%), що були пусті	Частота зернівок (%), що містили розвинутий		
						ендосперм із крохмалем	зародок	зародок і ендосперм одночасно
1	15	2,0	–	100,0	26,7	0	0	–
2	100	2,5	3,84 ± 0,14	9,0	25,0	2,0	2,0	2,0
3	90	3,0	4,04 ± 0,21	42,2	27,8	2,2	0	–

Примітка: див. табл. 1.

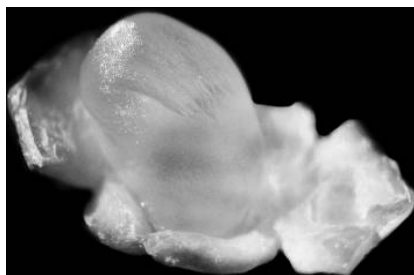


Рис. 5. Зернівка кукурудзи 1-ї доби після запилення, яка повністю луснула на 5-ту добу в культурі *in vitro*: × 32

Проведене дослідження впливу різної концентрації 6-бензиламінопурину на культуру незрілих зернівок *in vitro*. Розвиток зародка не спостерігався у жодному випадку. В обох випадках спостерігали розвиток ендосперму (2,2 % зернівок містили ендосперм розміром 2 мм, у якому накопичився при цьому крохмаль). Відносно кращих результатів вдалося добитися з концентрацією 6-бензиламінопурину в 1 мг/л, що забезпечила вдвічі меншу кількість пустих, усохлих зернівок (табл. 4). Таким чином, концентрація 6-бензиламінопурину 1 або 2 мг/л не суттєво впливає на формування ендосперму та дорозвинення зародків від стадії зиготи / проембрію.

Таблиця 4

Вплив концентрації 6-бензиламінопурину на культуру незрілих зернівок кукурудзи

Концентрація 6-бензиламінопурину, мг/л	Вивчено зернівок, екз.	Довжина зернівки після культури, мм*	Частота зернівок (%), що луснули	Частота зернівок (%), що були пусті	Частота зернівок (%), що містили розвинутий		
					ендосперм із крохмалем	зародок	зародок і ендосперм одночасно
1	45	3,80 ± 0,18	46,7	15,6	2,2	0	–
2	45	4,24 ± 0,29	37,8	40,0	2,2	0	–

Примітка: див. табл. 1.

Під час дослідження впливу концентрації сахарози відносно кращих результатів вдалося добитися із середньою концентрацією, оскільки дозрівання зародків (у 1,1 % зернівок) та утворення ендосперму (у 2,1 % зернівок) відбулося на середовищі із 150 г/л сахарози, розвиток ендосперму спостерігався також на середовищі із 120 г/л сахарози, але меншою мірою (табл. 5). На середовищі з 200 г/л сахарози не спостерігалось розвитку ні зародка, ні ендосперму. Кількість пустих, висохлих ізсередини

зернівок приблизно однакова для трьох досліджених концентрацій. Кількість луснутих зернівок і їх довжина зменшувалися зі зростанням концентрації (див. табл. 5). На середовищі із 200 г/л сахарози покрити були занадто товсті порівняно з іншими варіантами концентрацій сахарози. Таким чином, концентрація сахарози впливає на формування ендосперму та дорозвинення зародків від стадії зиготи / проембрію.

Таблиця 5

Вплив концентрації сахарози на культуру незрілих зернівок кукурудзи

Концентрація сахарози, мг/л	Вивчено зернівок, екз.	Довжина зернівки після культури, мм*	Частота зернівок (%), що луснули	Частота зернівок (%), що були пусті	Частота зернівок (%), що містили розвинутий		
					ендосперм із крохмалем	зародок	одночасно зародок і ендосперм
120	119	4,34 ± 0,21	52,1	30,3	0,8	0	–
150	190	3,92 ± 0,12	24,7	26,3	2,1	1,1	1,1
200	41	3,38 ± 0,14	4,9	24,4	0	0	–

Примітка: див табл. 1.

Із погляду на утрудненість ізоляції та роботи з елементами сім'язачатка кукурудзи альтернативою може бути проведення генетичних маніпуляцій у середині нього, без шкідливої ізоляції складових. Наступним етапом буде культивування цілих зернівок на живильному середовищі. Це дозволить максимально наблизитися до умов *in vivo* в культурі *in vitro*, бо усі процеси (формування та дозрівання зародка та ендосперму) будуть відбуватися глибоко зануреними у материнські тканини, як і на рослині. У даній роботі було максимально отримано 11,4 % зернівок із дозріванням зародків від глобулярної стадії до зрілого сформованого стану та 2 % – від зиготи / проембрію. Раніше продемонстровано, що у зернівці приблизно на 8-му добу в умовах *in vivo* концентрація цитокінінів сягає максимуму (цей вік відповідає пізній перехідній стадії розвитку зародка), а пізніше починає зменшуватися. Концентрація ауксинів у цей час зростає та починається диференціація органів зародка [1]. Ці відомості свідчать про необхідність подальшого дослідження ролі фітогормонів і, зокрема, ауксинів у формуванні органів зиготичного зародка кукурудзи. Існує потреба створення загальної технології зиготичного розвитку зародка за стадіями. Це передбачає індивідуальне визначення концентрації вуглеводів, фітогормонів і умов культивування взагалі для зиготи / проембрію, глобулярної, ранньої та пізньої перехідної стадій.

Висновки

Отримані дані свідчать про можливість дорощування та дозрівання зародків у культурі ізольованих зернівок кукурудзи та отримання життєздатних зародків, що дають міцні, добре розвинені зелені проростки. Встановлено факт накопичення крохмалю в ендоспермі під час культивування на штучному живильному середовищі. Внутрішній стан зернівки може слугувати маркерною ознакою дозрівання зародків і накопичення крохмалю в ендоспермі незалежно від генотипу. Встановлено вплив генотипу, віку культивованих незрілих зернівок і концентрації сахарози на розвиток ендосперму, накопичення у ньому крохмалю та дорощування зародків від зиготи / проембрію та глобулярної стадії. Не виявлено чітких закономірностей при застосуванні 1 та 2 мг/л 6-бензиламінопурина для культивування незрілих зернівок кукурудзи від зиготи / проембрію та глобулярної стадії.

Бібліографічні посилання

1. **A novel** technique for the partial isolation of the maize embryo sacs and subsequent regeneration of plants / J. D. Laurie, G. Zhang, I. E. McGann et al. // *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant.* – 1999. – Vol. 35. – P. 320–325.
2. **Cobb B. G.** Sugar utilization by developing wild type and Shrunken-2 maize kernels / B. G. Cobb, L. C. Hannah // *Plant Physiol.* – 1986. – Vol. 80. – P. 609–611.
3. **Dumas C.** Fertilization and early seed formation / C. Dumas, P. Rogowsky // *Comptes Rendus Biologies.* – 2008. – Vol. 331, N 10. – P. 715–725.
4. **Hauptli H.** Maize *in vitro* pollination with single pollen grains / H. Hauptli, S. Williams // *Plant Science.* – 1988. – Vol. 58. – P. 231–237.
5. **He Y.** Regeneration of fertile plants from isolated tobacco zygotes by *in vitro* culture / Y. He, M. Sun, H. Yang // *Chinese Science Bulletin.* – 2004. – Vol. 49, N 8. – P. 810–814.
6. **Kranz E.** *In vitro* fertilization: Analysis of early post-fertilization development using cytological and molecular techniques / E. Kranz, S. Scholten // *Sex Plant Reprod.* – 2008. – Vol. 21. – P. 67–77.
7. **Kumlehn J.** Differentiation of isolated wheat zygotes into embryos and normal plants / J. Kumlehn, H. Lörz, E. Kranz // *Planta.* – 1998. – Vol. 205. – P. 327–333.
8. **Mol R.** Embryogenesis and plant regeneration from maize zygotes by *in vitro* culture of fertilized embryo sacs / R. Mol, E. Matthys-Rochon, C. Dumas // *Plant Cell Reports.* – 1995. – Vol. 14. – P. 743–774.
9. **Nagata T.** Molecular genetic approaches to maize improvement / T. Nagata, H. Lorz, M. Widholm. – Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag, 2009. – 365 p.
10. **Positional cues** for the starch/lipid balance in maize kernels and resource partitioning to the embryo / H. Rolletschek, K. Koch, U. Wobus et al. // *The Plant Journal.* – 2005. – Vol. 42. – P. 69–83.
11. **Regeneration** of fertile plants from isolated zygotes of rice (*Oryza sativa*) / J. Zhang, W. H. Dong, A. Galli et al. // *Plant Cell Reports.* – 1999. – Vol. 19. – P. 128–132.
12. **Singletary G. W.** Nitrogen-induced changes in the growth and metabolism of developing maize kernels grown *in vitro* / G. W. Singletary, F. E. Below // *Plant Physiol.* – 1990. – Vol. 92. – P. 160–167.
13. **The effects** of modifying sucrose concentration on the development of maize kernels grown *in vitro* / B. G. Cobb, D. J. Hole, J. D. Smith et al. // *Annals of Botany.* – 1988. – Vol. 62. – P. 265–270.
14. **Uchiumi T.** Establishment of an *in vitro* fertilization system in rice (*Oryza sativa* L.) / T. Uchiumi, I. Uemura, T. Okamoto // *Planta.* – 2007. – Vol. 226. – P. 581–589.
15. **Zea mays** embryo sacs in culture. Plant regeneration from 1 day after pollination embryos / M. K. Campenot, G. Zhang, A. J. Culter et al. // *Amer. J. Bot.* – 1992. – Vol. 79. – P. 1368–1373.
16. **Zhao J.** Isolation and *in vitro* culture of zygotes and central cells of *Oryza sativa* L. / J. Zhao, C. Zhou, H. Y. Yang // *Plant Cell Reports.* – 2000. – Vol. 19. – P. 321–326.
17. **Zygote implantation** to cultured ovules leads to direct embryogenesis and plant regeneration of wheat / J. Kumlehn, R. Brettschneider, H. Lorz et al. // *Plant J.* – 1997. – Vol. 12. – P. 1473–1479.

Надійшла до редакції 26.01.2010

УДК 612.015:544

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. Олеся Гончара
Інститут гастроентерології АМН України*

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ТРИВАЛОМУ ЗАСТОСУВАННІ БЛОКАТОРА ВОДНЕВОЇ ПОМПИ

Вивчено зміни слизової оболонки шлунка щурів після тривалого застосування інгібітора протонної помпи – омепразолу. Встановлено підвищення концентрації пепсину, об'єму та *pH* як у тощаковій, так і у базальній порціях шлункового соку щодо контролю. При дослідженні вмісту нітратів та нітритів у шлунковому соку та змішаній слині щурів після 12-ї доби введення блокатора водневої помпи співвідношення показників складає 3 : 1.

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

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

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ БЛОКАТОРА ВОДОРОДНОЙ ПОМПЫ

Выявлены изменения слизистой оболочки желудка крыс после длительного применения ингибитора протонной помпы – омепразола. Наблюдали повышение концентрации пепсина, объема и *pH* как в тощачевой, так и в базальной порциях желудочного сока по сравнению с контролем. Содержание нитратов и нитритов в желудочном соке и смешанной слюне крыс после 12-го дня введения блокатора водородной помпы составляет 3 : 1.

М. V. Markina, A. K. Vyatkin, V. P. Lyashenko, A. I. Rudenko

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

FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE STOMACH AFTER LONG APPLICATION OF PROTON PUMP INHIBITORS

Changes of mucous membrane of rats' stomach after long term application of proton pump inhibition – Omeprazole. Increase of pepsin concentration, volume and *pH* in both fasting and basal gastric juice

in comparison with the control was observed. It is established that the content of nitrates and nitrites in gastric juice and in the rats' mixed saliva after the 12th day of introduction of proton pump inhibitors is 3:1.

Введение

В развитии ряда патологических состояний верхних отделов пищеварительного тракта (к которым относятся гастрит, язвенная болезнь и гастроэзофагальная рефлюксная болезнь) желудочной гиперацидности отводится важное место. Эти заболевания нередко объединяются в одну группу так называемых «кислотозависимых состояний». Одними из базисных препаратов, которые применяются при лечении «кислотозависимых заболеваний», являются антисекреторные препараты: блокаторы H_2 -гистамино-рецепторов (ранитидин, фамотидин, циметидин) и ингибиторы протонной помпы – ИПП (омепразол (омез), лансопризол) [4; 10]. Антисекреторные препараты надежно подавляют секрецию соляной кислоты и длительно удерживают в желудке нейтральные значения pH . В отличие от других антисекреторных препаратов, омез подавляет секрецию соляной кислоты в ответ на все известные стимулы. Использование омепразола, который является наиболее мощным ингибитором желудочной секреции [1] из препаратов ИПП в составе антигеликобактерной схемы у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в фазе обострения, позволяет добиться высоких клинических результатов. Влияние омепразола на последнюю стадию процесса образования желудочной кислоты является дозозависимым и контролирует процесс секреции в течение 24 часов [2; 3; 9].

В последнее время стали появляться данные, что широкое использование антисекреторных средств имеет и негативные аспекты, которые сопровождаются выраженным усилением морфологических и иммунологических проявлений воспаления слизистой оболочки желудка [6; 11; 12]. Это может быть связано как с механизмом действия препарата, так и с длительностью его применения. Решение данной проблемы и стало целью наших исследований.

Материал и методы исследований

Эксперимент проводили на белых крысах-самцах массой 200 г. В работе придерживались рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных согласно с Европейской конвенцией [7].

Изучены изменения слизистой оболочки желудка крыс после применения антисекреторного препарата – 5-метокси-2-[[[4-метокси-3,5-диметил-2-пиридинил]метил]сульфинил]-1Н-бензимидазол (омепразол) на 6-е и 12-е сутки введения. Обследовано 40 крыс, 20 из которых представляли контрольную группу. Крысам экспериментальной группы ежедневно вводили омепразол в концентрации 20 мг/кг. На 6-й и 12-й дни проводили забор слюны и желудочного сока. Исследовали его по кислотности, объему, концентрации пепсина, гликомукопротеинов, электролитному составу.

Проводили световую и электронную микроскопию биоптатов антрального отдела желудка на 12-й день введения омепразола. Эвтаназию животных проводили с помощью передозировки эфирного наркоза. После эвтаназии желудок разрезали по малой кривизне; для фиксации использовали 10 % формалин (1 часть концентрированного формалина, 9 частей 0,01 М PBS (фосфатного буфера); $pH = 7,2-7,4$).

Проводили макроскопическую оценку полученного препарата желудка. В работе использовали окраску образцов гематоксилином, эозином по методу ван Гизона. Этот метод имеет ряд преимуществ по сравнению с окраской гематоксилин-эозином, так как по-разному окрашиваются различные компоненты ткани. При окраске по методу ван Гизона употребляются два раствора: железистый гематоксиллин Вейгерта и кислая

смесь пикрофуксина. Проводили реакцию шифф-йодной кислотой (ШИК-реакция) и окраску альциановым синим по Стивдену.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Проведенные эксперименты по изучению показателей состояния желудочной секреции у крыс при длительном введении 5-метокси-2-[[[(4-метокси-3,5-диметил-2-пиридинил)метил]сульфинил]-1Н-бензимидазола показали, что объем и *pH* желудочного сока на 6 и 12-е сутки введения увеличивался как в тощачевой, так и в базальной порциях желудочного сока по сравнению с контролем (табл. 1, 2).

Таблица 1

Состояние желудочной секреции крыс при длительной блокировке водородной помпы, тощачевая порция желудочного сока

Показатели желудочной секреции	Контрольная группа	6-й день	12-й день
<i>V</i> , мл/10 мин.	0,25 ± 0,10	0,71 ± 0,33	0,36 ± 0,14
<i>pH</i>	1,69 ± 0,57	1,92 ± 0,80	3,47 ± 0,91*
Пепсин, мг/мл	0,71 ± 0,25	1,22 ± 0,51	0,97 ± 0,27
Гликопротеиды, мг/мл	0,032 ± 0,013	0,010 ± 0,004*	0,034 ± 0,009

Примечание: * – *p* < 0,05 по отношению к контролю.

Таблица 2

Состояние желудочной секреции крыс при длительной блокировке водородной помпы, базальная порция желудочного сока

Показатели желудочной секреции	Контрольная группа	6-й день	12-й день
<i>V</i> , мл/ч	1,53 ± 0,60	2,11 ± 0,87	1,99 ± 0,76
<i>pH</i>	1,71 ± 0,44	2,34 ± 1,07	2,99 ± 0,95
Пепсин, мг/мл	0,81 ± 0,24	1,10 ± 0,45	0,92 ± 0,28
Гликопротеиды, мг/мл	0,032 ± 0,009	0,012 ± 0,005*	0,027 ± 0,008

Примечание: см. табл. 1.

Известно, что пепсин действует только в желудке; при попадании в среду, близкую к щелочной, он становится неактивным. Процесс активации идет в несколько стадий и катализируется соляной кислотой желудочного сока. Поэтому, чем выше *pH*, тем меньше концентрация пепсина. Протеолитическая активность пепсина наблюдается при *pH* < 6, достигая максимума при *pH* = 1,5–2,0 [5].

Концентрация пепсина увеличивалась по сравнению с контролем как в тощачевой, так и в базальной порциях на 6-й день введения препарата. Но при исследовании слизеобразующей функции желудка установлено ее снижение, особенно выраженное на 6-е сутки. В базальной порции желудочного сока уменьшалась концентрация гликопротеидов и на 12-е сутки введения блокатора водородной помпы, в то время как в тощачевой порции наблюдалась тенденция к увеличению данного показателя.

Так как гликопротеиды необходимы для усваивания витамина *B*₁₂ и их отсутствие приводит к развитию *B*₁₂-дефицитной анемии, можно предположить, что повышение концентрации гликопротеидов в желудочном соке на 12-й день сказывается на усилении действия антианемического фактора Касла.

У крыс при длительной блокировке водородной помпы отмечено выраженное повышение концентрации нитритов и нитратов по сравнению с контрольной группой животных как в смешанной слюне, так и в желудочном соке (табл. 3).

Таблица 3

Содержание нитритов и нитратов в слюне и желудочном соке (тощаковая порция) крыс при длительном введении блокатора водородной помпы

Анионы	Смешанная слюна		Желудочный сок		
	контроль	12-й день	контроль	6-й день	12-й день
Нитриты, мг/л	3,12 ± 0,13	8,46 ± 0,26*	28,01 ± 0,03	43,60 ± 1,33*	52,92 ± 3,16*
Нитраты, мг/л	1,26 ± 0,04	3,60 ± 0,09*	2,14 ± 0,01	4,66 ± 0,18*	6,92 ± 0,01*

Примечание: * – $p < 0,001$ по отношению к контролю.

На 6-й день введения блокатора водородной помпы количество слюны у крыс было минимальным. На 12-й день слюноотделение животных восстановилось, именно поэтому были проанализированы данные по количеству анионов. Определение содержания нитритов и нитратов в смешанной слюне и в тощаковой порции желудочного сока крыс показало, что после 6 и 12-го дней введения 5-метокси-2-[[4-метокси-3,5-диметил-2-пиридирил)метил]сульфинил]-1Н-бензимидазола наблюдалось достоверное ($p < 0,001$ по отношению к контролю) увеличение массовой концентрации этих элементов.

Из литературных источников известно, что оксид азота является аутокринным и паракринным медиатором, так как, будучи синтезирован в каких-либо клетках, он способен влиять на метаболические процессы как в самих этих клетках, так и в клетках, расположенных по соседству. Реакция оксида азота с кислородом сопровождается образованием стабильных конечных продуктов (нитрита и нитрата), которые являются косвенными маркерами концентрации оксида азота в организме. Нитриты могут генерировать *NO* при ацидификации, что происходит в полости желудка [8].

Как видно из таблицы 3, содержание нитритов в слюне на 12-й день введения омепразола увеличилось в 2,7 раза по сравнению с контролем, в то время как в желудочном соке оно увеличилось лишь в 1,9 раза. Также наблюдается увеличение концентрации нитритов в желудочном соке на 6-й день приема антисекреторного препарата омепразола в 1,6 раза по сравнению с контролем. При исследовании содержания концентрации нитратов в желудочном соке и смешанной слюне на 12-й день введения блокатора водородной помпы установлено, что соотношенное показателей составило 3 : 1. В результате проведенных исследований особенно ярко выражены изменения на 12-е сутки введения 5-метокси-2-[[4-метокси-3,5-диметил-2-пиридирил)метил]сульфинил]-1Н-бензимидазола.

При морфологическом исследовании желудка экспериментальных животных определено, что в железах слизистой оболочки хорошо определялись главные, париетальные и дополнительные клетки. Наблюдалась воспалительная инфильтрация в подслизистом и в слизистом слое; вакуолизация цитоплазмы париетальных клеток, расширен просвет желез нижней трети (рис. 1).

Соединительная ткань у мышечной пластины развита очагово, тяжи до средней трети желез (рис. 2); присутствуют нейтрофилы – признак острого воспаления.

Лейкоцитарная и эозинофильная инфильтрация наиболее выражена в зоне ямок, у мышечной пластины зона главных клеток укорочена, железы очагово кистозно расширены, в том числе в средней трети; клеточные границы отдельных желез стерты, цитоплазма париетальных клеток «запустевшая», в виде бокалов. Сосуды мышечной

пластины расширены (рис. 3). Поверхностно-ямочный эпителий в норме, количество главных клеток снижено.

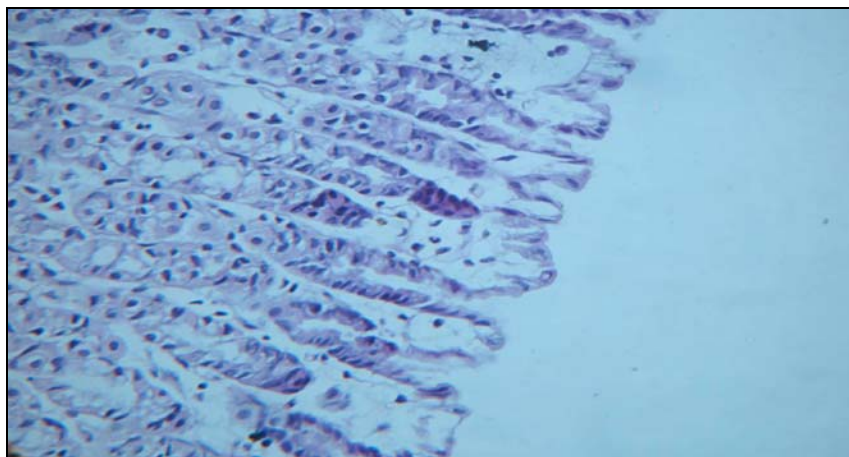


Рис. 1. Просвет желез нижней трети с кистозным расширением

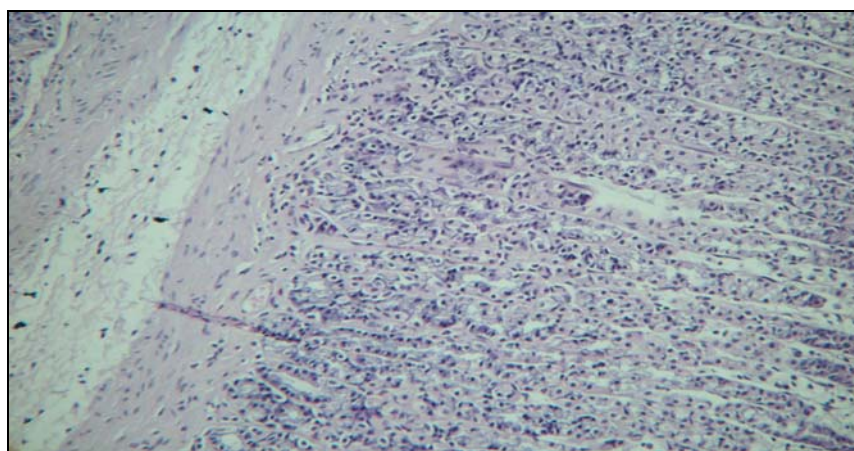


Рис. 2. Соединительная ткань у мышечной пластины

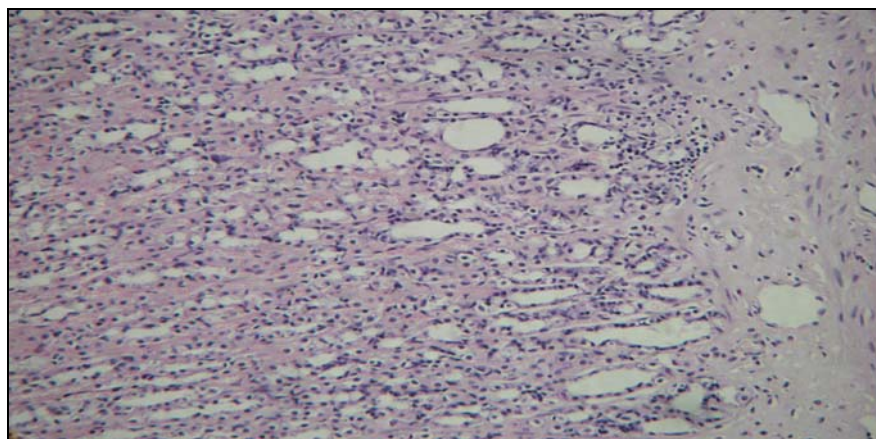


Рис. 3. Лейкоцитарная и эозинофильная инфильтрация в зоне ямок

Расширение просветов некоторых желез происходит одновременно с уплощением составляющих их клеток. В выстилке кистозных полостей значительно снижается

ферментативная активность. В процессе кистообразования большое значение имеют дисрегенеративные нарушения, начальные фазы которых могут даже сопровождаться гиперплазией железистой ткани (рис. 4).

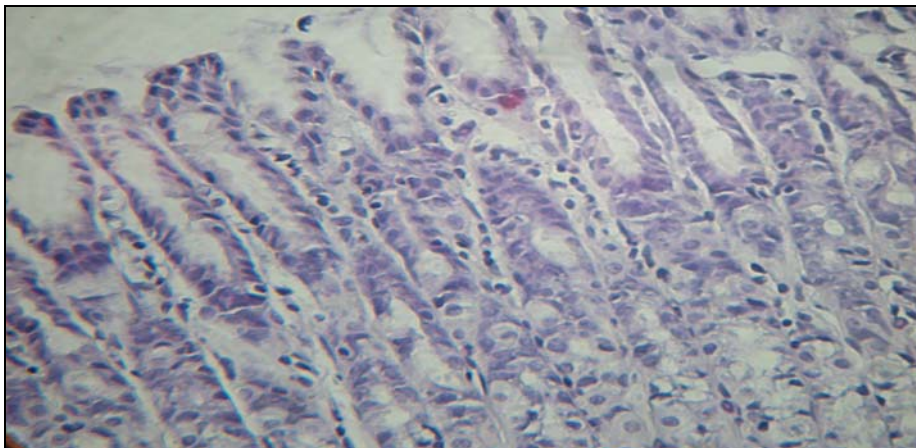


Рис. 4. Инфильтрация ямочной зоны

Усиление пролиферации специализированных клеток приводит к увеличению количества недифференцированных и добавочных клеток, достигающих дна желудка. Гиперплазия добавочных клеток приводит к пилоризации фундальных желез, с последующим расширением их просветов.

Выводы

В течение первых 6 дней применения ингибитора протонной помпы омепразола наблюдались начальные процессы нарушения деятельности клеточных структур. Наряду с морфологическими происходили и функциональные изменения секреторной деятельности желудка крыс при длительном введении блокатора водородной помпы. На 12-й день введения установлено нарушение обменных и метаболических процессов; наблюдалось снижение кислотообразующей функции, активность главных клеток оставалась высокой. При длительном введении омепразола содержание нитратов и нитритов имеет разную направленность и больше изменяется в смешанной слюне, чем в желудочном соке. Можно предположить, что повреждающий фактор связан именно с работой *NO*-эргической системы. Подобная тенденция изменений может наблюдаться у людей, что требует дальнейших более детальных исследований в данной области.

Библиографические ссылки

1. **Абдулхаков Р. А.** Резистентность *Helicobacter pylori* к основным компонентам эрадикационной схемы / Р. А. Абдулхаков, Л. В. Кудрявцева, В. А. Исаков // Педиатрия им. Г. Н. Сперанского. – 2002. – № 2. – С. 21–22.
2. **Брискин Б. С.** Возможности использования ингибитора протонной помпы омепразола для лечения кровоточащих дуоденальных язв // Фарматека. – 2005. – № 4–5. – С. 100.
3. **Всероссийская конференция хирургов.** Современные проблемы экстренного и планового хирургического лечения больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки // Хирургия. – 2004. – № 3. – С. 86–87.
4. **Голубчиков М. В.** Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби органів травлення // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. – 2000. – № 1. – С. 17–20.
5. **Исаков В. А.** Ингибиторы протонного насоса: их свойства и применение в гастроэнтерологии. – М. : Академкнига, 2001. – 304 с.

6. **Лопина О. Д.** Механизм действия ингибиторов протонного насоса // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2002. – Т. 12, № 2. – С. 38–44.
7. **Международные** рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. – 1993. – № 1. – С. 29.
8. **Ткач С. М.** Новые генерации ИПП в лечении больных с кислотозависимыми заболеваниями // Новые медицинские технологии. – 2002. – № 2. – С. 35–37.
9. **Харченко Н.** Порівняльна ефективність препаратів – блокаторів протонної помпи // Вісник фармакології та фармації. – 2002. – № 8. – С. 2–5.
10. **Чернякевич С. А.** Результаты лечения ингибиторами протонной помпы осложненных дуоденальных язв // Клиническая медицина. – 2002. – № 9. – С. 52–54.
11. **Щербиніна М. Б.** Вплив антисекреторних препаратів різних груп на морфологічні зміни слизової оболонки шлунка при експериментальній виразці у щурів // Фізіол. журн. – 2002. – № 3. – С. 72–75.
12. **Kristin G.** Molecular characterization of rat gastric mucosal response to potent acid inhibition / G. Kristin, K. A. Sandvik // *Physiol. Genomics*. – 2005. – № 4. – P. 24–32.
13. **Miyaoka Y.** Transgenic overexpression of Reg protein caused gastric cell proliferation and differentiation along parietal cell and chief cell lineages // *Oncogene*. – 2004. – N 23. – P. 3572–3579.
14. **Natale G.** Mechanisms of gastroprotection by lansoprazole pretreatment against experimentally induced injury in rats: Role of mucosal oxidative damage and sulfhydryl compounds // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 195. – P. 62–72.
15. **CXCL12 activation** of CXCR4 regulates mucosal host defense through stimulation of epithelial cell migration and promotion of intestinal barrier integrity / J. M. Smith, P. A. Johanesen, M. K. Wendt et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2005. – Vol. 19. – P. 16–26.
16. **Tohyama Y.** B cell responses to oxidative stress // *Curr. Pharm.* – 2004. – № 10. – P. 35–39.
17. **Syk tyrosine kinase** participates in β_1 -integrin signaling and inflammatory responses in airway epithelial cells / M. Ulanova, L. Puttagunta, M. Marcet-Palacios et al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2005. – № 18. – P. 7–19.

Надійшла до редколегії 21.04.2010

УДК 581.1.03+631.531.173

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, С. В. Власова, О. В. Єліна, І. П. Матвій

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВПЛИВ ТЕРМІЧНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ НА БІОПОТЕНЦІАЛИ ЛИСТЯ КУКУРУДЗИ

Охарактеризовано закономірності динаміки біопотенціалів листя проростків кукурудзи, які спричиняються тепловими та холодними подразненнями при двох частотах ритмічної стимуляції 0,05 і 0,10 Гц. Виявлено залежність амплітуди потенціалу від швидкості зміни температури у разі теплової стимуляції та інтервалу часу між першим і наступним стимулами для обох видів стимуляції. У разі теплової стимуляції рівень послідовних потенціалів із часом зростає, а у разі холодової стимуляції – зменшується. Виявлено якісно різну динаміку виходу потенціалу на рівень стабілізації для двох частот стимуляції та проаналізовано можливі причини такої різниці. Кількісно оцінено рівні стабілізації потенціалу у кожній серії дослідів.

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, С. В. Власова, Е. В. Еліна, І. П. Матвій

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ВЛИЯНИЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА БИОПОТЕНЦИАЛЫ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ

Охарактеризованы закономерности динамики биопотенциалов листьев проростков кукурузы, вызванных тепловыми и холодными раздражениями при двух частотах ритмической стимуляции 0,05 и 0,10 Гц. Выявлена зависимость амплитуды потенциала от скорости изменения температуры в случае тепловой стимуляции и от интервала времени между первым и последующими стимулами для обоих видов стимуляции. В случае тепловой стимуляции уровень последовательных потенциалов со временем возрастает, а в случае холодовой стимуляции – уменьшается. Выявлена качественно различная динамика выхода потенциала на уровень стабилизации для двух частот стимуляции и проанализированы возможные причины этих различий. Количественно оценены уровни стабилизации потенциала в каждой серии экспериментов.

M. P. Motsnyj, N. P. Botsva, S. V. Vlasova, O. V. Elina, I. P. Matvij

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

EFFECT OF TERMOSTIMULATION ON MAIZE LEAVES' BIOPOTENTIALS

Dynamics of maize leaves' biopotentials evoked by cold- and heat stimuli with two frequencies 0.05 and 0.1 Hz is analyzed. Potential amplitude dependence of heating rate and time interval between first and following stimuli during both heating and cooling was discovered. It is ascertained that following potentials' amplitude increases in time during heat stimulation and decreases in time during cold stimulation. Qualitative difference in the reaching of potential stabilization is established for both stimulation frequencies; and probable reasons of the difference are analyzed. Potential stabilization levels are fixed for each series of experiment.

Вступ

Останнім часом для оцінки функціонального стану рослин широко застосовують біофізичні методи, один з яких – метод аналізу біоелектричної активності рослин [5; 7; 9; 10]. Він дозволяє оперативно та відносно просто дослідити основні життєво важливі функції рослини. Основа методу – аналіз біоелектричних потенціалів у тканинах вищих рослин, спричинених різними факторами-подразниками (зміною температури, освітленості, електричним струмом тощо) [1; 2; 11–14]. Зовнішня стимуляція викликає електричні відповіді, функціонально пов'язані з рівнем процесів метаболізму у тканинах рослин [6; 8]. Вказаним методом визначається вміст гербіцидів та інших хімічних речовин у рослинах [3; 4]. Для цього порівнюють параметри біопотенціалів (амплітуду, тривалість, час досягнення максимуму тощо) до і після обробки рослин хімічними препаратами.

Найбільшого поширення набули методи, пов'язані з термостимуляцією, оскільки термостимули адекватніші та менш травматичні для рослин [1; 2]. На практиці частіше застосовують методики, пов'язані зі зниженням температури, оскільки вони дозволяють використовувати значно більші перепади температур. Методи теплової стимуляції, а також процеси, які відбуваються у рослинах під час такої стимуляції, вивчені недостатньо, тому мета даної роботи – аналіз динаміки біопотенціалів рослин, що викликані як холодowymi, так і тепловими подразненнями, залежно від інтервалу часу між першим та наступним стимулами під час ритмічної стимуляції.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводились на паростках кукурудзи сорту «Кадр» *in vivo*. Відібране здорове, без зовнішніх пошкоджень насіння висівали у торфоперегнійні горщики, заповнені землею, та пророщували протягом трьох тижнів.

Для зменшення впливу зовнішніх електромагнітних завад горщик із добре сформованими паростками встановлювали в екрановану камеру. Листок рослини розташовували між контактами спеціально виготовленого термостимулятора, робота якого основана на ефекті Пельтьє. Температура на контактах термостимулятора могла змінюватися в інтервалі ($t_k - -10\text{ }^\circ\text{C}$; $t_k + 10\text{ }^\circ\text{C}$), де t_k – температура у камері. Кінцеву температуру та швидкість зміни температури під час стимуляції регулювали та контролювали за допомогою термопари, яку попередньо калібрували.

На листок накладали приєднані до входу підсилювача електроди, що не поляризувалися. Після підсилення сигнал подавали на самописний прилад «Endim». Калібрування тракту підсилення здійснювали сигналом синусоїдальної форми частотою 1 Гц амплітудою 20 мВ.

Результати та їх обговорення

У першій серії дослідів теплові та холодіві стимули наносили на листок кукурудзи з частотою 0,05 Гц і відводили сумарні біопотенціали (рис. 1). Під час холодової стимуляції (різниця температур $5\text{ }^\circ\text{C}$, швидкість зміни температури $1\text{ }^\circ\text{C}/\text{c}$) реєстрували біопотенціал тривалістю понад 40 с та амплітудою порядку 60 мВ (рис. 1А). У разі повторної стимуляції з інтервалом 20 с амплітуда потенціалу зменшувалась до 15 мВ, а потім стабілізувалась на рівні близько 20 мВ. Слід відзначити помітне пригнічення у цьому випадку другої довголатентної фази потенціалу. Отримані результати типові для даної методики стимуляції [1; 2].

На теплові стимули рослини реагували зовсім по-іншому. Під час теплової стимуляції з різницею температур $5\text{ }^\circ\text{C}$ та швидкістю зміни температури $1\text{ }^\circ\text{C}/\text{c}$ потенціали

були практично відсутні, тому інтенсивність стимуляції збільшили. У разі різниці температур $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ та швидкості зміни температури $2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{c}$ реєстрували потенціал тривалістю 10 c та амплітудою порядку 4 мВ (рис. 1Б). При повторній тепловій стимуляції з інтервалом 20 c спостерігалось повільне збільшення амплітуди потенціалу до 5 мВ .

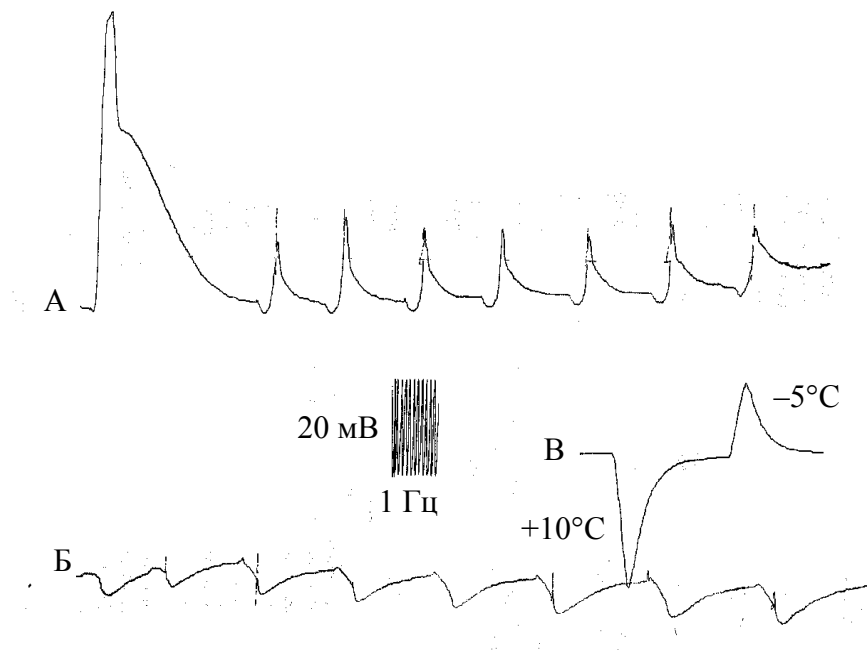


Рис. 1. Біопотенціали листка кукурудзи під час ритмічної стимуляції з частотою $0,05\text{ Гц}$:
A – холодова стимуляція зі швидкістю зміни температури $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{c}$, *B* – теплова стимуляція зі швидкістю зміни температури $2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{c}$, *B* – динаміка температурних стимулів

За усередненими даними першої серії дослідів проаналізували залежність амплітуди біопотенціалу від інтервалу часу між першим та наступними стимулами (рис. 2). Під час ритмічної холодової стимуляції амплітуда відповіді мала мінімальне значення через 20 c після першого стимулу, далі вона стабілізувалась на рівні 26% від значення амплітуди першої відповіді (рис. 2, крива 2). Під час ритмічної теплової стимуляції амплітуда відповіді зростала та досягала максимального значення через 40 c після першого стимулу, а потім стабілізувалась на рівні 140% від значення амплітуди першої відповіді (рис. 2, крива 1).

У другій серії дослідів холодову та теплову стимуляцію здійснювали з частотою $0,1\text{ Гц}$. За такої частоти стимуляції інтервал між стимулами менший, ніж тривалість відповіді, тому відповіді накладались одна на іншу (рис. 3). Під час холодової стимуляції амплітуди всіх відповідей, починаючи з другої, були значно меншими за першу амплітуду (рис. 3А), а під час теплової стимуляції, навпаки, – помітно більшими (рис. 3Б).

За узагальненими результатами другої серії дослідів (рис. 4) бачимо, що під час ритмічної холодової стимуляції з частотою $0,1\text{ Гц}$ амплітуда потенціалу різко пригнічувалась через 10 c після першої відповіді, дещо поновлювалась через $20\text{--}30\text{ c}$, а потім монотонно зменшувалась (рис. 4, крива 2). У цілому зафіксована динаміка потенціалів характерна для обраних частот холодової стимуляції. У процесі ритмічної теплової стимуляції кожний наступний потенціал мав більшу амплітуду, ніж перший, і через 70 c спостерігався на рівні 190% початкового значення (рис. 4, крива 1).

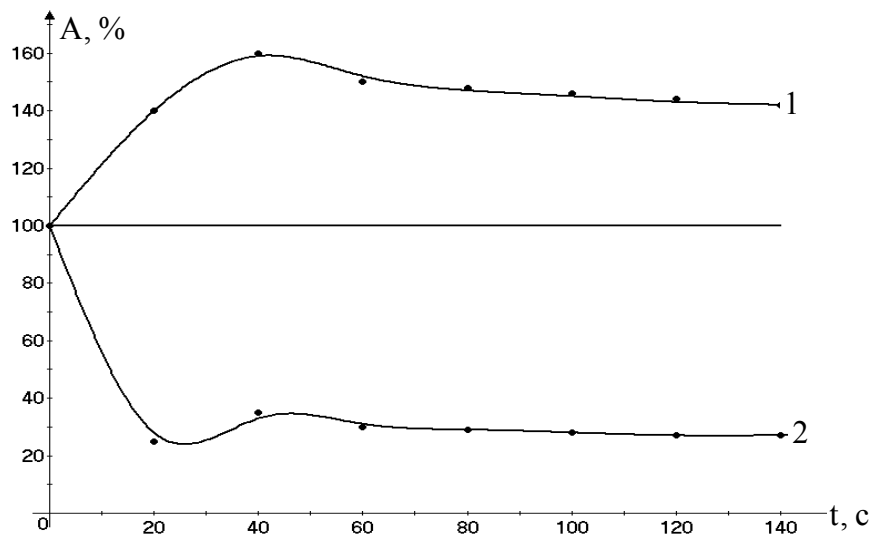


Рис. 2. Залежність амплітуди біопотенціалу листка кукурудзи від інтервалу часу між першим та наступними стимулами під час ритмічної стимуляції з частотою 0,05 Гц: 1 – теплова стимуляція зі швидкістю зміни температури 2 °С/с, 2 – холодова стимуляція зі швидкістю зміни температури 1 °С/с; вісь абсцис – інтервал часу між першим і наступним стимулами, с; вісь ординат – амплітуда потенціалу порівняно з амплітудою першої відповіді, %

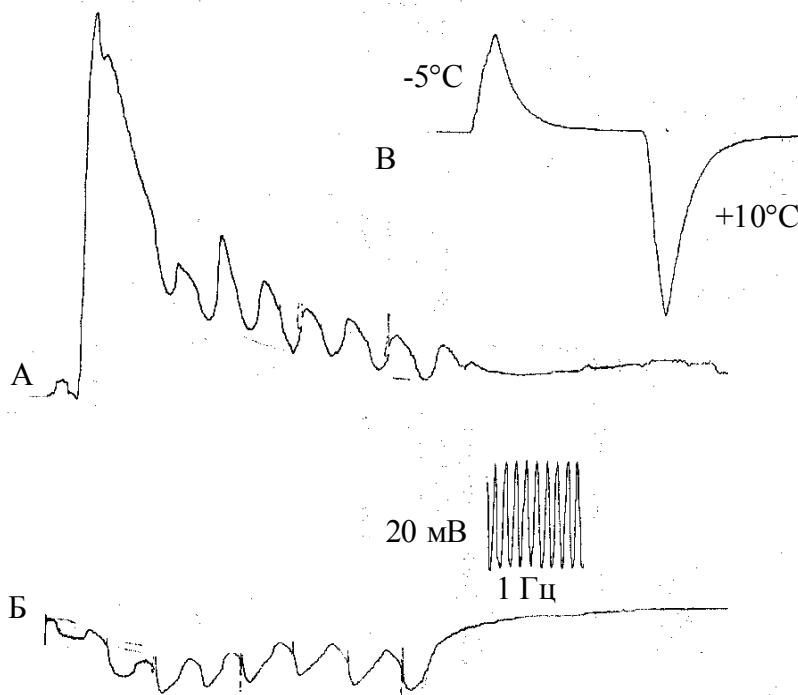


Рис. 3. Біопотенціали листка кукурудзи під час ритмічної стимуляції з частотою 0,1 Гц: А – холодова стимуляція зі швидкістю зміни температури 1 °С/с, Б – теплова стимуляція зі швидкістю зміни температури 2 °С/с, В – динаміка температурних стимулів

Аналіз отриманих результатів, зокрема знака біопотенціалів, дає підстави стверджувати, що теплове подразнення листя кукурудзи приводить до гіперполяризаційних змін мембранного потенціалу, що, скоріше за все, пов'язано з активацією дії протонно-

го насоса, який забезпечує перенесення іонів водню крізь мембрани клітин, що містяться під відвідним електродом [6; 8].

Важливо відзначити, що потенціали, спричинені тепловим подразненням, мають більш високий «поріг» збудження порівняно з «холодовими» потенціалами та не пригнічуються у процесі частотної стимуляції.

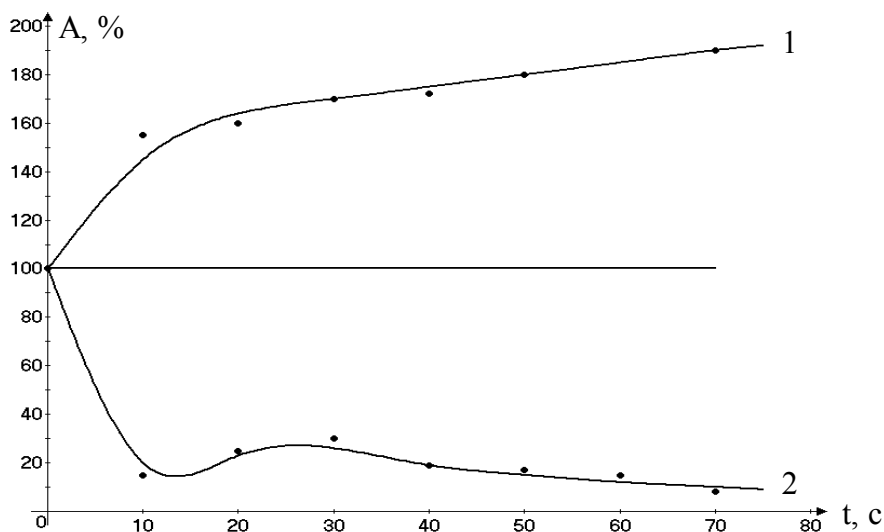


Рис. 4. Залежність амплітуди біопотенціалу листка кукурудзи від інтервалу часу між першим та наступними стимулами під час ритмічної стимуляції з частотою 0,1 Гц: позначення див. рис. 2.

Біопотенціали, спричинені холодним стимулом, – потенціали деполяризаційного типу, які є результатом сумарної деполяризації клітинних мембран під відвідним електродом. Зменшення та наступна стабілізація рівня амплітуди під час ритмічної стимуляції, імовірно, пов'язані зі значним (понад 20 с) часом поновлення мембранного потенціалу після генерації попередньої відповіді.

Висновки

Холодова стимуляція листа паростка кукурудзи спричиняє появу біопотенціалу деполяризаційного типу, тоді як теплове подразнення приводить до гіперполяризаційних змін потенціалу. У разі теплової стимуляції амплітуда відповіді суттєво залежить від швидкості зміни температури.

За результатами аналізу біопотенціалів під час ритмічної теплової та холодової стимуляції встановлені відміни у динаміці амплітуди залежно від виду та частоти нанесення подразнення.

У разі теплової стимуляції рівень послідовних потенціалів із часом зростає та стабілізується на рівні 140 та 190 % значення амплітуди першої відповіді при частотах стимуляції 0,05 та 0,10 Гц відповідно.

У разі холодової стимуляції рівень послідовних потенціалів із часом зменшується, стабілізується на рівні 26 % і менше від значення амплітуди першої відповіді.

Бібліографічні посилання

1. **Анализ** возможности участия местных биоэлектрических реакций в рецепции охлаждения высшими растениями (на примере *Cucurbita pepo* L.) / В. А. Опритов, С. А. Лобов, С. С. Пятыйгин, С. А. Мытьягин // Физиол. раст. – 2005. – Т. 52. – С. 905–912.

2. **Исследование** биопотенциалов растений, вызванных холодowymi стимулами / М. П. Моцный, С. В. Власова, Е. В. Елина, Л. Я. Садовская // *Materialy IV Mezinarodni vedecko-prakticka konferencie «Zpravu vedecke ideje – 2008»*. – Praha, 2008. – Dil. 10. – P. 87–89.
3. **Моцный М. П.** Исследование влияния биоктрила на биоэлектрическую активность проростков кукурузы / М. П. Моцный, Е. В. Елина, С. В. Власова // *Матер. Міжнар. науково-практ. конф. «Україна наукова '2003»*. – Т. 13. – Д. : Наука і освіта, 2003. – С. 14.
4. **Моцный М. П.** Об изменении биоэлектрической реакции растений, вызванной гербицидами / М. П. Моцный, В. Т. Белан // *Матер. Міжнар. науково-практ. конф. «Україна наукова '2003»*. – Т. 14. – Д. : Наука і освіта, 2003. – С. 27–28.
5. **Опритов В. А.** Биоэлектрогенез у высших растений / В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин, В. Г. Ретивин. – М. : Наука, 1991. – 216 с.
6. **Пятыйгин С. С.** Сопряжение генерации потенциала действия в клетках растений с метаболизмом: современное состояние проблемы / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденев, В. А. Опритов // *Успехи соврем. биол.* – 2005. – Т. 125. – С. 534–542.
7. **Смит К. Ю. М.** Биология сенсорных систем. – М. : Бином, 2005. – 583 с.
8. **Тарчевский И. А.** Метаболизм растений при стрессе. – Казань : Наука, 2001. – 448 с.
9. **Тарчевский И. А.** Сигнальные системы клеток растений. – М. : Наука, 2002. – 294 с.
10. **Davies E.** New functions for electrical signals in plants // *New Phytol.* – 2004. – Vol. 161. – P. 607–610.
11. **Effects** of ion channel inhibitors on cold- and electrically-induced action potentials in *Dionaea muscipula* / E. Krol, H. Dziubinska, M. Stolarz, K. Trebacz // *Biol. Plant.* – 2006. – Vol. 50. – P. 411–416.
12. **Mironova E. A.** Effect of low-intensity infrared and millimeter radiation of higher plants' biopotentials / E. A. Mironova, Y. M. Romanovskii // *Crit. Rev. Biomed. Eng.* – 2001. – Vol. 29. – P. 430–439.
13. **Shade-induced** action potentials in *Helianthus annuus* L. originate primarily from the epicotyl / R. Stahlberg, N. R. Stephens, R. E. Cieland, E. Van Volkenburgh // *Plant Signal / Behav.* – 2006. – Vol. 1. – P. 15–22.
14. **Variation** and action potentials evoked by thermal stimuli accompany enhancement of ethylene emission in distant non-stimulated leaves of *Vicia faba* minor seedlings / H. Dziubinska, M. Filek, J. Koscielniak, R. Trebaez // *J. Plant Physiol.* – 2003. – Vol. 160. – P. 1203–1210.

Надійшла до редколегії 12.07.2010

УДК 597.554.3 (– 87)

И. А. Столбунов

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН

СРАВНЕНИЕ ОБОРОНИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ *RASBORA PAVIEI* (CYPRINIDAE) ИЗ РАЗЛИЧНЫХ МЕСТООБИТАНИЙ

Экспериментально изучены оборонительные реакции *Rasbora paviei* Tirant, 1885 из речных и озерных условий обитания. Рыб для эксперимента отлавливали в верхнем участке течения р. Кай и защищенной литорали водохранилища Кам Лам провинции Хань-Хоа Центрального Вьетнама. В качестве модельного хищника в эксперименте использовали панцирниковую щуку *Lepisosteus sp.* Выявлены различия в оборонительной реакции *Rasbora paviei* из экологически различных местообитаний. У рыб из верховья реки оборонительная реакция более эффективна по сравнению с особями из защищенной литорали водохранилища.

I. A. Stolbunov

Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences

ПОРІВНЯННЯ ЗАХИСНОЇ РЕАКЦІЇ *RASBORA PAVIEI* (CYPRINIDAE) ІЗ РІЗНИХ МІСЦЕПЕРЕБУВАНЬ

Експериментально досліджено захисні реакції *Rasbora paviei* Tirant, 1885 із річкових і озерних умов існування. Риб для експерименту відловлювали на верхній ділянці течії р. Кай і захищеній літоралі водосховища Кам Лам провінції Хань-Хоа Центрального В'єтнаму. Як модельного хижака в експерименті використовували панцирникову щуку *Lepisosteus sp.* Виявлено розбіжності захисної реакції *Rasbora paviei* з екологічно різних місцеперебувань. У риб із верхів'я річки захисна реакція ефективніша порівняно з особинами із захищеної літоралі водосховища.

I. A. Stolbunov

Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences

COMPARISON OF DEFENSE REACTION OF *RASBORA PAVIEI* (CYPRINIDAE) FROM DIFFERENT HABITATS

Experimental investigation of defensive behavior of *Rasbora paviei* Tirant, 1885 from riverine and limnetic habitats was carried out. Fish for the experiment were caught in the upper stream of Cai river and shallow littoral of Cam Lam reservoir of Khanh Hoa province of Central Vietnam. Billfish *Lepisosteus sp.* was used as a model predator for the experiment. Distinctions in defensive reaction of *R. paviei* from different ecological conditions were found. It was revealed that defensive behavior of fish from river's upper stream was more effective than that of fish from the shallow littoral zone of the reservoir.

Введение

В различных местообитаниях одновидовые особи рыб различаются уровнями адаптации, в том числе и поведенческой [3; 11]. Одним из проявлений основных форм адаптивного поведения рыб являются особенности взаимодействия в системе «хищник –

жертва» [5]. Комплекс абиотических и биотических факторов среды приводит к образованию разных стратегий оборонительного поведения у рыб [2; 6; 16].

Пресноводная фауна рыб Вьетнама чрезвычайно богата и разнообразна. В зоогеографическом отношении Вьетнам находится на стыке двух фаунистических регионов Индокитая – одного из важнейших центров биоразнообразия. Северная часть Вьетнама относится к Южно-Китайскому фаунистическому комплексу, а южная часть – к Индо-Малазийскому [13]. Одним из типичных и массовых представителей пресноводной фауны рыб Вьетнама и сопредельных стран (Камбоджи, Лаоса, Малазии, Тайланда) является *Rasbora paviei* Tirant, 1885 из семейства карповых Cyprinidae. Поскольку данный вид населяет многочисленные разнотипные внутренние водоемы и водотоки Вьетнама [14; 15], именно он был выбран в качестве модельного при проведении экспериментального тестирования особенностей оборонительной реакции рыб из различных экологических условий.

Цель исследования – оценить оборонительное поведение *R. paviei* из речных и озерных местообитаний. В задачи работы входили оценка морфогидродинамических показателей рыб из различных местообитаний, анализ особенностей стайного поведения особей расборы из разных экологических условий в присутствии хищника.

Материал и методы исследований

Исследования эффективности оборонительной реакции *R. paviei* из различных местообитаний проводили в период с апреля по июнь 2009 года. Отлов рыбы для эксперимента осуществляли в верхнем участке течения р. Кай и в защищенной литоральной зоне водохранилища Кам Лам провинции Хань-Хоа Центрального Вьетнама. Отбренные выборки рыб высаживали в отдельные бассейны емкостью 3049 л и площадью дна 3,96 м². При проведении тестирования оборонительного поведения рыб группы особей (по 5 экз.) из этих водоемов последовательно помещали в экспериментальный аквариум емкостью 410 л и площадью дна 0,73 м².

В качестве модельного хищника использовали панцирниковую щуку *Lepisosteus sp.* Сравнение эффективности оборонительной реакции рыб из разных местообитаний проводили исходя из оценки продолжительности выедания панцирниковой щукой 100 % особей в каждой отдельной экспериментальной группе рыб (из биотопов верховья реки и защищенного побережья водохранилища). Оценивали успешность оборонительного поведения рыб в смешанной группе. Для этого из каждой выборки рыб отбирали по 10 особей. Одну группу особей метили подрезанием кончика анального плавника (для исключения влияния на выживаемость рыб процесса подрезания плавника в повторностях поочередно метили особей из разных биотопов). Смешанную группу рыб высаживали в аквариум с хищником. После выедания ~50 % особей оставшихся рыб вылавливали и оценивали долю выживших в разных биотопических группировках.

В ходе эксперимента проводили видеорегистрацию оборонительного поведения рыб. Изображение посредством видеокамеры Samsung VP-D305i передавали на персональный компьютер, укомплектованный платой для ввода видеосигнала. Обработку видеoinформации осуществляли с помощью специально разработанной оригинальной программы «Roboscor».

Сравнение гидродинамических качеств расборы из разных экологических условий проводили по показателям формы корпуса (Y) и обтекаемости тела рыб (H/L), предложенным Ю. Г. Алеевым [1]. Показатель формы корпуса в определенной степени характеризует морфогидродинамические свойства рыб: высокие значения данного по-

казателя свидетельствуют о более «прогонистой» форме тела особей, а относительно низкие значения показателя свойственны высокотельным особям с большой кривизной верхнего профиля.

Результаты и их обсуждение

Исследование оборонительного поведения расборы из различных местообитаний показало, что у рыб из верховья р. Кай оборонительная реакция более эффективна по сравнению с особями из защищенной литорали водохранилища Кам Лам. Особи расборы из верховья реки в течение более длительного периода избегали 100 % элиминации хищником (в среднем на 4,5 часа). После 50 % выедания смешанной стаи, она во всех случаях примерно на 2/3 состояла из особей, отловленных в верховье реки (табл. 1). Обнаруженные различия в оборонительной реакции у расборы из разных мест обитания были достоверны ($p < 0,05$).

В результате исследования морфогидродинамических показателей расборы из разных местообитаний обнаружено, что показатель формы корпуса, характеризующий прогонистость тела рыб, у особей расборы в р. Кай достоверно выше, чем у рыб в водохранилище Кам Лам (табл. 2). Показатель обтекаемости тела достоверно выше у особей расборы в водохранилище Кам Лам, то есть для них характерна большая высокотелость, чем у рыб в реке (табл. 2). Данные различия характеризуют гидродинамические качества особей в разных условиях обитания. Более «прогонистая» форма корпуса рыб в р. Кай косвенным образом свидетельствует о лучших плавательных способностях речных особей по сравнению с особями из водохранилища Кам Лам и позволяет речным особям расборы эффективнее реализовывать их оборонительное поведение.

Таблица 1

Экспериментальное сравнение оборонительного поведения *R. paviei* из различных местообитаний ($M \pm \sigma$)

Местообитание	<i>n</i>	Время выедания 100 % особей расборы хищником, часов	Доля особей, съеденных в смешанной стае, %	Средняя длина тела расборы, мм
р. Кай	30	13,0 ± 1,4*	35 ± 7*	79 ± 5
Водохранилище Кам Лам	30	8,5 ± 2,1	65 ± 7	74 ± 9

Примечание: *n* – число рыб (экз.), $M \pm \sigma$ – среднее значение показателя и стандартное отклонение, * – различия достоверны по непараметрическому *U*-критерию Манна – Уитни при $p < 0,05$.

Таблица 2

Морфогидродинамические характеристики *R. paviei* ($M \pm \sigma$)

Местообитание	<i>n</i>	Показатель формы корпуса (<i>Y</i>), относительные единицы	Показатель обтекаемости тела рыб (<i>H/L</i>), %
р. Кай	70	0,60 ± 0,03*	25,0 ± 2,6*
Водохранилище Кам Лам	50	0,53 ± 0,02	29,6 ± 1,9

Достоверные различия отмечались и в тактике оборонительного поведения рыб из разных местообитаний. У многих видов рыб, в том числе и карповых, основными элементами оборонительного поведения являются индивидуальные механизмы защиты, то есть малая подвижность в сочетании с использованием убежищ и групповая защита – коллективное маневрирование [4; 8; 12]. Расборы из р. Кай в эксперименте использовали обе тактики, но предпочтение отдавалось тактике групповой защиты, когда особи уходили от хищника в верхний горизонт и активно маневрировали, сохраняя стаю. Речные особи расборы сохраняли стаю в течение 78 % от общего времени экспе-

римента, в то время как у особей из водохранилища общее плавание рыб в стае занимало 55 % времени (табл. 3).

Тенденция к «составлению» в присутствии хищника характерна для рыб, обитающих в водоемах с высоким давлением хищников, а рыбы из районов с низким уровнем пресса хищников на их воздействие чаще отвечают уходом в безопасную зону [7]. Исследования, проведенные на тринидадских гуппи (*Poecilia reticulata*) [10] и трехиглых колюшках (*Gasterosteus aculeatus*) [9], показали, что особи из популяций, обитающих в местообитаниях с постоянным высоким давлением хищников, имели преимущества в эффективности избегания хищника по сравнению с особями из водоемов с низким уровнем или отсутствием пресса хищников. Поэтому обнаруженные различия в оборонительной реакции расборы в реке и водохранилище свидетельствуют о разном уровне нагрузки хищников в естественных условиях обитания рыб.

Таблица 3

Особенности стайного поведения *R. paviei* в присутствии хищника

Местообитание	Продолжительность стайного поведения			
	раздельное плавание рыб		общее плавание рыб	
	с	%	с	%
Водоохранилище Кам Лам, с	13 770	45	16 830	55
р. Кай, с	10 296	22	36 504	78

Заключение

В результате проведенных экспериментов выявлены различия в оборонительной реакции *R. paviei* из разных экологических условий. У рыб из верховья реки оборонительная реакция более эффективна по сравнению с особями из защищенной литорали водохранилища. Наблюдаемые поведенческие различия у речных и озерных особей, вероятно, связаны как с морфогидродинамическими характеристиками рыб, так и с разным уровнем нагрузки хищников в естественных местообитаниях расборы.

Результаты исследований оборонительной реакции рыб могут быть использованы в различных формах ведения аквакультуры, а также при проведении рыбохозяйственных мероприятий по формированию рыбного населения и искусственному зарыблению ценными промысловыми видами внутренних водоемов Вьетнама.

Библиографические ссылки

1. **Алеев Ю. Г.** Функциональные основы внешнего строения рыбы. – М. : АН СССР, 1963. – 247 с.
2. **Герасимов Ю. В.** Влияние условий среды разной обогащенности в раннем онтогенезе на пищевое и оборонительное поведение молоди леща *Abramis brama* (Cyprinidae) / Ю. В. Герасимов, И. А. Столбунов // Вопр. ихтиологии. – 2007. – Т. 47, № 2. – С. 253–261.
3. **Дгебуадзе Ю. Ю.** Экологические закономерности изменчивости роста рыб. – М. : Наука, 2001. – 276 с.
4. **Лещева Т. С.** Обучение рыб: Экологические и прикладные аспекты / Т. С. Лещева, А. Ю. Жуйков. – М. : Наука, 1989. – 109 с.
5. **Михеев В. Н.** Неоднородность среды и трофические отношения у рыб. – М. : Наука, 2006. – 191 с.
6. **Colgan P.** The motivational basis of fish behaviour // Behaviour of Teleost Fishes. – 2nd ed. – 1993. – P. 31–50.
7. **Fraser D. F.** Feeding under predation hazard: response of the guppy and the Hart's rivulus from sites with contrasting predation hazard / D. F. Fraser, J. F. Gilliam // Behav. Ecol. Sociobiol. – 1987. – Vol. 21. – P. 203–209.

8. **Gotceitas V.** The effects of prey availability and predation risk on habitat selection by juvenile bluegill sunfish / V. Gotceitas, P. Colgan // *Copeia*. – 1990. – N 2. – P. 409–417.
9. **Huntingford F.** Individual variation in antipredator responses in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) / F. Huntingford, N. Giles // *Ethology*. – 1987. – Vol. 74, N 3. – P. 205–210.
10. **Light T.** Discriminating between hungry and satiated predators; the response of guppies (*Poecilia reticulata*) from high and low predation sites // *Ethology*. – 1989. – Vol. 82. – P. 238–243.
11. **Magurran A. E.** Individual differences and alternative strategies // *Behaviour of teleost fishes*. – 2nd ed. – 1993. – P. 441–475.
12. **Milinski M.** Predation risk and feeding behaviour // *Behaviour of Teleost Fishes* / Ed. T. J. Pitcher. – 1993. – P. 285–305.
13. **Rainboth W. J.** *Fishes of the Cambodian Mekong*. – Rome: FAO, 1996. – 265 p.
14. **Serov D. V.** *Fishes of the River Cai* / D. V. Serov, V. K. Nezdoliy, D. S. Pavlov. – Moscow: GEOS, 2003. – 164 p.
15. **Serov D. V.** *The freshwater fishes of Central Vietnam* / D. V. Serov, V. K. Nezdoliy, D. S. Pavlov. – M. : KMK Scientific Press Ltd, 2006. – 364 p.
16. **Stolbunov I. A.** Behavioral differences of various ecological groups of roach *Rutilus rutilus* and perch *Perca fluviatilis* / I. A. Stolbunov, D. D. Pavlov // *Journal of Ichthyology*. – Vol. 46, suppl. 2. – 2006. – P. S213–S219.

Надійшла до редколегії 08.01.2010

УДК 546.32/.36: 616.36-006

Ю. В. Супонько, Н. І. Штеменко

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВПЛИВ НАНОПРЕПАРАТІВ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІУ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПЕЧІНКИ В МОДЕЛІ ПУХЛИННОГО РОСТУ

Вивчено рівень ферментативної активності гепатоцитів щурів за розвитку карциноми Герена, а також за введення сполук ренію і цисплатину. За одночасного введення цисплатину з кластерними сполуками ренію у наноліпосомній та водорозчинній формі спостерігалось зниження ферментативної активності до рівня контрольної групи тварин, що свідчить про гепатопротекторні властивості сполук ренію. Гепатопротекторні властивості кластерних сполук ренію здебільшого не залежать від форми їх введення та виявляються незалежно від протипухлинних властивостей. Знайдено систему реній-платину з β-аланіновим лігандом у водному розчині, введення якої супроводжується гепатопротекторною дією.

Ю. В. Супонько, Н. І. Штеменко

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ВЛИЯНИЕ НАНОПРЕПАРАТОВ КЛАСТЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ В МОДЕЛИ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Изучен уровень ферментативной активности гепатоцитов крыс при развитии карциномы Герена, а также при введении соединений рения и цисплатина. При одновременном введении цисплатина с кластерными соединениями рения в нанолипосомной и водорастворимой форме наблюдалось снижение ферментативной активности до уровня контрольной группы животных, что свидетельствует о гепатопротекторных свойствах соединений рения. Гепатопротекторные свойства кластерных соединений рения в основном не зависят от формы их введения и проявляются независимо от противоопухолевых свойств. Найдена система рений-платина с β-аланиновым лигандом в водном растворе, введение которой сопровождается гепатопротекторным действием.

J. V. Suponko, N. I. Shtemenko

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

INFLUENCE OF NANO-CLUSTER COMPOUNDS OF RHENIUM DRUGS ON THE ACTIVITY OF LIVER ENZYMES IN A TUMOR MODEL

Enzymes' level in rat's hepatocytes under Guerin's carcinoma T8 development as well as after injection of rhenium compounds and cis-platin has been studied. It has been determined that the decrease of enzymatic activity to the level of the animals of control group was observed at the simultaneous injection of cis-platin and cluster rhenium compounds in nanoliposomal and water-soluble forms. That confirms possible hepatoprotective properties of the rhenium compounds. It has been shown that hepatoprotective properties of rhenium cluster compounds mostly don't depend on the form of their injection and are detected regardless of anticancer properties. Rhenium-platinum system with β-alanine ligand in aqueous solution, has been found. Its injection is accompanied by the hepatoprotective effect.

Вступ

В умовах канцерогенезу відбувається інтоксикація організму, пошкодження гепатоцитів печінки при цьому веде до біохімічних і клінічних змін [3]. Більшість протипухлинних препаратів гепатотоксичні [10; 12; 13; 15; 16]. Цисплатин – ефективний протипухлинний препарат, що використовується в онкологічній практиці. Однак, поряд із високою ефективністю, цей препарат володіє цитотоксичною дією на нормальні тканини печінки [11; 13; 14].

У наших попередніх роботах [1; 3; 9] показано, що кластерні сполуки ренію проявляють антирадикальну, антигемолітичну активність у моделях *in vitro* та *in vivo* та є біохімічними модуляторами цисплатину, тобто підсилюють його дію з одночасним зниженням токсичності. Подальший розвиток досліджень біологічної активності цих сполук і впровадження їх у медичну практику пов'язаний із вивченням механізмів їх взаємодії з клітинами печінки. Досліджено дію кластерних сполук ренію однакових структурних типів при різних формах уведення на показники ферментативної активності ферментів-маркерів цитолізу гепатоцитів у гомогенаті тканин печінки щурів із карциномою Герена на фоні введення цисплатину.

Матеріал і методи досліджень

У дослідженнях використовували такі форми комплексних сполук ренію (III): реній- β -аланін у водному розчині – Re β Ala sln; реній- β -аланін у формі наноліпасом – [Re β Ala] nl. Дослідження проводили на білих безпорідних щурах масою тіла 100–150 г. Суспензія клітин карциноми Герена T8 (30 % у фізіологічному розчині) перещеплювалася здоровим щурам від пухлиноносіїв, отриманих в Інституті онкології та радіології ім. Р. О. Кавецького МОЗ України методом підшкірного уведення в ділянку стегна задньої кінцівки. Цисплатин вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на 9-ту добу після трансплантації пухлини. Сполуки ренію вводили десятиразово, починаючи з третьої доби після перещеплення пухлини з інтервалом в 1 добу у кількості 7 мкмоль/кг ваги тварини кожне введення. Тварин поділено на групи: I – інтактні тварини; II – щури, яким трансплантували карциному Герена; III – щури-пухлиноносії, яким вводили цисплатин за схемою [17]; IV – щури-пухлиноносії, яким вводили T8+cPt+Re β Ala sln; V – щури-пухлиноносії, яким вводили T8+cPt+[Re β Ala] nl.

Тварин декапітували на 21-шу добу після трансплантації пухлин. Гомогенат тканин печінки отримували шляхом її гомогенізації у 10 мл фізіологічного розчину. Ферментативну активність АсАТ, АлАТ, ЛДГ визначали у надосадовій рідині, отриманій після центрифугування гомогенату. Для визначення активності ферментів застосовували загальноприйняті методи з використанням наборів реактивів (Філісіт-Діагностика, Україна). Статистичний аналіз даних проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента, оцінюючи вірогідність отриманих результатів на рівні значимості не менше 95 % ($p < 0,05$). Дані виражали у вигляді $M \pm m$.

Результати та їх обговорення

Основні патологічні процеси у печінці об'єднують у лабораторні синдроми з урахуванням індикаторних тестів: цитолізу, холестазу, гепатодепресії, запалення, шунтування печінки, регенерації. Усі вони супроводжуються гіперферментемією. Підвищення активності ферментів у гомогенаті тканин печінки за низкою патологій перш за все відбувається за рахунок виходу ензимів із тканин пошкодженого органа [4]. Перша причина розвитку гіперферментемії за патології – вихід ферментів у міжклітинне середовище з пошкоджених ділянок органа на фоні тривалого (посиленого) біосинтезу

ензимів. Тривалість гіперферментемії зумовлена тим, що вихід ферментів із пошкоджених тканин і зниження їх вмісту у клітинах стимулюють за принципом зворотного зв'язку синтез останніх. Інша причина гіперферментемії – збільшення каталітичної активності ферментів як безпосередньо у пошкодженому органі, так і за потрапляння їх у міжклітинне середовище [3; 5].

Гепатоцити містять ряд маркерних ферментів: аспартатамінотрансфераза (АсАТ), аланінамінотрансфераза (АлАТ), лактатдегідрогеназа (ЛДГ), гаммаглутамін-трансфераза (ГГТ), лужна фосфатаза (ЛФ) [7; 8]. Одні з них містяться в цитозолі клітин (ЛДГ, АлАТ), інші – в мітохондріях (АсАТ) та в мембрані (ГГТ, ЛФ). Співвідношення величин АсАТ/АлАТ (коефіцієнт де Рітіса) вказує на природу пошкодження гепатоцитів і в нормі дорівнює одиниці. Синдром цитолізу виникає при пошкодженні клітин печінки та протікає на тлі вираженого порушення цілісності мембран гепатоцитів і їх органел, відмічається підвищення активності індикаторних ферментів: АсАТ, АлАТ, ЛДГ і її ізоферментів ЛДГ4 і ЛДГ5. При синдромі холестазу, що супроводжується пошкодженням гепатоцитів, відбувається підвищення активності АлАТ, АсАТ та ЛФ. При некрозах гепатоцитів відбувається підвищення активності АлАТ, АсАТ, якщо некрози відсутні або низька активність процесу, активність АсАТ, АлАТ – у нормі. При хронічному активному гепатиті активність АсАТ підвищується, АлАТ – помірно збільшується, ЛДГ – підвищується. При жировій дистрофії печінки активність АсАТ і АлАТ – знижується, ЛДГ – норма. При цирозі печінки активність АсАТ помірно збільшується, АлАТ – збільшується, ЛДГ – норма. Активність ГГТ сироватки звичайно пов'язана з екскрецією ферменту, що синтезується в печінці, і в нормі незначна. Проте при захворюваннях печінки та жовчовивідних шляхів незмінно визначається підвищена активність ферменту в сироватці. Особливо висока активність ГГТ при дистрофії печінки, яка виникає в результаті онкозахворювань [2; 6; 7; 18].

Розвиток карциноми Герена в експериментальних тварин (група II) супроводжується підвищенням активності всіх п'яти ферментів порівняно з контролем (група I). Це пов'язано з пошкодженням мембрани та некрозом клітини, супроводжується вивільненням у міжклітинний простір ферментів. При введенні цисплатину (група III) відмічено деяку стабілізацію функціонального стану печінки, хоча рівень токсичності залишається досить високим. Значне підвищення рівня амінотрансфераз – наслідок масивного пошкодження гепатоцитів, як це буває при важкій медикаментозній гепатотоксичності та ішемії (табл. 1).

Таблиця 1

Активність амінотрансфераз у гомогенаті печінки щурів (мкмоль/год·мл), ($M \pm m, n = 6$)

Група	Назва сполуки	Активність АсАТ, мкмоль/год·мл	Активність АлАТ, мкмоль/год·мл	Коефіцієнт де Рітіса
I	Control	3,20 ± 0,01	2,70 ± 0,01	1,19 ± 0,01
II	T8	4,84 ± 0,02*	4,65 ± 0,02*	1,04 ± 0,02*
III	T8+cPt	4,61 ± 0,01**	4,46 ± 0,01**	1,03 ± 0,01**
IV	T8+cPt+ReβAla sln	3,80 ± 0,05**	3,33 ± 0,02**	1,14 ± 0,06**
V	T8+cPt+[ReβAla]nl	3,93 ± 0,01**	3,61 ± 0,02**	1,09 ± 0,02**

Примітки: * – $p < 0,05$ відносно контролю; ** – $p < 0,05$ відносно T8.

При розвитку карциноми активність амінотрансфераз збільшується майже в 1,5 раза. Під дією цисплатину в умовах гальмування росту пухлини – на 13 %, активність АсАТ зменшується в середньому на 5 %, а АлАТ на 4 %. При введенні комплексу T8+cPt+[ReβAla] nl спостерігається модулювальний і гепатопротекторний ефект, із

достовірним зниженням ферментативної активності на 19 та 22 % порівняно з групою II. Редукція пухлини в даному випадку достовірна, становить 89 %. При цьому коефіцієнт де Рітса залишається в межах норми. Такий ефект пов'язаний скоріше за все зі стабілізацією певних структур мітохондріальної оболонки та зменшенням втрати складових речовин клітини під впливом реній-платинової системи.

При введенні T8+cPt+ReβAla sln активність аміотрансфераз знижується на 21 та 28 % порівняно з T8. При цьому не спостерігається значний вплив на перероджені клітини, що знижує проліферативну дію препарату. Його застосування веде до редукції пухлини достовірно лише на 48 %. Обидві системи проявляють сильний гепатопротекторний ефект, зумовлений зниженням активності аміотрансфераз, що не залежить від форми введення та протипухлинних властивостей. Також відмічено зниження ферментативної активності ЛДГ та ГГТ при введенні чистого цисплатину в середньому лише на 5 % (при редукції пухлини на 13 % порівняно з T8). Це свідчить про відсутність гепатопротекторних властивостей цисплатину як лікарського препарату.

При дослідженні кластерних сполук ренію з β-аланіновими лігандами при різних формах уведення як модуляторів фармакологічної дії цисплатину встановлено, що комплекси у розчині (група IV) та в наноліпосомній формі (група V) мають модулювальний ефект на ріст пухлини та виявляють незалежно від цього гепатопротекторну дію (група II). Це зумовлено зниженням активності ЛДГ на 10, 6 % та ГГТ на 31, 17 % відповідно (табл. 2).

Таблиця 2

Активність ЛДГ, ГГТ у гомогенаті печінки щурів (од./л), ($M \pm m$, $n = 6$)

Група	Назва сполуки	Активність ЛДГ, од./л	Активність ГГТ, од./л
I	Control	373,01 ± 1,73	22,30 ± 0,35
II	T8	416,00 ± 2,30*	37,04 ± 0,13*
III	T8+cPt	395,50 ± 1,50**	35,34 ± 0,25**
IV	T8+cPt+ReβAla sln	376,00 ± 1,64**	25,72 ± 0,15**
V	T8+cPt+[ReβAla]nl	392,01 ± 2,30**	30,58 ± 0,35**

Примітки: * – $p < 0,05$ відносно контролю; ** – $p < 0,05$ відносно T8.

При канцерогенезі активність ЛФ (рис. 1) підвищується в 4,7 раза, що вказує на інтенсифікацію процесів дефосфорилування, що підтримують внутрішньоклітинну концентрацію фосфату.

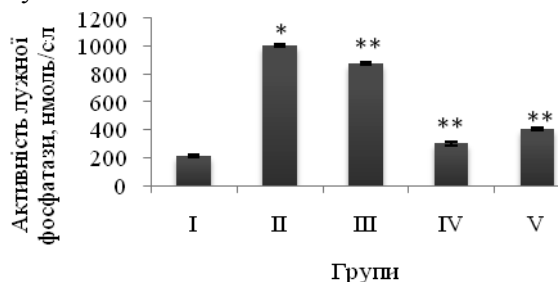


Рис. 1. Визначення активності ЛФ: * – $p < 0,05$ відносно контролю; ** – $p < 0,05$ відносно T8; $n = 6$; групи I–V – див. табл. 2.

Використання цисплатину як гепатопротектора призводить до зниження активності досліджуваного ферменту на 13 % відповідно до групи T8. У тварин із карциномою Герена, яким вводили цисплатин та ReβAla у вигляді розчину (група IV), відмічено інгібування активності ЛФ на 79 %, а при введенні дослідним тваринам комплексу в наноліпосомній формі (група V) – на 60 % порівняно з T8. Отримані результати свідчать про незалежність

гепатопротекторних властивостей реній-платинової системи з β -аланіновим лігандом від форми введення та модулювальних властивостей. Це вказує на їх різну біохімічну дію на такі процеси як проліферація та гепатопротекція.

Висновки

Уперше досліджено залежність гепатопротекторних властивостей кластерних сполук ренію від форми їх уведення. Гепатопротекторні властивості кластерних сполук ренію здебільшого не залежать від форми їх уведення та виявляються незалежно від протипухлинних властивостей. Знайдено систему реній-платина з β -аланіновим лігандом у водному розчині, введення якої супроводжується гепатопротекторною дією, що виявляється у значному зниженні (майже в 1,5 раза) активності досліджуваних ферментів.

Бібліографічні посилання

1. **Антиоксидантні** властивості кластерних комплексів ренію з деякими похідними масляної кислоти у плазмі крові та еритроцитах / Ю. П. Гриневич, С. А. Олійник, Н. І. Штеменко, О. В. Штеменко // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 1. – С. 65–71.
2. **Вивчення** впливу комплексів ренію з органічними лігандами на кислотну резистентність еритроцитів людини / Н. І. Штеменко, І. В. Пірожкова-Паталах, А. В. Штеменко и др. // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 3. – С. 77–81.
3. **Івчук В. В.** Функціональна активність гепатоцитів щурів при канцерогенезі / В. В. Івчук, Н. І. Штеменко // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2008. – Вип. 16, т. 2. – С. 60–64.
4. **Комаров Ф. І.** Біохімічні дослідження в клініці / Ф. І. Комаров, Б. Ф. Коровкін, В. В. Меньшиков. – Эліста : Джангар, 1999. – 250 с.
5. **Лабораторна** ензимологія / Під ред. В. В. Долгова, А. В. Козлова, С. С. Ракова. – СПб. : Diagnostikа СПб, 2002. – 160 с.
6. **Подимова С. Д.** Диференціальна діагностика жовтяниць // Клин. мед. – 2003. – № 12. – С. 66–71.
7. **Соляник Г. І.** Протипухлинна терапія. Допоміжна інформація / Г. І. Соляник, Г. І. Кулик. – К. : Геопринт, 1999. – 339 с.
8. **Ткачук В. Е.** Клінічна біохімія. – М. : Медицина, 2004. – 322 с.
9. **Ходосова І. А.** Ферменти клітин пухлин. – М. : Наука, 1998. – 235 с.
10. **Яковенко Є. П.** Хронічні захворювання печінки: діагностика та лікування // Рос. мед. журн. – 2003. – Т. 1, № 5. – С. 291–296.
11. **A novel combination of cisplatin, irinotecan and capecitabine in patients with advanced cancer** / M. Jefford, M. Michael, M. A. Rosenthal et al. // Invest. New Drugs. – 2001. – Vol. 22, N 2. – P. 185–192.
12. **Cersosimo R. J.** Hepatotoxicity associated with cisplatin chemotherapy // Ann. Pharmacother. – 1993. – Vol. 27, N 4. – P. 438–441.
13. **Hematological side-effect profiles of individualized chemotherapy** / M. Breidenbach, D. T. Rein, T. Schondorf et al. // Anticancer Drugs. – 2003. – Vol. 14, N 5. – P. 341–346.
14. **Kintzel P. E.** Anticancer drug-induced kidney disorders // Drug Saf. – 2001. – Vol. 24. – P. 19–38.
15. **Nephrotoxicity of platinum complexes is related to basolateral organic cation transport** / T. Ludwig, C. Riethmuller, M. Gekle et al. // Kidney Int. – 2004. – Vol. 66, N 1. – P. 196–202.
16. **Phase 2 trial of prolonged administration of oral topotecan in platinum/taxanerefractory ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancers** / M. Markman, K. Webster, K. Zanotti et al. // Gynecol. Oncol. – 2004. – Vol. 95, N 1. – P. 109–113.
17. **Schimmel K. J.** Cardiotoxicity of cytotoxic drugs / K. J. Schimmel, D. J. Richel, H. J. Guchelaar // Cancer Treat. Rev. – 2004. – Vol. 30, N 2. – P. 181–191.
18. **Shtemenko N.** Dichlorotetra- μ -isobutyrate dirhenium (III): Enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties / N. Shtemenko, P. Collery, A. Shtemenko // Anticancer Research. – 2007. – Vol. 27. – P. 2487–2492.

Надійшла до редколегії 10.06.2010

УДК 612.017.1+616.61-089+843.076-037

Н. И. Ташевская, Ю. В. Фурман, В. С. Недзвецкий

*Днепропетровский национальный университет им. Олеса Гончара
Российский государственный социальный университет*

КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА С ЦЕЛЮ ПРОДЛЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ

Рассматривается необходимость тщательной оценки состояния почечного аллотрансплантата на всех стадиях его жизни. При этом делается акцент на необходимости комплексного подхода к диагностике с применением неинвазивных и инвазивных методов, что будет способствовать продлению срока функционирования почечного аллотрансплантата.

Н. І. Ташевська, Ю. В. Фурман, В. С. Недзвецкий

*Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара
Російський державний соціальний університет*

КОМПЛЕКСНА ДІАГНОСТИКА НИРКОВОГО АЛОТРАНСПЛАНТАТА З МЕТОЮ ПОДОВЖЕННЯ ФУНКЦІОНУВАННЯ

Розглядається необхідність ретельної оцінки стану ниркового алотрансплантата на всіх стадіях його життя. При цьому робиться акцент на необхідності комплексного підходу до діагностики із застосуванням неінвазивних та інвазивних методів, що буде сприяти подовженню терміну функціонування ниркового алотрансплантата.

N. I. Tashevskaya, Y. V. Furman, V. S. Nedzvetsky

*Oles' Gonchar Dnipropetrovs'k National University,
Russian State Social University*

COMPLEX DIAGNOSTICS OF KIDNEY ALLOGRAFT FOR INCREASING ITS FUCTIONING LIFETIME

This review covers the necessity of deep estimation of kidney allograft state on each stage of its life. Particular emphasis was made on complex investigation by invasive and noninvasive diagnostics methods. This way will be helpful for increasing of the kidney allograft lifetime.

Введение

Отдаленные результаты трансплантации почки практически не изменились за последние 20 лет, несмотря на значительный прогресс в улучшении кратковременного функционирования почечного аллотрансплантата (ПАТ), достигнутый благодаря внедрению генотипирования и более эффективных методов иммуносупрессии [14]. Причиной этого является хроническое кумулятивное воздействие повреждающих факторов иммунной и неиммунной природы, что ведет к склерозу ПАТ [4; 12; 13] и сниже-

нию массы действующих нефронов. Вследствие многообразия повреждающих факторов и их возможных комбинаций дифференциальная диагностика причины дисфункции ПАТ трудна, особенно в поздние сроки после трансплантации. В этой связи профилактика и ранняя диагностика поражений ПАТ приобретают первостепенное значение. Одним из подходов к решению этих задач является мониторинг морфологического состояния ПАТ [1; 2].

Еще одним основным фактором длительного функционирования аллотрансплантата является иммунологическая совместимость донора и реципиента по HLA-антигенам I (HLA-A и B) и II классов (HLA-DR). Серологическое выявление HLA-антигенов I и II классов является основой тканевого типирования, традиционно используемого для селекции пар донор – реципиент при клинической трансплантации. В настоящее время антигены HLA-системы II класса определяют методом ДНК-типирования. По сравнению с серологией ДНК-типирование имеет ряд преимуществ. Точность ДНК-типирования выше, нежели типирование серологическое. Исследуя ДНК, можно выявить сложные специфичности HLA, то есть те, которые открываются редкими или труднодоступными аллоантисыворотками с высокой специфичностью [9; 10].

Материал и методы исследований

Обследовано 189 реципиентов с терминальной хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе, и 65 доноров. Целью исследования являлась оценка преимуществ селекции по антигенам II класса HLA-системы, определяемым методом ДНК-типирования, по сравнению с селекцией по антигенам I класса. Генотипирование проводилось методом полимеразной цепной реакции с использованием диагностических наборов для ДНК-типирования (НПФ «ДНК-технология», Москва). Амплификацию проводили на генном амплификаторе «Gene Amp PCR System 2400» в режиме активного регулирования температуры реакционной смеси. Детекцию амплифицированной ДНК проводили электрофорезом в 3 % агарозном геле с визуализацией ее на трансиллюминаторе. Антигены A-, B-локусов определяли лимфоцитотоксическим тестом. Материалом для исследования послужила кровь больных и селезенка доноров.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований и сравнительной оценки подбора пар донор – реципиент выявлено, что генотипирование обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Это сказывается на качестве проведенных исследований и является важным условием для проведения успешной трансплантации. Селекция по антигенам II класса HLA-DR имеет преимущественный эффект, обеспечивает лучшее приживание трансплантата и его высокую выживаемость, чем селекция по антигенам I класса HLA-A и HLA-B локусы, что можно объяснить разницей в структуре антигенов I и II классов (структура антигенов I класса имеет решающее значение для цитотоксического эффекта Т-клеток, а антигенов II класса – для процесса презентации антигена) [7]. Подбор по антигенам HLA-DR более рационален, так как позволяет проводить селекцию только по двум антигенам, что увеличивает вероятность совместимости.

Кроме совместимости пар донор – реципиент важным моментом является морфологическая оценка и мониторинг состояния ПАТ. Общепринятым методом определения пригодности почки для трансплантации является визуальная оценка трансплантата. Однако некоторые структурные изменения в донорской почке не имеют макроскопических проявлений и могут быть диагностированы только при микроскопическом исследовании. Поэтому обязательным элементом морфологического мониторинга

га являются преимплантационные биопсии, которые позволяют оценить состояние донорских почек, и, в случае их пригодности для трансплантации, становятся «биопсией сравнения» для последующих исследований [1; 5; 7; 8; 10].

В зависимости от клинических признаков реакция отторжения бывает:

- 1) сверхострая: а) немедленная, возникающая в течение нескольких минут после пересадки и б) ускоренная, наступающая на протяжении первых 1–5 дней;
- 2) острая: а) ранняя, характеризующаяся развитием в период 6–10 дней после пересадки и б) поздняя, наблюдающаяся через 11 дней – несколько недель после пересадки;
- 3) хроническая, через несколько месяцев (лет) после трансплантации.

Клеточный инфильтрат отторгающихся аллогенных почек разнообразен и постоянно изменяется [10]. При морфологических исследованиях пересаженной почки после ее отторжения по сверхострому или ускоренному типу выявляется скопление форменных элементов и прежде всего тромбоцитов и лейкоцитов в микрососудистом ложе трансплантата, обширные отложения фибриновых тромбов в просвете капилляров, а также в мелких и средних почечных сосудах. Отложение фибрина сопровождается микротромбозом капилляров клубочка, некрозом отдельных капиллярных петель, закупоркой приносящих артериол, междольковых и других артерий, тромбозом околоканальцевых капилляров и некрозом отдельных почечных канальцев, некрозом канальцев наружного слоя коркового вещества почки и развитием картины тотального некроза [12].

Морфологические проявления хронического отторжения имеют свои особенности. В этих случаях интерстициальная клеточная инфильтрация, характерная для острого отторжения, сменяется преобладанием сосудистых поражений. Наблюдаются фибриноидный некроз стенки артериол и мелких артерий, сужение их просвета. Отличительной чертой хронического отторжения является также то, что в процесс рано вовлекаются клубочки. Эти сосудистые нарушения и вялотекущее хроническое воспаление сопровождаются прогрессирующим ухудшением функции трансплантата, отражая процесс замещения фиброзной тканью разрушенной почечной паренхимы [9].

В ранний период после операции необходим тщательный мониторинг состояния ПАТ путем оценки в динамике его азото- и водовыделительной функции и результатов общеклинических исследований. Среди причин нарушения ранней функции ПАТ различают: 1) острый канальцевый некроз; 2) острое антителопосредованное отторжение (АОО); 3) кортикальный некроз / инфаркт; 4) эндотелиальное повреждение; 5) острую токсичность ингибиторов кальциневрина; 6) тромботическую микроангиопатию; 7) медикаментозный интерстициальный нефрит; 8) молниеносное возвратное заболевание; 9) предсуществующую патологию [11]. Поэтому точный диагноз может быть выставлен только при проведении биопсийного исследования.

Согласно М. Pascual и соавт. [17], результаты биопсии, выполненной в первые 30 дней после трансплантации, требуют изменения врачебной тактики в 39 % случаев, а в сроке до одного года – у 56 % пациентов. Целесообразность ранних биопсий объясняется тем фактом, что после первого года морфолог чаще всего имеет дело с неспецифическими изменениями или сочетанием нескольких патологических процессов, что затрудняет диагностику. Ранние неинвазивные показатели функции ПАТ имеют не только диагностическое, но и прогностическое значение [18].

Заключение

Проведенное исследование подтверждает преимущество селекции по антигенам II класса HLA-DR, что является важным моментом для проведения успешной трансплантации. Результаты анализа литературы свидетельствуют о важной диагностиче-

ской и прогностической роли мониторинга состояния ПАТ. Учитывая высокий уровень финансовых затрат при возврате на диализ и выполнения ретрансплантации, такой подход является экономически обоснованным. Возможности гистологических методов в прогнозировании, оценке риска, наблюдении за динамикой патологических процессов в ПАТ ограничены. Поэтому оптимальным подходом является сочетанное применение инвазивных и неинвазивных методов для мониторинга состояния ПАТ.

Библиографические ссылки

1. **Никоненко Т. Н.** Клініко-морфологічний моніторинг трансплантованих нирок // Мистецтво лікування. – 2005. – № 8. – С. 34–35.
2. **Траилин А. В.** Актуальные проблемы поздней дисфункции почечного аллотрансплантата // Нефрология и диализ. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 30–34.
3. **Траилин А. В.** Иммунофенотипирование лейкоцитов в комплексной диагностике поздней дисфункции почечного аллотрансплантата / А. В. Траилин, Т. Н. Никоненко // Український морфологічний альманах. – 2006. – Т. 4, № 4. – С. 91–95.
4. **Траилин А. В.** Морфологический и молекулярно-генетический мониторинг трансплантированной почки – путь к увеличению срока ее выживания / А. В. Траилин, Т. Н. Никоненко // Український медичний часопис. – 2007. – Т. 57, № 1. – С. 81–87.
5. **Траилин А. В.** Прогнозирование дисфункции почечного трансплантата на основании морфологического исследования донорской почки / А. В. Траилин, Т. Н. Никоненко, Т. И. Остапенко // Актуальні питання медичної науки та практики. – Запоріжжя, 2006. – Вип. 69. – С. 284–288.
6. **Bohmig G. A.** Protocol biopsies after kidney transplantation / G. A. Bohmig, H. Regele, W. H. Horl // Transpl. Int. – 2005. – Vol. 18, N 2. – P. 131–139.
7. **Bohmig G. A.** Immunosorption in severe C₄d<positive acute kidney allograft rejection: A randomized controlled trial / G. A. Bohmig, M. Wahrmann, H. Regele // Am. J. Transplant. – 2007. – Vol. 7, N 1. – P. 117–121.
8. **Chapman J. R.** Chronic renal allograft dysfunction / J. R. Chapman, P. J. O'Connell, B. J. Nankivell // J. Am. Soc. Nephrol. – 2005. – Vol. 16, N 1. – P. 3015–3026.
9. **The prognostic** utility of deceased donor implantation biopsy in determining function and graft survival after kidney transplantation / S. M. Cockfield, R. B. Moore, G. Todd et al. // Transplantation. – 2010. – Vol. 89, N 5. – P. 559–664.
10. **Colvin R. B.** Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis // J. Am. Soc. Nephrol. – 2007. – Vol. 18, N 4. – P. 1046–1056.
11. **Colvin R. B.** Chronic allograft nephropathy // N. Engl. J. of Med. – 2003. – Vol. 349. – P. 2288–2290.
12. **Hariharan S.** Posttransplant renal function in the first year predicts long term kidney transplant survival / S. Hariharan, M. McBride, W. S. Cherikh // Kidney International. – 2002. – Vol. 62. – P. 311–318.
13. **Lopes J. A.** Evaluation of preimplantation kidney biopsies: Comparison of Banff criteria to a morphometric approach / J. A. Lopes, F. Moreso, L. Riera // Kidney International. – 2005. – Vol. 67. – P. 1595–1600.
14. **The natural** history of chronic allograft nephropathy / B. J. Nankivell, R. J. Borrows, C. L. Fung et al. // N. Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 349. – P. 2326–2333.
15. **Marrari M.** Detection of donor-specific HLA antibodies before and after removal of a rejected kidney transplant / M. Marrari, R. J. Duquesnoy // Transpl. Immunology. – 2010. – Vol. 105, N 9. – P. 778–784.
16. **The impact** of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival / A. J. Matas, K. J. Gillingham, W. D. Payne et al. // Transplantat. – 1994. – Vol. 57. – P. 857–859.
17. **Acute** humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology and pathologic classification / S. Mauyyedi, M. Crespo, B. A. Collins et al. // J. Am. Soc. Nephrology. – 2002. – Vol. 13. – P. 779–787.
18. **The clinical** usefulness of the renal allograft biopsy in the cyclosporine era: A prospective study / M. Pascual, H. Vallhonrat, A. B. Cosimi et al. // Transplant. – 1999. – Vol. 67, N 5. – P. 737–741.
19. **Shotgun** proteomics identifies proteins specific for acute renal transplant rejection / T. K. Sigdel, A. Kaushal, M. Gritsenko et al. // Proteomics Clin. Appl. – 2010. – Vol. 4, N 1. – P. 32–47.

Надійшла до редколегії 07.07.2010

УДК 517.112:612.8

О. З. Фоменко, Г. О. Ушакова, С. Г. Пієржиновський

*Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара
Університет м. Люнд, Швеція*

**РІВЕНЬ ГІАЛУРОНАТУ ТА ЗАГАЛЬНОЇ
ГІАЛУРОНАТ-ЗВ'ЯЗУВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ БІЛКІВ ЗА УМОВ
РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С
ТА ЛІКУВАННЯ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТОМ**

Встановлено вірогідне збільшення концентрації гіялуранової кислоти у сироватці крові щурів при моделюванні хронічного гепатиту С. Проведено дослідження змін у абсолютній та відносній гіялуранат-зв'язувальній активності цитозольних білків мозочка та гіпокампа щурів за нормальних умов, при експериментальному хронічному гепатиті С та дії альфа-кетоглутарату.

О. З. Фоменко, Г. А. Ушакова, С. Г. Пієржиновский

*Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара
Университет г. Люнд, Швеция*

**УРОВЕНЬ ГИАЛУРОНАТА И ОБЩЕЙ ГИАЛУРОНАТ-
СВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВ В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С
И ЛЕЧЕНИЯ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТОМ**

Установлено достоверное увеличение концентрации гиалуроновой кислоты в сыворотке крови крыс при моделировании хронического гепатита С. Проведены исследования изменений в абсолютной и относительной гиалуронат-связывающей активности цитозольных белков мозжечка и гиппокампа крыс при нормальных условиях, при экспериментальном хроническом гепатите С и действии альфа-кетоглутарата.

O. Z. Fomenko, G. A. Ushakova, S. G. Pierzynowski

*Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University
Lund University, Sweden*

**HYALURONATE AND TOTAL HYALURONATE-BINDING CAPACITY
OF PROTEINS UNDER EXPERIMENTAL CHRONIC HEPATITIS C
AND TREATMENT WITH ALPHA-KETOGLUTARATE**

The increase of hyaluronic acid concentration in the blood serum of rats during modelling of chronic hepatitis C is presented. The research of changes in the absolute and relative hyaluronate-binding activity of cytosolic proteins in the rats' cerebellum and hippocampus under normal condition, experimental chronic hepatitis C and with the alfa-ketoglutarate treatment was carried out.

Вступ

У процесі лікування багатьох хвороб важливе своєчасне й точне їх діагностування, але частина діагностичних методів продовжують бути небезпечними, такі як біопсія печінки. Тому сьогодні вимагає пошуку нових безпечних, неінвазивних методів раннього діагностування хвороб та їх лікування.

Біологічна роль глікозаміногліканів в організмі велика: вони беруть участь у здійсненні опорної функції, проникності клітинних мембран, змазуванні суглобових поверхонь, у процесах диференціювання та регенерації тканин, запліднення та розмноження, у водно-сольовому обміні між тканинами та міжклітинною рідиною, у здійсненні реакцій імунітету, у регуляції апоптичних реакцій [1; 6]. Сьогодні актуальним є дослідження глікозаміногліканів не лише у сполучних тканинах, а й у мозку. Адже вони беруть активну участь у процесах нейрорегенерації, пластичності мозку, взаємодії з факторами росту, проліферації клітин.

Особливо цікавим останнім часом стало виявлення та дослідження ГАГ у мозку тварин і людини. У центральній нервовій системі протеоглікани – одні з головних молекул, що формують гематоенцифалічний бар'єр, впливають на структуру, розвиток і міграцію аксонів. Бічні ланцюги глікозаміногліканів часто формують гібридні ланцюги із сульфатованими гетеросахаридами та слугують нейрональними маркерами стовбурних клітин, нейрогенними та нервовостимулювальними молекулами, що відповідають за проліферацію клітин мозку. Гібридні ланцюги ГАГ включаються до формування нейронної мережі, захоплюючи зв'язані фактори росту. Дослідження клітин мозку показали істотну роль ПГ і ГАГ у різних біологічних процесах, включаючи цитокінез, проліферацію, диференціацію, міграцію, морфогенез тканини, органогенез, участь у формуванні відповіді на інфекцію й загоєння ран [3].

Оскільки суттєві порушення печінки супроводжуються розвитком енцефалопатії, метою даної роботи було визначення зміни загального рівня гіалуронової кислоти у сироватці крові щурів і загальної гіалуронат-зв'язувальної активності цитозольних білків мозку щурів при моделюванні хронічного гепатиту С та застосуванні альфа-кетоглутарату.

Матеріал і методи досліджень

Для дослідження використовували мозок і сироватку крові 18 щурів лінії Вістар. Спосіб моделювання хронічного гепатиту С [5] включав токсичне ушкодження гепатоцитів чотирьохлористим вуглецем і формування аутоімунної відповіді: після триразового введення чотирьохлористого вуглецю дозою 0,25 мл 50 % розчину в рафінованій олії тваринам вводили триразово гомогенат печінки з повним ад'ювантом Фрейнда дозою 0,5, 0,25, 0,25 мл через 15 і 9 діб, і дворазово у проміжках азатіоприн дозою 50 мг/кг. Тварини розділені на три групи ($n = 6$): I – контрольна, II – моделювання хронічного гепатиту С, III – моделювання хронічного гепатиту С, а потім лікування альфа-кетоглутаратом 0,228 % у питній воді протягом 10 діб. Тварин декапітували під легким наркозом із застосуванням ізофурану. Концентрацію гіалуронової кислоти в сироватці крові визначали за допомогою методу Голда [2]. Загальну гіалуронат-зв'язувальну активність білків у цитозольній фракції мозку проводили за допомогою твердофазного вуглевод-ферментного мікроаналізу [4]. Результати піддавали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента.

Результати й обговорення

Вплив гепатиту *C* призвів до зміни загального рівня гіалуронової кислоти у крові щурів (рис. 1). Порівняно з контролем, група тварин з експериментальним гепатитом *C* мала приріст концентрації гіалуронату майже на 26 %. При дії на хворих щурів альфа-кетоглутаратом спостерігається подальше підвищення рівня гіалуронової кислоти в сироватці (на 35 % порівняно зі значеннями контрольної групи). Серед біологічно активних речовин природного походження особливе місце належить гіалуронової кислоті (ГК), або гіалуронату – лінійному глікозаміноглікану, що не є сульфатованим, складається з 2 000–25 000 дисахаридів глюкуронової кислоти та *N*-ацетилглюкозаміну, молекулярна маса цього полімеру – до 1 000 000 Да. У середині мономеру – 1,3-бета-глікозидний зв'язок, між мономерами – 1,4-бета-глікозидний зв'язок. Незважаючи на простоту будови, ГК істотно відрізняється від інших глікозаміногліканів, за своїми розмірами, фізико-хімічними властивостями та особливостями синтезу. Гіалуронова кислота входить переважно до складу міжклітинної речовини, де її період напівіснування триває близько 8 годин. Її олігомери проникають у лімфатичні судини, потім у лімфатичні вузли, де й відбувається остаточне розщеплення ферментом гіалуронідазою, яка синтезується у печінці. Рівень гіалуронової кислоти у сироватці – один із біохімічних маркерів, що характеризує розвиток фіброзу печінки за умов експериментального гепатиту *C* (дані гістологічного дослідження печінки підтвердили наявність фіброзу печінки у дослідних тварин). Отримані дані свідчать про те, що монотерапія за участю альфа-кетоглутарата протягом 10 діб не викликає нормалізації рівня гіалуронової кислоти у крові.

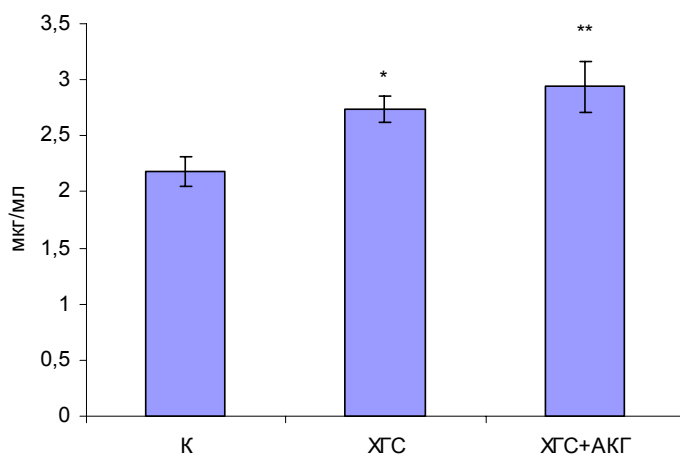


Рис. 1. Рівень гіалуронової кислоти в сироватці крові щурів:

К – контрольна група, *ХГС* – моделювання хронічного гепатиту *C*, *ХГС+АКГ* – група тварин, у яких моделювали гепатит *C*, а потім лікували альфа-кетоглутаратом (0,228 %) протягом 10 діб; $n = 6$, * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

Дослідження гіалуронат-зв'язувальної активності білків у різних відділах мозку щурів показали, що при захворюванні гепатитом *C* достовірно не змінюється абсолютна кількість активних до зв'язування з гіалуронатом білків (рис. 2), але значно знижується їх відносна активність (у співвідношенні із загальною кількістю білків). Це може бути наслідком того, що при розвитку хронічного гепатиту в мозку дослідних щурів збільшується кількість неспецифічних до глікозаміногліканів білків. Застосування альфа-кетоглутарату призводить до зниження гіалуронат-зв'язувальної активності білків у

мозочку (на 50 % відносно значень групи з моделюванням ХГС), але достовірно не змінює її у гіпокампі. Відносна активність гіалуронат-зв'язувальних білків при застосуванні альфа-кетоглутарату нормалізувалась, зростаючи у напрямку контрольних значень. Як відомо, гіалуронат-зв'язувальні білки, зв'язуючись із гіалуроновою кислотою, впливають на рухливість клітин і клітинну адгезію. Таким чином, відновлення нормальних значень відносної гіалуронат-зв'язувальної активності свідчить про позитивний вплив альфа-кетоглутарату на гіалуронат-залежну сигнальну систему.

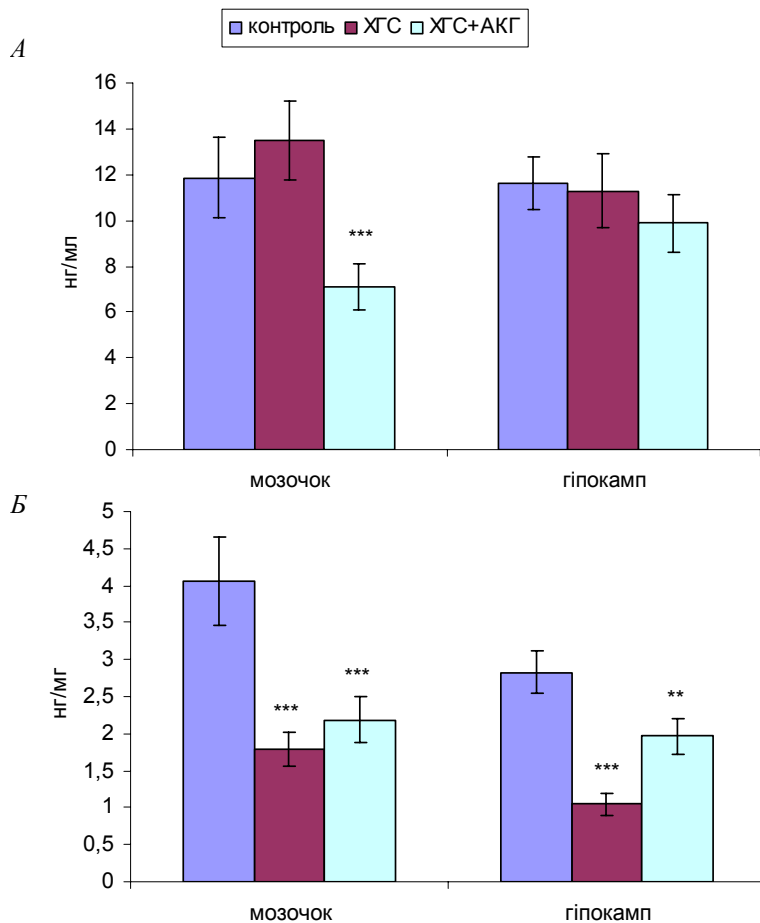


Рис. 2. Абсолютна (А) та відносна (Б) гіалуронат-зв'язувальна активність цитозольних білків мозочка та гіпокампа щурів: К – контрольна група, ХГС – група з моделюванням хронічного гепатиту С, ХГС+АКГ – група тварин, у яких моделювали гепатит С, а потім лікували альфа-кетоглутаратом (0,228 %) протягом 10 діб; $n = 6$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Розвиток ПЕ пов'язується з нейротоксичними метаболітами, що здатні проходити крізь гемато-енцефалічний бар'єр. Об'єкт дії цих токсичних метаболітів – астроглія ЦНС (місце синтезу гіалуронату), котра відіграє принципову роль у трофіці нейронів і процесах нейротрансмісії [7; 8]. Серед нейрогенних токсинів найбільш значиму роль відводять аміаку. Його рівень у крові підвищений у 90 % хворих цирозами печінки та ПЕ, а його вміст у головному мозку також збільшений. У головному мозку цикл сечовини не функціонує, тому видалення з нього аміаку проходить різними шляхами, більшістю за рахунок глутамат-глутамінного циклу. Робота цього механізму відбувається за прямою участю альфа-кетоглутарату, котрий вилучається з циклу

Кребса [9; 10]. Терапевтичне надходження альфа-кетоглутарату запобігає розвитку гіпоенергетичного стану в ЦНС та прискорює процес детоксикації аміаку в мозку, що покращує метаболізм білків та гіалуронат-зв'язувальних у тому числі.

Висновок

Підвищений рівень гіалуронової кислоти у сироватці крові може бути використаний як непрямий неінвазивний діагностичний показник рівня запалення та фіброзу печінки при гепатиті С. Експериментальний гепатит С не викликає зміни центрів зв'язування гіалуронату у мозку дослідних тварин, але характеризується зниженням відносної гіалуронат-зв'язувальної активності цитозольних білків мозочка та гіпокампа щурів. Застосування альфа-кетоглутарату 0,228 % у питній воді протягом 10 діб нормалізує обмін гіалуронату та специфічних рецепторів у мозку порівняно з хворими тваринами за рахунок збільшення швидкості детоксикації, але не зупиняє розвиток фіброзу печінки.

Бібліографічні посилання

1. **Gandhi N. S.** The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins / N. S. Gandhi, R. L. Mancera // Chem. Biol. Drug. Des. – 2008. – Vol. 72, N 6. – P. 455–482.
2. **Gold E. W.** The quantitative spectrophotometric estimation of total sulfated glycosaminoglycan levels // Biochimica et Biophysica Acta. – 1981. – Vol. 673. – P. 408–415.
3. Takashi Y., Rumi T., Toshie T. The effect of sulfated hyaluronan on the morphological transformation and activity of cultured human astrocytes / Y. Takashi, T. Rumi, T. Toshie // Biomaterials. – 2008. – Vol. 29. – P. 3503–3513.
4. **Ushakova G.** Postnatal dynamics of the heparin-binding activity of rat cerebellar cells // Нейрофізіологія / Neurophysiology. – 1999. – Vol. 31, N 2. – P. 140–141.
5. **Пат. 15752** Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання хронічного гепатиту С / В. Ю. Ніколенко, Ю. І. Ніколенко, О. Ю. Ніколенко; заявник та власник Донецький гос. мед. ун-т. – № u2006004614 заявл. 18.01.2006; набрано чинності 17.07.2006.
6. **Ушакова Г. О.** Роль глікозаміноглікан-зв'язуючих білків у морфогенезі та пластичності мозку. Автореф. дис. ... д-ра біол. наук: Харк. нац. ун-т ім. В. Н. Каразіна. – Х., 2005. – 35 с.
7. **Sheline C. T.** Free radical-mediated neurotoxicity may be caused by inhibition of mitochondrial dehydrogenases *in vitro* and *in vivo* / C. T. Sheline, L. Wei // Neuroscience. – 2006. – Vol. 140, N 1. – P. 235–246.
8. **The role** of astrocytes and complement system in neural plasticity. / M. Pekny, U. Wilhelmsson, Y. R. Bogestal, M. Pekna // Int. Rev. Neurobiol. – 2007. – Vol. 82. – P. 95–111.
9. **2-Oxoglutarate** downregulates expression of vascular endothelial growth factor and erythropoietin through decreasing hypoxia-inducible factor-1alpha and inhibits angiogenesis / K. Matsumoto, S. Imagawa, N. Obara et al. // J. Cell. Physiol. – 2006. – Vol. 209, N 2. – P. 333–340.
10. **Dakshayani K. B.** Alpha-ketoglutarate modulates the circadian patterns of lipid peroxidation and antioxidant status during *N*-nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis in rats / K. B. Dakshayani, P. Subramanian // J. Med. Food. – 2006. – Vol. 9, N 1. – P. 90–97.

Надійшла до редколегії 04.06.2010

УДК 577.391

Э. Н. Шамилов, А. С. Абдуллаев, И. А. Рзаева, И. В. Азизов

Институт радиационных проблем НАНА, Баку

Институт ботаники НАНА, Баку

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА ФОРМИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА И ВЫХОД ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ

Исследовано действие различных доз γ -облучения на биосинтез хлорофиллов и каротиноидов, а также на ход митотического деления меристематических клеток корневых волосков у прорастающих семян пшеницы в присутствии пирокатехина, пирокатехината железа, тиокарбамида, тиокарбамида железа, рутина, рутината железа, юглона и юглоната железа. Пирокатехинат, рутинат, юглонат железа и юглон обладают заметными радиозащитными свойствами, стимулируют адаптивный биосинтез хлорофиллов и каротиноидов, а также значительно уменьшают число хромосомных aberrаций при облучении.

Е. Н. Шамілов, А. С. Абдуллаєв, І. А. Рзаєва, І. В. Азізов

Институт радіаційних проблем НАНА, Баку

Институт ботаніки НАНА, Баку

ВПЛИВ КОМПЛЕКСІВ ЗАЛІЗА НА ФОРМУВАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ТА ВИХІД ГЕНЕТИЧНИХ ЗМІН У ГАММА-ОПРОМІНЕНОГО НАСІННЯ ПШЕНИЦІ

Досліджено вплив різних доз γ -опромінення на біосинтез хлорофілів і каротиноїдів, а також на хід митотичного поділу меристематичних клітин корневих волосків у проростках насіння пшениці у присутності пірокатехіну, пірокатехінату заліза, тіокарбаміду, тіокарбаміду заліза, рутину, рутинату заліза, юглону та юглонату заліза. Виявлено, що пірокатехінат, рутинат, юглонат заліза та юглон мають помітні радіозахисні властивості, які стимулюють адаптивний біосинтез хлорофілів і каротиноїдів, а також значно зменшують кількість хромосомних aberrаций при опроміненні.

E. N. Shamilov, A. S. Abdullayev, I. A. Rzayeva, I. V. Azizov

Institute of Radiation Problems of Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan

Institute of Botany of Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan

INFLUENCE OF IRON COMPLEXES ON FORMATION OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS AND OUTCOME OF GENETIC CHANGES AT THE GAMMA IRRADIATED SEEDS OF WHEAT

Influence of various doses of γ -irradiation on biosynthesis of chlorophyll and carotenoids, and also on a progress of mitotic divisions of meristematic cells of root hairs at sprouting wheat seeds at the presence of pyrocatechol, iron pyrocatechol, thiocarbamide, iron thiocarbamide, rutin, iron rutin, juglon and iron juglonate was studied. There was revealed that iron pyrocatechol, iron rutin, juglon and iron juglonate possess appreciable radioprotective properties which stimulate adaptive biosynthesis of chlorophyll and carotenoids, and also considerably reduce a number of chromosomal aberrations under irradiation.

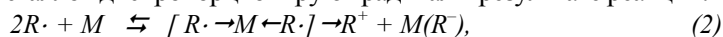
Введение

В организме жизненно важные металлы находятся преимущественно в виде комплексов. Избыток или недостаток металлов, вмешательство токсичных веществ в конкуренцию за металлы, входящие в макромолекулы приводит к нарушению функций металлоферментов. Поэтому экзогенные комплексы, содержащие металлы, являются своего рода незаменимыми источниками обеспечения организмов микроэлементами – металлами. Исследования, проводимые в области биокоординационной химии основываются на использовании модельных биологически активных молекул, содержащих функциональные группы, характерные для биологических систем. Этот принцип позволяет выявить зависимость координационных возможностей лигандов от природы металла, определить влияние природы лиганда на характер образующихся координационных узлов, сформулировать химические и биологические критерии отбора соединений, наиболее перспективных для практического применения.

Существует значительное количество работ, свидетельствующих о взаимодействии комплексов металлов со свободными радикалами [1; 2]. На модельных системах показано, что комплексы ML_n служат ловушками свободных радикалов, превращая их в нерадикальные продукты:



а комплексы непереходных металлов диспропорционируют радикал в результате реакции:



где $R\cdot$ – радикал, R^+ – катион, R^- – анион, n – валентность металла.

Например, в работе [11] показано, что комплексы меди с салициловой и изопропилсалициловой кислотой обладают радиопротекторной активностью. Изученные реакции моделируют один из возможных этапов действия рассматриваемых комплексов *in vivo*, связанный с тушением свободных радикалов, накапливающихся в организме.

Исходя из вышеизложенного, получение новых биологически активных препаратов на основе координационных соединений металлов, содержащих различные органические лиганды, в том числе природные, является чрезвычайно актуальным.

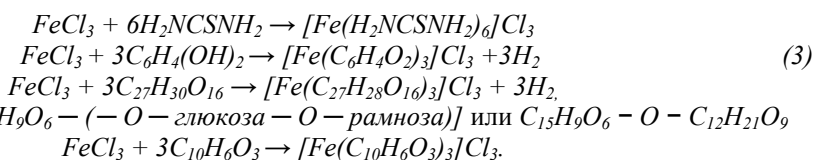
В работах [9; 10], посвященных изучению защитных механизмов в растениях, широко применяются синтетические и природные вещества, повышающие жизнедеятельность организма, восстанавливающие обмен веществ, устраняющие генетические повреждения, вызванные облучением. При исследовании действия солей некоторых металлов на живые организмы выявлено их профилактическое и терапевтическое действие. Обнаружено, что металлы в составе органических комплексных соединений менее токсичны, чем в виде неорганических солей. Присутствие органического лиганда придает металлокомплексам липофильность, нейтрализует электростатический заряд металлов, в результате чего их транспорт через клеточные мембраны сильно облегчается. В этой связи целесообразным представляется изучение радиопротекторных свойств катионов трехвалентных металлов и их комплексов. Использование железа в качестве радиопротектора обусловлено его способностью к устойчивому комплексообразованию биогенного характера.

Исследованию формирования фотосинтетического аппарата в хлоропластах после облучения с применением радиопротекторов посвящено небольшое количество работ. Поэтому основной задачей наших исследований являлось изучение действия γ -облучения на биосинтез хлорофиллов и каротиноидов и на выход хромосомных aberrаций у анафазных клеток корневых волосков проростков пшеницы при использовании комплексов железа с целью выявления их радиопротекторных свойств.

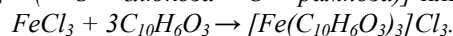
Материал и методы исследований

В качестве объекта исследований взяты семена засухоустойчивый твердой пшеницы *Triticum durum* L. Семена подвергали общему равномерному γ -облучению от источника ^{60}Co на γ -установке «Рхунд» при средней мощности дозы излучения $\text{MD} = 0,024$ Грей/с. Перед облучением семена были обработаны пирокатехином, пирокатехином железа, тиокарбамидом, тиокарбамидом железа, рутином, рутином железа, юглоном и юглоном железа при концентрации 10^{-2} М. Для синтеза комплексов использовали хлорид железа (III), тиомочевина, пирокатехин марки «ч. д. а.». Рутин (3-рамногликозид-3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон, зеленовато-желтый мелкокристаллический порошок) получили из софоры (*Sophora japonica* L.): измельченные листья обрабатывали в аппарате Сокслета 70 % раствором этанола, растворитель отгоняли на водяной бане под вакуумом досуха. Сухой остаток обрабатывали эфиром. После испарения эфира рутин извлекали в три приема кипящей водой по 15–20 мл. Объединенные экстракты охлаждали, выпавшие ярко-желтые кристаллы рутина отделяли и сушили. Юглон (5-гидрокси-1,4-нафтихинон) – $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$ получен из незрелых плодов грецкого ореха путем экстракции.

Синтез комплексов железа проводили по следующей методике: стехиометрическое количество тиомочевины, пирокатехина, рутина и юглона растворяли отдельно в 50 мл изопропилового спирта. К полученным растворам по порциям при перемешивании прибавляли раствор хлорида железа (III). Выпавшие осадки отделяли, сушили до постоянной массы:



где $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} = [\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_6 - (-\text{O} - \text{глюкоза} - \text{O} - \text{рамноза})]$ или $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_6 - \text{O} - \text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_9$



Структурные изменения хромосом определяли в начальной и конечной стадиях анафазы с использованием светового микроскопа Ortoplan. Определение хлорофиллов и каротиноидов проводили по Шлык [8].

Результаты и их обсуждение

Содержание хлорофиллов и каротиноидов в проростках пшеницы, предварительно обработанных органическими лигандами и комплексами, приведено в таблице 1. γ -Облучение в дозах 6 и 30 Грей оказывает существенное влияние на содержание зеленых пигментов и каротиноидов в проростках пшеницы. Отмечается небольшое стимулирующее действие γ -лучей при 30 Гр. У проростков, облученных дозой 60 Гр, отмечается снижение содержания каротиноидов и хлорофиллов. Интересно отметить, что под действием γ -облучения в этой дозе содержание хлорофилла снижается больше, чем содержание каротиноидов. С повышением дозы облучения отмечается некоторое увеличение содержания каротиноидов. Известно, что с повышением дозы облучения вступают в действие различные компенсаторные системы, метаболические восстановительные процессы и репарации радиационных повреждений клеток, то есть реализуются различные адаптивные процессы у растений [3–5].

Одним из важных механизмов адаптации растений к облучению является активация антиоксидантных систем, результатом которой может являться накопление каротиноидов и флавоноидных соединений [6; 7]. Применяемые в наших опытах органические лиганды и комплексы действовали по-разному: пирокатехин, тиокарбамид и тиокарбамид железа почти не влияли на биосинтез фотосинтетических пигментов, в то

время как пирокатехинат железа, рутин, рутина́т железа, юглон и юглонат железа оказывали заметное радиопротекторное действие, так как содержание хлорофиллов в этом варианте было почти на уровне контроля, а содержание каротиноидов при дозе 60 Гр – выше контроля. Полученные данные свидетельствуют о том, что пирокатехинат железа, рутин, рутина́т железа, юглон и юглонат железа способствуют активации защитных систем хлоропластов.

Таблица 1

Влияние органических лигандов и железосодержащих комплексов на содержание пигментов (мг/г) в проростках γ -облученных семян пшеницы

Варианты	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>		Каротиноиды		
	мг/г	% от контроля	мг/г	% от контроля	мг/г	% от контроля	
Контроль	0	2,6 ± 0,05	100,0	0,6 ± 0,01	100,0	1,5 ± 0,06	100,0
	6 Гр	1,7 ± 0,06	65,4	0,5 ± 0,02	83,3	0,4 ± 0,07	26,6
	30 Гр	2,2 ± 0,08	84,6	0,5 ± 0,03	83,3	0,7 ± 0,08	46,7
	60 Гр	1,4 ± 0,04	53,8	0,4 ± 0,02	66,6	1,1 ± 0,07	73,3
γ -облученные и обработанные соединениями: пирокатехин	0	2,6 ± 0,05	100,0	0,6 ± 0,01	100,0	1,5 ± 0,06	100,0
	6 Гр	1,6 ± 0,02	61,5	0,5 ± 0,03	83,3	0,4 ± 0,08	26,6
	30 Гр	1,1 ± 0,03	42,3	0,3 ± 0,04	50,0	0,6 ± 0,09	40,0
	60 Гр	1,6 ± 0,04	61,5	0,5 ± 0,03	83,3	1,2 ± 0,05	80,0
Пирокатехинат железа	0	2,6 ± 0,05	100,0	0,6 ± 0,01	100,0	1,5 ± 0,06	100,0
	6 Гр	1,5 ± 0,02	57,6	0,6 ± 0,04	100,0	0,4 ± 0,06	26,6
	30 Гр	2,3 ± 0,05	88,4	0,6 ± 0,06	100,0	1,1 ± 0,07	93,3
	60 Гр	1,9 ± 0,06	73,0	0,5 ± 0,02	83,3	0,7 ± 0,08	46,7
Тиокарбамид	0	2,6 ± 0,05	100,0	0,6 ± 0,01	100,0	1,5 ± 0,06	100,0
	6 Гр	1,5 ± 0,07	57,6	0,5 ± 0,01	83,3	0,4 ± 0,05	66,6
	30 Гр	1,5 ± 0,08	57,6	0,4 ± 0,02	66,6	1,2 ± 0,04	80,0
	60 Гр	1,5 ± 0,09	57,6	0,5 ± 0,03	83,3	1,2 ± 0,05	70,0
Тиокарбамид железа	0	2,6 ± 0,05	100,0	0,6 ± 0,01	100,0	1,5 ± 0,06	100,0
	6 Гр	1,8 ± 0,04	69,2	0,6 ± 0,04	100,0	0,5 ± 0,05	40,3
	30 Гр	0,7 ± 0,03	26,9	0,3 ± 0,02	50,0	0,7 ± 0,06	46,7
	60 Гр	1,1 ± 0,04	42,3	0,4 ± 0,01	66,6	1,1 ± 0,07	73,3
Рутин	0	2,6 ± 0,05	100,0	0,6 ± 0,01	100,0	1,5 ± 0,06	100,0
	6 Гр	1,4 ± 0,08	53,8	0,4 ± 0,01	66,7	0,4 ± 0,04	26,6
	30 Гр	2,0 ± 0,07	76,9	0,4 ± 0,02	66,7	0,8 ± 0,05	53,3
	60 Гр	1,6 ± 0,09	61,5	0,5 ± 0,03	83,3	1,1 ± 0,04	73,3
Рутина́т железа	0	2,6 ± 0,05	100,0	0,6 ± 0,01	100,0	1,5 ± 0,06	100,0
	6 Гр	1,5 ± 0,05	57,6	0,5 ± 0,04	83,3	0,4 ± 0,06	26,6
	30 Гр	2,2 ± 0,03	88,4	0,5 ± 0,01	83,3	1,2 ± 0,05	93,3
	60 Гр	1,8 ± 0,02	73,0	0,4 ± 0,02	66,7	0,6 ± 0,04	40,0
Юглон	0	2,5 ± 0,03	100,0	0,6 ± 0,04	100,0	1,6 ± 0,05	100,0
	6 Гр	2,3 ± 0,06	90,4	0,5 ± 0,05	85,5	1,3 ± 0,06	81,9
	30 Гр	2,3 ± 0,05	92,8	0,4 ± 0,02	71,0	1,4 ± 0,02	91,6
	60 Гр	2,2 ± 0,04	88,4	0,5 ± 0,03	79,0	1,0 ± 0,02	66,5
Юглонат железа	0	2,5 ± 0,03	100,0	0,6 ± 0,04	100,0	1,6 ± 0,05	100,0
	6 Гр	2,3 ± 0,04	92,0	0,6 ± 0,05	93,5	1,5 ± 0,06	97,4
	30 Гр	2,4 ± 0,05	94,4	0,6 ± 0,02	95,2	1,4 ± 0,02	91,0
	60 Гр	2,3 ± 0,02	91,6	0,6 ± 0,03	88,7	1,3 ± 0,02	85,8

Действие различных доз γ -облучения на выход хромосомных aberrаций у проростков пшеницы в присутствии и отсутствии комплексов железа показано в таблице 2.

**Действие различных доз γ -облучения на выход хромосомных aberrаций
у проростков пшеницы в присутствии органических лигандов и комплексов железа**

Варианты		Количество наблюдаемых анафазных клеток	Количество клеток с aberrациями	Количество aberrаций	Запоздание хромосом	Фрагменты	Мостики	Неравные деления	Другие сложные аномалии
Необлученный (контроль)	0 Гр	1559	17	17	6	10	1	–	–
Облученный (контроль)	30 Гр	1665	136	149	55	59	20	8	7
	60 Гр	1663	191	230	98	82	32	12	–
Обработаны пирокатехинатом железа	30 Гр	1611	81	87	31	36	14	2	–
	60 Гр	1583	111	135	62	61	12	6	–
Обработаны тиокарбамидом железа	30 Гр	1665	70	77	25	32	10	2	–
	60 Гр	1639	115	124	54	51	16	5	–
Обработаны рутином	30 Гр	1617	68	75	23	31	10	1	–
	60 Гр	1596	113	122	49	44	15	6	–
Обработаны рутинатом железа	30 Гр	1635	62	72	32	30	15	2	–
	60 Гр	1612	104	119	45	33	18	7	–
Обработаны юглоном	30 Гр	1611	76	81	38	27	11	3	2
	60 Гр	1595	108	121	59	31	12	5	1
Обработаны юглонатами железа	30 Гр	1643	71	62	24	16	11	8	3
	60 Гр	1627	112	108	47	36	19	6	–

В опытах проанализирована 24 321 анафазная клетка 408 корневых волосков. В облученных вариантах 30 и 60 Гр обнаружены следующие аномалии хромосом: образование фрагментов в метафазе и анафазе, мостики в анафазе, запоздания хромосом, неравномерное, симметрические и асимметрические деления хромосом. При изучении выхода хромосомных aberrаций после γ -облучения выяснилось, что при дозе 60 Гр достоверно увеличивается выход хромосомных aberrаций.

При облучении в дозе 30 Гр (см. табл. 2) в 1665 образцах анафазных клеток обнаружено 149 хромосомных aberrаций, в то время как у необлученного контрольного образца aberrаций почти не обнаружено. При облучении в дозе 60 Гр зарегистрировано 230 aberrаций, а применение комплексов железа привело к значительному снижению частоты хромосомных aberrаций.

Среди применяемых комплексов наибольшее антимуtagenное действие на геном пшеницы оказывали пирокатехинат железа, рутинат железа, рутин, юглон и юглонат железа, которые способствовали значительному снижению частоты хромосомных aberrаций. Следует отметить, что противолучевые свойства пирокатехината железа, рутината железа и юглоната железа обнаружены также при обработке семян и после облучения.

Выводы

Впервые выявлено, что пирокатехинат железа, рутинат железа, юглон и юглонат железа заметно уменьшают повреждающее действие γ -облучения. Эти комплексы обуславливают формирование оптимального фотосинтетического аппарата пшеницы в пост-радиационный период, способствуют устранению аномалий митотического деления в клетках корневых волосков, стимулируя репаративные механизмы целого организма.

Библиографические ссылки

1. **Взаимодействие** между трифенилвердазильным радикалом и комплексами меди, железа, алюминия и цинка с N-3-трифторметилфенилантралиновой кислотой / А. С. Григорьева, Н. Ф. Конахович, Е. Е. Крисс, Ю. А. Малетин // Координационная химия. – 1981. – Т. 11, № 12. – С. 1620–1625.
2. **Взаимодействие** некоторых хелатов меди (II) с иминоксильным и вердазильным радикалами / Ю. А. Малетин, А. С. Григорьева, Е. Е. Крисс, Н. Ф. Конахович // Координационная химия. – 1981. – Т. 7, № 10. – С. 1464–1470.
3. **Влияние** хронического облучения на адаптивный потенциал растений / Н. И. Гуца, Г. Ю. Перковская, А. П. Дмитриев, Д. М. Гродзинский // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – Т. 42, № 2. – С. 155–158.
4. **Гераськин С. А.** // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1995. – Т. 35, вып. 5. – С. 563–571.
5. **Гераськин С. А.** Закономерности формирования цитогенетических эффектов малых доз ионизирующего излучения. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – 1998. – 50 с.
6. **Корогодина В. Л.**, Бамблевский В. П., Гришина И. В. // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2000. – Т. 40, № 3. – С. 334–348.
7. **Феденко В. С.**, Хлызина Н. В., Хуторная Н. А. // Радиобиологический съезд. Тез. докл. – Т. 4, ч. 3. – К., 1993. – С. 1028.
8. **Шлык А. А.** Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О. М. Поляновой. – М. : Наука, 1971. – С. 154–171.
9. **Abdullayev A. S.** Biological active iron complexes possessing radioprotector property / A. S. Abdullayev, M. F. Farajov, E. N. Shamilov // Development Perspectives of Experimental Biology. – Baku : Baku State University, 2002. – P. 144–145.
10. **Mc Cord** Inflammatory Diseases and Cooper / Ed. J. R. Sorenson. – J. Clifton (New Jersey) : Human press, 1982. – p. 255.
11. **Reactivity** on antiinflammatory and superoxide dismutase active Cu(II)-salicylates / U. Weser, C. Richter, A. Wendel, M. Vannes // Bioinorg. Chem. – 1978. – Vol. 8, N 3. – P. 201.

Надійшла до редколегії 18.07.2010

УДК 619:615.37+616-097.3:636.4

С. О. Шаповалов

Інститут тваринництва НААНУ

РІВЕНЬ ОБМІННИХ ПРОЦЕСІВ ОРГАНІЗМУ ПОРОСЯТ ЗА УМОВ УВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСНИХ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК ЕСЕНЦІЙНИХ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

Розглянуто питання використання препаратів, створених на основі сполук мікроелементів – ефективної альтернативи існуючих традиційних підходів до профілактики порушень обміну речовин в організмі тварин. Наведено дані про вплив мікроелементної композиції «Біотам» на показники крові поросят раннього віку. Досліджувана мікроелементна композиція сприяє інтенсифікації біосинтезу білків і максимальному їх накопиченню у крові тварин дослідної групи. Уведення додаткової кількості есенційних мікроелементів сприяє активним процесам розщеплення білкових структур, що потрапляють в організм з їжею, завдяки активізації панкреатичних і мембранних ферментів.

С. О. Шаповалов

Інститут животноводства НААНУ

УРОВЕНЬ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ ПОРОСЯТ ПРИ УСЛОВИИ ВВЕДЕНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ЭСSENЦИАЛЬНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Рассмотрен вопрос использования препаратов, созданных на основе соединений микроэлементов и являющихся эффективной альтернативой существующим традиционным подходам профилактики нарушений обмена веществ в организме животных. Приведены данные о влиянии микроэлементной композиции «Биотам» на показатели крови у поросят раннего возраста. Исследуемая микроэлементная композиция стимулирует биосинтез белков и приводит к максимальному их накоплению в крови животных опытной группы. Введение дополнительного количества эссенциальных микроэлементов активизирует процессы расщепления белковых структур, попадающих в организм с пищей, благодаря активизации панкреатических и мембранных ферментов.

S. O. Shapovalov

Institute of Animal Husbandry, NAAS of Ukraine

METABOLISM LEVEL IN PIGLETS UNDER THE CONDITION OF INTRODUCTION OF THE COMPLEX ORGANIC COMPOUNDS OF ESSENTIAL MICROELEMENTS

Use of preparations developed on basis of the microelements compounds is an efficient alternative to existed traditional approach to the prevention of metabolic disorders in animals. Obtained results enlarge understanding the mechanisms of antioxidant system activity and could be the basis for elaboration of scientific schemes of metabolism regulation with the help of different bioactive food supplements. Microelements complex “Biotam” stimulates proteins biosynthesis and increasing its level in the animals blood. It is proved that introduction of additional amount of microelements actuates the processes of proteolysis due to activation of pancreatic membrane enzymes.

Вступ

Підвищення життєздатності організму молодняка свиней в ранньому постнатальному онтогенезі залишається однією з гострих проблем у сучасній біології. При цьому особлива увага приділяється контролю обмінних процесів в організмі тварин у різні періоди їх продуктивного циклу, у тому числі на рівні взаємодії «організм матері – плід – новонароджена тварина» [5; 7; 8]. Молодняк свиней народжується на ранній стадії внутрішньоутробного розвитку (на відміну від інших сільськогосподарських тварин). Він зберігає максимальну напруженість росту після народження, збільшуючи при цьому свою живу масу у 18–20 разів, порівняно з телям, яке збільшує масу лише удвічі.

З огляду на це питання ряд дослідників зауважують, що серед основних чинників раціонального живлення в ранньому постнатальному онтогенезі є забезпечення організму необхідним набором (в оптимальних кількостях і співвідношеннях) мінеральних речовин [1; 3; 6]. Окрім того показано, що поросята відчують дефіцит феруму – на 5-ту добу, купруму – на 8-му, кальцію – на 12-ту, фосфору – на 15-ту добу [7]. Актуальна проблема – розробка препаратів, здатних підвищувати антиоксидантний та імунний статус, нормалізувати метаболічні процеси у тканинах, відновлювати структуру та функції органів і систем [2; 4]. З огляду на це питання використання препаратів, створених на основі сполук мікроелементів, – ефективна альтернатива існуючим традиційним підходам профілактики порушень обміну речовин організму тварин і виникнення в них системних захворювань [9; 10]. Як реальна альтернатива іонним сполукам мікроелементів запропоновано синтетичні комплекси біметалів з органічними лігандами, утворення яких зумовлює оптимізацію, синергізм і розширення діапазону фармакологічних ефектів обох складових [4; 10]. Саме цим і пояснюється актуальність досліджень, суть яких полягає у з'ясуванні впливу мікроелементів, зокрема їх координаційних сполук, на деякі аспекти метаболізму організму поросят у ранньому онтогенезі.

Мета нашої роботи – оцінити ефективність застосування для профілактики анемії та гіпоглобулінемії новонароджених поросят комплексного мікроелементумісного препарату «Біотам», дослідити біохімічні показники та амінокислотний склад плазми крові у гострому експерименті.

Матеріал і методи досліджень

Сформовано дві групи клінічно здорових поросят за принципом пар-аналогів (вік, маса, стать) – по 12 у кожній. Усі тварини перебували на підсосі в однакових умовах утримання. Дослідну групу фарбували стійким червоним барвником та вводили на 2, 7, 21, 30-ту добу 20 мг/кг маси тіла препарату «Біотам», що містить композицію мікроелементів, у якій містяться індивідуальні комплекси металів Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} з *N*-2,3-диметилфенілантраніловою (мефенаміною) кислотою. Вміст мікроелементів в 1 грамі: Zn^{2+} – 17 мг, Cu^{2+} – 3,7, Co^{2+} – 0,35, Cr^{3+} – 0,3, Fe^{3+} – 14,5, Mn^{2+} – 4,0, *N*-2,3-диметилфенілантранілової кислоти – 412 мг, глюконат кальцію – 180 мг, крохмаль, цукор, аеросил – до 1 г.

Природа та мольне співвідношення мікроелементів, які входять до композиції, відповідають їх складу у металумісних ферментах. Таким чином, дослідній групі було додатково уведено протягом досліду 500 мг препарату на кожну голову. На 1, 7, 14-ту добу відбувався забір крові безпосередньо із серця, яку стабілізували гепарином. На 35-ту добу тварин було забито. У сироватці крові визначали концентрацію загального білка, альбуміну, сечовини, креатиніну, холестерину, активність аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), амілази, лужної фосфатази на

біохімічному аналізаторі «SAPPHIRE-400» (Японія) із використанням стандартних наборів реактивів компанії «Biosystems». Концентрацію глюкози в крові визначали на апараті «Biosen» (Німеччина). Склад крові визначали на амінокислотному аналізаторі ААТ-30 (Чехія).

Результати та їх обговорення

Рівень загального білка був вищим у тварин дослідної групи (на 14 %). Таку закономірність виявлено і для білкових фракцій (рівень альбуміну вищий на 9 %), що свідчить про достатньо сталий колоїдно-осмотичний тиск та інтенсифікацію транспорту багатьох речовин ендogenous та екзогенного походження (табл. 1). Рівень глобулінів теж був вищим на 19 %.

Таблиця 1

Біохімічні показники крові 35-добових поросят при забої, ($M \pm m, n = 12$)

Показник	Контроль	Дослід
Загальний білок, г/л	52,35 ± 2,58	61,15 ± 4,11*
Альбуміни, г/л	27,62 ± 1,87	30,45 ± 1,64*
Глобуліни, г/л	24,73 ± 2,35	30,70 ± 3,18*
Альбуміни / глобуліни	1,11	0,99
Сечовина, мМ/л	4,77 ± 0,25	4,17 ± 0,11
Креатинін, мкМ/л	85,89 ± 2,30	76,13 ± 1,80*
АЛТ, мкМ/год./см ³	0,66 ± 0,09	0,63 ± 0,01
АСТ, мкМ/год./см ³	0,50 ± 0,01	0,52 ± 0,01
Глюкоза, мМ/л	3,96 ± 0,07	3,98 ± 0,08
Амілаза, мг/с·л	17,86 ± 0,35	16,62 ± 0,23*
Холестерин, мМ/л	1,75 ± 0,12	1,69 ± 0,08
Лужна фосфатаза, нМ/с·л	154,17 ± 11,30	141,64 ± 17,40

Примітка: * – $p \leq 0,05$ відносно контрольної групи.

З огляду на те, що білки відіграють в обміні речовин провідну роль, а обмінні процеси як білків, так і мікроелементів взаємопов'язані та взаємозумовлені, можна припустити, що мікроелементна композиція у тварин дослідної групи сприяє інтенсифікації біосинтезу білків і максимальному їх накопиченню у крові.

Співвідношення альбумінової та глобулінової фракцій було приблизно в однакових межах. Окрім того, при підвищенні загального білка в дослідній групі спостерігалось також підвищення рівня деяких амінокислот (табл. 2). Концентрація незамінних та лімітуючих амінокислот зросла: лізину – на 6 %, метіоніну – на 14 %, цистину – на 5 %, гліцину – на 20 % ($p \leq 0,05$), решти амінокислот – від 2 до 8 %. Можливо, введення додаткової кількості есенційних мікроелементів сприяє активним процесам розщеплення білкових структур, що попадають до організму з їжею завдяки активізації як панкреатичних ферментів (комплексу протеаз), так і мембранних.

При подальшому дослідженні білкового обміну встановлено, що рівень сечовини був нижчим у дослідній групі на 15 %, а креатиніну – на 12 %.

Можливо, процеси знешкодження аміаку в орнітиновому циклі йдуть активніше, підтримуючи певну кислотну ємність крові. Щодо рівня креатиніну, який є продуктом метаболізму креатину, слід зазначити, що сам креатинін, зазвичай нетоксична речовина, може перетворюватися на токсичніші метаболіти, такі як саркозин і метилгуанідин. Тому зменшення його концентрації може бути маркером сталості або мірою нормальної клубкової фільтрації, що підтверджено літературними джерелами [10; 14].

За умов подальшого дослідження обмінних процесів білкового рівня, необхідно враховувати активність гепатоспецифічних трансфераз. У нашому досліді показано,

що достовірних змін активності трансаміназ у дослідній групі не виявлено, що свідчить про ферментативну нормофункцію та відсутність деструктивних змін у гепатоцитах.

Таблиця 2

Амінокислотний склад крові 35-добових поросят при забої, ($M \pm m, n = 12$)

Амінокислота	Контроль, мг/100 мг	Контроль, мг/100 мг на заг. білок	Дослід, мг/100 мг	Дослід, мг/100 мг на заг. білок
Лізин	1,28 ± 0,04	2,45	1,36 ± 0,01	2,60
Метіонін	0,74 ± 0,02	1,41	0,87 ± 0,07	1,66
Треонін	1,55 ± 0,04	2,96	1,47 ± 0,07	2,81
Аспаргінова	2,35 ± 0,02	4,49	2,38 ± 0,07	4,55
Серин	1,01 ± 0,01	1,93	1,09 ± 0,01	2,08
Глутамінова	1,54 ± 0,02	2,94	1,67 ± 0,04	3,19
Пролін	0,38 ± 0,01	0,73	0,40 ± 0,01	0,76
Цистин	1,60 ± 0,01	3,06	1,69 ± 0,02	3,23
Гліцин	0,60 ± 0,04	1,15	0,75 ± 0,01	1,43
Аланін	1,55 ± 0,09	2,96	1,48 ± 0,02	2,83
Валін	1,26 ± 0,01	2,41	1,20 ± 0,08	2,29
Ізолейцин	0,76 ± 0,01	1,45	0,70 ± 0,04	1,34
Лейцин	1,75 ± 0,04	3,34	1,80 ± 0,04	3,44
Тирозин	1,04 ± 0,06	1,99	1,15 ± 0,09	2,20
Фенілаланін	0,98 ± 0,04	1,87	1,04 ± 0,07	1,99
Гістидин	1,42 ± 0,01	2,67	1,49 ± 0,04	2,85
Аргінін	2,57 ± 0,08	4,91	2,69 ± 0,01	5,14

Глюкоза в обох групах була на сталому фізіологічному рівні, проте активність амілолітичних ферментів сироватки крові в контролі була вірогідно вищою ($p < 0,05$), ніж у дослідній групі. Не встановлено достовірних змін концентрації холестерину та активності лужної фосфатази в дослідній і контрольних групах, що свідчить про направлену дію щодо оптимізації, синергізму та розширення діапазону фармакологічних ефектів введення мікроелементумісної добавки [3; 12].

Висновки

Уведення мікроелементної композиції есенційних мікроелементів сприяє активації білкового обміну, підвищує рівень загального білка в крові, збільшує концентрацію незамінних амінокислот, знижує вміст кінцевих метаболітів білкового обміну, не порушує вуглеводний і жировий обмін.

Бібліографічні посилання

1. Глухова Э. Р. Метаболическая активность костной ткани у поросят в раннем онтогенезе: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Боровск : ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных, 1986. – 28 с.
2. Гурьянов А. М. Оптимизация норм микроэлементов в рационах свиней / А. М. Гурьянов, В. А. Кокорев // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2004. – № 3. – С. 76–80.
3. Ершова В. А. Обмен меди и железа у поросят при выращивании на рационах с добавками различных форм соединений меди: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Боровск : ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных, 1983. – 20 с.
4. Ибрагимов Ф. Ф. Влияние кормогризина на прирост молодняка свиней при разном уровне микроэлементов в рационе // Проблемы зоотехнии. – 2000. – № 3. – С. 139–142.
5. Мацинович А. А. Оценка аналитической надежности и значимости модификации атомно-абсорбционного метода при диагностике микроэлементозов // Ученые записки учреждения

- образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – 2006. –Т. 42, вып. 1, ч. 1. – С. 31–33.
6. **Топорова Л. В.** Органоминеральные комплексные добавки в кормлении животных / Л. В. Топорова, А. В. Лапшин, И. И. Топорова // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2005. – № 12. – С. 64–68.
 7. **Топчин А.** Влияние белково-витаминно-минеральных добавок на продуктивность свиней // Свиноводство. – 2002. – Спец. вып. – С. 26–27.
 8. **Шушлебин В. И.** Влияние антиоксидантов на содержание меди, цинка, кобальта и марганца в организме свиней в хозяйствах промышленного типа: Автореф. дисс. . . . канд. биол. наук. – Воронеж : ВНИИ незаразных болезней животных, 1988. – 16 с.
 9. **Human nutrition and dietetics** / J. S. Garrow et al. (ed.). – 10th ed. – London : Churchill Livingstone, 1999.
 10. **Hassan A. M.** Glutathioneperoxidase activity in blood cells from aspirin-induced asthma patients // Ann. Clin. Biochem. – 2003. – Vol. 4, N 40. – P. 369–373.
 11. **Hayes J. D.** Glutathionetransferases / J. D. Hayes, J. U. Flanagan, I. R. Josef // Annu. Rev. Pharmacology. Toxicology. – 2005. – Vol. 45. – P. 51–88.
 12. **Fomon S. J.** Nutrition of normal infants. – St Louis, MO, Mosby, 1993.
 13. **Hurrell R. F.** Role of the food industry in iron nutrition: Iron intake from industrial food products / R. F. Hurrell, S. Jacob // L. Hallberg, N. G. Asp (ed.) Iron nutrition in health and disease. – London, John Libbey et Co., 1996.
 14. **Method** so monitoring oxidation-reduction balance and its potential role in diagnostics / L. Kocsis, A. Blazovics, Z. Pallai, J. Feher // Orv. Hetil. – 2004. – Vol. 14, N 145. – P. 761–767.

Надійшла до редколегії 08.07.2010

УДК 595.423 (477.6)

А. Д. Штірц, Ю. Л. Кульбачко, А. В. Нікітенко, О. О. Дідур

*Донецький національний університет
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

ЕКОЛОГІЧНА СТРУКТУРА УГРУПУВАНЬ ПАНЦИРНИХ КЛІЩІВ (ACARIFORMES, ORIBATEI) ДІЛЯНОК РЕКУЛЬТИВАЦІЇ М. ЖОВТІ ВОДИ ДНІПРОПЕТРОВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Вивчено таксономічний склад і екологічну структуру угруповань панцирних кліщів із рекультивованих ділянок, розташованих на території м. Жовті Води. Штучні деревні насадження сприяють підвищенню чисельності орібатид порівняно з техногенною ділянкою без деревостану. Показано роль насаджень деревних рослин і підстилки на ділянках рекультивації у перерозподілі життєвих форм орібатид і зміні структури їх комплексів. Установлено позитивний вплив штучних лісових культурбіогеоценозів в умовах техногенних ландшафтів на різних стадіях технічної рекультивації на формування екологічної структури угруповань панцирних кліщів.

А. Д. Штирц, Ю. Л. Кульбачко, А. В. Никитенко, О. А. Дидур

*Донецкий национальный университет
Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара*

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ ПАНЦИРНЫХ КЛЕЩЕЙ (ACARIFORMES, ORIBATEI) УЧАСТКОВ РЕКУЛЬТИВАЦИИ Г. ЖЕЛТЫЕ ВОДЫ ДНЕПРОПЕТРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Изучены таксономический состав и экологическая структура сообществ панцирных клещей из рекультивированных участков, расположенных на территории г. Желтые Воды. Искусственные древесные насаждения способствуют повышению численности орібатид по сравнению с техногенным участком без древостоя. Показана роль древесных насаждений и подстилки на участках рекультивации в перераспределении жизненных форм орібатид и изменении структуры их комплексов. Установлено положительное влияние искусственных лесных культурбіогеоценозов в условиях техногенных ландшафтов на разных стадиях технической рекультивации на формирование экологической структуры панцирных клещей.

A. D. Shtirts, Y. L. Kul'bachko, A. V. Nikitenko, O. A. Didur

*Donetsk National University
Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University*

ECOLOGICAL STRUCTURE OF ORIBATEI ASSOCIATES (ACARIFORMES, ORIBATEI) IN RECULTIVATED TERRITORIES OF ZHOVTI VODY, DNIPROPETROVSK REGION

Taxonomical composition and ecological structure of Oribatei associates in recultivated territories located near Zhovti Vody town are investigated. The artificial arboreal planting causes increase of oribatida number in comparison with recultivated areas without arbors. Planting of trees and presence of the leaf litter promote to redistribution of oribatida life-form and change of structure in their complexes. The positive

Вступ

Панцирні кліщі – одна з найбільших груп кліщів, які у світовій фауні представлені понад 7 000 видів, об'єднаними в 177 родин. Орибатида належать до піонерних угруповань безхребетних тварин, спроможних існувати в найжорсткіших умовах, там, де інші представники ґрунтових тварин не знаходять для себе сприятливих умов існування [2; 8]. Дослідження фауни, біотопічного розподілу, вертикальних міграцій у ґрунтовому профілі, сезонної динаміки чисельності панцирних кліщів південного сходу України розпочаті кафедрою зоології Донецького національного університету з 1971 р. і проводяться беззупинно до цього часу. Зараз бібліографія, присвячена орибатаидам регіону, нараховує понад 200 джерел. Збільшений інтерес до вивчення структурно-функціональної характеристики цієї групи тварин сприяв проведенню еколого-фауністичних та біоіндикаційних досліджень [24; 25; 27; 28]. Вони проводились не тільки в природних і штучних біогеоценозах [22], а й у техногенних ландшафтах. У рамках цього напрямку досліджували шахтні відвали й рекультивовані терикони, промислові відвали підприємств, промислові площі заводських і шахтних територій, шламонакопичувачів, очисні споруди тощо [11–20; 23].

Узагальнювальною роботою з фауни орибатид техногенних територій, проведеною у 1980-ті роки, слід вважати монографію М. М. Ярошенка [14], у якій подається докладний аналіз видового складу, сезонної динаміки чисельності, вказуються домінантні види. Характерною рисою техногенних біотопів є збіднення видового складу орибатид. У фауні переважають, в основному, еврибіонтні види, при цьому спостерігається висока чисельність домінантних видів. Доведено, що орибатаида належать до піонерного угруповання мікроартропод, що заселяють промислові відвали й шахтні терикони вже в перші роки після закінчення відсипання. Вказується й на той факт, що основу комплексів орибатид породних відвалів і шламонакопичувачів становлять місцеві види, що мігрують на відвали з прилеглих ділянок.

У 1999 р. опубліковано монографію М. М. Ярошенка «Почвенные зооценозы промышленных экосистем Донбасса» [21], в якій підведені підсумки багаторічних досліджень ґрунтових зооценозів Донбасу, проведених на промислових відвалах, шахтних териконах, металургійних заводах, міських очисних спорудах тощо. Тут наведено видовий склад орибатид, характер сезонної динаміки чисельності та біотопічного розподілу різних безхребетних (панцирних, акароїдних і гамазових кліщів, колембол) у промислових екосистемах досліджуваного регіону. Науковий інтерес до цієї групи тварин також зумовлений її функціональною роллю в біогеоценозах. Активно живлячись у підстилці та мінеральних горизонтах ґрунту, орибатаида сприяють збагаченню органічною речовиною та продуктами її розкладу глибоких шарів ґрунту [10].

Характер вертикального розподілу, кількісне співвідношення життєвих форм кліщів досить специфічне для різних типів ґрунтів. Тому мета цієї роботи – з'ясувати екологічну структуру угруповань панцирних кліщів на рекультивованих територіях.

Матеріал і методи досліджень

Матеріал зібраний у 2008 р. на ділянках лісової рекультивації м. Жовті Води (Дніпропетровська обл.). Досліджували видовий склад і екологічну структуру угруповань панцирних кліщів. Відбір проб здійснювали з трьох ділянок.

1. Штучні насадження робінії псевдоакації (*Robinia pseudoacacia* L.). Висота дерев – до 5–6 м. Ширина міжрядь – 2,5–3 м. Зімкнутість крон – 0,3. Слабкорозвинений

покрив підстилки з листочків псевдоакації та злаків потужністю 0,5–1,0 см. Трав'яний покрив представлений тонконого-пирійною асоціацією.

2. Штучні насадження маслинки вузьколистої (*Elaeagnus angustifolia* L.). Висота дерев – до 4 м. Ширина міжрядь – 4–5 м. Підстилка відсутня. Трав'яний ярус сформований рудеральною рослинністю з переважанням пирію повзучого.

3. Ділянка без деревостану з рудерально-степовою рослинністю з домінуванням пирію повзучого.

Збір ґрунтових проб і вигонку кліщів проводили за загальноприйнятою методикою О. М. Буланової-Захваткіної [2]. Збір проб виконували у 6-разовій повторності, об'ємом 250 см³. Вигонку кліщів здійснювали за допомогою термоеклекторів Тульгрена – Берлезе. Тварин фіксували у 70 % розчині етилового спирту. Визначення тварин проводили в лабораторії акарології кафедри зоології Донецького національного університету.

Видовий склад установлювали за визначниками «Определитель обитающих в почве клещей. Sarcoptiformes» [6], «Определитель цератозетоидных клещей Украины» [7], за монографією Г. Д. Сергієнко «Фауна України. Низшие орибатиды» [9], а також за статтями з першоописами видів.

Для порівняння кількості кліщів у різних біотопах використовували шкалу домінування Г. Енгельмана [26]. Адаптивні типи (життєві форми) панцирних кліщів наведено відповідно до робіт Д. А. Криволуцького [3], Д. А. Криволуцького та ін. [8]. Для оцінки екологічного різноманіття панцирних кліщів досліджуваних ділянок використано загальноприйняті індекси Шеннона, Пієлу, полідомінантності, Маргалєфа та Бергера – Паркера [1; 5]. Кластерний аналіз із побудовою дендрограми подібності проведено у пакеті прикладних програм Statistica 6.0. За міру відстані обрано евклідову відстань за методом Варда.

Результати та їх обговорення

У ході досліджень з проб вилучено 405 екз. дорослих панцирних кліщів, що належать до 19 видів (табл. 1). Аналізуючи середню щільність та видове багатство панцирних кліщів, слід відзначити достатньо високий показник щільності для порушених техногенних біогеоценозів. Мінімум щільності відмічено на ділянці без деревостану (7 600 екз./м²), а максимум – на ділянці з *Robinia pseudoacacia* (12 066 екз./м²). Видове багатство невисоке, варіює від 9 видів на ділянці без деревостану до 12 – на ділянках із маслинкою вузьколистою та робінією (рис. 1). У цілому на ділянках без деревостану обидва показники мінімальні порівняно з ділянками штучних деревних насаджень.

Для одержання уявлення про стратифікаційну структуру угруповань панцирних кліщів застосовано кластерний аналіз – один із методів статистичного багатомірного аналізу, сутність якого полягає в ієрархічній класифікації об'єктів. Нами виконано кластеризацію вибірок орибатид на основі матриці щільності та показників домінування. Кластерний аналіз підтверджує тенденцію подібності угруповань орибатид у штучних насадженнях робінії й маслинки та відмінність від них угруповання на ділянці без деревостану (рис. 2).

В екологічних дослідженнях досить часто для оцінки біологічного різноманіття використовують різні індекси. Їх запропоновано понад 40. Із них найпоширеніші показники Шеннона, Пієлу, Сімпсона, Маргалєфа тощо.

Інформаційна ентропія Шеннона показує кількість невизначеності (різноманіття) у гетерогенній системі. Зрушення цього показника у бік максимального значення свідчить про більш однорідний (різноманітніший) елементний склад об'єкта. На відміну від

індексу Шеннона індекс Пієлу вільний від кількості елементів у системі; інші його назви – відносна ентропія або індекс вирівняності. Він дозволяє коректно порівнювати системи, які складаються з різної кількості елементів, що визначають величину ентропії [4]. Величина відносної ентропії коливається в межах від 0 до 1, набираючи мінімальних значень при зниженні однорідності розподілу елементів і максимальних – у разі збільшення гетерогенності розподілу елементів системи. Як видно з таблиці 2, найоднорідніша чисельність панцирних кліщів із насаджень із маслинки (індекс Пієлу дорівнює 0,82), а найменш однорідна – на ділянці у насадженнях робінії (індекс Пієлу – 0,74).

Таблиця 1

Видовий склад, чисельність, індекси домінування та життєві форми панцирних кліщів рекультивованих ділянок

Вид	Життєва форма	Ділянка без насаджень (грунт, 0–10 см)	Насадження маслинки (підстилка + грунт, 0–10 см)	Насадження робінії (підстилка + грунт, 0–10 см)
<i>Ramusella mihelcici</i> (Perez-Inigo, 1965)	МДГС	6/SD (10,53)	38/D (22,75)	38/D (20,99)
<i>Lauropia neerlandica</i> (Oudemans, 1900)	МДГС	2/R (3,51)	3/R (1,80)	0
<i>Medioppia obsoleta</i> (Paoli, 1908)	МДГС	0	9/SD (5,39)	0
<i>Epilohmannia cylindrica cylindrica</i> (Berlese, 1904)	ГФ	8/D (14,04)	14/SD (8,38)	1/SR (0,55)
<i>Rhysotritia ardua affinis</i> Sergienko, 1989	МТП	1/R (1,75)	1/SR (0,60)	0
<i>Hypochthonius luteus luteus</i> Oudemans, 1917	НФ (п)	0	1/SR (0,60)	0
<i>Punctoribates liber</i> Pavlitschenko, 1991	НФ (в)	18/D (31,58)	0	7/R (3,87)
<i>Protoribates vastus</i> (Mihelčič, 1955)	НФ (в)	17/D (29,82)	22/D (13,17)	5/R (2,76)
<i>Tectocepheus velatus</i> (Michael, 1880)	НФ (в)	3/SD (5,26)	33/D/ (19,76)	46/D (25,41)
<i>Protoribates monodactylus</i> (Haller, 1884)	НФ (в)	1/R (1,75)	0	0
<i>Schelorbates laevigatus</i> (C. L. Koch, 1835)	НФ (в)	0	23/D (13,77)	0
<i>Ceratozetes minutissimus affinis</i> Willmann, 1951	НФ (в)	0	2/SR (1,20)	0
<i>Scutovertex sculptus</i> Michael, 1879	НФ (в)	0	1/SR (0,60)	1/SR (0,55)
<i>Tectoribates ornatus</i> (Schuster, 1958)	НФ (в)	0	0	2/SR (1,10)
<i>Zygoribatula frisiae</i> (Oudemans, 1900)	НФ (в)	0	0	10/SD (5,52)
<i>Metabelba pulverulenta</i> (C. L. Koch, 1839)	МППГ	0	20/SD (11,98)	44/D (24,31)
<i>Pilagalumna allifera</i> (Oudemans, 1915)	МППГ	1/R (1,75)	0	25/D (13,81)
<i>Galumna dimorpha</i> Krivolutzkaja, 1952	МППГ	0	0	1/SR (0,55)
<i>Gymnodamaeus bicostatus</i> (C. L. Koch, 1835)	МППГ	0	0	1/SR (0,55)
Чисельність, екз.		57	167	181
Кількість видів		9	12	12
Щільність, екз./м ²		7600	11133	12066

Примітки: життєві форми: МППГ – мешканці поверхні ґрунту, МТП – мешканці товщі підстилки, МДГС – мешканці дрібних ґрунтових свердловин, ГФ – глибокоґрунтові форми, НФ (п) – первинно неспеціалізовані форми, НФ (в) – вторинно неспеціалізовані форми; у чисельнику – чисельність панцирних кліщів (екз.), у знаменнику – домінування за шкалою Г. Енгельмана (%); характеристики домінування: Е – еудомінант (понад 40 %), D – домінант (12,5–39,9 %), SD – субдомінант (4,0–12,4 %), R – рецедент (1,3–3,9 %), SR – субрецедент (< 1,3 %).

Структуру домінування можна характеризувати індексами полідомінантності (заснований на індексі Сімпсона) та Бергера – Паркера. Якщо індекс полідомінантності

інтегрально характеризує всю сукупність, то індекс Бергера – Паркера дає уявлення тільки про частку лише одного домінантного виду з найбільшою чисельністю в угрупованні. Максимальне значення цих показників одержано для угруповань панцирних кліщів із насаджень маслинки. Це свідчить про зменшення в них частки домінантних видів і збігається з індексом Пієлу та Шеннона. Частка домінантних видів кліщів на ділянці без деревостану зростає.

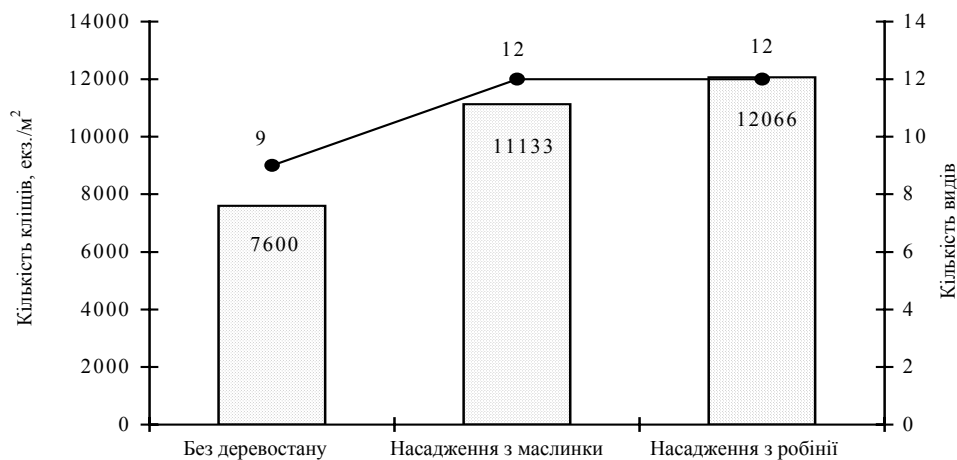


Рис. 1. Середня щільність населення та видове багатство панцирних кліщів ділянок рекультивації м. Жовті Води



Рис. 2. Результати статистичної кластеризації угруповань панцирних кліщів ділянок рекультивації м. Жовті Води

Таблиця 2

Індекси різноманіття угруповань панцирних кліщів ділянок рекультивації м. Жовті Води

Індекс	Ділянки рекультивації		
	без деревостану	насадження маслинки	насадження робінії
Шеннона	1,72	2,03	1,84
Пієлу	0,78	0,82	0,74
Полідомінантності	4,75	6,81	5,32
Бергера – Паркера	3,17	4,39	3,94
Маргалєфа	1,98	2,15	2,12

Примітка: індекс Бергера – Паркера розрахований як зворотна функція.

Для з'ясування видового багатства угруповань кліщів застосовано індекс Марґалефа. Його більші значення характерні для угруповань кліщів із насаджень маслинок та робінії (2,15 і 2,12 відповідно), а найменше – для ділянки без деревостану (1,98). На останній ділянці зустрічається найменша кількість видів кліщів і спостерігається їх найменша чисельність.

Аналізуючи структуру домінування панцирних кліщів досліджених ділянок, слід відзначити, що на ділянці без деревостану відмічено 3 доміанти: *Punctoribates liber* (31,6 %), *Protoribates vastus* (29,8 %), *Epilohmannia cylindrica cylindrica* (14,0 %) (див. табл. 1). До субдомінантів віднесено 2 види, до рецедентів – 4 (8,76 %). Слід також відзначити відсутність субрецедентів на даній ділянці (рис. 3).

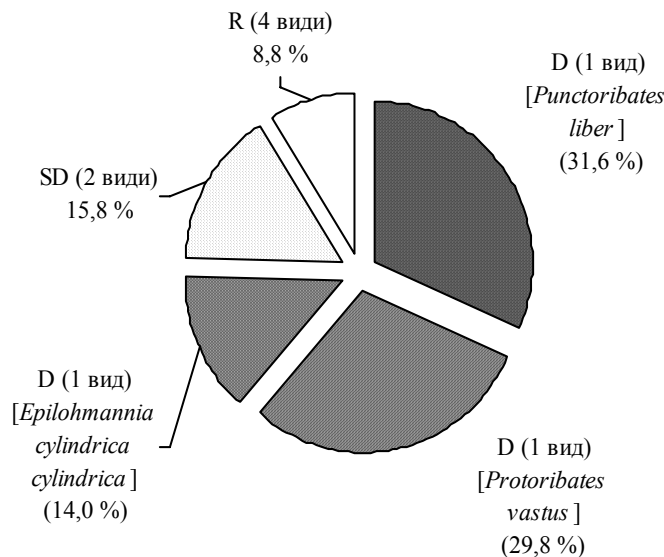


Рис. 3. Структура домінування угруповання панцирних кліщів ділянки рекультивациі без деревостану м. Жовті Води

На ділянці з маслинкою вузьколистою відмічено 4 доміантні види: *Tectocephus velatus* (19,8 %), *Protoribates vastus* (13,2 %), *Ramusella mihelcici* (22,8 %), *Scheloribates laevigatus* (13,8 %) (табл. 1). До субдомінантів віднесено 3 види (25,8 %), до субрецедентів – 4 види (3,0 %), до рецедентів – 1 вид (1,8 %) (рис. 4). Порівняно з попередньою ділянкою змінився характер розподілу доміантів: залишається лише *Protoribates vastus* і частка цього виду знижується більш ніж удвічі (з 29,8 до 13,1 %). З'являються нові доміанти: *Tectocephus velatus* (19,8 %), *Ramusella mihelcici* (22,8 %), *Scheloribates laevigatus* (13,8 %). *Punctoribates liber* на даній ділянці не відзначений. *Epilohmannia cylindrica cylindrica* переходить у ранг субдомінантів (див. табл. 1).

На ділянці з робінією також відмічаються 4 доміантні види: *Ramusella mihelcici* (21,0 %), *Pilogalumna allifera* (13,8 %), *Tectocephus velatus* (25,4 %), *Metabelba pulverulenta* (24,3 %). До субдомінантів належить 1 вид (5,6 %), до субрецедентів – 5 видів (3,3 %) і до рецедентів – 2 види (6,6 %) (рис. 5). Порівняно з попередньою ділянкою частка двох доміантних видів (*Tectocephus velatus* та *Ramusella mihelcici*) не змінюється. З'являються два нові доміанти: *Metabelba pulverulenta* (24,3 %) і *Pilogalumna allifera* (13,8 %). Домінант двох попередніх ділянок *Protoribates vastus* переходить у ранг рецедентів, а доміантний *Scheloribates laevigatus* виявлений лише на ділянці з маслинкою вузьколистою.

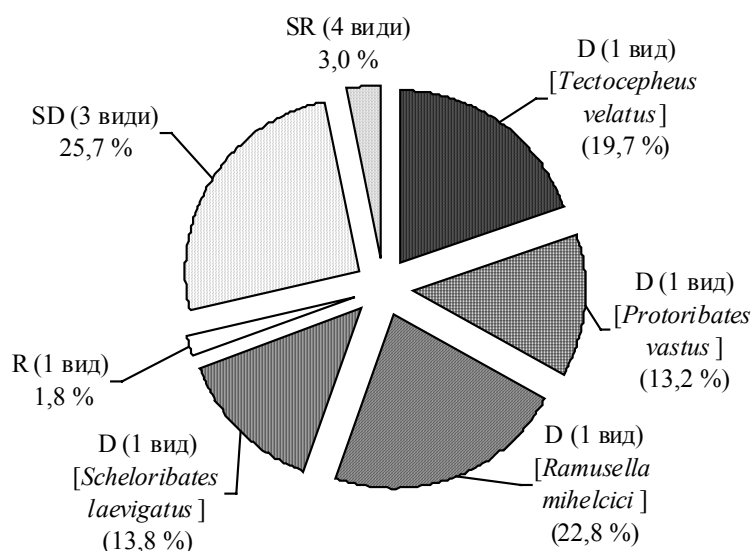


Рис. 4. Структура домінування угруповання панцирних кліщів ділянки рекультивації з маслинкою

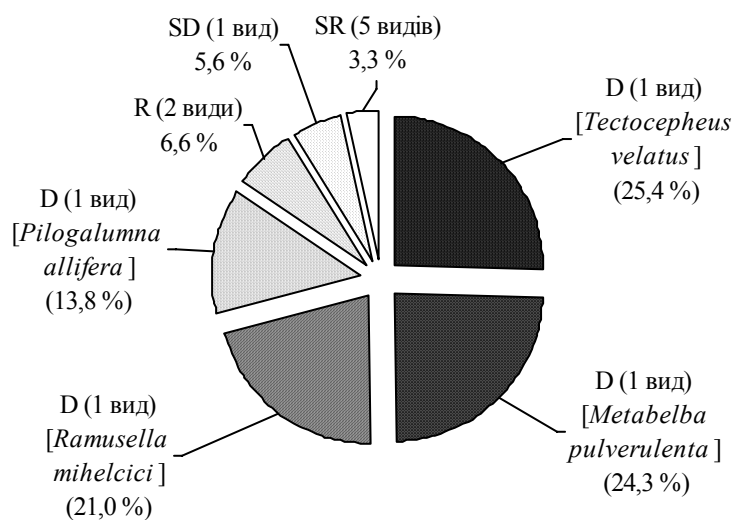


Рис. 5. Структура домінування угруповання панцирних кліщів ділянки рекультивації з робінією

Аналізуючи три угруповання кліщів, можна відмітити високу подібність їх структури на ділянці з деревостаном (маслинкою вузьколистою та робінією) та відмінність від них структури угруповань орибатид на ділянці без деревостану.

Наявність деревних порід і листяного опаду зумовлює більше різноманіття видів, більш вирівняну структуру домінування, наявність в угрупованні субрецентних видів. Причому, якщо на ділянці з маслинкою вузьколистою переважають неспеціалізовані форми (*Protoribates vastus*, *Scheloribates laevigatus*, *Tectocepheus velatus*), а також мешканці дрібних ґрунтових свердловин (*Ramusella mihelcici*), то на ділянці з робінією – мешканці поверхні ґрунту (*Pilogalumna allifera* та *Metabelba pulverulenta*),

що в першу чергу можна пов'язати з наявністю листової підстилки, а також мешканці дрібних ґрунтових свердловин (*Ramusella mihelcici*) і неспеціалізовані форми (*Tectocephus velatus*). На ділянці без деревостану домінують неспеціалізовані (*Punctoribates liber*, *Protoribates vastus*) та глибокоґрунтові форми (*Epilohmania cylindrica cylindrica*).

Аналізуючи співвідношення життєвих форм (рис. 6), слід зазначити, що основу комплексу орибатид досліджуваних ділянок складають представники вторинно неспеціалізованих форм, частка яких варіює від 39,2 % (на ділянці з робінією) до 68,4 % (на ділянці без деревостану). Менший внесок роблять мешканці дрібних ґрунтових свердловин, поверхні ґрунту та глибокоґрунтові форми. Рідко зустрічаються мешканці товщі підстилки та *Protoribates vastus*. На ділянці без деревостану основу комплексу складають вторинно неспеціалізовані форми; мешканці дрібних ґрунтових свердловин і глибокоґрунтові форми розподілені порівну (по 14,5 %), так само як і представники двох інших груп, що відіграють значно меншу роль: мешканці товщі підстилки та первинно неспеціалізовані форми (по 1,75 %).

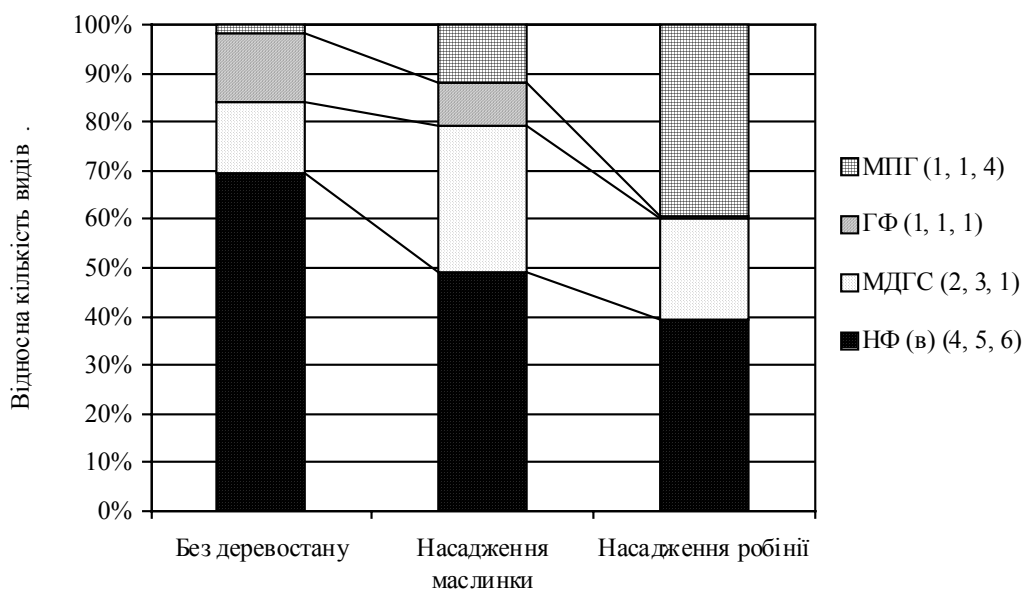


Рис. 6. Співвідношення життєвих форм панцирних кліщів ділянок рекультиваци:

МПГ – мешканці поверхні ґрунту, МДГС – мешканці дрібних ґрунтових свердловин, ГФ – глибокоґрунтові форми, НФ (в) – вторинно неспеціалізовані форми; у дужках – кількість видів, що належать до певної життєвої форми; первинно неспеціалізовані форми представлені тільки у насадженні з маслинки (їх частка дуже мала), частка мешканців товщі підстилки серед інших форм також мала на всіх ділянках, тому на рисунку ці обидві життєві форми не відзначені

На ділянці рекультиваци з маслинкою вузьколистою знижується частка вторинно неспеціалізованих форм за рахунок збільшення мешканців дрібних ґрунтових свердловин та поверхні ґрунту. На ділянці з робінією частка вторинно неспеціалізованих форм знижується ще більше та вирівнюється з мешканцями поверхні ґрунту. Понад 20 % у даному випадку припадає на мешканців дрібних ґрунтових свердловин, а інші життєві форми практично відсутні (див. рис. 6).

Таким чином, насадження деревних рослин і поява листяного опаду на ділянках рекультивациі сприяють перерозподілу співвідношення життєвих форм орибатид і зміні (вирівнюванню) структури їх комплексів.

Висновки

Середня щільність населення орибатид на досліджуваних пробних ділянках має достатньо високі значення. Штучні деревні насадження сприяють підвищенню чисельності орибатид у 1,6 раза порівняно з техногенною ділянкою без деревостану. На рекультивованих ділянках виявлено невисоке видове багатство панцирних кліщів. Кількість їх видів варіює від 9 на ділянці без деревостану до 12 на ділянках із штучними деревними насадженнями.

Насадження деревних рослин і поява листяного опаду на ділянках рекультивациі сприяють перерозподілу співвідношення життєвих форм орибатид і зміні (вирівнюванню) структури їх комплексів. Основу комплексу орибатид усіх досліджуваних ділянок складають представники вторинно неспеціалізованих форм. Менший внесок до загальної структури розподілу життєвих форм вносять мешканці дрібних ґрунтових свердловин, поверхні ґрунту та глибокоґрунтові форми. Але вже поряд із цим зустрічаються мешканці товщі підстилки та первинно неспеціалізовані форми.

Формування більш збалансованої екологічної структури угруповання панцирних кліщів під деревними насадженнями культурбіогеоценозів є індикатором успішності проведеної рекультивациі досліджуваного техногенного ландшафту м. Жовті Води. Але склад і екологічна структура населення панцирних кліщів рекультивованих ділянок ще далекі від такої у непорушених біогеоценозах, і для відновлення нормальної структури угруповань орибатид повинен минути певний час.

Бібліографічні посилання

1. **Аналіз** структури популяцій / С. В. Шибанін, С. І. Мельник, С. С. Крамаренко, В. М. Ганганов. – Миколаїв : МДАУ, 2008. – 240 с.
2. **Буланова-Захваткина Е. М.** Панцирные клещи – орибатиды. – М. : Высш. шк., 1967. – 254 с.
3. **Криволицкий Д. А.** Морфоэкологические типы панцирных клещей (Acariformes, Oribatei) // Зоол. журн. – 1965. – Т. 44, вып. 8. – С. 1176–1189.
4. **Леонтьюк А. С.** Информационный анализ в морфологических исследованиях / А. С. Леонтьюк, Л. А. Леонтьюк, А. И. Сыкало. – Минск : Наука и техника, 1981. – 160 с.
5. **Мэгарран Э.** Экологическое разнообразие и способы его измерения: Пер. с англ. – М. : Мир, 1992. – 184 с.
6. **Определитель** обитающих в почве клещей (Sarcoptiformes) / Е. М. Буланова-Захваткина, Б. А. Вайнштейн, В. И. Волгин и др. / Под ред. М. С. Гилярова. – М. : Наука, 1975. – 491 с.
7. **Определитель** цератозетоидных клещей (Oribatei, Ceratozetoidea) Украины / П. Г. Павличенко. – К. : Ин-т зоологии им. И. И. Шмальгаузена, 1994. – 143 с.
8. **Панцирные клещи:** морфология, развитие, филогения, экология, методы, исследования, характеристика модельного вида *Nothrus palustris* С. L. Koch, 1839 / Д. А. Криволицкий, Ф. Лебрен, М. Кунст и др. / Под ред. Д. А. Криволицкого. – М. : Наука, 1995. – 224 с.
9. **Сергиенко Г. Д.** Фауна Украины. Низшие орибатиды. – К. : Наук. думка, 1994. – Т. 25, вып. 21. – 203 с.
10. **Стриганова Б. Р.** Питание почвенных сапрофагов. – М. : Наука, 1980. – 244 с.
11. **Штирц А. Д.** Распределение панцирных клещей по профилю техногенной катены (на примере шлакоотвала Донецкого металлургического завода) / А. Д. Штирц, И. И. Богатиков // Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона. – Донецк : ДонНУ, 2005. – С. 108–118.
12. **Ярошенко Н. Н.** К фауне орибатид озелененных шахтных терриконов. – Донецк : Донецкий ун-т, 1982. – 6 с. – Деп. в ВИНТИ 12.08.1982, № 4452.

13. **Ярошенко Н. Н.** К фауне оribатидных клещей техногенных ландшафтов Донбасса // Тез. докл. V Всесоюзн. совещ. – Фрунзе, 1985. – С. 337.
14. **Ярошенко Н. Н.** Динамика оribатидных клещей и прочих беспозвоночных животных промышленных ландшафтов Донбасса. – Донецк : Донецкий ун-т, 1987. – 330 с. – Деп. в УкрНИИТИ 02.04.1987, № 109.
15. **Ярошенко Н. Н.** Биотопическое и сезонно-вертикальное распределение оribатидных клещей (Acariformes, Oribatei) в условиях Ворошиловградской области. – Донецк : Донецкий ун-т, 1988. – 155 с. – Деп. в УкрНИИТИ 10.08.1988, № 1880.
16. **Ярошенко Н. Н.** Динамика почвенного зооценоза рекультивированных ландшафтов Донбасса // Экологические проблемы охраны живой природы. Тез. докл. Всесоюзн. конф. – М., 1990. – Ч. 2. – С. 101–102.
17. **Ярошенко Н. Н.** Экология оribатидных клещей (Acariformes, Oribatei) естественных и техногенных ландшафтов Украины: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук: 03.00.16. – М., 1992. – 45 с.
18. **Ярошенко Н. Н.** Распространение индикаторного вида *Passalozetes intermedius* Mih. в техногенных биоценозах Донбасса // Вестн. Днепропетр. ун-та. Биология. Экология. – 1993. – Вып. 1. – С. 81–82.
19. **Ярошенко Н. Н.** Оribатидные клещи (Acariformes, Oribatei) промышленных экосистем Донбасса / Н. Н. Ярошенко, А. Д. Штирц // Вісник Донецького ун-ту, сер. А.: Природн. науки. – 1997. – Вип. 1. – С. 184–189.
20. **Ярошенко Н. Н.** Оribатидные клещи промышленных экосистем Донбасса // Тез. доп. V з'їзду Укр. ентомол. т-ва. – К., 1998. – С. 188–189.
21. **Ярошенко Н. Н.** Почвенные зооценозы промышленных экосистем Донбасса. – Донецк : ДонГУ, 1999. – 294 с.
22. **Ярошенко Н. Н.** Оribатидные клещи (Acariformes, Oribatei) естественных экосистем Украины. – Донецк : ДонНУ, 2000. – 313 с.
23. **Ярошенко Н. Н.** Педобионты земельного отвода Васильевского участка Андреевского месторождения огнеупорных глин (Донецкая область) // Вісник Донецького ун-ту. Сер. А: Природничі науки. – 2006. – Вип. 1. – С. 334–340.
24. **Spatial patterns** and autocorrelation in the response of microarthropods to soil pollutants: The example of oribatid mites in an abandoned mining and smelting area / T. Caruso, M. Migliorini, C. Bucci, R. Bargagli // Environmental Pollution. – 2009. – Vol. 157, N 11. – P. 2939–2948.
25. **Ecological** risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery / X. Domene, W. Ramirez, S. Mattana et al. // Environmental Pollution. – 2008. – Vol. 155, N 2. – P. 227–236.
26. **Engelmann H. D.** Zur Dominanzklassifizierung von Bodenartropoden // Pedobiologia. – 1978. – Bd. 18, Hf. 5/6. – S. 378–380.
27. **Identification** of metal-responsive oribatid mites in a comparative survey of polluted soils / M. A. Khalil, T. K. S. Janssens, M. P. Berg, N. M. van Straalen // Pedobiologia. – 2009. – Vol. 52, N 3. – P. 207–221.
28. **Reducing** the dimensionality of soil microinvertebrate community datasets using Indicator Species Analysis: Implications for ecosystem monitoring and soil management / K. P. O'Neill, H. W. Godwin, A. E. Jiménez-Esquilín, J. P. Battigelli // Soil Biology and Biochemistry. – 2010. – Vol. 42, N 2. – P. 145–154.

Надійшла до редколегії 14.05.2010

УДК 612.83+681.5

О. О. Шугуров

Днепропетровский национальный университет им. Олеса Гончара

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕЛИНЕЙНОСТЕЙ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ СПИННОГО МОЗГА МЕТОДОМ ПСЕВДОСЛУЧАЙНЫХ СТИМУЛОВ

Изучены переходные процессы интегративной системы на входе спинного мозга (СМ) кошки при активации периферических нервов псевдослучайными стимулами и регистрации потенциалов дорсальной поверхности (ПДП) СМ. Параметры системы оценивали путем нахождения ядер ряда Винера с учетом реакции СМ, предвиденной этим рядом. Найлены первые три ядра, которые позволили адекватно описать переходные процессы при формировании первых компонентов ПДП. Для описания работы нейронов, которые образуют N_2 - и N_3 -компоненты, необходимо использовать ядра более высокого порядка.

О. О. Шугуров

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕЛІНІЙНОСТЕЙ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ СПИННОГО МОЗГУ МЕТОДОМ ПСЕВДОВИПАДКОВИХ СТИМУЛІВ

Досліджено перехідні процеси інтегративної системи на вході спинного мозку (СМ) кішки при активації периферичних нервів псевдовипадковими стимулами та реєстрації спинномозкових потенціалів дорсальної поверхні (ПДП). Параметри системи оцінювали шляхом знаходження ядер ряду Вінера з урахуванням передбаченої таким рядом реакції СМ. Знайдено перші три ядра, які дозволили адекватно описати перехідні процеси при формуванні потоків вихідних сигналів (ПДП). Для опису роботи нейронів, що утворюють N_2 - та N_3 -компоненти, необхідно додатково використовувати ядра вищих ступенів.

О. О. Shugurov

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

NONLINEAR IDENTIFICATION OF NEURON SYSTEMS OF A SPINAL CORD BY THE METHOD OF PSEUDO-CASUAL STIMULI

We have investigated nonlinear properties of integrative system of a spinal cord (SC) of cats by the method of pseudo-casual stimulation of nerves as well as the evoked potentials (EP) of SC. Nonlinearity of target reaction was estimated by calculation of nuclei of a Viner series. We have found the first three nuclei, which enabled us to describe adequately N_1 -components and P-phase of EPSC. We have shown that for the descriptions of N_2 - and N_3 -components of EP one needs a calculation of nuclei of a high order.

Введение

Методы, предусматривающие использование кросскорреляционных функций, являются достаточно общим, прямым и мощным средством для решения задач идентификации многих биологических систем [9; 12]. Однако практическое применение белого шума во многом ограничено, поскольку последний физически не реализуем из-

за его бесконечной полосы частот и, следовательно, бесконечной мощности. На практике используют аппроксимирующие сигналы, которые проявляют свойства гауссового белого шума в некоторой приемлемой области [8]. Рассмотренный подход можно применять для достаточно широкого класса физиологических стационарных систем, которые имеют конечную память (когда время установления стационарного состояния конечно) [7; 9]. К такому классу можно отнести и интегративную систему регуляции на входе спинного мозга (СМ) [2].

В стандартном случае математическую модель исследуемой системы можно построить с помощью ряда Винера, представляющего собой иерархию функционалов (то есть функции, аргументом которых также являются функции) с возрастающими степенями [1; 11], причем сумма таких функционалов полностью описывает любую систему. Принимая во внимание то, что значение сигнала-реакции системы в заданный момент времени определяется минувшим значением сигнала-стимула, можно сказать, что понятие функционала используется для описания зависимости между стимулом и реакцией системы. Ядра, входящие в состав функционалов, зависят не от реакции системы на стимул, а от характеристик системы. Каждый следующий порядок ядра описывает степень ее нелинейности [10]. Поэтому указанные методы были использованы для идентификации интегративной входной системы на входе спинного мозга.

Материал и методы исследований

В наших исследованиях реакцию интегративной системы СМ оценивали по изменениям его потенциалов дорсальной поверхности (ПДП) [2]. По стандартной методике регистрировали потенциалы дорсальной поверхности (ПДП) СМ в области сегментов L₅–S₁. Периферические нервы *tibialis communis* и *peroneus communis* с силой 3 порога (П) стимулировали пачками псевдослучайных импульсов со случайной амплитудой в пределах 0,05 П. Импульсы формировали на ЭВМ с использованием крейта КАМАК (модули АЦП и ЦАП), и с помощью RND функции в теле управляющей программы [5]. Максимальный и минимальный период межимпульсных интервалов стимулов подбирались таким образом, чтобы они соответствовали нормальным физиологическим условиям, то есть $1\ 000 > T > 10$ мс (поскольку $T > 1\ 000$ мс рассматривали как одиночные стимулы, а при $T < 10$ мс – ПДП практически вырождаются).

Стимуляцию нерва проводили несколько раз подряд одинаковой псевдослучайной пачкой и таким образом накапливали значения изменения амплитуды реакции в одной реализации [3]. Далее делали построение математической модели системы (нахождение ядер системы с помощью ряда Винера).

Результаты

Стандартный белый шум состоит из составных функций любой частоты и амплитуды при нормальном распределении амплитуды сигнала. Можно говорить о том, что различные системы эквивалентны тогда и только тогда, когда они одинаково реагируют на сигнал в виде белого шума, поскольку и на любой другой сигнал они будут реагировать одинаково. Задача идентификации системы сводится к нахождению математической модели системы, реакция на белый шум которой совпадала бы с реакцией реальной системы. Члены ряда Винера ортогональны относительно сигнала, который является гауссовым белым шумом [1]. Поэтому, если ряд обрывается на n -м члене (как это бывает на практике), то полученная аппроксимация с помощью ядер $\{h_0, h_1, \dots, h_n\}$ является самой лучшей из соображений минимума среднеквадратической погрешнос-

ти. Следовательно, идентификация входной интегративной системы СМ по сути сводится к нахождению ее ядер.

Для нахождения ядер системы первичной интеграции сенсорных потоков на уровне СМ входов использованы псевдослучайные стимулы, созданные на ЭВМ и поданные на периферические нервы. Анализировали зарегистрированные ПДП (рис. 1).

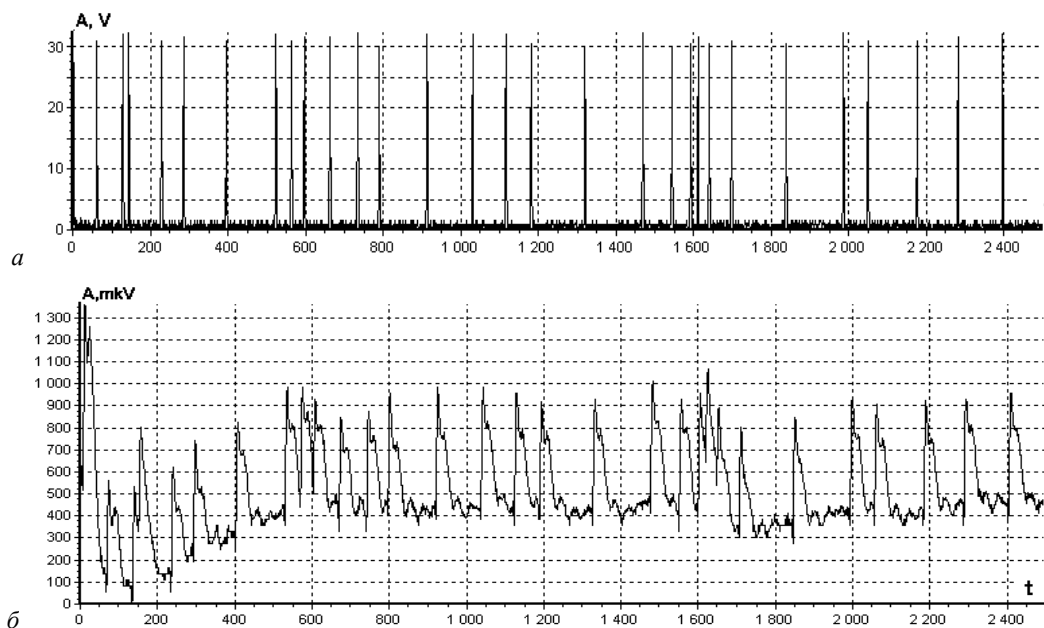


Рис. 1. Псевдослучайные стимулы (*a*), поданные на ТПВ, и зарегистрированная ответная реакция (ПДП) входной системы СМ (*б*): на *a* и *б* по оси *X* – время в дискретных точках (1 точка – 0,66 мс); по оси *Y* – напряжение в В и мкВ (для *a* и *б* соответственно)

Вычисление кросскорреляционных функций предполагает выполнение большого числа математических операций, причем это число быстро возрастает с увеличением порядка ядра [11]. Поэтому обычно ограничиваются несколькими членами разложения в ряд Винера и получают модель, описывающую исследуемую систему с приемлемой степенью точности. Что касается проблемы оценки статистических характеристик с допустимо малыми погрешностями, то обычно ее можно решить с помощью псевдослучайных сигналов, которые по природе своей являются периодическими [8; 11]. Следовательно, в каждом конкретном случае можно сделать выбор между широкополосным гауссовым белым шумом и псевдослучайным сигналом [8].

Поиск сигнала, использование которого позволило бы уменьшить естественную избыточность случайного квазибелого шума и в то же время сохранить необходимые свойства его автокорреляционных функций, привел к псевдослучайным (детерминированным периодическим) сигналам [11], которые близки по свойствам своих автокорреляционных функций псевдобелым шумам и легко генерируются в лабораторных условиях. Автокорреляционная функция второго порядка равна нулю в области, примыкающей к началу координат, что позволяет исключить статистические ошибки, однако автокорреляционные функции четных высоких порядков обладают недостатками, которые особенно проявляются в системах, имеющих нелинейности высоких степеней [10]. Поэтому в исследованиях использовали псевдослучайные сигналы, генерируемые на ЭВМ RND-функцией. Благодаря многократному повторению найденных последовательностей имелась возможность накапливать и усреднять регистрируемые данные

(см. рис. 1). Используемый в таких исследованиях стандартный набор случайных импульсов, поданных на стимулируемый нерв, задает «физиологически приемлемые» интервалы, свойственные нормальной работе нейронов СМ. При этом кривые изменения амплитуды одиночных ответов ПДП от межстимульных периодов хорошо описываются степенной функцией, свойственной графику изменения амплитуды N_1 -компонента при парной или ритмической стимуляции [6].

Для нахождения ядер систем, задействованных во входных и выходных структурах СМ, в наших опытах использован метод взаимных корреляций Ли-Шетцена [1]: на вход исследуемой системы подавали входные сигналы (псевдослучайные стимулы) $x(t)$ и регистрировали ее реакцию $y(t)$ на этот сигнал, затем проводили вычисление ядер системы. Обобщенно получено следующее:

а) ядро нулевого порядка h_0 представляет собою среднее значение реакции входной системы СМ на псевдослучайные импульсы;

б) ядро первого $h_1(\tau)$ порядка выражается через кросскорреляционную функцию входного сигнала (белого шума) и сигнала реакции. Ядро первой степени показало уровень линейных характеристик системы, времени задержки сигнала в системе, максимального нарастания и спада сигнала;

в) ядро второго порядка $h_2(\tau_1, \tau_2)$ позволило оценивать нелинейные характеристики входной интегративной системы (взаимодействие между значениями стимула предыдущих моментов времени по отношению к их влиянию на значение реакции в данный момент времени).

По аналогии, для оценки ядра n -го порядка необходимо получить кросскорреляционную функцию n -го порядка входного сигнала и той части сигнала ответной реакции, которая не описывается предыдущими $n-1$ функционалами.

Пусть $x(t)$ псевдослучайный сигнал – стимул (см. рис. 1а), тогда, применив его к изучаемой системе (СМ), получим на выходе ее реакцию $y(t)$ в виде набора псевдослучайных ПДП (см. рис. 1б). В данном случае амплитуды ПДП зависят в первую очередь от межстимульных интервалов в пачке. Ядром нулевого порядка h_0 для системы нейронов на входе СМ является значение среднего по $y(t)$, для ПДП (см. рис. 1б) $h_0 = 103,8$ мкВ. Следовательно, суммарный уровень ответной реакции возбуждения, выраженной в «негативности» (во всех исследованиях использовали такое расположение электродов, когда негативные компоненты ПДП относительно базисной линии были направлены вверх, позитивные – вниз) существенно меньше «позитивности» тормозных процессов.

Средней вычисленной реакцией системы является нулевой член ряда Винера $G_0 = h_0$. Поэтому на следующем этапе анализа из зарегистрированного сигнала $y(t)$ (ПДП) вычитали G_0 и получали $y_0(t)$ – реакцию с нулевым средним. Проведя анализ взаимной корреляции ϕ между ПДП с нулевым средним $y_0(t)$ и псевдослучайным сигналом-стимулом $x(t)$ по формуле [1]:

$$h_1(\tau) = (1/P)\phi_{yx}(\tau), \quad (1)$$

где P – мощность сигнала, получили ядро первого порядка $h_1(\tau)$ входной системы СМ (рис. 2а). Оценка ядра показала, что оно по своей форме и временным параметрам напоминает тренд развития ПДП, который можно получить при нанесении одиночного стимула на периферический нерв [2].

При следующем шаге анализа воздействовали математически псевдослучайным сигналом-стимулом $x(t)$ на ядро h_1 , и получили реакцию, предвиденную ядром первой степени – $G_1(t)$ (см. рис. 2б). Если из сигнала реакции с нулевым средним $y_0(t)$ вычтем

сигнал, описанный ядром первого порядка $G_1(t)$, то получим нелинейную часть реакции $y_1(t)$ (см. рис. 2б). Последняя, в основном, являясь непериодической функцией с небольшими всплесками и спадами, не имеет характеристической формы, за счет ортогональности может использоваться для последующего вычисления последующих ядер системы.

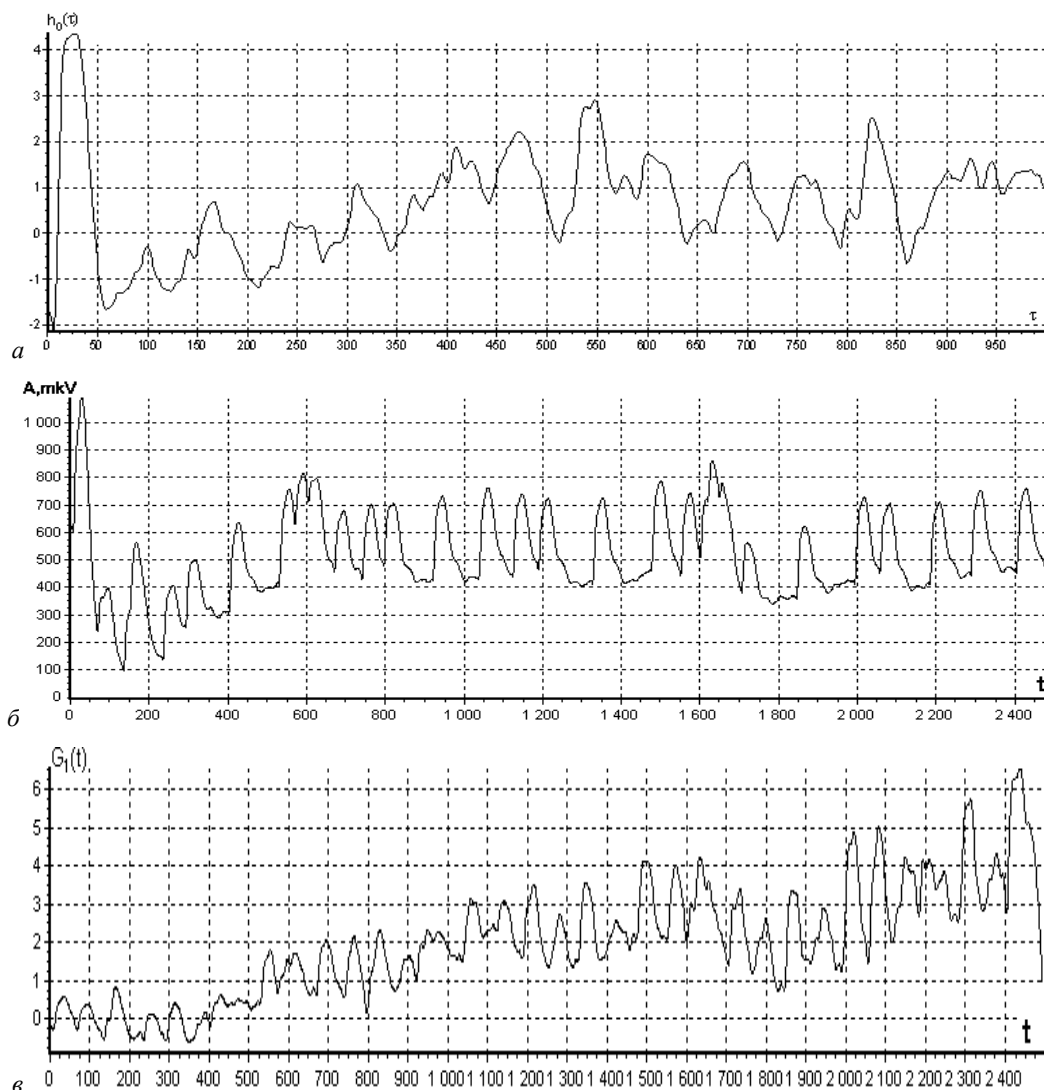


Рис. 2. Ядро первого порядка $h_1(\tau)$ системы (а), теоретическая реакция вычисленного ядра $G_1(t)$ (б) и нелинейная часть реакции $y_1(t)$ (в), оставшаяся после вычитания из сигнала – реакции ядра первого порядка $G_1(t)$ на входное воздействие: по оси Y – условные единицы, по оси X – время (1 000 точек = 660 мс); ввиду выхода реакции на уровень, близкий к постоянному, на а приведена только ее начальная часть (до 1 000 мс)

В дальнейшем, снова проводя анализ взаимной корреляции между нелинейной частью ПДП и сигналом-стимулом по формуле:

$$h_2(\tau_1, \tau_2) = \left(\frac{1}{2P^2} \right) \phi_{y_0xx}(\tau_1, \tau_2), \quad (2)$$

нашли ядро второго порядка $h_2(\tau_1, \tau_2)$ входной системы СМ (рис. 3).

Данное ядро показывает [4], как отвечает система на сдвиги стимулов по времени (τ_2) относительно предыдущих временных сдвигов (τ_1), то есть от своей предыстории. Такие взаимоотношения проявляют усиление (темный цвет) или ослабление (светлые области) ответной реакции на определенных временных интервалах, зависящих от нелинейных свойств системы.

Центральная косая линия реакции системы для ядра второго порядка соответствует варианту, когда сдвиги стимулов по времени для τ_2 и τ_1 равны между собой, то есть в любой момент времени группы стимулы «сливаются» в один случайный поток. В этом случае реакция системы на таком участке изменения соответствует ядру первого порядка (временные интервалы всплесков $h_1(\tau)$ приходятся на затемненные участки такой линии (рис. 3).

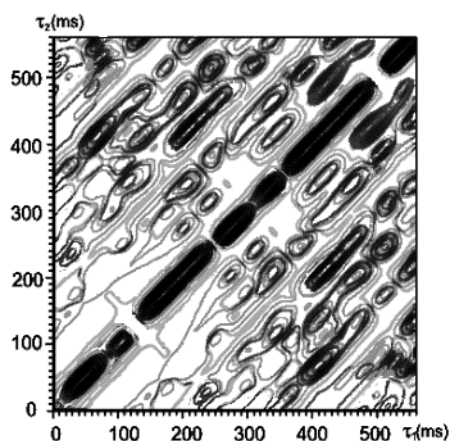


Рис. 3. Вычисленное ядро второго порядка $h_2(\tau_1, \tau_2)$ исследуемой интегративной системы на входе СМ: темные участки – усиление реакции (50...100 %), серые – малое усиление (0...50 %), светлые – ослабление дополнительной реакции (–100... –50 %), светло-серые – малое ослабление ответов (–50...0 %); построена по отношениям ответов на псевдослучайные сигналы-стимулы, сдвинутые на время τ_1 относительно сдвинутых ранее на время τ_2 (мс)

Фактически ядро второго порядка показывает, что можно предвидеть дополнительную реакцию биологической системы уже после нескольких стимулов, сдвинутых друг относительно друга на определенные (τ_1 и τ_2) периоды времени.

На коротких интервалах времени между тремя сигналами наблюдается определенное торможение каждого третьего ответа (светлые участки на рис. 3), в зависимости от предыстории (межимпульсным периодом между первым и вторым стимулом). Из графика видно, что при малых интервалах времени после первого стимула (до 100–200 мс) реакция на следующий (вплоть до 500 мс) будет иметь подавляющий характер (наличие преимущественно «светлых» областей на нижних и передних частях поверхности ядра).

На некоторых определенных интервалах наблюдается «нулевая реакция», связанная со спецификой процессов «угнетения – подкрепления». На больших интервалах между вторым и третьим стимулом, как правило, происходит усиление реакции на последний стимул (темные области). Усиление реакции может идти только на определенных интервалах времени (например, на 50–70 мс после 400 миллисекундной задержки после первого стимула), что связано как со свойствами передаточных характеристик нейронной группы N_1 -компонента, так и вторичным угнетением их активности со стороны поздних компонентов, активированных «предыдущим» воздействием.

Далее методом влияния сигналом-стимулом $x(t)$ на вычисленное $h_2(\tau_1, \tau_2)$ была получена вероятностная реакция системы, предвиденная ядром второго порядка $G_2(t)$. В соответствии с формулой, учитывающей нелинейные свойства системы, далее все ожидаемые реакции системы $G_0(t)$, $G_1(t)$, $G_2(t)$ суммировали, и в результате была получена ответная реакция на входе СМ (в виде ПДП), предвиденная всеми тремя ядрами Винера (рис. 4).

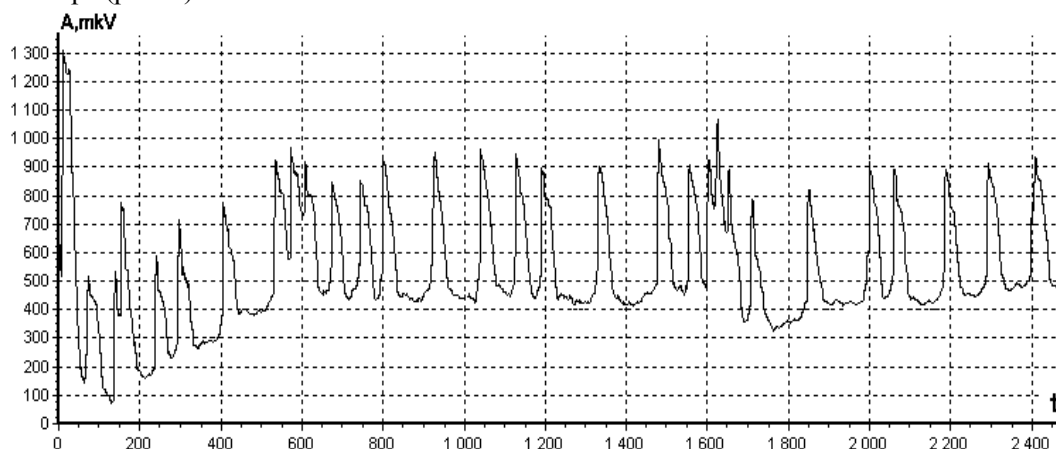


Рис. 4. Реакция регуляторной системы СМ, предвиденная первыми тремя ядрами ряда Винера

Сравнение ожидаемой реакции (рис. 4) и реальных регистраций потенциалов СМ (см. рис. 1б) показало, что полученные ядра достаточно точно описывают реакцию на уровне первых негативных компонентов ПДП. Второй компонент проявляется в небольшой степени и нуждается в отработке ряда Винера на основе ядер более высокого порядка (третьего и выше).

Обсуждение и выводы

В целом, даже первые три ядра ряда Винера описывают ожидаемую реакцию системы (рис. 4) достаточно близко к набору потенциалов, полученных в эксперименте (рис. 1б). Отличие этих данных прежде всего в малом присутствии амплитудного вклада в вычисленные ПДП для N_2 -компонента. Однако с точки зрения «интегрального уровня» каждого ответа в пачке, очевидно, что он близок к таковому для исследуемых ответов. С другой стороны, нейроны N_2 -компонента – сегментарные и полисинаптические клетки, связанные с относительно медленными волокнами $A_{\chi\delta}$ и подверженные угнетению со стороны системы пресинаптического контроля. Их электротонические проявления являются нелинейными на фоне нелинейных изменений в системе быстрых волокон A_β , связанных с нейронами N_1 -компонента и, вероятно, полный учет состава ПДП требует вычисления ядер третьего порядка и выше, что теоретически возможно.

Таким образом, по сравнению с другими методами анализа нелинейных систем (например, с методом фазовой плоскости или гармонической линеаризации), метод белого шума может быть применен для описания любой достаточно сложной физиологической системы.

Найденные математические параметры (ядра системы), которые имеют определенный функциональный смысл, позволяют анализировать эффективность работы первичного кодирования афферентных сигналов. Указанные параметры включают информацию о свойствах и структуре регуляторной системы на входе СМ.

Данные анализа позволили распознать нелинейность входной системы регуляции и вычислить точные параметры такой нелинейности. Подход позволяет значительно упростить проблему оценки реакции системы на конкретные потоки разрядов при использовании всего нескольких межстимульных интервалов.

Для описания относительно простой системы первичного спинального взаимодействия, функционирующего на основе отрицательной обратной связи (два главных компонента ПДП – N_1 и P -волна), достаточно адекватно описывают три первых ядра ряда Винера. Для расширения результатов на полисинаптические реакции необходимо привлекать ядра более высокого порядка. Найденные ядра позволяют строить модели системы, реакция которой достаточно близка к «естественной» (что видно по идентичности регистрируемых и математически предсказанных ответов), и использовать такие модели для оценки влияния внешних и внутренних возмущающих факторов на мозговые структуры.

Библиографические ссылки

1. **Мармарелис П.** Анализ физиологических систем. Метод белого шума / П. Мармарелис, В. Мармарелис. – М. : Мир, 1981. – 480 с.
2. **Шугуров О. А.** Вызванные потенциалы спинного мозга / О. А. Шугуров, О. О. Шугуров. – Д. : Наука і освіта, 2006. – 319 с.
3. **Шугуров О. О.** Применение упреждающего усреднения при исследовании вызванных потенциалов мозга / О. О. Шугуров, О. А. Шугуров // Физиология человека. – 2006. – Т. 32, № 5. – С. 619–622.
4. **Шугуров О. О.** Идентификация нелинейностей регуляторных нейрональных систем спинного мозга с помощью белого шума // Сучасні питання фізіол. та мед. Матер. Всеукр. наук. конф. – Д.: Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2007. – С. 107.
5. **Шугуров О. О.** Управление частотными режимами стимулятора с помощью ЭВМ / Компьютерная медицина – 2007. Матер. Междунар. научно-практ. конф. // Клиническая информатика и телемедицина. – 2008. – Т. 4, № 5. – С. 152.
6. **Шугуров О. О.** Частотні параметри масових потенціалів спинного мозку при ритмічній стимуляції шкірних нервів // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2007. – Вип. 15, т. 1. – С. 209–215.
7. **Mancini M.** White noise analysis of temporal properties in simple receptive fields of cat cortex / M. Mancini, B. C. Madden, E. C. Emerson // Biol. Cybern. – 1990. – Vol. 63. – P. 209–219.
8. **Marmarelis V. Z.** Identification of nonlinear systems through multi-level random signals // Proc. 1st Symp. on Testing and Identification of Nonlinear Systems. – Pasadena, California: California Institute of Technology, 1975. – P. 106–124.
9. **Marmarelis V. Z.** Nonlinear dynamic modelling of physiological system. – Hoboken, NJ: Wiley Interscience, 2004. – 541 p.
10. **Neri P.** Estimation of nonlinear psychophysical kernel // J. Vision. – 2004. – Vol. 4, № 1. – P. 82–91.
11. **Nykamp D. Q.** Full identification of a linear-nonlinear system via cross-correlation analysis / D. Q. Nykamp, D. L. Ringach // J. Vision. – 2002. – Vol. 2, N 1. – P. 1–11.
12. **Wu M. C.-K.** Complete functional characterization of sensory neurons by system identification / M. C.-K. Wu, S. V. David, J. L. Gallant // An. Rev. Neurosci. – 2006. – Vol. 29. – P. 477–505.

Надійшла до редколегії 01.02.2010

ЗМІСТ

Абушова А. Р., Гасанова С. А., Касимзаде М. А. Екологічні особливості рідких родів актиномицетів в ґрунтах Азербайджану	3
Бевзюк Д. О. Роль Septum та його взаємодій зі структурами емоційного мозку в ініціації та розвитку агресивної поведінки	8
Веселовская Е. В. Зависимость этологических реакций крыс с подчинительным поведением от типа партнера в тесте «перегородка»	13
Громенко В. М., Ивашов А. В. Сравнительный анализ флористико-фаунистических комплексов в биогеоценозах Крымского Присивашья	20
Задорожна Г. О., Ляшенко В. П., Чаус Т. Г., Ліс А. О., Ткаченко Я. О. Вихровий вплив імпульсного магнітного поля на осмотичну резистентність еритроцитів щурів	25
Карпенко В. І., Голодок Л. П., Водка М. В., Дяченко О. А., Сіренко Л. А. Дослідження можливостей використання поліферментних систем водоростей <i>Myrocystis aeruginosa</i> для підготовки питної та технологічної води	31
Кісякова М. О., Гаврилук Г. П., Полішко Т. Н., Моїсєнко В. М., Вінніков А. І. Перспективи використання ліпосом для створення нових форм лікувально-профілактичних препаратів	38
Кочет В. М., Христов О. О. Вплив промислових електричних знарядь лову на іхтіофауну ізольованих штучних водойм Дніпропетровської області	43
Ляпустіна О. В. Культура ізольованих зернівок як біотехнологічна система дорощування зиготичних зародків кукурудзи <i>in vitro</i>	49
Маркіна М. В., Вяткін О. К., Ляшенко В. П., Руденко А. І. Функціональні та морфологічні зміни слизової оболонки шлунка при тривалому застосуванні блокатора водневої помпи	58
Моцний М. П., Боцьва Н. П., Власова С. В., Єліна О. В., Матвій І. П. Вплив термічної стимуляції на біопотенціали листя кукурудзи	65
Столбунов И. А. Сравнение оборонительной реакции <i>Rasbora paviei</i> (Cyprinidae) из различных местообитаний	71
Супонько Ю. В., Штеменко Н. І. Вплив нанопрепаратів кластерних сполук ренію на активність ферментів печінки в моделі пухлинного росту	76
Ташевская Н. И., Фурман Ю. В., Недзвецкий В. С. Комплексная диагностика почечного аллотрансплантата с целью продления функционирования	81
Фоменко О. З., Ушакова Г. О., Пієржиновський С. Г. Рівень гіалуронату та загальної гіалуронат-зв'язувальної активності білків за умов розвитку експериментального хронічного гепатиту С та лікування альфа-кетоглутаратом	85
Шамилов Э. Н., Абдуллаев А. С., Рзаева И. А., Азизов И. В. Влияние комплексов железа на формирование фотосинтетического аппарата и выход генетических изменений у гамма-облученных семян пшеницы	90
Шапвалов С. О. Рівень обмінних процесів організму порослят за умов уведення комплексних органічних сполук есенційних мікроелементів	96
Штірц А. Д., Кульбачко Ю. Л., Нікітенко А. В., Дідур О. О. Екологічна структура угруповань панцирних кліщів (Acariformes, Oribatei) ділянок рекультивації м. Жовті Води Дніпропетровської області	101
Шугуров О. О. Идентификация нелинейностей нейрональных систем спинного мозга методом псевдослучайных стимулов	111
ЗМІСТ	119

**ВІСНИК ДНІПРОПЕТРОВСЬКОГО
УНІВЕРСИТЕТУ**

Біологія. Медицина

Заснований у 1993 р.

Випуск 1, том 2

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. № 1485/1.
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. Мищик; 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.

© Дніпропетровський національний
університет ім. Олеся Гончара, 2010