

УДК 614.615.83

Е. В. Алсибай, П. Н. Полушкин, И. Е. Бессонова, И. И. Шевченко

*Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара*

### **ПУТИ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ МЕТОДИК ФИЗИОТЕРАПИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ**

Исследованы проблемы, возникающие при применении физиотерапии с целью медицинской реабилитации и физиопрофилактики. Проанализирована эффективность ряда традиционных и инновационных методик физиотерапии. Установлена общая результативность отдельных методик физиотерапии, оценены клинические показатели медицинской реабилитации, определены ранговые места использования разных методов физиотерапии для осуществления медицинской реабилитации. Исследована клиническая эффективность некоторых инновационных методик физиотерапии, используемых для оздоровления в наиболее распространенных группах заболеваний (неврологическая, костно-суставная, бронхолегочная, сердечно-сосудистая, желудочно-кишечная, ЛОР и нефрологическая патология).

О. В. Алсібай, П. М. Полушкін, І. Є. Бессонова, І. І. Шевченко

*Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара*

### **ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ ОКРЕМИХ МЕТОДИК ФІЗИОТЕРАПІЇ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ПІД ЧАС МЕДИЧНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ**

Досліджено проблеми, що виникають при застосуванні фізіотерапії з метою медичної реабілітації та фізіопрофілактики. Проаналізовано ефективність низки традиційних та інноваційних методик фізіотерапії. Встановлено результативність окремих методик фізіотерапії, оцінено клінічні показники медичної реабілітації, визначено рангові місця використання різних методів фізіотерапії для здійснення медичної реабілітації. Досліджено клінічну ефективність деяких інноваційних методик фізіотерапії, використовуваних для оздоровлення при найпоширеніших групах захворювань (неврологічна, кістково-суглобова, бронхолегенева, серцево-судинна, шлунково-кишкова, ЛОР і нефрологічна патологія).

E. V. Alsibay, P. M. Polushkin, I. E. Bessonova, I. I. Shevchenko

*Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University*

### **IMPROVEMENT WAYS OF SOME PHYSIOTHERAPY METHODS IN MEDICAL REHABILITATION**

General issues arised up in physiotherapy application for medical rehabilitation and prevention is under consideration. The efficiency of traditional and innovative physiotherapy methods used for health improvement in patients with neurological, osteoarticular, bronchopulmonary, cardiovascular, gastroenteric, ENT or nephrological pathology was analysed. It is ascertained the general effectiveness of separate physiotherapy methods. Clinical positiveness of the medical rehabilitation is estimated. The rank places of the use of different physiotherapy methods for medical rehabilitation are determined.

## Введение

Актуальным разделом медицины, ориентированным на решение ряда медико-социальных проблем, является физиотерапия, предлагающая комплекс мероприятий, предусматривающих оздоровление с учетом основного и сопутствующих заболеваний. Согласно общепринятому в отечественной и мировой медицине мнению, физиотерапия – часть медицины, изучающая действие на организм человека физических факторов с лечебно-профилактической и реабилитационной целью [1; 4].

По содержанию лечебных физиотерапевтических мероприятий выделяют три этапа медицинской реабилитации: лечебно-профилактический (госпитальный) этап, функционально-тренировочный (амбулаторно-поликлинический) и этап активного возобновления функций. По данным большинства отечественных и зарубежных авторов [1; 2; 6], удельный вес физиотерапии в общем объеме лечебных мероприятий госпитального этапа медицинской реабилитации не превышает 50 %. Вторым после госпитального, соответственно плану непрерывной реабилитации, является этап амбулаторно-поликлинической реабилитации. Большое значение он имеет в период реконвалесценции у больных на амбулаторно-поликлиническом этапе, когда возможна угроза возникновения дистрофий пораженных органов со снижением массы тела и иммунодефицитом разной степени, что обуславливают снижение неспецифической резистентности организма [4–6]. Доля лечебных физических факторов в коррекции функционального пребывания реконвалесцентов на амбулаторно-поликлиническом этапе составляет 50–70 %. Важным для физиотерапии является своевременное использование физических факторов, правильное их сочетание и преемственность в лечении [1; 2]. Механизмы действия лечебных физических факторов являются также предметом изучения ряда наук, составляющих естественнонаучную основу физиотерапии: биофизики, биохимии, нормальной и патологической физиологии, иммунологии [4; 5].

Результаты лечения физическими факторами обуславливают наиболее тесную связь физиотерапии со 180 соответствующими клиническими специальностями, в рамках которых они применяются.

Реабилитационные, профилактические и лечебные физические факторы традиционно разделяются на группы естественных и искусственных факторов. Из естественных факторов наиболее часто применяют климатические, бальнеологические, грязелечебные и биологические. Из искусственных факторов применяют преимущественно электролечение, магнитолечение, светолечение, механолечение, термолечение, гидроролечение, радиолечение [2; 3; 7; 8]. По механизму действия в процессе реабилитации физические факторы можно распределить на действующие комплексно на все органы и системы человека и действующие преимущественно на отдельные органы и системы, например на гуморальную, эндокринную, нервную, при этом сложный комплекс процессов начинается с момента контакта с разнообразными рецепторами кожи, подкожными тканями, а потом распространяется на сегменты, части тела и весь организм человека [1; 2; 4].

Лечебное действие любого физического фактора определяется сочетанием эффектов, которые развиваются под его действием [1; 6–8]. С учетом всего вышесказанного предпринята попытка определения основных проблем в физиотерапии с поиском эффективных методик, направленных на усовершенствование медицинской реабилитации.

## Материал и методы исследований

Для проведения исследования использованы специально разработанные формы сбора информации: карточки I и II. Исследование проведено методом сплошной выборки по амбулаторным карточкам и историям болезней. Осуществлено анкетирование пациентов, которым была проведена физиотерапия. Изучена традиционная база общих данных с распределением патологий на основные и сопутствующие. Изучены методы физиотерапии с учетом способов их реализации и определения эффективности инноваций при использовании отдельных методик. Проведен анализ объективной и субъективной клинической эффективности отдельных методов и методик физиотерапии, физиопрофилактики.

## Результаты и их обсуждение

Для исследования современного состояния медицинской реабилитации сформировано и проанализировано по 100 карточек пациентов по результатам использования каждого метода физиотерапии с учетом частоты процедур (минимально – максимально) на курс лечения. Определена общая результативность по отдельным методикам физиотерапии с оценкой клинической позитивности проведенной реабилитации. Самый короткий курс физиотерапии (1–2 процедуры) выявлен при применении ультразвука, лазерной терапии, баротерапии. Самый продолжительный курс (до 30 процедур) выявлен при светотепловой физиотерапии, ингаляциях, грязеводолечении. Максимальная результативность в виде клинического выздоровления определена после применения 1–2 курсов: гирудотерапии, баротерапии, массажа, биорезонансной терапии. Объективная клиническая позитивность подтверждена положительной динамикой лабораторных исследований и отсутствием болевого синдрома при проведении лазерной терапии, гирудотерапии, магнитотерапии. Субъективная – характеризуется отсутствием положительной динамики при контрольных лабораторных исследованиях и отсутствии болевого синдрома (табл. 1).

Таблица 1

Количественные и качественные характеристики наиболее распространенных реабилитационных физиотерапевтических технологий

Методы физиотерапии	Частота процедур на курс лечения		Общая результативность, %			Клиническая позитивность, %	
	минимальная	максимальная	улучшение, выздоровление	без перемен	ухудшение	объективная	субъективная
Электролечение	4–6	10–20	65	34	1	34	31
Светотепловая физиотерапия	4–5	7–30	52	47	1	27	25
Массаж	5–6	10–15	71	27	2	36	35
Гирудотерапия	2–4	4–5	80	19	1	52	28
Ингаляции	5–6	10–30	50	49	1	20	30
Ультразвук	1–2	3–7	53	46	1	22	31
Магнитотерапия	2–4	5–10	64	35	1	38	26
Биорезонансная терапия	4–6	7–10	70	28	2	35	35
Лазерная терапия	1–2	3–5	68	31	1	57	11
Грязеводолечение	5–6	12–30	54	45	1	33	21
Баротерапия	1–2	3–5	72	27	1	31	41

Хорошие результаты получены после применения комплексной физиотерапии (подтверждены данными лабораторных и инструментальных исследований), которые выявлены в процессе медицинской реабилитации после применения электрофизиотерапии, массажа, гирудотерапии, магнитотерапии, баротерапии, грязеводолечения, ла-

зерной и биорезонансной терапии. Низкие показатели медицинской реабилитации наблюдались после применения светотепловой физиотерапии, ингаляций, ультразвуковой терапии.

Определены количественные и качественные характеристики медицинской реабилитации при наиболее распространенных группах патологий после применения разных физиотерапевтических технологий (табл. 2).

Таблица 2

**Характеристики реабилитационных физиотерапевтических технологий при наиболее распространенных группах патологии (%)**

Виды физиотерапии	Нозологические формы патологий							
	неврологическая	костно-суставная	бронхо-легочная	сердечно-сосудистая	желудочно-кишечная	ЛОР-патология	нефрологическая	прочие
Электрофизиотерапия	81	66	20	65	34	11	34	31
Светотепловая	32	65	30	52	47	41	27	25
Массаж	85	36	15	71	27	2	36	35
Гирудотерапия	80	14	25	80	19	19	52	28
Ингаляции	1	6	30	50	49	91	20	30
Ультразвуковая	1	2	15	53	46	10	22	31
Магнитотерапия	66	24	10	64	35	14	38	26
Биорезонансная	75	6	10	70	28	29	35	35
Лазерная	56	2	5	68	31	21	57	11
Грязеводолечение	54	56	30	54	45	1	33	21

Использование разных методов физиотерапии чаще всего применялось для реабилитации больных в группе сердечно-сосудистой патологии – 58,7 % (за счет разных методик гирудотерапии – 80,0 %), группе неврологической патологии – 53,1 % (за счет разных методик массажа – 82,0 %) и в группе нефрологических заболеваний – 35,4 % (за счет разных методик лазерной терапии – 57,0 %). По нашему мнению, еще недостаточно применяется физиотерапия в реабилитации бронхолегочных заболеваний – 21,0 % (за счет разных методик ингаляций – 50,0 %), ЛОР-заболеваний – 20,9 % (за счет разных методик ингаляций – 61,0 %), группы прочих заболеваний – 26,5 % (за счет массажа и биорезонансной терапии – по 35,0 %), при костно-суставных заболеваниях – 27,1 % (за счет электрофизиотерапии – 66,0 %). К группе прочих заболеваний отнесены все патологии, не включенные в перечень приведенных выше нозологических групп заболеваний.

Для определения эффективности отдельных методик физиотерапии проанализированы результаты соотношения классических и инновационных технологий. Так, при применении пиявок из 100 больных с разными группами патологии (по 20 пациентов на каждую методику гирудотерапии) отмечено, что наилучшие результаты с клиническим выздоровлением наблюдались при использовании инновационных технологий – рефлекторных и специальных, проводимых по ходу меридианов (по 15 %), с клиническим улучшением состояния здоровья до 85 % случаев. При традиционных методиках оздоровление отмечалось в 5–10 %, клиническое улучшение – в 60–80 %, а ухудшение – в 5 % случаях. Все указанные результаты определены только после второго курса лечения. При анализе соотношений классической и инновационной технологий массажа у 100 больных с разными группами патологий с распределением по 20 пациентов на каждую методику массажа определены наилучшие результаты после восточной и точечной технологий с клиническим выздоровлением до 10 % больных после второго курса лечения, клиническое улучшение состояния определено после второго курса то-

чечного (40 %), восточного и специального массажа (50 %). После применения традиционных технологий определенно субъективное улучшение состояния у 70–75 % пациентов, а клиническое выздоровление после применения этих методик выявлено у 5 % пациентов.

При анализе эффективности лазеротерапии исследовано 100 больных с разными группами патологии с распределением по 20 пациентов для каждой методики лазеротерапии. Отмечается явное преимущество инновационных методик. Наилучшие результаты в виде клинического выздоровления до 5–10 % выявлены уже после первого курса лечения, особенно местного, в проекцию сосудистых пучков или проекцию иммунокомпетентных органов. Клиническое улучшение состояния после использования указанных методик составило 30–40 % больных.

Для определения соотношений результатов технологий применения электротерапии обследовано 100 больных с разными группами патологий, с отбором групп по 25 пациентов на каждую методику электротерапии. Наилучшие результаты с клиническим выздоровлением отмечались после действия токами низкого напряжения (до 8 %). Клиническое улучшение состояния (до 52 %) отмечено после действия импульсных токов постоянного напряжения. Все другие методики физиотерапии сопровождалась субъективным улучшением состояния больных.

При изучении соотношения эффективности результатов технологий применения магнитотерапии обследовано 100 больных с разными группами патологии с отбором групп по 20 пациентов на каждую методику магнитотерапии. Клиническое выздоровление (до 10 % случаев) отмечалось после применения линейной с высокой энергией и одновременно линейно-спиральной методики магнитотерапии. Клиническое улучшение состояния здоровья выявлено после традиционных и инновационных технологий магнитотерапии в 68 %.

### **Выводы**

Общая результативность по отдельным методикам физиотерапии с оценкой клинической позитивности проведенной медицинской реабилитации составила 50–80 %, преимущественно в виде улучшения, выздоровления пациентов.

Определены ранговые места разных методов физиотерапии при медицинской реабилитации в разных группах патологий. Первое ранговое место принадлежит группе сердечно-сосудистых заболеваний (преимущественно за счет гирудотерапии), второе – группе неврологической (за счет разных методик массажа), а третье – нефрологической патологии (преимущественно за счет лазерной терапии).

Наиболее значимыми среди проблем, возникающих при применении физиотерапии для медицинской реабилитации и физиопрофилактики, являются наличие необходимых физиотерапевтических аппаратов и оборудования к ним, укомплектованность квалифицированными кадрами, отработанность методик использования физиотерапии при отдельных группах заболеваний, своевременность ознакомления практических врачей с возможностями того или иного физиотерапевтического метода.

Усовершенствование отдельных методик физиотерапии в медицинской реабилитации возможно только при широком применении инновационных технологий.

### **Библиографические ссылки**

1. **Алексеева В. М.** Маркетинг в здравоохранении / В. М. Алексеева, Н. К. Костродымов, В. П. Морозов // Экономика и инновационные процессы в здравоохранении: Учебн. пособ. / Под ред. В. З. Кучеренко. – М., 1994. – С. 169–206.

2. **Боголюбов В. М.** Общая физиотерапия. – М. – СПб. : Мир, 1996. – 650 с.
3. **За здоровий спосіб життя.** Навч. посібн. / П. М. Полушкін, Т. В. Єрошкіна, В. О. Татаровський, О. В. Хандюк. – Д. : ДНУ, 2006. – 72 с.
4. **Основи нетрадиційного лікування** / П. М. Полушкін, О. В. Алсібай, Д. В. Гальченко, Ф. Ф. Климов. – Д. : Арт-Прес, 2011. – 168 с.
5. **Glynn A. J.** The physiotherapist's pocket guide to exercise: Assessment, prescription and training / A. J. Glynn, H. Fiddler / Physiotherapy. – Churchill Livingstone, 2009. – 224 p.
6. **Kenyon K.** The physiotherapist's pocketbook: Essential facts at your fingertips / K. Kenyon, J. Kenyon / Physiotherapy. – Churchill Livingstone, 2009. – 368 p.
7. **Modern** application of physical factors during a rehabilitation / M. Overy, A. Eldor, I. Giguzin, M. Rigbi // London. – 2007. – Vol. 250. – P. 121–127.
8. **Pryor J. A.** Physiotherapy for respiratory and cardiac problems: Adults and paediatrics / J. A. Pryor, A. S. Prasad // Cardiovascular Medicine. Respiratory Medicine. Physiotherapy. – Churchill Livingstone, 2008. – 618 p.

*Надійшла до редколегії 25.08.2012*

УДК 581.2+632.15

В. С. Більчук, Г. С. Россихіна-Галича

*Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

### **АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВА СИСТЕМА ЗАХИСТУ РОСЛИН КУКУРУДЗИ В УМОВАХ ДІЇ ІОНІВ НІКЕЛЮ**

Досліджено вплив іонів нікелю на ростову реакцію проростків кукурудзи гібриду Оржиця 237МВ та вміст низькомолекулярних антиоксидантів в асиміляційних органах. Встановлено залежність морфометричних показників коренів і пагонів проростків від концентрації іонів нікелю. Значне пригнічення росту та розвитку вегетативних органів на стадії ювенільного періоду відбувається за тривалої дії металу в концентрації 0,05–1,00 ммоль/л. У фотосинтезувальній тканині листків проростків кукурудзи за дії іонів нікелю зафіксовано зміни вмісту відновленого глутатіону та аскорбінової кислоти, що викликають варіювання редукувальної активності тканин. Даний факт може свідчити про наявність окислювального стресу за дії нікелю та участі низькомолекулярних антиоксидантів у процесі адаптації рослин до дії ксенобіотика. Термін відновлення метаболізму аскорбінової кислоти та глутатіону в дослідних зразках визначався концентрацією нітрату нікелю.

В. С. Бильчук, А. С. Россихина-Гальчя

*Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара*

### **АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВАЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ НИКЕЛЯ**

Исследовано влияние ионов никеля на ростовую реакцию проростков кукурузы гибрида Оржица 237МВ и содержание низькомолекулярных антиоксидантов в ассимиляционных органах. Установлена зависимость морфометрических показателей корней и побегов проростков от концентрации ионов никеля. Значительное угнетение роста и развития вегетативных органов на стадии ювенильного периода происходит при продолжительном действии металла в концентрации 0,05–1,00 ммоль/л. В фотосинтезирующей ткани листьев проростков кукурузы при действии ионов никеля зафиксировано изменение содержания восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты, которые ведут к варьированию редуцирующей активности тканей. Данный факт может свидетельствовать о наличии окислительного стресса при действии никеля и участии низькомолекулярных антиоксидантов в процессе адаптации растений к действию ксенобиотиков. Срок восстановления метаболизма аскорбиновой кислоты и глутатиона в опытных образцах определялся концентрацией нитрата никеля.

V. S. Bil'chuk, A. S. Rossikhina-Galychaja

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University*

### **ASCORBATE-GLUTATHIONE PROTECTIVE SYSTEM OF MAIZE PLANTS UNDER NICKEL IONS ACTION**

Influence of nickel ions on growth reaction in maize seedlings of Orjitz 237MV hybrid and the content of low-molecular antioxidants in assimilation organs are investigated. The dependence of morphometric parameters of seedling roots and sprouts on the concentration of nickel ions is established. Considerable depression of growth and development of vegetative organs at a juvenile period occurs under long-term action of the metal in concentrations of 0.05–1.00 mM/l. The changes of reduced glutathione and ascorbic acid

content under nickel ions influence are found in the leaves photosynthesizing tissue of the maize seedlings. It leads to a variation of the reducing activity in the tissues. The given fact can testify to an oxidizing stress under nickel ions effect and to participation of the low-molecular antioxidants in the plants adaptation to xenobiotics influence. Period of renewal of the glutathione and ascorbic acid metabolism in experimental samples was determined by the concentration of the nickel nitrate.

## Вступ

Нікель – один із головних природних токсикантів рослин у зв'язку зі зростаючим антропогенним забрудненням важкими металами (ВМ) навколишнього середовища. За його дії відбувається пониження транспірації та вмісту води в рослинах [16; 22]; зменшення продихової провідності, розмірів і кількості хлоропластів [8; 9]; пригнічення активності ферментів азотного обміну [17] та активація ферментів системи антиоксидантів [10; 12; 14; 16; 18; 22]. Токсична дія нікелю, як правило, проявляється в інгібуванні росту рослин за рахунок зниження пластичності клітинних оболонок унаслідок їх лігніфікації, порушень у проходженні мітозу та хромосомних аберацій [8; 16; 21; 24].

Одним із неспецифічних механізмів токсичної дії ВМ, які викликають окислювальний стрес, є утворення в клітинах активних форм кисню (АФК). У відповідь на дію стрес-факторів зростає активність антиоксидантних систем захисту: ферментативних і неферментативних, серед яких значну роль відіграють аскорбінова кислота (АК) та глутатіон, які забезпечують захист клітини від вільних радикалів [14; 20; 22; 23].

Аскорбінова кислота – багатофункціональна сполука. Вона бере участь у детоксикації  $H_2O_2$  в аскорбат-глутатіоновому циклі, безпосередньо реагує із супероксидними аніон-радикалами, молекулярним синглетним киснем і гідроксильними радикалами, бере участь у регенерації молекул токоферолу [4; 11]. Функціонування аскорбінової кислоти в рослинній клітині пов'язане з глутатіоном, основна функція якого – підтримання пулу відновленої форми аскорбату. Глутатіон бере участь у неферментативній детоксикації супероксидного радикала, є донором відновлювальних еквівалентів у глутатіон-аскорбатному циклі (цикл Halliwell-Asada) [5; 6; 25]. Ці низькомолекулярні антиоксиданти реагують на порушення гомеостазу за різноманітних впливів шляхом змін їх накопичення. Участь даних компонентів в адаптації рослин до забруднення довкілля важкими металами вивчена недостатньо. Відсутні дані про зміни редукувальної активності в клітинах рослин залежно від тривалості металевого стресу та їх функціонування після зняття антропогенного навантаження.

У зв'язку з цим мета даної роботи – оцінити роль аскорбінової кислоти та глутатіону в адаптації кукурудзи до дії іонів нікелю, встановити особливості виходу рослин з окислювального стресу.

## Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – проростки кукурудзи середньораннього простого модифікованого гібриду Оржиця 237МВ. Насіння кукурудзи вирощували протягом 3 діб у рулонах фільтрувального паперу на дистильованій воді. На четверту добу проростки висаджували у розчини нітрату нікелю (0,05, 0,5, 1,0 та 5,0 мМ), витримували упродовж 1 та 4 діб. Контролем слугували проростки, які вирощували на дистильованій воді. Всі виміри проводили у рослин упродовж 4 діб дії іонів металу. Післядію стресових факторів визначали на п'яту добу після перенесення рослин на дистильовану воду.

Реакцію рослин на дію іонів нікелю оцінювали за зміною морфометричних показників [2], редукувальною активністю, вмістом аскорбінової кислоти та глутатіону



[7]. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакета Statistica 6,0. Розбіжності між вибірками вважали достовірними при  $p < 0,01$ .

### Результати та їх обговорення

Сумарним відображенням усіх первинних фізіологічних порушень і вторинних відхилень є інтегровані зміни важливих фізіологічних функцій рослинного організму: приріст загальної біомаси і ріст як рослин у цілому, так і певних вегетативних органів [3; 17; 19]. Аналіз даних модельних експериментів із впливу окислювального стресу на морфометричні показники свідчить про достовірне пригнічення росту кореня за 24-годинної дії сполук нікелю тільки в концентраціях 1,0 і 5,0 ммоль/л відносно контрольних рослин відповідно в 1,3 і 1,2 раза (табл. 1). За тривалого (до 96 годин) впливу ксенобіотика на проростки кукурудзи відмічали гальмування ростової реакції коренів, про що свідчить зменшення приблизно удвічі їх довжини в дослідних зразках за дії іонів нікелю в інтервалі концентрацій 0,05–5,0 ммоль/л. Тільки в умовах хронічної дії проявляється токсичний ефект за мінімальної концентрації металу. При знятті дії стрес-фактора після 96-годинної експозиції відновлення метаболізму кореневої системи відбувається повільно і тільки через п'ять діб витримування проростків на дистильованій воді спостерігали відновлення ростових процесів. Але дослідні рослини були неспроможні подолати відставання інтенсивності росту, що проявлялось утричі меншою довжиною коренів порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1

#### Вплив іонів нікелю на довжину коренів проростків кукурудзи гібриду Оржиця 237МВ

Варіант	Довжина коренів ( $M \pm m$ ), мм	% до контролю
24 години дії нікелю		
Контроль	118,1 ± 0,15	100,0
$Ni(NO_3)_2$ , 0,05 мМ	115,2 ± 0,12	97,5
$Ni(NO_3)_2$ , 0,5 мМ	117,1 ± 0,12	99,2
$Ni(NO_3)_2$ , 1,0 мМ	93,0 ± 0,15*	78,8
$Ni(NO_3)_2$ , 5,0 мМ	102,1 ± 0,12*	86,4
96 годин дії нікелю		
Контроль	211,1 ± 0,15	100,0
$Ni(NO_3)_2$ , 0,05 мМ	133,2 ± 0,12*	63,0
$Ni(NO_3)_2$ , 0,5 мМ	118,0 ± 0,12*	55,9
$Ni(NO_3)_2$ , 1,0 мМ	115,2 ± 0,15*	54,5
$Ni(NO_3)_2$ , 5,0 мМ	106,1 ± 0,12*	50,2
післядія		
Контроль	350,3 ± 0,15	100,0
$Ni(NO_3)_2$ , 0,05 мМ	137,0 ± 0,12*	39,1
$Ni(NO_3)_2$ , 0,5 мМ	123,2 ± 0,12*	35,1
$Ni(NO_3)_2$ , 1,0 мМ	118,0 ± 0,15*	33,7
$Ni(NO_3)_2$ , 5,0 мМ	107,1 ± 0,12*	30,6

**Примітка:** вірогідні відмінності порівняно з контролем ( $p < 0,01$ ).

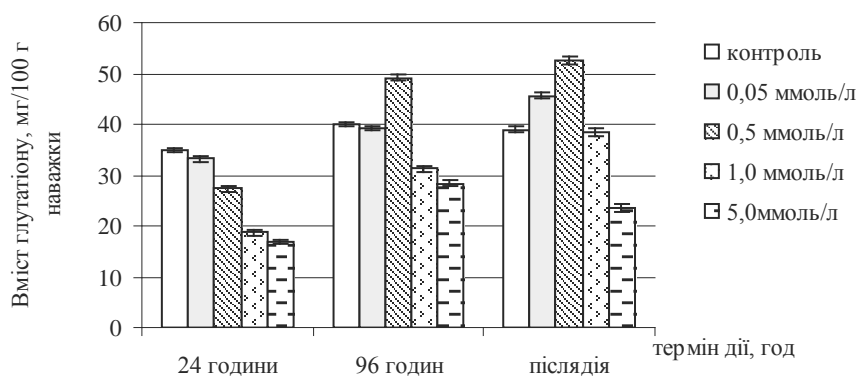
Аналіз результатів приросту довжини листків вказує, що на початкових етапах металевого стресу не зафіксовано достовірних змін даного параметра, що узгоджується з літературними даними про накопичення та зв'язування нікелю в кореневій системі [8–10]. Але в клітинах вегетативних органів відбуваються метаболічні перебудови, що у першу чергу стосуються окисно-відновної системи.

Вихідний рівень глутатіону у вегетативних органах проростків становив 35,0 мг/100 г наважки. На початковому етапі стресової дії нікелю до 24 годин відмічене

зменшення вмісту трипептиду (очевидно, за рахунок його участі у процесах знешкодження АФК). Максимальне зниження вмісту глутатіону приблизно удвічі зафіксоване за дії іонів нікелю в концентрації 1,0 і 5,0 мМ. Аналогічні результати отримані в дослідженнях Y. O. Kim [13]: стрес, викликаний дією Cd, знижував концентрацію глутатіону у клітинах моркви.

За тривалої стресової дії іонів Ni до 96 годин у листках спостерігали збільшення вмісту антиоксиданта як у контрольних (на 14 %), так і дослідних зразках (68–80 %) залежно від концентрації металу (рис. 1), що може бути пов'язано з підвищенням синтезу трипептиду.

У вегетативних органах проростків після зняття дії стресу та перенесення рослин на дистильовану воду впродовж 5 діб зміни метаболізму визначалися концентрацією сполук нікелю. У зразках, які перебували під дією 0,05–1,0 мМ токсиканта, метаболізм глутатіону відновлювався, а за 5,0 мМ спостерігали зниження на 56 % рівня трипептиду відносно контролю.



**Рис. 1. Вміст глутатіону (мг/100 г наважки) у вегетативних органах проростків кукурудзи за дії іонів нікелю різної концентрації**

Листки кукурудзи характеризувались середнім вмістом аскорбінової кислоти (16,4 мг/100 г наважки). За короточасного металевого стресу достовірних змін концентрації аскорбату не спостерігали. Тривала дія іонів нікелю викликала підвищення вмісту АК в 1,2–1,5 раза при концентрації токсиканта 0,05–1,0 мМ. У варіанті дії максимальної концентрації металу 5,0 мМ вміст аскорбату був достовірно нижчим (в 1,3 раза) відносно контрольних рослин. Дослідження окисно-відновних процесів проростків у період післядії стресового фактора показали, що рослини відновили вміст аскорбінової кислоти до рівня контролю.

Виявлений у наших дослідженнях рівень аскорбінової кислоти за порядком збігається з показниками, установленими для сіянців деревних і проростків декоративних квіткових рослин [1]. У листках бирючини звичайної та арктотису гібридного, толерантних до дії хрому, заліза, цинку, марганцю, відмічено вищий вміст аскорбінової кислоти та відновленого глутатіону.

Зміна концентрації аскорбінової кислоти корелювала із загальною редукувальною активністю вегетативних органів проростків. Як свідчать одержані дані, редукувальна активність у стресових умовах збільшувалась з 10 до 30 % відносно контролю. Таким чином, показник накопичення аскорбінової кислоти та глутатіону може бути маркером окисного стресу та стійкості рослинних організмів до дії важких металів.

## Висновки

Процес адаптації рослин кукурудзи до токсичної дії іонів нікелю відбувався за участі низькомолекулярних антиоксидантів (глутатіону та аскорбінової кислоти), про що свідчать зміни вмісту цих сполук і редукувальної активності за стресових умов. Токсичність дії металу підтверджено змінами морфологічних показників і станом виходу рослин з окислювального стресу. За сумою показників виявлено концентрацію нікелю (5,0 мМ), за якої відбуваються значні відхилення гомеостазу проростків кукурудзи.

## Бібліографічні посилання

1. **Бессонова В. П.** Влияние тяжелых металлов на фотосинтез растений. – Д. : ДГАУ, 2006. – 208 с.
2. **Голубер В. Н.** К методике эколого-биологических исследований редких и исчезающих растений в естественных растительных сообществах // Бюллетень государственного Никитского ботанического сада. – 1982. – Вып. 47. – С. 11–16.
3. **Гуральчук Ж. З.** Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культурных растений. – 1994. – Т. 26, № 2. – С. 107–118.
4. **Демура Т. А.** Функціонування аскорбатзалежної ланки антиоксидантного захисту проростків кукурудзи за сумісної дії іонів кадмію та нікелю / Т. А. Демура, В. М. Гришко // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. – У 2 т. – К. : Логос, 1999. – Т. 2. – С. 255–262.
5. **Кулинский В. И.** Биологическая роль глутатиона / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Успехи современной биологии. – 1990. – Т. 110, вып. 1 (4). – С. 20–33.
6. **Митева Л. П.-Е.** Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосатом / Л. П.-Е. Митева, С. В. Иванов, В. С. Алексиева // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 1. – С. 139–145.
7. **Плешков Б. П.** Практикум по биохимии растений. – М. : Колос, 1968. – 183 с.
8. **Серегин И. В.** Токсическое действие и распределение никеля в корнях кукурузы / И. В. Серегин, А. Д. Кожевникова, Е. М. Казюмина // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 3. – С. 793–800.
9. **Серегин И. В.** Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения / И. В. Серегин, А. Д. Кожевникова // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 4. – С. 285–308.
10. **Серегин И. В.** Роль тканей корня и побега в транспорте и накоплении кадмия, свинца, никеля и стронция / И. В. Серегин, А. Д. Кожевникова // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 1. – С. 3–26.
11. **Чупахина Г. Н.** Система аскорбиновой кислоты растений. – Калининград : Калинингр. ун-т, 1997. – 120 с.
12. **Antioxidant capacity of sage grown on heavy metal-polluted soil / I. Stancheva, M. Geneva, M. Hristozkova et al.** // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 6. – С. 857–863.
13. **Characterization of cadmium-tolerant carrot cells in response to cadmium stress / Y. O. Kim, T. Fomiko, H. Masakazu, K. Tom** // Soil Sci. and Plant Nutr. – 2000. – Vol. 46, N 4. – P. 807–814.
14. **Das P. K.** Nickel nutrition of plants: Effect of nickel on some oxidase activities during rice (*Oryza sativa* L.) seed germination / P. K. Das, M. Kar, D. Mishra // Z. Pflanzen-Physiol. – 1978. – Bd. 90. – S. 225–233.
15. **Effect of heavy metals on nitrate and protein metabolism in sugar beet / S. Kevresan, N. Petrovic, M. Popovic, J. Kandrac** // Biol. Plant. – 1998. – Vol. 41. – P. 235–240.
16. **Effects of the herbicide MCPA, and the heavy metals, cadmium and nickel on the lipid composition, Mg<sup>2+</sup>-ATPase activity and fluidity of plasma membranes from rice, *Oryza sativa* (cv. Bahia) shoots / R. Ros, D. T. Coke, R. S. Burden, C. S. James** // J. Exp. Bot. – 1990. – Vol. 41. – P. 457–462.
17. **Ernst W. H. O.** Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic level / W. H. O. Ernst, G. Shuurmann, B. Markert // Ecotoxicology. Ecological fundamentals. Chemical exposure and biological effect. – Heidelberg : Wiley, 1998. – P. 587–620.

18. **Jaeschke H.** Antioxidant defense mechanisms // *Comprehensive Toxicology*. – 2010. – Vol. 9. – P. 319–337.
19. **Khalid B. Y.** Some effects of nickel toxicity on ryegrass / B. Y. Khalid, J. Tinsley // *Plant Soil*. – 1980. – Vol. 55. – P. 139–143.
20. **Redox** regulation of the glutathione reductase/iso-glutaredoxin system in germinating pea seed exposed to cadmium / M. Smiri, A. Chaoui, N. Rouhier et al. // *Plant Science*. – 2011. – Vol. 180. – P. 169–181.
21. **Rubio M. I.** Cadmium and nickel accumulation in rice plants. Effects on mineral nutrition and possible interactions of abscisic and gibberellic acids / M. I. Rubio, I. Escrig, C. Martinez-Cortina // *Plant Growth Regul.* – 1994. – Vol. 14. – P. 151–157.
22. **Schickler H.** Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of genus *Alyssum* / H. Schickler, H. Caspi // *Physiol. Plant.* – 1999. – Vol. 105. – P. 39–44.
23. **Sing Gill S.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants / S. Sing Gill, N. Tuteja // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2010. – Vol. 48. – P. 909–930.
24. **Stresty T. V. S.** Rao ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cekks of *Pigeonpea* / T. V. S. Stresty, K. V. Madhava // *Environ. Exp. Bot.* – 1999. – Vol. 41. – P. 3–13.
25. **Strohm M.** Regulation of glutathione synthesis in leaves of transgenic poplar (*Populus tremula* x *P. alba*) overexpressing glutathione-synthetase / M. Strohm, L. Jouanin, K. J. Kunert // *The Plant J.* – 1995. – Vol. 7, N 1. – P. 414–445.

Надійшла до редколегії 18.06.2012

УДК 576.895.132

О. О. Бойко

*Дніпропетровський державний аграрний університет*

### **СЕЗОННА ДИНАМІКА ЧИСЕЛЬНОСТІ НЕМАТОД КОПИТНИХ ПРИРОДНОГО ЗАПОВІДНИКА «ДНІПРОВСЬКО-ОРІЛЬСЬКИЙ»**

У козуль і кабанів природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» ідентифіковано яйця та личинки нематод, що належать до рядів Strongylida (*Dictyocaulus sp.*, *Muellerius sp.*, *Cystocaulus sp.*, *Protostrongylus sp.*, *Ostertagiella sp.*, *Globocephalus sp.*, *Oesophagostomum sp.*) і Rhabditida (*Strongyloides papillosus* (Wedl), *S. ransomi* (Swartz)). З'ясовано сезонні особливості чисельності нематод копитних природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» у зовнішньому середовищі. Самки стронгілід дихальних шляхів копитних із жовтня до весни личинок у зовнішнє середовище не виділяють. Восени щільність рабдитид у зовнішньому середовищі вища, ніж улітку, а стронгілід травного каналу – нижча.

А. А. Бойко

*Днепропетровский государственный аграрный университет*

### **СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ НЕМАТОД КОПЫТНЫХ ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА «ДНЕПРОВСКО-ОРЕЛЬСКИЙ»**

У козуль и кабанов природного заповедника «Днепровско-Орельский» идентифицированы яйца и личинки нематод, которые относятся к отрядам Strongylida (*Dictyocaulus sp.*, *Muellerius sp.*, *Cystocaulus sp.*, *Protostrongylus sp.*, *Ostertagiella sp.*, *Globocephalus sp.*, *Oesophagostomum sp.*) и Rhabditida (*Strongyloides papillosus* (Wedl), *S. ransomi* (Swartz)). Установлены сезонные особенности численности нематод копытных природного заповедника «Днепровско-Орельский» во внешней среде. Самки стронгилид дыхательных путей копытных с октября до весны личинок во внешнюю среду не выделяют. В осенний период плотность рабдитид во внешней среде выше, чем в летние месяцы, а стронгилид пищеварительного канала – ниже.

О. О. Boiko

*Dnipropetrovsk State Agrarian University*

### **SEASONAL DYNAMICS OF HOOFED MAMMALS' NEMATODES IN THE NATURE RESERVE «DNIPROVSKO-ORILSKIJ»**

In the roes and wild boars inhabited the Dniprovsko-Orilskij Nature Reserve we identified nematodes' eggs and larvae of orders Strongylida (*Dictyocaulus sp.*, *Muellerius sp.*, *Cystocaulus sp.*, *Protostrongylus sp.*, *Ostertagiella sp.*, *Globocephalus sp.*, *Oesophagostomum sp.*) and Rhabditida (*Strongyloides papillosus* (Wedl), *S. ransomi* (Swartz)). The seasonal features in number of the ungulates' nematodes in the environment are ascertained. It was found that females of palisade worms living in the ungulates' airways do not release larvae in the environment from October to spring. In autumn the Rhabditida density in the environment is higher than in summer, but inversely, the number of Strongylida of alimentary canal – lower.

#### **Вступ**

Динаміка чисельності окремих гельмінтів має особливі закономірності. Вони постійно змінюються за впливу багатьох факторів зовнішнього середовища. Один із

таких факторів – пора року. Навесні та влітку відбувається масове дозрівання більшості гельмінтів, підвищення їх фізіологічної активності. Тому для більшості їх видів характерний весняний пік активності. У цей час зростає рівень кількості яєць і личинок гельмінтів у зовнішньому середовищі [6; 16]. Ряд авторів вважає, що у зимовий період гельмінти перебувають у латентному стані, а з початком весни активізуються та дають пік кількості яєць [16].

Одні з найпоширеніших нематод копитних – гельмінти травного каналу з рядів Strongylida та Rhabditida. Вони розташовані нерівномірно, у різних регіонах мають свій видовий склад [1; 2; 7; 9; 14; 17–23]. За свідченнями В. Н. Трача, в Україні зареєстровано 49 видів стронгілід та один вид рабдитид жуйних [12; 14].

Процес появи та розвитку стронгілідозних і стронгілоїдозних інвазій у жуйних можливий тільки за наявності трьох складових: джерела інвазії, механізму передачі та наявності сприйнятливої тварини. Цей процес зворотний, оскільки в ньому присутня спільна складова джерела забруднення – навколишнє середовище. Джерело розповсюдження інвазії – хворі тварини або тварини-гельмінтоносії, а джерело механічної передачі – навколишнє середовище, контаміноване інвазійними личинками [7; 8; 13].

З екскрементами інвазованих тварин у зовнішнє середовище потрапляють яйця або личинки стронгілід і рабдитид. Останні, як показали наші попередні дослідження, проведені в умовах степового Придніпров'я [3–5], залишаються життєздатними на траві й у ґрунті тривалий час (здатні перезимувувати у ґрунті). За несприятливих умов для міграції личинок на траву вони переходять у ґрунт, який може виконувати роль резервуара. У періоди посухи личинки глибоко занурюються у ґрунт, де тривалий час зберігаються і, за сприятливіших умов, знову виходять на поверхню [16]. Такі екологічні особливості розвитку вільноіснуючих личинок стронгілід і рабдитид у зовнішньому середовищі сприяють інтенсивному зараженню тварин.

Масове зараження тварин стронгілідами на території України, як правило, відбувається у травні, червні та восени, хоча у північних районах України підвищення ураження починається вже у квітні [15].

Даних щодо рівня ураження диких копитних на території степового Придніпров'я (зокрема в умовах Дніпропетровської області) залежно від сезону року немає, тому мета роботи – з'ясувати сезонні особливості чисельності вільноіснуючих стадій нематод (стронгілід і рабдитид) дикого кабана та козулі європейської у зовнішньому середовищі в умовах природного заповідника «Дніпровсько-Орільський».

### **Матеріал і методи досліджень**

Матеріал для дослідження – екскременти диких копитних, зокрема козуль і кабанів, зібрані на території природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» (Дніпропетровська область) упродовж 2010–2011 років.

Лабораторну діагностику проводили копроскопічним флотаційним методом за Г. О. Котельниковим та В. М. Хреновим на виявлення яєць гельмінтів. Для диференціації яєць нематод використовували ларвоскопічний метод (культивування личинок) [6; 7; 10]. Підрахунок щільності личинок в одному грамі фекалій проводили за І. В. Орловим [11].

### **Результати та їх обговорення**

За період досліджень (2010–2011 рр.) на території заповідника встановлено наявність 9 видів гельмінтів копитних, що належать до класу Nematoda. У результаті досліджень у козулі європейської визначено гельмінтів 6 видів, що належать до рядів Strongylida та Rhabditida. У фекаліях цих тварин ідентифіковано личинок легеневих

паразитів *Dictyocaulus sp.*, *Muellerius sp.*, *Cystocaulus sp.*, *Protostrongylus sp.* (Nematoda, Strongylida). В екскрементах козулі виявлено також личинок гельмінтів травного каналу *Strongyloides papillosus* (Wedl) з ряду Rhabditida класу Nematoda і за культивування – *Ostertagiella sp.* з ряду Strongylida.

При дослідженні екскрементів диких кабанів виявлено яйця стронгілід (Nematoda, Strongylida), а також вільноіснуючі форми *S. ransomi* (Scwartz) з ряду Rhabditida класу Nematoda. З угруповання стронгілід, виявлених у кабанів, методом культивування личинок визначено *Globocephalus sp.* та *Oesophagostomum sp.* (Nematoda, Strongylida).

У період із травня по серпень загальний рівень ураження козулі європейської досягав 100 %. У цей період серед виявлених видів домінували личинки легневих нематод, зокрема *Dictyocaulus sp.* та *Muellerius sp.* (табл. 1). Личинки *Protostrongylus sp.* зустрічались у меншій кількості проб. І лише у 33,3 % випадків ідентифіковано вільноіснуючі стадії *Cystocaulus sp.* та *S. papillosus* (Wedl).

В осінній період (жовтень – листопад) загальний рівень ураження козулі був на 11,1 % меншим, ніж у попередній (рис.). В екскрементах домінували *S. papillosus* (Wedl). Рівень ураження цих тварин стронгілоїдозом порівняно з попереднім періодом досліджень збільшився на 55,6 %. У цей період у невеликої кількості тварин виявлено личинок *Ostertagiella sp.* (табл. 1). Рівень ураження легневими нематодами на той момент не встановлено, що, імовірно, пов'язано з особливостями розвитку протостронгілід і диктіокаул в організмі хазяїна (за несприятливих умов, зокрема низької температури зовнішнього середовища, інтенсивність виділення яєць самками знижується).

Таблиця 1

**Рівень ураження козулі європейської (*Capreolus capreolus*) природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» (2010–2011 рр.) (n = 29)**

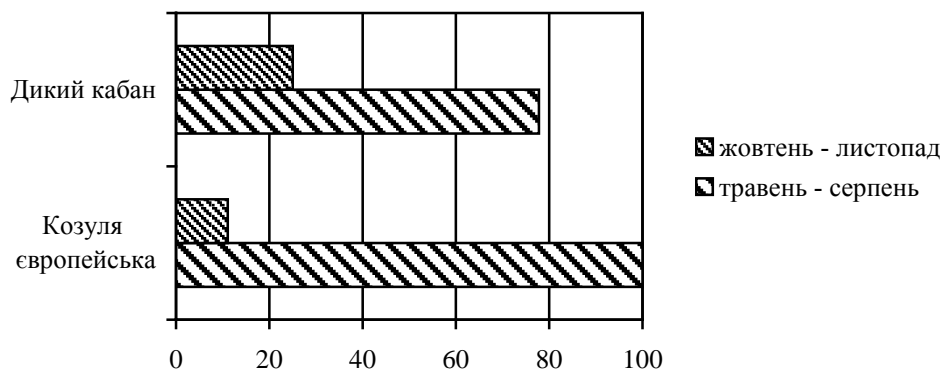
Вид гельмінта	Екстенсивність ураження, %	
	травень – серпень	жовтень – листопад
<i>Dictyocaulus sp.</i>	100,0	–
<i>Muellerius sp.</i>	100,0	–
<i>Cystocaulus sp.</i>	33,3	–
<i>Protostrongylus sp.</i>	66,7	–
<i>Strongyloides papillosus</i> (Wedl)	33,3	88,9
<i>Ostertagiella sp.</i>	–	22,2

Таблиця 2

**Рівень ураження дикого кабана (*Sus scrofa*) природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» (2010–2011 рр.) (n = 13)**

Вид гельмінта	Екстенсивність ураження, %	
	травень – серпень	жовтень – листопад
<i>Globocephalus sp.</i>	77,8	25,0
<i>Oesophagostomum sp.</i>	55,6	25,0
<i>Strongyloides ransomi</i> (Scwartz)	66,7	25,0

У літній період (травень – серпень) загальний рівень ураження дикого кабана становив 77,8 %. Домінував в угрупованні нематод цих тварин *Globocephalus sp.* Гельмінтів *S. ransomi* (Scwartz) і *Oesophagostomum sp.* виявлено у меншій кількості кабанів на 11,1 та 22,2 % відповідно (табл. 2).



**Рис. Сезонна динаміка ураження (%) диких копитних природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» (2010–2011 рр.)**

В осінній період ураження кабанів знизилося на 52,8 % (рис.). У цей час встановлено менший відсоток зараження дикого кабана *Globocephalus sp.* – на 52,8 %, *Oesophagostomum sp.* – на 30,6 % та *S. ransomi* (Scwartz) – на 41,7 %.

### Висновки

Різноманіття гельмінтів копитних природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» та рівень ураження тварин на цій території різнився залежно від сезону року. Найбільше видове різноманіття нематод (*Dictyocaulus sp.*, *Muellerius sp.*, *Cystocaulus sp.*, *Protostrongylus sp.*, *Ostertagiella sp.*, *Globocephalus sp.*, *Oesophagostomum sp.*, *Strongyloides papillosus* (Wedl), *S. ransomi* (Scwartz) та найвищі показники ураження козулі європейської та дикого кабана встановлено в літній період (травень – серпень).

### Бібліографічні посилання

1. **Алхінді Х. М.** Стронгілятози травного тракту великої рогатої худоби в умовах лісостепу України: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.18 – Паразитологія, гельмінтологія. – Х., 2001. – 20 с.
2. **Бойко О. О.** Гельмінтози великої рогатої худоби на Дніпропетровщині // Тваринництво України. – 2008. – № 12. – С. 23–24.
3. **Бойко О. О.** Контамінація пасовищ Придніпров'я личинковими стадіями нематод підрядів Strongylata і Rhabditata // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя : ЗНУ, 2008. – Вип. 13, № 1. – С. 119–125.
4. **Бойко О. О.** Сезонна динаміка контамінації пасовищ на території Дніпропетровської області інвазійними стадіями нематод підрядів Strongylata і Rhabditata // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя : ЗНУ, 2008. – Вип. 13, № 2. – С. 136–142.
5. **Бойко О. О.** Екологічні особливості личинок нематод підрядів Strongylata і Rhabditata у біогеоценозах степового Придніпров'я // Паразити і паразитози: сучасність та ризики. XIV Конф. Укр. наук. т-ва паразитологів. – Ужгород : Ужгород. нац. ун-т, 2009. – С. 13.
6. **Котельников Г. А.** Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. – М. : Колос, 1983. – 210 с.
7. **Котельников Г. А.** Гельминтологические исследования окружающей среды. – М. : Росагропромиздат, 1991. – 123 с.
8. **Котельников Г. А.** Предупреждения гельминтозов на пастбищах // Ветеринария. – 1982. – № 5. – С. 7–9.



9. **Кузьміна Т. А.** Біологічні основи інтегрованого контролю стронгілід (Nematoda: Strongylida) – паразитів коней в умовах України: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.08 – Зоологія. – К., 2004. – 23 с.
10. **Секретарюк К. В.** Гельмінтологічні дослідження тварин і навколишнього середовища у ветеринарній медицині / К. В. Секретарюк, О. А. Сварчевський, Р. І. Тафійчук. – Львів : Сполом, 2005. – 110 с.
11. **Трач В. Н.** Дифференциальная диагностика личинок некоторых стронгилят, паразитирующих у овец, коз и крупного рогатого скота // Методы изучения паразитологической ситуации и борьба с паразитогами сельскохозяйственных животных. – 2-е изд. – К. : АН УССР, 1961. – С. 142–167.
12. **Трач В. Н.** Паразитические личинки стронгилят домашних жвачных животных. – К. : Наукова думка, 1982. – 127 с.
13. **Трач В. Н.** Розвиток і строки виживання інвазійних личинок деяких стронгілят овець в умовах київського Полісся. – К. : Вид-во АН УРСР, 1959. – С. 46–50.
14. **Трач В. Н.** Эколого-фаунистическая характеристика половозрелых стронгилят домашних животных Украины. – К. : Наукова думка, 1986. – 451 с.
15. **Шевцов О. О.** Довідник про боротьбу з гельмінтозними хворобами тварин і птиці. – К. : Урожай, 1986. – 403 с.
16. **Шульц Р. С.** Гельминты и гельминтозы сельскохозяйственных животных / Р. С. Шульц, Г. И. Диков. – Алма-Ата : Кайнар, 1964. – 388 с.
17. **Analysis** of the strongylid nematodes (Nematoda: Strongylidae) community after deworming of brood horses in Ukraine / T. A. Kuzmina, V. A. Kharchenko, A. I. Starovir, G. M. Dvojnos // Veterinary Parasitology. – 2005. – Vol. 131, is. 3–4. – P. 283–290.
18. **Biodiversity** of strongylids (Nematoda: Strongylidae) communities in domestic horses from Poland and Ukraine / T. Kuzmina, S. Kornas, M. Basiaga et al. // Helminthologia. – 2011. – Vol. 48, N 2. – P. 77–84.
19. **Gastrointestinal** helminthiasis: Prevalence and associated determinants in domestic ruminants of district Toba Tek Singh, Punjab, Pakistan / M. N. Khan, M. S. Sajid, M. K. Khan et al. // Parasitology Research. – 2010. – Vol. 107, N 4. – P. 787–794.
20. **Gastrointestinal** nematode infections in small ruminants under the traditional husbandry system during the dry season in southern Ethiopia / R. Abebe, M. Gebreyohannes, S. Mekuria et al. // Tropical Animal Health and Production. – 2010. – Vol. 42, N 6. – P. 1111–1117.
21. **Kuzmina T. A.** Investigations of the biodiversity of ungulate parasite community in the natural reserve “Askania-Nova” (Ukraine) by the *in vivo* method / T. A. Kuzmina, V. A. Kharchenko, N. S. Zvegintsova // Biological diversity and conservation problems of the fauna of the Caucasus. Proc. of the Intern. Conf. – Yerevan, Armenia, 2011. – P. 172–176.
22. **Kuzmina T. A.** Strongylids of brood horses in Ukraine: Biodiversity and structure of parasites community // Ewolucyjne i Ecologiczne Aspekty Układu Pasożyt-Zywiciel. Proc. of the XIX Wrocław Parasitological Conf. – Wrocław–Karpacz, 2011. – P. 36.
23. **Prevalence** of gastrointestinal nematodes in growing pigs in Kabale District in Uganda / S. Nissen, I. H. Poulsen, P. Nejsun et al. // Tropical Animal Health and Production. – 2011. – Vol. 43, N 3. – P. 567–572.

Надійшла до редколегії 19.05.2012

УДК 615.371:578.7

О. С. Воронкова, О. А. Сірокваша, Т. М. Полішко, А. І. Вінніков

*Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

## **ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ДІАГНОСТИЧНИХ ТА ЛІКУВАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ БАКТЕРІОФАГІВ У МЕДИЦИНІ**

Наведено дані про препарати бактеріофагів, їх особливості та переваги порівняно з іншими терапевтичними засобами. Розкрито історію виробництва фагів, охарактеризовано сучасний стан питання. Наведено дані про застосування фагів у клінічній практиці для лікування, діагностики, моніторингу інфекцій, саніції приміщень і обладнання, проведення науково-дослідницьких робіт. Показано переваги фагових препаратів: діють лише на певні, чутливі до них бактерії, не послаблюють імунітет, не викликають резистентності у бактерій на противагу антибіотикам, добре проникають у тканини організму людини та тварин, не пригнічують ріст нормальної флори, поєднуються із будь-якими лікарськими препаратами.

О. С. Воронкова, Е. А. Сірокваша, Т. Н. Полишко, А. И. Винников

*Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара*

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ЛЕЧЕБНЫХ ПРЕПАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ В МЕДИЦИНЕ**

Представлены данные о препаратах бактериофагов, их особенностях и преимуществах по сравнению с другими терапевтическими средствами. Раскрыта история производства фагов и современное состояние вопроса. Представлены данные о применении фагов в клинической практике для лечения, диагностики, мониторинга инфекций, санации помещений и оборудования, проведения научно-исследовательских работ. Показаны преимущества фаговых препаратов: действуют только на определенные, чувствительные к ним бактерии, не ослабляют иммунитета, не вызывают резистентности у бактерий в противовес антибиотикам, хорошо проникают в ткани организма человека и животных, не подавляют роста нормальной флоры, сочетаются с любыми лекарственными препаратами.

O. S. Voronkova, E. A. Sirokvasha, T. N. Polishko, A. I. Vinnikov

*Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University*

## **PERSPECTIVES OF USE OF PHAGE DIAGNOSTIC AND THERAPY DRUG FOR MEDICINE**

The data on bacteriophage preparations, their features and benefits in comparison with other therapeutic agents are shown. The matters of phages production history to the present time are described. The data of phages application in clinical practice for the treatment, diagnostics, infections monitoring, sanitation of facilities and equipment, and conducting scientific research are shown. The benefits of phages drug are shown: affect only on specific sensitive bacteria, do not compromise the immunity, as opposed to antibiotics do not cause bacterial resistance, penetrate well into the humans and animals tissues, do not suppress the growth of normal flora and could be combined with any medication.

## Вступ

Вітчизняне виробництво бактеріофагів має великий досвід. Засновником фаготерапії можна вважати грузинського мікробіолога Георгія Еліаву, з ініціативи якого створено Інститут дослідження бактеріофагів у Тбілісі. Георгій Еліава – один з учнів першовідкривача бактеріофагів канадського бактеріолога Д'Ереля, який у 1931–1934 рр. неодноразово бував у Тбілісі, брав особисту участь у створенні та оснащенні нового інституту. У 1938 р. Інститут бактеріофагів об'єднали з Інститутом мікробіології та епідеміології під управлінням Наркома охорони здоров'я Грузії, а у 1951 р. його передано групі Інституту вакцин і сироваток Всесоюзного Міністерства охорони здоров'я. За заявками Міністерства охорони здоров'я сотні тисяч зразків патогенних бактерій надсилали в Інститут з усього Радянського Союзу для виділення найефективніших штамів фагів і кращої характеристики їх корисності. Тбіліський інститут бактеріофагів – найвідоміший виробник фагів, який працює і сьогодні, але зараз промислове виробництво бактеріофагів у Грузії не здійснюється. Зараз на теренах СНД працює створене у 1988 р. Науково-виробниче об'єднання «Бактеріофаг» із виробничими майданчиками на території Російської Федерації [18].

Сьогодні виділено та селекціоновано значну кількість специфічних фагів, які лізують патогенні бактерії, у результаті чого створено великі колекції класичних і нових штамів фагів. Вивчено основні біологічні властивості цих фагів (літична активність, антигенні властивості, інтенсивність адсорбції, латентний період внутрішньоклітинного розвитку, врожайність, діапазон літичної активності, специфічність, множинність інфекції, морфологія негативних колоній, морфологія фагових корпускул, тип і розмір нуклеїнової кислоти). Їх порівняльна характеристика дозволяє розробляти як специфічні, так і комплексні фагові препарати для лікування інфекційних уражень, зумовлених бактеріями, і для діагностичного застосування [1; 9].

Мета цієї роботи – оглянути відомості про фагові препарати, можливості їх застосування у медицині.

### **Препарати бактеріофагів: особливості та переваги, отримання**

Через значний рівень резистентності до антибіотиків серед мікроорганізмів фаготерапія вірогідно незабаром стане важливим напрямом боротьби з інфекціями. Прогнозується, що протягом п'яти років виробництво бактеріофагів стане однією з лідируючих галузей фармацевтичної промисловості [2; 7; 11; 13].

Найважливіша властивість бактеріофагів – висока специфічність. Вони вибірково лізують бактерії не тільки певного виду, а навіть їх окремі серологічні групи. Бактеріофаги безпомилково знаходять і знищують тільки ті бактерії, проти яких спрямовано їх дію, не зачіпаючи нормальну мікрофлору організму, не кажучи вже про його власні клітини. Саме цим пояснюється відсутність побічних ефектів і протипоказань до застосування бактеріофагів, що робить особливо привабливим їх використання у педіатричній практиці. Виникнення у бактерій стійкості до антибіотиків не впливає на їх чутливість до бактеріофагів, тому останні часто активні навіть щодо полірезистентної госпітальної мікрофлори. Слід ураховувати специфічність бактеріофагів: кожен вид фага розпізнає як свою мішень тільки ті серотипи бактерій, які мають певні фагоспецифічні рецептори. Тому призначати бактеріофаги необхідно під мікробіологічним контролем чутливості до них даного збудника [4; 8].

Вітчизняна промисловість випускає широкий спектр лікарських бактеріофагів: стафілококовий, стрептококовий, синьогнійний, клебсієльозний, черевнотифозний, дизентерійний, сальмонельозний. Є і їх комбіновані форми: коліпротейний

бактеріофаг, Інтесті-бактеріофаг (містить фаги шигел Флекснера сероварів 1, 2, 3, 4, 6 і Зонне, сальмонел (паратифу А і В, ентеритидіс, тифімуриум, холера-суїс, Оранієнбург), ентеропатогенних груп кишкової палички, протей, стафілококів, синьогнійної палички і патогенних ентерококів); піобактеріофаг комплексний (містить фаги стафілококів, стрептококів, ентерококів, протей, клебсіел пневмонії та оксітока, синьогнійної та кишкової паличок) [3; 18].

Препарати бактеріофагів отримують промислово шляхом накопичення їх біомаси та подальшого очищення. При отриманні біомаси бактеріофагів перевагу віддають використанню способу періодичного динамічного культивування на клітинах популяції штамів продуцентів фагів, що перебувають у стадії експоненціального росту. Встановлено, що лімітувальними для росту біомаси фагів факторами є фаза розвитку та концентрація бактеріальних клітин, ступінь аерації культурального середовища. вміст у середовищі глюкози та вміст амінокислот (валіну, тирозину та кофактора адсорбції – триптофану), а також рівень амінного азоту [5]. Ефективним способом очищення препарату є метод мембранного розділення. Ступінь очищення препарату в цьому разі становить понад 92 %. Ефективність цього способу очищення показана в експериментах гострої та хронічної токсичності при порівнянні очищених і неочищених фаголізатів. Препарати фагів відрізняються найвищим ступенем очищення від бактеріальних метаболітів, що робить їх засобами першого вибору для дітей першого року життя [11; 12].

### **Діагностичні фагові препарати**

У медицині фагові препарати використовують із діагностичною метою для типування мікроорганізмів, тобто для моніторингу розповсюдження певних штамів і сероварів бактерій. Найчастіше для цього використовують набори стафілококових фагів і фагів ентеробактерій [10; 22].

Фаготипування – спосіб визначення приналежності виділеної та ідентифікованої до виду культури до того чи іншого фаговара. Використовують два підходи. Сутність першого полягає у встановленні властивостей, отриманих із лізогенної культури фагів (літичного спектра, антигенної специфічності тощо). Сутність другого, більш поширеного, базується на виявленні спектра чутливості виділеної культури до набору стандартних типових фагів. Якщо фаговар культури відповідає типовому фагу, відбувається її лізис, що виявляється у відсутності росту, у той час як на місці нанесення інших фагів спостерігається суцільний ріст мікробів. Для фаготипування потрібні молода (4–6-годинна) культура досліджуваного штаму, ідентифікованого до виду або підвиду; набір стандартних типових фагів у критичних тест-розведеннях (у максимальному розведенні фага, що викликає повний лізис гомологічної культури); чашки Петрі зі стандартним свіжоприготованим і добре висушеним середовищем. Культуру засівають газоном на чашку із живильним середовищем, дають їй убраться в агар і на поверхню посіву пастерівською піпеткою, штампом-реплікатором або каліброваною петлею наносять типові фаги. На другу добу враховують спектр чутливості культури до фагів і зіставляють зі схемою фаготипування. Результати використовують для епідеміологічного аналізу [6; 10].

### **Лікувальні препарати фагів**

Найчастіше фагів використовують для лікування дисбактеріозів або проти стафілококових уражень. Існують як моно-, так і полівалентні препарати [14]. У вільному доступі є такі лікувальні форми.

Дизентерійний полівалентний бактеріофаг (Дизфаг) – стерильний фільтрат фаголізату збудників бактеріальної дизентерії – *S. flexneri* I, II, III, IV та VI типів та *S. sonnei*. Випускають у формі пігулок із шлунково-резистентним покриттям із ацетилфталілцелюлози, у рідкому вигляді – прозора рідина жовтого кольору різної інтенсивності. Дизентерійний полівалентний бактеріофаг викликає специфічний лізис збудників бактеріальної дизентерії. Призначений для лікування та профілактики бактеріальної дизентерії [3; 17].

Колі-протейний бактеріофаг – фільтрат фаголізатів, активних відносно найпоширеніших ентеропатогенних ешерихій і протея. Препарат – прозора рідина жовтого або зеленого кольору різної інтенсивності. Колі-протейний бактеріофаг застосовують для лікування та профілактики ентероколітів і кольпітів. Із метою лікування ентероколітів препарат застосовують із першого дня захворювання двома чи трьома курсами (залежно від перебігу хвороби) тривалістю 7–10 діб під бактеріологічним контролем. Інтервал між курсами – 3 доби. Із метою профілактики ентероколітів застосовують в осередках інфекції [16; 21].

Бактеріофаг сальмонельозний – імунобіологічний препарат, лікувальна та санувальна дія якого заснована на лізисі сальмонел і близьких до них за антигенною структурою бактерій. Застосовують при сальмонельозі у дітей і дорослих для лікування та санації реконвалесцентів (бактеріоносійство), профілактика сальмонельозів за епідеміологічними показаннями. Бактеріофаг сальмонельозний груп ABCDE – препарат рідкий і у таблетках. Препарат являє собою фільтрат фаголізатів, активний відносно найпоширеніших сальмонельозних бактерій: група А – паратиф А; група В – паратиф В, тифімуріум, Гайдельберг; група С – Ньюпорт, інфантіс, холера-суїс, Оранієнбург; група Д – Дублін, ентеритідіс, галінарум; група Е – анатум, Ньюлендс. Видовий склад бактерій, що використовують у виробництві для приготування сальмонельозного бактеріофага, може бути змінений залежно від мікробного пейзажу збудників. Фаг здатний викликати лізис сальмонел перелічених сероваріантів і близьких до них за антигенною структурою бактерій [4; 16; 19]. Застосовують при сальмонельозі у дітей і дорослих для лікування власне сальмонельозу, санації реконвалесцентів (бактеріоносійство) та профілактики сальмонельозів за епідеміологічними показаннями [16].

Інтесті-бактеріофаг рідкий – імунобіологічний препарат з антимікробними властивостями, здатний специфічно лізувати бактерії. Застосовується для лікування та профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту, викликаних чутливими мікроорганізмами: бактеріальної дизентерії, сальмонельозу, черевного тифу, паратифів, дисбактеріозів, ентероколіту, коліту, диспепсії. Інтесті-бактеріофаг – суміш стерильних фільтратів фаголізатів, активних проти *S. flexneri* I, II, III, IV та VI типів і *S. sonnei*, *S. paratypi* А, *S. paratypi* В, *S. typhimurium*, *S. infantis*, *S. choleraesuis*, *S. oranienburg*, *S. enteritidis*; *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* та *P. mirabilis*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* [3; 20].

Із характеристик препаратів видно, що найширшим є спектр дії інтесті-бактеріофага. Він здатен лізувати майже всі мікроорганізми, що виділяються із ШКТ. Інші фаги специфічніші відносно родів мікроорганізмів.

Бактеріофаг стафілококовий – імунобіологічний препарат, здатний лізувати стафілококи, виділені при гнійних інфекціях. Застосовується для лікування та профілактики гнійних інфекцій шкіри, слизових, вісцеральних органів, викликаних стафілококами (синусит, отит, ангіна, фарингіт, ларингіт, трахеїт, бронхіт, пневмонія, плеврит, гнійні рани, інфіковані опіки, абсцес, флегмона, фурункул, карбункул, гідраденіт, панарицій, парапроктит, мастит, бурсит, остеомієліт, уретрит, цистит,

пієлонефрит, кольпіт, ендометрит, сальпінгоофорит, гастроентероколіт, холецистит, омфаліт, сепсис), а також при дисбактеріозі кишечника. Препарат є фільтратом фаголізату, активний проти стафілококів найпоширеніших фаготипів, у тому числі проти золотистого стафілокока [18].

Важлива умова ефективної фаготерапії – попереднє визначення фагочутливості збудника (потрібне обов'язкове визначення чутливості до стафілококового бактеріофага штамів, виділених від хворого). Фаг уводиться безпосередньо в осередок інфекції. Тривалість курсу лікування для більшості фагів становить 5–15 діб. Дози та спосіб введення залежать від характеру вогнища інфекції (місцево, у вигляді зрошення, примочок і тампонування; внутрішньошкірно; у порожнини – черевну, плевральну, суглобову; у сечовий міхур через катетер; *per os* і *per rectum*). При рецидивному перебігу захворювання можливе проведення повторних курсів лікування.

Найдоцільніше застосування бактеріофага у випадках, коли інфекція викликана антибіотикостійкими штамми. Можна проводити комбіноване лікування бактеріофагом у поєднанні з антибіотиками. Важливо відзначити, що протипоказань до застосування фагових препаратів немає [15; 16].

### Висновок

Фагові препарати мають практичне застосування не лише у медицині як засоби профілактики та лікування бактеріальних захворювань, лікування гнійно-запальних захворювань слизових ока, порожнини рота, профілактики гнійно-запальних ускладнень при опіках, пораненнях, операційних втручаннях; а й у генній інженерії – конструюванні спрямованих змін у геномі ДНК господаря; у харчовій промисловості – застосування у виробництві продуктів харчування з м'яса, птиці, сирів, рослинної продукції тощо; у сільському господарстві – розпилення фагопрепаратів для захисту рослин і врожаю від гниття та бактеріальних захворювань, застосування фагопрепаратів для захисту худоби та птиці від інфекцій і бактеріальних захворювань; у галузі екологічної безпеки – антибактеріальна обробка насіння та рослин, очищення приміщень харчопереробних підприємств, санітарна обробка робочого простору та обладнання, профілактика приміщень лікарень, проведення екологічних заходів [9; 22].

Для багатьох фагів розроблено технологічні режими та умови виготовлення та контролю діагностичних та лікувальних біопрепаратів із селекціонованих ізолятів. Велика кількість препаратів уже розроблена і має належну нормативно-технічну документацію з виготовлення фагових препаратів, дозвіл на використання в медицині, ветеринарії та сільському господарстві. Фагові препарати можуть бути використані для лікування, діагностики та моніторингу інфекції, санації приміщень та обладнання, проведення науково-дослідницьких робіт у галузі медицини, біотехнології (у різних формах, дозах і обсягах).

Фагові препарати мають велику кількість переваг порівняно з іншими засобами боротьби з бактеріями: вони діють лише на певні бактерії, не порушують балансу макроорганізму, постійно еволюціонують, не викликають побічних ефектів, не послаблюють імунітет, не викликають резистентності у бактерій на протипоказань до застосування фагових препаратів немає [15; 16].

## Бібліографічні посилання

1. **Дикий І. Л.** Нові аспекти у використанні бактеріофагів / І. Л. Дикий, Н. І. Філімонова, М. М. Елаати // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2010. – N 15. – С. 12–13.
2. **Крылов В. Н.** Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага: надежды, перспективы, проблемы безопасности, ограничения // Генетика. – 2001. – Т. 37, № 7. – С. 869–887.
3. **Крылов В. Н.** Фаготерапия // Химия и жизнь. – 2002. – № 3. – С. 11–15.
4. **Летаров А. В.** Экологические основы рациональной фаговой терапии / А. В. Летаров, А. К. Голумидова, К. К. Тарасян // Acta Naturae. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 66–79.
5. **Abedon S. T.** Phage therapy pharmacology / S. T. Abedon, C. Thomas-Abedon // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 28–47.
6. **Abedon S. T.** Bacteriophages and Biofilms: Ecology, Phage Therapy, Plaques. – New York : Nova Science Publishers, Hauppauge, 2011. – 131 p.
7. **Abedon S.** Phage therapy pharmacology: Calculating phage dosing // Adv. Appl. Microbiol. – 2011. – Vol. 77. – P. 1–40.
8. **Bacteriophage** therapy for the treatment of infections / A. Gorski, R. Miedzybrodzki, J. Borysowski et al. // Curr. Opin. Investig. Drugs. – 2009. – Vol. 10. – P. 766–774.
9. **Bacteriophages: Biology and Applications** / Ed. E. Kutter, A. Sulakvelidze. – Boca Raton : CRC Press, 2005. – 528 p.
10. **Carter J.** Virology: Principles and applications / J. Carter, V. Saunders. – Chichester : John Wiley & Sons Ltd, 2007. – 382 p.
11. **Curtright A. J.** Phage Therapy: Emergent. Property. Pharmacology / A. J. Curtright, S. T. Abedon // J. Bioanal. Biomed. – Suppl. 6. – P. 2.
12. **Gill J. J.** Phage choice, isolation and preparation for phage therapy / J. J. Gill, P. Hyman // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 2–14.
13. **Goodridge L. D.** Designing phage therapeutics // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 15–27.
14. **Harper D. R.** Bacteriophage: Therapeutic use / D. R. Harper, E. Kutter // Encyclopedia of Life Sciences. – Washington : John Wiley & Sons Ltd., 2009. – P. 1–7.
15. **Housby J. N.** Phage therapy / J. N. Housby, N. H. Mann // Drug Discov. Today. – 2009. – Vol. 14. – P. 536–540.
16. **Kutter E.** Phage therapy: Bacteriophages as naturally occurring antimicrobials // Practical Handbook of Microbiology / Ed. E. Goldman, L. H. Green. – Boca Raton : CRC Press, 2008. – P. 713–730.
17. **Kutter E. M.** Bacteriophage therapy: Past and present // Encyclopedia of Microbiology / Ed. M. Schaecter. – Oxford : Elsevier, 2009. – P. 258–266.
18. **Phages** and their application against drugresistant bacteria / N. Chanishvili, T. Chanishvili, M. Tediashvili et al. // J. Chem. Technol. Biotechnol. – 2001. – Vol. 76. – P. 689–699.
19. **Phage** therapy in clinical practice: Treatment of human infections / E. Kutter, D. De Vos, G. Gvasalia et al. // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 69–86.
20. **Phage** treatment of human infections / S. T. Abedon, S. J. Kuhl, B. G. Blasdel et al. // Bacteriophage. – 2011. – Vol. 1. – P. 66–85.
21. **Summers W. C.** Bacteriophage therapy // Annu. Rev. Microbiol. – 2001. – Vol. 55. – P. 437–451.
22. **The bacteriophages** / Ed. R. Calendar. – Oxford : Oxford University Press, 2006. – 768 p.

Надійшла до редколегії 14.07.2012

УДК 612.119+616.155.392-036.12+616.15-07

М. В. Дяченко<sup>1</sup>, І. З. Борбуляк<sup>1</sup>, Д. І. Білько<sup>1</sup>, Т. П. Перехрестенко<sup>3</sup>,  
Н. М. Третяк<sup>3</sup>, І. С. Дягіль<sup>2</sup>, Н. М. Білько<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центр молекулярних і клітинних досліджень  
Національного університету «Кієво-Могилянська академія»

<sup>2</sup>Науковий центр радіаційної медицини НАМН України

<sup>3</sup>Інститут гематології та трансфузіології НАМН України

### **ЗВ'ЯЗОК ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИКІВ КІСТКОВОГО МОЗКУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ МІЄЛОЇДНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ З ІНДИВІДУАЛЬНОЮ ВІДПОВІДДЮ НА ТЕРАПІЮ**

Показано ефективність застосування культуральних методів дослідження клітин-попередників кісткового мозку для моніторингу індивідуальної відповіді пацієнтів із хронічною мієлоїдною лейкемією на терапію інгібіторами тирозинкіназ (ТКі). Аналіз особливостей росту гемопоетичних клітин при хронічній мієлоїдній лейкемії показав, що функціональна активність кровотвірних клітин-попередників у осіб, які демонструють повну відповідь на терапію ТКі, була достовірно нижчою ( $p < 0,05$ ) ефективності колонієутворення для зразків кісткового мозку осіб із відсутністю відповіді на терапію. Виявлено кореляцію між показниками колонієутворення та відсотком клітин із філадельфійською хромосомою у кістковому мозку, що була позитивною для групи осіб, які отримували альтернативне лікування гідроксисечовиною, та негативною для групи осіб із резистентністю до терапії ТКі.

М. В. Дяченко<sup>1</sup>, І. З. Борбуляк<sup>1</sup>, Д. І. Білько<sup>1</sup>, Т. П. Перехрестенко<sup>3</sup>,  
Н. Н. Третяк<sup>3</sup>, І. С. Дягіль<sup>2</sup>, Н. М. Білько<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центр молекулярних і клітинних досліджень  
Національного університету «Кієво-Могилянська академія»

<sup>2</sup>Науковий центр радіаційної медицини НАМН України

<sup>3</sup>Інститут гематології та трансфузіології НАМН України

### **СВЯЗЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКІВ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ХРОНІЧЕСЬКОЇ МІЄЛОЇДНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ С ІНДИВІДУАЛЬНИМ ОТВЕТОМ НА ТЕРАПІЮ**

Показана ефективність застосування культуральних методів дослідження клітин-предшественників кісткового мозку для моніторингу індивідуального відповіді пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією на терапію інгібіторами тирозинкіназ (ТКі). Аналіз особливостей росту гемопоетических клітин при хронічній мієлоїдній лейкемії показав, що функціональна активність кровотвірних клітин-предшественників осіб, які демонструють повну відповідь на терапію ТКі, була достовірно нижчою ( $p < 0,05$ ) ефективності колонієутворення для зразків кісткового мозку осіб із відсутністю відповіді на терапію. Виявлено кореляцію між показниками колонієутворення та відсотком Ph<sup>+</sup> клітин в кістковому мозку, яка була позитивною для пацієнтів, які отримували альтернативне лікування гідроксисечовиною, та негативною для пацієнтів із резистентністю до терапії ТКі.

---

© М. В. Дяченко, І. З. Борбуляк, Д. І. Білько, Т. П. Перехрестенко, Н. М. Третяк, І. С. Дягіль,  
Н. М. Білько, 2012



M. V. Diachenko<sup>1</sup>, I. Z. Borbulyak<sup>1</sup>, D. I. Bilko<sup>1</sup>, T. P. Perekhrestenko<sup>3</sup>,  
N. M. Tretyak<sup>3</sup>, I. S. Dyagil<sup>2</sup>, N. M. Bilko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre for Molecular and Cell Research of the National University of Kyiv-Mohyla Academy

<sup>2</sup>Scientific Centre of the Radiation Medicine NAMS of Ukraine

<sup>3</sup>Institute of Haematology and Transfusiology NAMS of Ukraine

## FUNCTIONAL ACTIVITY OF BONE MARROW PROGENITOR CELLS IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA RELATED TO INDIVIDUAL RESPONSE TO THERAPY

The paper presents an effective method of the monitoring of individual response of the patients with chronic myeloid leukemia (CML) to the therapy with tyrosine kinase inhibitors (TKi). The growth patterns analysis of hematopoietic cells from CML patients showed that functional activity of bone marrow progenitor cells of the patients with complete response to TKi therapy was significantly lower ( $p < 0.05$ ) in comparison with the colony-forming efficiency of bone marrow sampled from patients with a resistance to the therapy. The correlations were revealed between numbers of colony-forming units and the percentage of Ph<sup>+</sup> cells in the bone marrow. This correlation was positive for the group of patients who were alternatively treated with the hydroxyurea and negative for the group of individuals with the resistance to TKi therapy.

### Вступ

Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) – клональне порушення кровотворення, що виникає внаслідок появи генетичних аномалій на рівні гемопоетичної стовбурової клітини [5]. Це перше захворювання, для якого спочатку було продемонстровано майже стовідсоткову асоціацію з унікальною хромосомною аномалією – філадельфійською хромосомою (Ph) – яка є наслідком реципрокної транслокації t(9;22)(q34;q11), а зрештою охарактеризовано молекулярний продукт зазначеної транслокації – химерний ген BCR-ABL.

При лікуванні даного захворювання інгібітор тирозинкінази Іматиніб мезилат (STI571, Glivec) використовується як сучасний високоефективний терапевтичний засіб [4]. Проте клінічні дослідження не підтвердили очікувані результати лікування із застосуванням Іматинібу через обмежену ефективність цього препарату щодо стовбурових клітин, що перебувають у стані спокою, а також індивідуальну варіабельність відповіді на терапію [3]. Визначення ступеня та швидкості відповіді на терапію Іматинібом вкрай необхідне і передусім потрібне для того, щоб якнайшвидше вирізнити групу пацієнтів із ХМЛ, котрі не відповідають на лікування у певні строки, і своєчасно прийняти рішення про корекцію дози або зміну лікувальної тактики взагалі [1].

Доведено, що рання відповідь на лікування Іматинібом корелює з кращими результатами виживання [2; 6]. Тому вкрай актуальною залишається розробка методів моніторингу ефективності лікування задля його індивідуальної корекції для кожного окремого випадку захворювання.

Мета даної роботи – оцінити функціональні та цитоморфологічні особливості клітин-попередників на різних стадіях розвитку ХМЛ у культурі *in vitro* для раннього виявлення прогресії ХМЛ у фазу акселерації або бластний криз.

### Матеріал і методи досліджень

Проаналізовано аспірати кісткового мозку 28 хворих на ХМЛ віком 20–46 років, які отримували лікування препаратом Іматиніб (Novartis) 5–36 місяців. Пацієнти були обстежені на етапі встановлення діагнозу гематологічними та молекулярно-цитогенетичними методами дослідження для підтвердження діагнозу. Паралельно із цим проводили культивування кровотвірних клітин-попередників кісткового мозку *in vitro*

у напіврідкому агарі. Мононуклеари культивували у 24-лунковому планшеті при температурі +37 °С, за умов абсолютної вологості та 5 % CO<sub>2</sub> із додаванням середовища DMEM, 20 % фетальної телячої сироватки, 0,33 % бакто-агару Difco, 50 нг/мл GM-CSF та антибіотиків (50 МО/мл пеніцилін, 50 мг/мл стрептоміцин). Функціональну активність визначали шляхом підрахунку кількості клітинних агрегатів після 14 діб культивування із подальшим вилученням індивідуальних колоній.

### Результати та їх обговорення

Для постановки діагнозу та верифікації патологічного процесу у клініці проведено комплекс стандартних методів вивчення біологічного матеріалу у вигляді пунктатів кісткового мозку, забору венозної крові, мазків периферійної крові та кісткового мозку. У хворих на ХМЛ визначали лейкоцитоз зі зсувом до незрілих клітин гранулоцитарного ряду, у деяких пацієнтів – появу поодиноких бластних клітин у периферійній крові (рис. 1). Вміст лейкоцитів був значно підвищеним у зразках пацієнтів, які ще не отримували лікування (до  $231,2 \times 10^9/\text{л}$ ), іноді спостерігали «базофільно-еозинофільну асоціацію», кількість бластних клітин у периферійній крові коливалась у межах  $0,3\text{--}6,5 \times 10^9/\text{л}$ , у кістковому мозку – від 1,7 до 8,5 %.

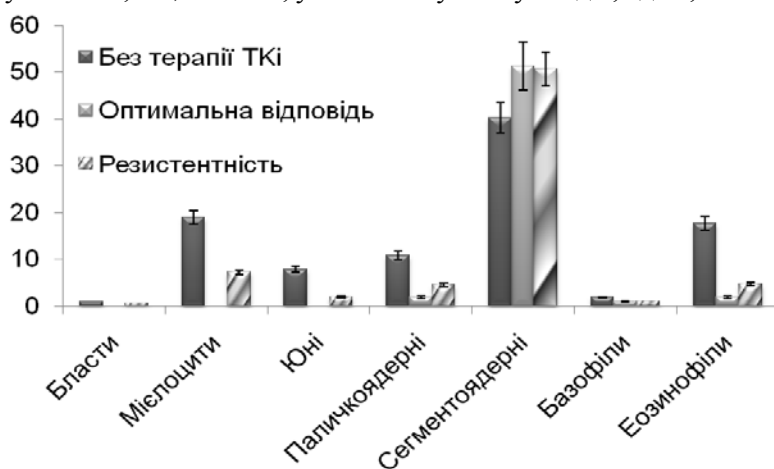


Рис. 1. Клітинний склад периферійної крові різних груп осіб із ХМЛ

Кількість еритроцитів у більшості випадків перебувала у межах норми та коливалась від  $2,5 \times 10^{12}/\text{л}$  до  $4,7 \times 10^{12}/\text{л}$ , вміст гемоглобіну – 72–145 г/л. У 60 % пацієнтів рівень тромбоцитів залишався в нормі (у пацієнтів із ранніми стадіями захворювання), проте у деяких випадках спостерігався тромбоцитоз до  $755 \times 10^9/\text{л}$ .

Аналіз клітинного складу кісткового мозку також показав підвищення рівня незрілих клітин мієлоїдної лінії відносно більш зрілих форм для груп осіб з альтернативним лікуванням гідроксисечовиною та у випадку резистентності до лікування (рис. 2). Спостерігалось також достовірне підвищення кількості еозинофільних клітин у першій групі.

Із метою виявлення особливостей колоніє- та кластероутворення в культурі проводили кількісний облік і аналіз морфологічного складу клітинних агрегатів, які утворились в агарі в результаті 14-добового культивування клітин кісткового мозку хворих на ХМЛ у культурах *in vitro*. За колонію (колонієутворювальна одиниця гранулоцитарно-макрофагальна, КУО-ГМ) приймали скупчення понад 40 клітин (рис. 3). Клітинні агрегати 20–40 клітин вважали кластером (кластероутворювальна одиниця, КлУО).

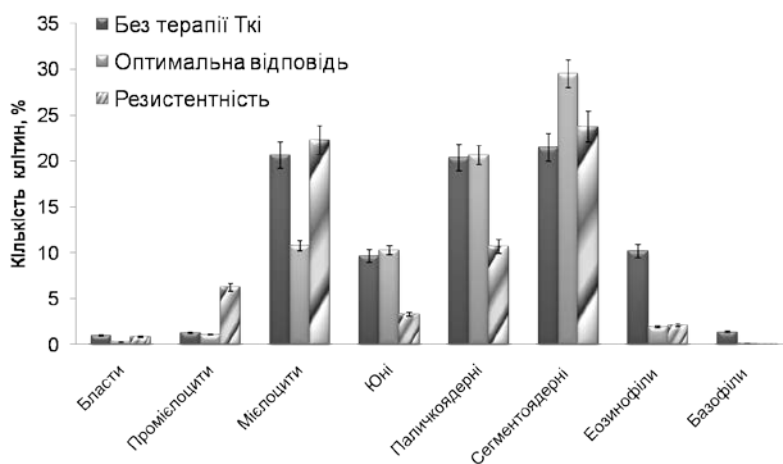


Рис. 2. Клітинний склад кісткового мозку різних груп осіб із ХМЛ

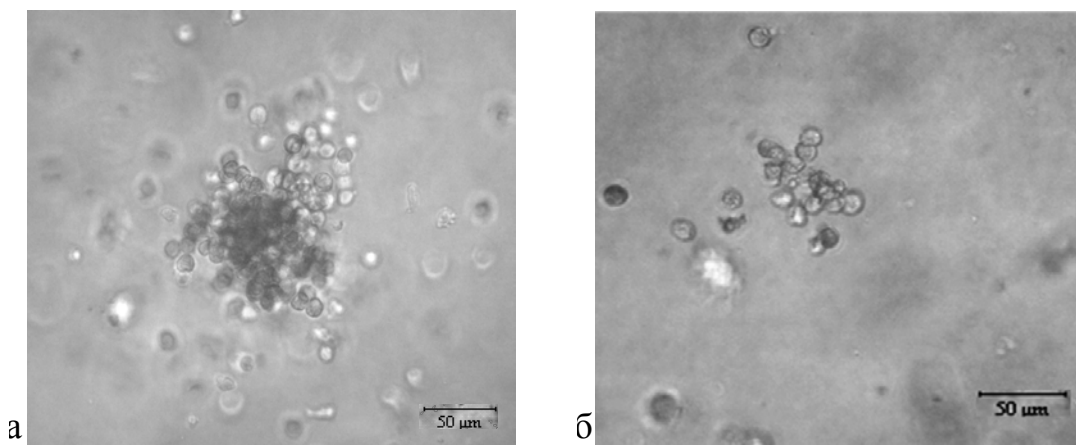


Рис. 3. Типи клітинних агрегатів кісткового мозку пацієнтів із ХМЛ на 14-ту добу культивування: а – колонія, б – кластер

Отримані зразки поділено на дві групи за відповіддю пацієнта на терапію. Оптимальною відповіддю вважали досягнення повної гематологічної та цитогенетичної ремісії упродовж 12 місяців від початку лікування ( $Ph+ = 0\%$ ), резистентністю до терапії – коли досягалася гематологічна відповідь, однак цитогенетична відповідь була частковою або взагалі відсутньою ( $Ph+ > 0\%$ ). Ще одну групу склали зразки пацієнтів, які отримували альтернативне лікування (гідроксисечовина). Аналіз особливостей росту гемопоетичних клітин хворих на ХМЛ показав, що у групі пацієнтів на етапі встановлення діагнозу та без лікування ТКі спостерігалось інтенсивне утворення колоній – середнє значення складало 65,8 (варіювало у межах 3–140) на  $1 \times 10^5$  мієлокаріоцитів (рис. 4), проте це значення достовірно не відрізнялось від значень КУО-ГМ для інших досліджених груп.

Функціональна активність клітин-попередників кісткового мозку осіб, які демонструють повну відповідь на терапію препаратом Іматиніб, була достовірно нижчою ( $p < 0,05$ ) ефективності колонієутворення для зразків кісткового мозку осіб із відсутністю відповіді на терапію. Середня кількість КУО-ГМ для першої із зазначених

груп складала 29,3 (0–68) на  $1 \times 10^5$  міелокаріоцитів проти 79,3 (2–188) на  $1 \times 10^5$  міелокаріоцитів КУО-ГМ для другої групи.

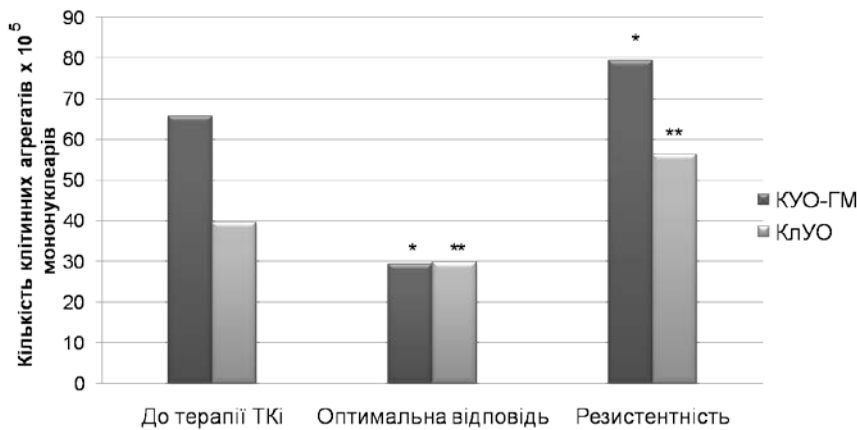


Рис. 4. Показники ефективності утворення колоній і кластерів для різних груп пацієнтів

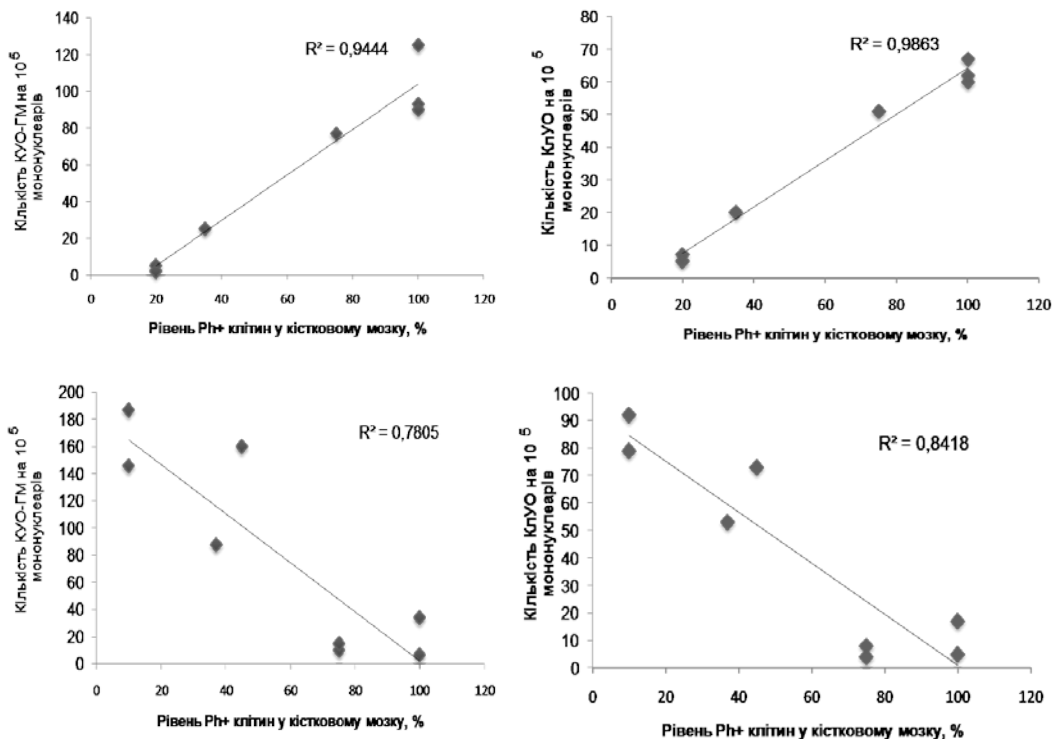


Рис. 5. Кореляція між рівнем функціональної активності клітин-попередників кісткового мозку та відсотком Rh+ клітин: а, б – для групи осіб з альтернативним лікуванням гідроксисечовиною (КУО-ГМ та КЛУО, відповідно); в, г – для групи осіб із резистентністю до терапії ТКі (КУО-ГМ та КЛУО, відповідно)

Подібна тенденція спостерігалась також і для середніх значень кластерів у трьох досліджуваних групах. Для зразків кісткового мозку осіб, що не отримували лікування ТКі, показник КЛУО склав 39,6 (5–67) на  $1 \times 10^5$  міелокаріоцитів, що достовірно не відрізнялося від показників груп співставлення. Як показано на рисунку 3, достовірну

відмінність ( $p < 0,05$ ) було виявлено при порівнянні ефективності утворення кластерів у групах із повною відповіддю (середнє значення 29,8 на  $1 \times 10^5$  мієлокаріоцитів) та відсутністю відповіді на терапію (середнє значення 56,3 на  $1 \times 10^5$  мієлокаріоцитів). Також виявлено кореляцію між показниками колонієутворення та відсотком Ph<sup>+</sup> клітин у кістковому мозку (рис. 5). Така кореляція була позитивною для групи осіб, які отримували альтернативне лікування гідроксисечовиною, що вказує на BCR/ABL-індуковане зростання проліферативної активності клітин-попередників кісткового мозку при ХМЛ.

Для групи осіб із резистентністю до терапії ТКі кореляція між кількістю клітинних агрегатів та відсотком Ph<sup>+</sup> клітин була негативною, що може бути наслідком накопичення Ph<sup>+</sup> клітин, які перебувають у стані спокою (фазі G<sub>0</sub> клітинного циклу) та нечутливі як до дії екзогенних ростових факторів, так і до ТКі. Дослідження клітинного складу отриманих клітинних агрегатів дозволить краще зрозуміти особливості клітин-попередників при резистентності до ТКі.

### Висновки

Результати досліджень вказують на наявність особливостей утворення клонів клітинами кісткового мозку осіб із ХМЛ, а також на прямий взаємозв'язок між функціональною активністю стовбурових клітин і клітин-попередників, та корелюють із рівнем цитогенетичної відповіді на терапію препаратами ТКі. Отримані дані підтверджують пригнічувальну дію інгібіторів тирозинкінази на гемопоетичну клітину та зниження проліферативної активності кісткового мозку у хворих із ХМЛ. Зміни функціональної активності клітин-попередників при ХМЛ відображають процеси лейкемічної трансформації, а описаний метод можна використовувати для моніторингу індивідуальної чутливості відповіді на терапію ТКі та розвитку бластної трансформації.

### Бібліографічні посилання

1. **Дягиль И. С.** Субоптимальный ответ при лечении иматинибом ХМЛ как критерий риска развития резистентности // Укр. журнал гематології та трансфузіології. – 2009. – № 4 (9). – С. 27–29.
2. **Hughes T.** Clinical strategies to achieve an early and successful response to tyrosine kinase inhibitor therapy / T. Hughes, A. Hochhaus // *Semin Hematol.* – 2009. – Vol. 46. – P. 111–115.
3. **Human** chronic myeloid leukemia stem cells are insensitive to imatinib despite inhibition of BCR-ABL activity / A. S. Corbin, A. Agarwal, M. Loriaux et al. // *J. of Clin. Inv.* – 2011. – Vol. 121. – N 1. – P. 396–409.
4. **Leber B.** CML biology for the clinician in 2011: Six impossible things to believe before breakfast on the way to cure // *Curr. Oncol.* – 2011. – Vol. 18, N 4. – P. 185–190.
5. **Philadelphia chromosome** (Ph<sub>1</sub>)-negative chronic myelogenous leukemia (CML): A clonal disease with origin in a multipotent stem cell / P. J. Fialkow, R. J. Jacobson, J. W. Singer et al. // *Blood.* – 1980. – Vol. 56, N 1. – P. 70–73.
6. **Predictors** of primary imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia are distinct from those in secondary imatinib resistance / W. W. Zhang, J. E. Cortes, H. Yao et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27, N 22. – P. 3642–3649.

Надійшла до редколегії 14.07.2012

УДК 579.26:631

І. В. Жерносекова

*Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара*

**ФІЗІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ БІОПРЕПАРАТІВ  
СТРЕПТОМІЦЕТУ ТА КОМЕРЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ  
ВІДНОСНО РОСЛИН КВАСОЛІ (*PHASEOLUS VULGARIS*)**

Вивчено фізіологічну активність біопрепаратів стрептоміцету *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* ГЗХ і культуральної рідини (КР), а також комерційних препаратів Гетероауксину та Емістиму відносно квасолі *Phaseolus vulgaris*. Ефект стимуляції морфобіохімічних показників рослин, отриманий за дією препаратів стрептоміцету, коливався в межах 20,2–176,3 % порівняно з контролем. Комерційні препарати стимулювального впливу на рослини не чинили (за винятком дії Емістиму на енергію проростання). Гетероауксин і Емістим пригнічували окремі біохімічні показники рослин у межах 22,6–55,6 %.

И. В. Жерносекова

*Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара*

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БИОПРЕПАРАТОВ  
СТРЕПТОМИЦЕТА И КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ  
В ОТНОШЕНИИ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ (*PHASEOLUS VULGARIS*)**

Изучена физиологическая активность биопрепаратов стрептомицета *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* ГЗХ и культуральной жидкости, а также коммерческих препаратов Гетероауксина и Эмистима в отношении растений фасоли (*Phaseolus vulgaris*). Эффект стимуляции морфобиохимических показателей растений, полученный после действия препаратов стрептомицета, колебался в пределах 20,2–176,3 % по сравнению с контролем. Коммерческие препараты стимулирующего влияния на растения не оказывали (за исключением действия Эмистима на энергию проростания). Гетероауксин и Эмистим снижали отдельные биохимические показатели растений на 22,6–55,6 %.

I. V. Zhernosekova

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University*

**PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF STREPTOMYCETES  
AND COMMERCIAL BIOPREPARATIONS  
OF HARICOT BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS*)**

Physiological activities of *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* P3X, culture liquid biopreparations and commercial preparations of Heteroauxin and Emistim were studied in the haricot bean (*Phaseolus vulgaris*). Stimulation of plants' morpho-biochemical indices by 20.2–176.3 % was shown after the application of streptomyces preparations. Commercial preparations had no stimulation effect of the plants, except the Emistim effect on germinating power. Heteroauxin and Emistim oppressed some biochemical indices of plants by 22.6–55.6 %.

## Вступ

Для поліпшення показників росту та розвитку рослин із метою підвищення їх урожаїв у сільському господарстві застосовують стимулятори росту рослин і фізіологічно активні речовини. Ці сполуки прискорюють проростання насіння, кореневтворення, цвітіння, плодоносіння, регулюють стан спокою рослин і забезпечують їх стійкість до хвороб [9; 10]. Саме такі біологічно активні речовини здатні синтезувати мікроорганізми, на основі активних речовин із яких виготовляють біологічні препарати. Активні штами мікроорганізмів (які є складовими біопрепаратів) не викликають у людини генетичних наслідків подібно до дії хімічних засобів захисту [3]. Заміна небезпечних хімічних препаратів біологічними дозволить знизити використання мінеральних добрив і пестицидів у землеробстві, що зумовить отримання чистої, якісної продукції рослинництва [4; 6]. Тому актуальним питанням сьогодення залишається створення та застосування біопрепаратів на основі активних штамів мікроорганізмів та їх метаболітів для збільшення врожайності культурних рослин.

На основі метаболітів стрептоміцету штаму *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* на кафедрі мікробіології та вірусології створено різні біопрепарати, які досліджено на рослинних об'єктах (ріпаку, ячмені, вівсі, соняшнику) та їстівних грибах (глива звичайна) [1; 2; 14; 16]. Випробувань стимулювальної дії препаратів стрептоміцетів порівняно з дією відомих стимуляторів росту рослин на квасолі (*Phaseolus vulgaris*) не проводили. Саме тому мета цієї роботи – оцінити фізіологічну активність біопрепаратів стрептоміцету та комерційних препаратів відносно рослин квасолі.

## Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – препарат дослідно-промислової партії ГЗХ (порошкоподібна форма) штаму *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435, культуральна рідина (КР) штаму стрептоміцету 2Р-15, Гетероауксин (калійна сіль індолил-3-оцтової кислоти) – комерційний препарат виробника ЗАО «ТПК Техноекспорт», Емістим (продукт життєдіяльності грибів-ендофітів із кореневої системи женшеню та обліпихи) – комерційний препарат виробника МНТЦ «Агробіотех». Препарати стрептоміцету ГЗХ та КР досліджували на квасолі у концентраціях 0,006 та 0,004 % відповідно, а Гетероауксин і Емістим у рекомендованих виробником концентраціях 0,002 та 0,1 % відповідно. Насіння квасолі знезаражували сумішшю 3 % перекису водню та 96 % спирту (1:1) протягом 20 хв, розкладали по 15 шт. на фільтрувальний папір у чашки Петрі та обробляли найпоширенішим способом – водними суспензіями мікробних препаратів [17] протягом 24 годин при +22 °С.

Після дії препаратів насіння переносили на зволожений дистильованою водою фільтрувальний папір і на третю добу визначали енергію проростання насіння, довжину кореня, активність кислих протеїназ насіння [15]. На 5-ту добу розвитку проростків визначали активність пероксидази коренів [8], поліфенолоксидази [13], концентрацію хлорофілів *a* і *b* [18]. За контроль брали насіння, яке зволожували дистильованою водою. Досліди проводили в триразовій повторності. Достовірність даних оцінювали за коефіцієнтом Стьюдента; відмінність між вибірками вважали достовірною при  $p < 0,05$  [7].

## Результати та їх обговорення

Ефективність впливу біологічних препаратів на розвиток рослин оцінюється за енергією проростання насіння та формування проростків [6]. За дії препаратів стрептоміцету ГЗХ і КР енергія проростання насіння збільшена на 66,6 та 33,3 % відповідно. При використанні комерційних препаратів для обробки насіння позитивний ефект

зареєстровано за дії Емістиму, який збільшив енергію проростання насіння на 33,3 %. Проте Гетероауксин на даний параметр впливав на рівні контролю (табл.). Отримані результати узгоджуються з дослідями авторів, які обробляли насіння квасолі сортів Харківська та Мавка культуральною рідиною штаму *Bacillus subtilis* В-7023 і показали підвищення енергії проростання на 11 та 14 % відповідно [11]. Рістстимуловальний потенціал роду *Bacillus* щодо рослин автори пояснюють здатністю бактерій продукувати різні біологічно активні речовини (білки, вітаміни, фітогормони, аміно- та органічні кислоти) [19].

Таблиця

**Морфобіохімічні показники рослин квасолі за дії препаратів стрептоміцету та комерційних препаратів**

Варіант досліджу	Енергія проростання		Довжина кореня, мм		Кислі протеїнази, ПЕ		Пероксидаза, Е/с		Поліфенол-оксидаза, Е/с·г		Хлорофіл <i>a</i> , мг/л		Хлорофіл <i>b</i> , мг/л	
	штук	<i>K</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>K</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>K</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>K</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>K</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>K</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>K</i> , %
Контроль (вода)	13,5 ± 1,20	100,0	13,0 ± 2,52	100,0	16,2 ± 1,55	100,0	2,42 ± 0,10	100,0	0,93 ± 0,20	100,0	4,70 ± 0,26	100,0	2,59 ± 0,02	100,0
ГЗХ	22,5 ± 1,70*	166,6	18,5 ± 2,23	148,3	22,2 ± 1,47*	137,0	2,91 ± 0,07*	120,2	2,57 ± 0,01*	276,3	8,35 ± 0,06*	177,6	4,89 ± 0,03*	188,8
КР	18,0 ± 1,13*	133,3	24,0 ± 3,30*	184,6	16,0 ± 2,21	98,7	1,41 ± 0,16*	58,3	1,48 ± 0,24	159,1	6,47 ± 0,05*	137,6	3,40 ± 0,01*	131,2
Гетероауксин	13,5 ± 1,10	100,0	9,3 ± 1,76	71,5	7,2 ± 1,15*	44,4	1,86 ± 0,07*	76,9	0,94 ± 0,20	101,1	5,27 ± 0,01	112,1	2,60 ± 0,02	100,3
Емістим	18,0 ± 0,82*	133,3	19,6 ± 4,33	150,8	24,2 ± 2,24	149,4	2,32 ± 0,07	95,9	0,85 ± 0,20	91,4	3,64 ± 0,02*	77,4	1,62 ± 0,02*	62,5

Примітка: \* –  $p < 0,05$ .

Вивчення впливу біопрепаратів на довжину кореня квасолі показало, що достовірно цей параметр збільшено в 1,8 раза при використанні КР. Показники дії ГЗХ та Емістиму збільшені в 1,5 раза (див. табл.), проте вони не достовірні. Активність кислих протеїназ, які розщеплюють запасні білки насіння, підвищена на 37 % за дії препарату ГЗХ. Гетероауксин, навпаки, пригнічував активність протеїназ насіння на 55,6 %.

Показник захисної функції організму – пероксидаза [8]. Активація цього ферменту отримана за дії препарату ГЗХ (на 20 % порівняно з контролем). У дослідях із препаратом КР та Гетероауксином зафіксоване вірогідне зменшення активності пероксидази (на 41,7 та 23,1 % відповідно). У літературі [12] повідомляється, що пероксидаза зустрічається в багатьох рослинах часто у високих концентраціях. Підвищення активності ферменту автори розглядають як індикатор стресового стану рослини, як показник захисної функції організму [5]. Під впливом препарату ГЗХ відбулося підвищення активності ферменту дихання поліфенолоксидази (у 2,7 раза), що свідчить про достовірне підвищення вмісту фенольних сполук у тканинах (див. табл.). Підвищення або зниження активності поліфенолоксидази є свідченням недостатньої стійкості рослинних тканин до зовнішніх факторів середовища [5].

Автори вважають, що рослина є стійкою до умов існування, якщо активність ферменту оптимальна, що свідчить про задовільний стан рослинних тканин. Інші досліджені препарати не викликали достовірних змін активності поліфенолоксидази у рослинах квасолі. Фізіологічну активність препаратів стрептоміцету виявлено за активацією кількості пігментів у листі 5-добових проростків квасолі. Препарат ГЗХ стиму-



лював зростання вмісту хлорофілів *a* і *b* на 77,6 та 88,8 %, а КР – на 37,6 та 37,2 % відповідно. Емістим, навпаки, знизив кількість хлорофілів *a* і *b* на 22,6 та 37,5 %.

### Висновки

Препарати стрептоміцету ГЗХ та КР у більшості варіантів досліду виявили стимулювальний ефект на рослин квасолі. За дії препарату ГЗХ відбулося збільшення енергії проростання насіння (на 66,6 %), активності протеїнази (на 37,0 %), пероксидази (на 20,2 %), поліфенолоксидази (в 2,7 раза), вмісту хлорофілів *a* (на 77,6 %) та *b* (на 88,8 %). Препаратом КР достовірно стимульовано енергію проростання насіння (на 33,3 %), довжину кореня (в 1,8 раза), концентрацію хлорофілів *a* (на 37,6 %) та *b* (на 31,2 %). Регулятор росту Гетероауксин достовірно зменшував активність протеїнази (на 55,6 %) і пероксидази (на 23,1 %), а Емістим – концентрацію хлорофілів *a* і *b* (на 22,6 та 37,5 %). Препарати стрептоміцету можна рекомендувати як стимулятори для вирощування квасолі.

### Бібліографічні посилання

1. **Алексеевко Е. Н.** Изучение влияния культуральной жидкости стрептомицета на накопление биомассы *Pleurotus ostreatus* / Е. Н. Алексеевко, И. В. Жерносекова, А. И. Винников // Мікробіологія і біотехнологія. – 2012. – № 1. – С. 66–74.
2. **Алексеевко О. М.** Вивчення впливу екзометаболітів *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* на ріст гриба *Pleurotus ostreatus* / О. М. Алексеевко, І. В. Жерносекова, А. І. Винников // Мікробіологія і біотехнологія. – 2011. – № 2 (14). – С. 41–47.
3. **Влияние** биопрепаратов на динамику численности бактерий и фитопатогенных грибов в агроэкосистеме картофеля / Н. В. Патыка, В. В. Бородай, Н. В. Житкевич и др. // Мікробіол. журн. – 2012. – Т. 74, № 2. – С. 28–35.
4. **Вплив** гранульованого бактеріального препарату комплексної дії на ріст та урожай ярого ячменю / І. О. Скороход, Л. С. Церковняк, І. К. Курдиш та ін. // Мікробіол. журнал. – 2012. – Т. 74, № 3. – С. 23–28.
5. **Зайцева І. О.** Фізіолого-біохімічні основи інтродукції деревних рослин у Степовому Придніпров'ї / І. О. Зайцева, Л. Г. Долгова. – Д. : Вид-во ДНУ, 2010. – 388 с.
6. **Курдиш І. К.** Інтродукція мікроорганізмів у агроекосистеми. – К. : Наук. думка, 2010. – 255 с.
7. **Лакін Г. Ф.** Биометрия. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.
8. **Методы** биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош и др. – Л. : Агропромиздат, 1987. – С. 41–43.
9. **Микроорганизмы** – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение / Е. А. Цавкелова, С. Ю. Климова, Т. А. Чердынцева, А. И. Нетрусов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 133–143.
10. **Мишке И. В.** Микробные фитогормоны в растениеводстве. – Рига : Зинатне, 1988. – 151 с.
11. **Рой А. А.** Влияние продуктов метаболизма *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 на всхожесть семян и развитие растений / А. А. Рой, Л. С. Чернова, И. К. Курдыш // Регуляция роста, развития и продуктивности растений. Матер. III Междунар. научн. конф. – Минск, 2003. – С. 116–117.
12. **Сучасні методи** біохімічного аналізу рослин / Л. В. Шупранова, В. С. Більчук, Л. В. Богуславська та ін. – Д. : Вид-во ДНУ, 2011. – 80 с.
13. **Физиологические** и биохимические методы анализа растений / Сост. Г. Н. Чупахина. – Калининград, 2000. – С. 28–30.
14. **Экологические** аспекты стимуляции ярового рапса биопрепаратами стрептомицета / И. В. Жерносекова, Н. П. Черногор, А. А. Тымчук, А. И. Винников // Екологія та ноосферологія. – 2009. – Т. 20, № 1–2. – С. 136–142.

15. **Blanca san Segundo** Sequential expression and differential hormonal regulation of proteolytic activities during germination in *Zea mays* L / san Segundo Blanca, J. M. Casacuberta, P. Puigdomenech // *Planta*. – 1990. – Vol. 181. – P. 467–474.
16. **Growthstimulating** activity of biopreparations from *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* / I. Zhernosekova, A. Tymchuk, N. Chernogor, A. Vinnikov // Environmental and Food Security and Safety in Southeast Europe and Ukraine. NATO Advanced Research Workshop (ARW). – Dnipropetrovsk, 2011. – P. 90.
17. **Johansson P. M.** Suppression of wheatseedling diseases by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment / P. M. Johansson, L. Johansson, B. Gerhardson // *Plant Pathol.* – 2003. – Vol. 52, N 2. – P. 219–227.
18. **Krupa Z.** Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reactions / Z. Krupa, T. Braszynski // *Acta Physiol. Plant.* – 1995. – Vol. 17. – P. 177–190.
19. **Sauer U.** Metabolic capacity of *Bacillus subtilis* for the production of purine nucleosides, riboflavin and folic acid / U. Sauer, D. C. Cameron, G. E. Bailey // *Biotechnol. and Bioeng.* – 1998. – Vol. 59, N 2. – P. 227–238.

Надійшла до редколегії 05.07.2012

УДК 636.92:661.875

Р. Я. Искра

*Институт біології тварин НААН, м. Львів*

### **АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА ТА АЗОТИСТИЙ ОБМІН У КРОВІ КРОЛИКІВ ЗА ДІЇ ХЛОРИДУ ХРОМУ**

Досліджували вплив додавання до раціону кроликів хлориду хрому ( $Cr^{3+}$ , 200 мкг/кг комбі-корму) на стан системи антиоксидантного захисту та активність амінотрансфераз крові. За дії хрому в крові тварин підвищується активність каталази, глутатіонпероксидази та зростає вміст відновленого глутатіону. У крові кроликів дослідної групи активність аспартатамінотрансферази більша, порівняно з активністю ензиму у тварин контрольної групи.

Р. Я. Искра

*Институт биологии животных НААН, г. Львов*

### **АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА И АЗОТИСТЫЙ ОБМЕН В КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИДА ХРОМА**

Исследовали влияние добавления в рацион кроликов хлорида хрома ( $Cr^{3+}$ , 200 мкг/кг комби-корма) на состояние системы антиоксидантной защиты и активность аминотрансфераз крови. При действии хрома в крови животных повышается активность каталазы, глутатионпероксидазы и растет содержание восстановленного глутатиона. В крови кроликов опытной группы активность аспартатаминотрансферазы большая, по сравнению с активностью фермента у животных контрольной группы.

R. Y. Iskra

*Institute of Animal Biology NAAS, Lviv*

### **ANTIOXIDANT SYSTEM AND NITROGEN METABOLISM IN RABBITS' BLOOD UNDER ACTION OF CHROMIUM CHLORIDE**

The effect of chromium chloride ( $Cr^{3+}$ , 200  $\mu$ g/kg of the combined feed) on the state of rabbits antioxidant system and amino transferases activity was studied. It was found that chromium entailed the increase of activity of catalase, glutathione peroxidase and the content of reduced glutathione in the animals' blood. It was established that the activity of aspartate amino transferase in the exposed rabbits' blood is greater than in the animals of control group.

#### **Вступ**

Хром ( $Cr^{3+}$ ) – один із маловивчених мінеральних елементів, який відіграє важливу роль у процесах життєдіяльності людей і тварин, нормальному вуглеводному, ліпідному та білковому обміні [11]. Цей мікроелемент біологічно активний у складі олігопептиду хромодуліну, який активує дію інсуліну шляхом сприяння зв'язуванню гормона з рецепторами на поверхні клітини. За недостатнього надходження цього мікроелемента в організмі виникають метаболічні порушення, симптоми яких подібні до таких, що спостерігаються при діабеті та серцево-судинних хворобах. Високі дози

хрому можуть виявляти антидіабетичну та анаболічну дію [4]. Крім цього, тривалентний хром не проявляє генотоксичного ефекту, проте має антиоксидантну та антиапоптотичну дію [5]. Разом із цим, у літературі зустрічаються суперечливі дані щодо дії хрому на систему антиоксидантного захисту та механізмів цього впливу. Є дані, що  $Cr^{3+}$  може виступати як антиоксидант і прооксидант [16]. Цей ефект пояснюється здатністю іонів хрому брати участь в окисно-відновних реакціях у зв'язку з віддачею чи прийманням електронів.

Крім цього,  $Cr^{3+}$  активує ензими, стабілізує білки та нуклеїнові кислоти, сприяє росту та регенерації тканин, підвищує імунітет і стимулює кровотворення [16]. При додаванні  $Cr^{3+}$  до раціону щурів збільшується вміст амінокислот у тканинах, посилюється їх включення в білки тканини серця [13]. В експериментах *in vitro* встановлено, що  $Cr^{3+}$  збільшує синтез РНК у клітинах печінки мишей [8]. Це підтверджує, що  $Cr^{3+}$  має вплив на експресію генів. Зв'язуючись із хроматином, він викликає збільшення ініціювання локусів і, отже, інтенсифікацію синтезу РНК. Дія  $Cr^{3+}$  пов'язана з індукцією синтезу білка в ядрі та ядерною активацією хроматину [8].

Для тварин використовують корми, які містять достатню кількість хрому. Проте незначне засвоєння його з природних кормів, інтенсивний ріст тварин, який викликає дефіцит мікроелемента в організмі та вплив стресу на виділення  $Cr^{3+}$  з організму зумовлюють необхідність уведення сполук хрому до раціону тварин.

Тому мета цієї роботи – з'ясувати метаболічний вплив хлориду хрому на стан системи антиоксидантного захисту та інтенсивність азотистого обміну в крові кроликів.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на 10 кроликах породи «Сірий велетень» у кролівничому господарстві с. Демня Миколаївського району Львівської області. Кроликів поділили на дві групи: контрольну та дослідну (по 5 тварин, підібраних за принципом аналогів). Молодняку кроликів контрольної (К) групи згодовували стандартний гранульований комбікорм К-92-1, дослідної (Д) групи – цей самий комбікорм з уведенням у раціон із 20-ї доби життя добавки хрому – 200 мкг/кг маси комбікорму  $Cr^{3+}$  (у вигляді  $CrCl_3 \cdot 6H_2O$ ). Враховуючи живу масу кроленят (500 г) і кількість спожитого ними за добу корму (20 г), доза хрому на початку дослідження становила – 8 мкг/кг маси тіла. Доступ до кормів і води для кроликів був необмежений. Тривалість дослідження становила 135 діб, у т. ч. підготовчий період 20 діб, дослідний – 115 діб. На 135-ту добу життя у кроленят для біохімічних досліджень відбирали зразки крові з крайової вухної вени.

У крові визначали вміст гідропероксидів методом, принцип якого полягає в осадженні протеїну трихлороцтовою кислотою з наступним унесенням у середовище тіоціанату амонію; концентрацію ТБК-активних продуктів вимірювали за допомогою кольорової реакції малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою; активність супероксиддисмутази визначали методом, принцип якого полягає у відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами; активність глутатіонпероксидази – за швидкістю окиснення відновленого глутатіону; каталази – на основі здатності пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс; глутатіонредуктази – за швидкістю відновлення глутатіону за присутності NADPH; вміст відновленого глутатіону – за рівнем утворення тіонітрофенільного аніону в результаті взаємодії SH-груп глутатіону з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою; вміст вітамінів А і Е – за допомогою вискоефективної рідинної хроматографії на хроматографі «Міліхром-4» («Научприбор», Росія), активність амінотрансфераз – на біохімічному аналізаторі «Humalizer-2000» [3]. Одержані цифрові дані обробляли ста-

тистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

### Результати та їх обговорення

У результаті додавання до корму кроликів хлориду хрому вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у їх крові вірогідно не змінювався, проте спостерігалася тенденція до зниження рівня гідроперекисів ліпідів і зростання ТБК-активних продуктів (табл.). Продукти перекисного окиснення деформують мембрани клітин, порушують їх осмотичну резистентність і електричний потенціал, окислюють тіолові сполуки і SH-групи білків мембран. Динаміка утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів контролюється системою антиоксидантного захисту, яка не тільки запобігає розвитку вільнорадикальних реакцій, утворенню супероксид-аніона та пероксидів, а й підтримує високу активність окисно-відновних процесів, забезпечує елімінацію кінцевих кисневих метаболітів із залученням їх до енергетичного обміну та активації процесів синтезу.

Активність ензиму антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази), який катаболізує супероксид-аніон, у крові кроликів дослідної групи вірогідно не змінювалася, проте спостерігалася тенденція до її зниження. В еритроцитах у більшій мірі міститься  $Fe^{2+}$ -залежна супероксиддисмутаза [1], тому, враховуючи, що  $Cr^{3+}$  є антагоністом  $Fe^{2+}$ , він здатний витіснити катіон  $Fe^{2+}$  з активного центру ензиму, знижуючи його активність.

Таблиця

Деякі метаболічні показники крові кроликів за дії хлориду хрому ( $M \pm m, n = 5$ )

Показники	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
Гідроперекиси ліпідів, ум. од/г протеїну	0,32 ± 0,04	0,30 ± 0,01
ТБК-активні продукти, нмоль / г протеїну	2,55 ± 0,09	2,75 ± 0,11
Супероксиддисмутаза, умов. од.	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Каталаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну	3,68 ± 0,08	3,89 ± 0,02*
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	61,10 ± 1,16	68,15 ± 2,54*
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну	0,82 ± 0,04	0,88 ± 0,02
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	0,55 ± 0,05	0,91 ± 0,03***
Вітамін Е, мг/мл	4,39 ± 0,29	4,52 ± 0,36
Вітамін А, мг/мл	0,75 ± 0,02	0,78 ± 0,02
АлАТ, мкмоль/год х мл	0,37 ± 0,03	0,40 ± 0,01
АсАТ, мкмоль/ год х мл	0,35 ± 0,02	0,46 ± 0,02**

**Примітки:** вірогідні різниці показників дослідної групи порівняно з контрольною: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

За дії хлориду хрому у крові кроликів зростала активність ензимів, які каталізують реакції деградації пероксиду водню та гідроперекисів (каталази та глутатіонпероксидази). Активність каталази вірогідно зростала на 5,7 %, а глутатіонпероксидази – на 11,5 %. Отримані результати узгоджуються з літературними даними, де в людей, хворих на цукровий діабет, активність глутатіонпероксидази збільшувалася за умов додавання до їх раціону  $Cr^{3+}$  та  $Cr^{3+}$  у комплексі з вітамінами С і Е [7].

Активация глутатіонпероксидази в крові тварин дослідної групи можлива лише за умови підтримання достатньо високого рівня внутрішньоклітинного відновленого глутатіону, що підтверджено у наших дослідженнях. Відновлений глутатіон виконує роль не лише субстрату реакцій, а і чинника, необхідного для постійного відновлення розміщених у каталітичному центрі ензиму селенольних груп, що окиснюються у процесі глутатіонпероксидазної реакції [2]. За дії хлориду хрому виявлено зростання

вмісту відновленого глутатіону в крові кроликів (на 64,5 %), що свідчить про суттєвий вплив хлориду хрому на синтез відновленого глутатіону. Відновлений глутатіон бере участь в утилізації пероксиду водню та органічних пероксидів [9], а також у кон'югації цитотоксичних карбонільних продуктів метаболізму [15]. Існують відомості про те, що зміна рівня глутатіону виступає чутливим маркером оксидативного стресу [14].

Активність глутатіонредуктази (ензиму, відповідального за поповнення внутрішньоклітинного пулу відновленого глутатіону) має тенденцію до зростання в крові за дії сполуки хрому (див. табл.). Глутатіонредуктаза є залежним від NADPH ензимом, активність якого підвищується у разі накопичення відновленої форми нуклеотиду [2], одного з продуктів дегідрогеназних реакцій пентозофосфатного шляху окиснення глюкози. Таким чином, реалізується метаболічний зв'язок між енергетичними процесами та функціональною здатністю антиоксидантної системи в крові.

Отримані результати досліджень узгоджуються з даними літератури про те, що  $Cr^{3+}$  виявляє регуляторний вплив на експресію генів антиоксидантних ензимів [5].

За дії хлориду хрому у крові кроликів дослідної групи спостерігається невірогідне підвищення вмісту вітамінів *A* та *E* (див. табл.). Вітамін *A* та його природний попередник  $\beta$ -каротин захищають мембрани клітин від руйнівної дії вільних радикалів, за цих умов  $\beta$ -каротин нейтралізує найнебезпечніші види вільних радикалів: поліненасичені та кисневі [12]. Вітамін *A* і  $\beta$ -каротин – сильні антиоксиданти, за допомогою яких здійснюють профілактику та лікування ракових захворювань, попереджають повторну появу пухлин після операції.

Вітамін *E* (токоферол) також має антиоксидантну дію за рахунок інгібування окиснення ліпідів мембран. Токофероли, вбудовуючись боковими ланцюгами між поліненасиченими жирними кислотами фосфоліпідів клітинних мембран, за рахунок взаємодії подвійних зв'язків утворюють комплекси, збільшуючи щільність упаковки у фосфоліпідному бішарі, тим самим запобігають проникненню кисню та утворенню пероксидних радикалів [17]. Це, у свою чергу, викликає зменшення загальної швидкості окиснення та стабілізації процесу перекисного окиснення ліпідів, відповідний рівень якого необхідний для фізіологічного перебігу багатьох біохімічних процесів, зокрема, індукції апоптозу та формування клітинного імунітету [17].

Азотистий обмін в організмі кроликів характеризують амінотрансферази крові. Активність амінотрансфераз у крові тварин – важливий біохімічний тест для оцінки стану паренхіматозних органів, зокрема печінки. Різне підвищення активності цих ензимів спостерігається при токсичних станах організму внаслідок посиленого вивільнення амінотрансфераз у кров'яне русло з пошкоджених клітин [10].

Рівень аланінамінотрансферази – ензиму, що каталізує обернене перенесення аміногруп з аланіну на  $\alpha$ -кетоглутарову кислоту з утворенням пірувату, невірогідно зростає в крові тварин дослідної групи порівняно з контролем.

Подібна закономірність характерна для аспаратамінотрансферази – ензиму, що каталізує обернене перенесення аміногрупи з аспартату на  $\alpha$ -кетоглутарову кислоту з утворенням оксал-ацетату, активність якого вірогідно зростає в крові тварин дослідної групи (на 32,5 %). Підвищення активності ензиму свідчить про незначний вихід цих ензимних білків у кров через ушкоджені клітинні мембрани, в основному, кардіоміоцитів. Проте таке зростання активності аспаратамінотрансферази у крові тварин не виходить за фізіологічні норми.

## Висновки

Уведення до раціону кроликів добавки хлориду хрому в кількості 200 мкг/кг  $Cr^{3+}$  маси комбікорму викликає активацію системи антиоксидантного захисту організму: підвищення активності каталази, глутатіонпероксидази та зростання вмісту відновленого глутатіону. Очевидно, це зумовлено стимуляцією хромом експресії генів ензимів антиоксидантного захисту та збільшенням їх активності. За дії хлориду хрому у крові кроликів зростає активність аспаратамінотрансферази, що свідчить про незначний вихід цих ензимних білків у кров через ушкоджені клітинні мембрани тканин організму.

## Бібліографічні посилання

1. **Беленічев І. Ф.** Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, Ю. І. Губський // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 3. – С. 24–29.
2. **Кулинский В. И.** Биологическая роль глутатиона / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Усп. совр. биол. – 1993. – Т. 113. – С. 107–121.
3. **Фізіолого-біохімічні** методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. А. Макар та ін. – Львів : BMC, 2004. – 399 с.
4. **Cefalu W. T.** Role of chromium in human health and in diabetes / W. T. Cefalu, F. B. Hu // Diabetes Care. – 2004. – Vol. 27, N 11. – P. 2741–2751.
5. **Chromium** attenuates hepatic damage in a rat model of chronic cholestasis / W. Y. Chen, C. C. Jung, L. J. Wang et al. // Life Sciences. – 2009. – Vol. 84. – P. 606–614.
6. **Dickinson D. A.** Cellular glutathione and thiols metabolism / D. A. Dickinson, H. J. Forman // Biochem. Pharmacol. – 2002. – Vol. 64. – P. 1019–1026.
7. **Lai M.-H.** Antioxidant effects and insulin resistance improvement of chromium combined with vitamin C and E supplementation for type 2 diabetes mellitus // Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition. – 2008. – Vol. 43, N 3. – P. 191–198.
8. **Okada S.** Effect of chromium (III) on nuclear RNA-synthesis / S. Okada, H. Tsukada, M. Tezuka // Biological Trace Element Research. – 1989. – Vol. 21. – P. 35–39.
9. **Okada S.** Enhancement of ribonucleic acid synthesis by chromium (III) in mouse liver / S. Okada, M. Susuki, H. Ohba // Journal of Inorganic Biochemistry. – 1983. – Vol. 19. – P. 95–103.
10. **Park G. J.** Aspartate aminotransferase: Alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infection: Is it a useful predictor of cirrhosis / G. J. Park, B. P. Lin, M. C. Ngu et al. // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2000. – Vol. 15, N 4. – P. 386–390.
11. **Pechova A.** Chromium as an essential nutrient: A review / A. Pechova, L. Pavlata // Veterinarni Medicina. – 2007. – Vol. 52, N 1. – С. 1–18.
12. **Reduced** levels of rat lens antioxidant vitamins upon *in vitro* UVB irradiation / G. B. Reddy, S. Nayak, P. Y. Reddy et al. // The Journal of Nutritional Biochemistry. – 2001. – Vol. 12, is. 2. – P. 121–124.
13. **Roginski E. F.** Effects of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet / E. F. Roginski, W. Mertz // Journal of Nutrition. – 1969. – Vol. 97. – P. 525–530.
14. **Sahin E.** Stress dependent induction of protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidants in peripheral tissues of rats: Comparison of three stress models / E. Sahin, S. Gumuslu // Exp. Pharmacol. Physiol. – 2007. – Vol. 34, N 5–6. – P. 425–431.
15. **Two** distinct 4-hydroxynonenal metabolizing glutathione S-transferase isozymes are differentially expressed in human tissues / J. Z. Cheng, Y. Yang, S. P. Singh et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2001. – Vol. 282, N 5. – P. 1268–1274.
16. **Vincent J. B.** The Nutritional Biochemistry of Chromium (III). – The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 277 p.
17. **Wang X.** The location and function of vitamin E in membranes / X. Wang, P. J. Quinn // Mol. Memb. Biol. – 2000. – Vol. 17, N 3. – P. 143–156.

Надійшла до редколегії 27.05.2012

УДК 612.014+572.783

О. Р. Корженевська<sup>1</sup>, О. В. Севериновська<sup>2</sup>

<sup>1</sup>П'ятихатська загальноосвітня середня школа № 2

<sup>2</sup>Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

## ОЦІНКА СТАНУ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ МАШИНІСТІВ ЛОКОМОТИВІВ

За допомогою методу добового моніторингу артеріального тиску оцінено стан серцево-судинної системи у машиністів П'ятихатського депо Придніпровської залізниці. Підвищення (на 11–17 %) артеріального тиску у машиністів з артеріальною гіпертензією I стадії під час добової робочої зміни пов'язане з недостатністю адаптації до фізичних і психоемоційних перенавантажень. Із поглибленням захворювання зміни тиску (особливо при роботі уночі) мають розрегульований характер, пов'язаний із структурними порушеннями міокарда лівого шлуночка.

Е. Р. Корженевская<sup>1</sup>, Е. В. Севериновская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Пятихатская общеобразовательная средняя школа № 2

<sup>2</sup>Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ МАШИНИСТОВ ЛОКОМОТИВОВ

С помощью метода суточного мониторинга артериального давления оценено состояние сердечно-сосудистой системы у машинистов Пятихатского депо Приднепровской железной дороги. Повышение (на 11–17 %) артериального давления у машинистов с артериальной гипертензией I стадии во время суточной рабочей смены связано с недостаточной адаптацией к физическим и психоэмоциональным перегрузкам. С усугублением заболевания изменения давления (особенно при работе ночью) носят разрегулированный характер, связанный со структурными нарушениями миокарда левого желудочка.

O. P. Korzhenevs'ka<sup>1</sup>, O. B. Sevrynovs'ka<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pjatykhatky General Education School № 2

<sup>2</sup>Oles Honchar Dnipropetrovsk National University

## ESTIMATION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM STATE OF FOOT-PLATEMEN

With the help of daily monitoring of blood pressure we assessed the state of the cardiovascular system of foot-platemens of the Prydniprovsk railway Pjatykhatky Depot. Foot-platemens having the I stage of arterial hypertension demonstrated the 11–17 % increase of arterial pressure during daily work. It is related to inefficient adaptation to the physical and psychoemotional overloads. With aggravation of the disease the change of arterial pressure during the work, especially night work, is misaligned and characterised by considerable structural abnormalities of the left ventricle myocardium.

### Вступ

Сучасний рівень розвитку залізничного транспорту передбачає надзвичайне навантаження на людину. Аналіз критичних ситуацій свідчить, що з вини людини в



системі «людина – середовище – об'єкт управління» виникає близько 70 % технологічних аварій і катастроф. Тому досягнення оптимальної взаємодії людського чинника та навколишнього середовища є одним із головних завдань забезпечення безпеки руху на залізничному транспорті [2].

За останні роки робітники Укрзалізниці частіше хворіють і помирають від серцево-судинних розладів: 39,0 % у 2010 році і 36,9 % у 2011 році. Серед цих патологій переважає артеріальна гіпертензія (46,2 %) [1; 2]. Частота артеріальної гіпертензії (АГ) в Україні становить 29,3 % і зростає з кожним роком [12; 15]. З віком відбувається істотне збільшення частоти АГ. Ця патологія у людей віком понад 55 років перевищує 61 % [11; 12]. Але останнім часом АГ все більше вражає молоді верстви населення та зумовлює підвищену захворюваність, інвалідність і смертність. Вона – один з основних чинників розвитку ішемічної хвороби серця та головна причина цереброваскулярних захворювань [9]. На сьогодні 20–25 % населення України страждає на АГ. Смертність від серцево-судинних захворювань у загальній структурі смертності складає 53,5 %, із них на ішемічну хворобу серця припадає 48,5 % і на цереброваскулярні захворювання – 35,2 % [8; 10]. Інсульти серед населення України розвиваються учетверо частіше, ніж у країнах Західної Європи та США [4]. Лише 57 % хворих на АГ проінформовані про наявність у них захворювання, лікуванням охоплено 17 %, а ефективна терапія проводиться лише 8 % хворих.

У машиністів локомотивів установлено значний відсоток захворюваності на АГ і судинні дистонії. Це пов'язано з тим, що їх праця характеризується значним психоемоційним напруженням і здійснюється в умовах гіподинамії, впливу шуму, вібрації, електромагнітного поля та інших чинників виробничого середовища [10]. Неприятливі виробничі чинники в кабіні локомотива нерідко перевищують гігієнічні нормативи [7; 9]. Вивчаючи праці провідних лікарів вузлових лікарень Укрзалізниці [6], можна дійти висновку, що патогенний вплив виробничих і професійних чинників є фактором ризику АГ, а потім і розладу серцево-судинної системи.

Вивчаючи стан хворих на серцеві розлади на вузловій станції Ковель Львівської залізниці, лікарі встановили, що близько 80 % випадків серцево-судинних розладів зумовлює ішемічна хвороба серця [4]. Найбільше значення мають артеріальна гіпертензія, гіпертрофія міокарда, гіперхолестеринемія, дисфункція міокарда лівого шлуночка, порушення вегетативної регуляції серця [1; 2].

На Південній залізниці дослідження виявило, що для 20 % осіб існує підвищений ризик раптової смерті, а 10–12 % мають безсимптомні клінічні форми серцево-судинної патології. Схоже питання щодо РСС постало у вузловій залізничній лікарні міста П'ятихатки із сумною статистикою: за період з 2006 по 2010 рік померли від АГ три чоловіки та від ішемічної хвороби серця – один (машиністи електровозів).

Тому мета цієї роботи – з'ясувати вплив специфічних умов праці працівників рухомого складу Укрзалізниці на функціонування серцево-судинної системи.

### **Матеріал і методи досліджень**

Обстежено 20 помічників машиністів (І група) та 20 машиністів (ІІ група) з АГ віком 35–50 років. У дослідження включали робітників, які мали стаж роботи на залізничному транспорті 10–20 років. Групу порівняння (ІІІ група) склали 20 залізничників, які працюють в умовах залізничної галузі, але не мають артеріальної гіпертензії. Всі дослідження проведені на базі медичного пункту локомотивного депо та клінічного закладу «Залізнична вузлова лікарня» міста П'ятихатки. Усім проводили загальноклінічне обстеження стану серцево-судинної системи згідно із загальноприйнятими стан-

дартними методами. Добовий моніторинг АТ здійснювався за допомогою амбулаторного монітора МДП-НС-01 (Росія) у режимі реального часу. АТ і частоту скорочень серця (ЧСС) визначали за стандартною програмою: вдень (з 6 до 22-ї год) через кожні 15 хв, вночі (з 22 до 6-ї год) – через кожні 30 хв до рейсу та після рейсу. Моніторинг уважали проведеним задовільно за наявності (після «вибракування» окремих досліджень) не менше 50 вимірювань на добу за умови наявності двох вимірювань упродовж однієї години та відсутності інтервалу між вимірюваннями понад годину.

Математичну обробку результатів моніторування проведено з використанням комп'ютерної програми для графічного їх виведення та розшифрування. Обчислювали такі показники: середні значення систолічного АТ (САТ) та діастолічного АТ (ДАТ) за добу, активний (день) і пасивний (ніч) періоди, індекси часу – відсоток часу, протягом якого величини АТ перевищують критичний рівень (понад 140/90 вдень і 120/80 мм рт. ст. вночі), добовий індекс, що показує різницю між денним і нічним рівнем АТ, варіабельність АТ за стандартним відхиленням від середнього значення за денний і нічний періоди, величину ранкового підвищення АТ за різницею між максимальним і мінімальним АТ з 6 до 10 год.

Досліджували добовий профіль коливання артеріального тиску, для чого користувалися формулою:  $AT_{сер} = (AT_{сист} - AT_{діаст}) / 3 + AT_{діаст}$ .

Статистичну обробку результатів проведено з використанням програм Microsoft Office Excel та Origin 6.0 Professional. Для порівняння середніх значень використано *t*-критерій Стьюдента. Достовірною вважали різницю при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Детально проаналізувавши десятирічні звіти стану захворювання працівників П'ятихатського локомотивного депо при медичному пункті (шифр 9.0), з'ясували, що захворювання серцево-судинної системи з 2007 р. почастишали удвічі. Це стосується і машиністів локомотивів, умови праці яких – цілодобова позмінна робота, високий рівень нервово-емоційної напруги, вібрація та шум.

Згідно з результатами обстеження, в усіх залізничників I–II груп діагностовано АГ I та II стадії. Причому 75 % обстежених першої та 60 % другої групи мали АГ I ступеня, 25 та 30 % осіб першої та другої груп відповідно – II ступеня і у 10 % машиністів локомотивів виявлено найтяжчий, III ступінь розвитку цієї вади серця. Такий розподіл досліджених залежно від умов праці та впливу факторів виробничого середовища вигідно відрізняється від аналогічного показника, що виявляється у популяційних дослідженнях [5]. Це можна пояснити ретельнішим відбором робітників комплексних бригад за результатами щоденних (для локомотивних бригад) і щорічних профілактичних оглядів. Результати добового моніторингу артеріального тиску III групи порівняння такі: вдень значення САТ/ДАТ – 140/90, уночі – 120/70 мм рт. ст. Ці дані збігаються із загальновідомими, а відмічені коливання пов'язані з добовим ритмом, фізичною активністю та психоемоційним станом людини [2; 7; 10; 15; 16].

Як відмічають медичні працівники, у людей, які працюють у нічну зміну, коливання АТ протягом доби не тільки мають повільний і плавний двофазовий характер залежно від циркадного добового ритму, а й спостерігаються частіші коливання упродовж від декількох хвилин до години у різні періоди доби. Результати добового моніторингу основних показників серцево-судинної системи машиністів і помічників машиністів локомотивів свідчать, що середньодобові показники САТ та ДАТ у машиністів та їх помічників, хворих на АГ I і II стадії, дещо підвищилися під час рейсу порівняно зі значеннями до рейсу (табл. 1).

Таблиця 1

**Добовий профіль артеріального тиску  
в машиністів і помічників машиністів з артеріальною гіпертензією**

Показники	Результати осіб з АГ I стадії		Результати осіб з АГ II стадії	
	до рейсу	під час рейсу	до рейсу	під час рейсу
Систолічний АТ сер., мм рт. ст.	141,7 ± 3,5	153,2 ± 2,9	149,8 ± 4,0	161,6 ± 3,7
Діастолічний АТ сер., мм рт. ст.	91,3 ± 3,7	108,2 ± 2,5*	98,4 ± 4,2	111,0 ± 3,5*
Систолічний АТ денний, мм рт. ст.	144,7 ± 2,2	151,8 ± 1,8	157,6 ± 5,5	169,4 ± 3,7
Діастолічний АТ денний, мм рт. ст.	99,3 ± 1,6	105,5 ± 1,7	95,2 ± 3,0	108,2 ± 2,8
Систолічний АТ нічний, мм рт. ст.	144,2 ± 3,8	159,9 ± 2,9	142,3 ± 4,5	161,5 ± 3,6
Діастолічний АТ нічний, мм рт.ст.	93,3 ± 2,0	99,5 ± 1,3	107,6 ± 3,6	113,3 ± 4,0
Індекс часу систолічного АТ денний, %	42,0 ± 3,2	51,4 ± 2,7*	63,1 ± 3,7	79,8 ± 2,3**
Індекс часу діастолічного АТ денний, %	55,2 ± 2,6	67,4 ± 2,7**	71,9 ± 4,6	88,8 ± 2,5**
Індекс часу систолічного АТ нічний, %	65,8 ± 1,9	78,2 ± 2,9**	89,1 ± 1,3	82,9 ± 4,0**
Індекс часу діастолічного АТ нічний, %	75,7 ± 2,0	86,4 ± 2,5**	35,5 ± 3,9	47,8 ± 4,2*
Добовий індекс систолічного АТ, мм рт. ст.	10,8 ± 0,8	12,9 ± 0,5*	8,7 ± 0,9	7,6 ± 0,7
Добовий індекс діастолічного АТ, мм рт. ст.	10,1 ± 1,0	9,5 ± 0,7	5,5 ± 1,0	6,2 ± 0,8
Варіабельність систолічного АТ денного, мм рт. ст.	10,4 ± 0,5	16,2 ± 1,5**	8,9 ± 0,6	8,2 ± 0,2
Варіабельність діастолічного АТ денного, мм рт. ст.	9,8 ± 0,8	13,7 ± 0,7*	5,7 ± 0,9	6,1 ± 0,5
Варіабельність систолічного АТ нічного, мм рт.ст.	9,3 ± 0,6	14,5 ± 1,1**	5,9 ± 0,7	5,9 ± 0,5
Варіабельність діастолічного АТ нічного, мм рт. ст.	10,7 ± 0,8	12,2 ± 0,6	6,3 ± 0,2	5,8 ± 0,7
Ранкове підвищення систолічного АТ, мм рт. ст.	18,8 ± 1,9	28,4 ± 2,7*	10,9 ± 0,6	13,8 ± 1,0*
Ранкове підвищення діастолічного АТ, мм рт. ст.	16,6 ± 1,8	27,6 ± 2,3**	10,5 ± 0,6	11,8 ± 1,0

**Примітки:** \* – вірогідно відносно даних до рейсу, при  $p < 0,05$ , \*\* – вірогідно при  $p < 0,01$ .

Причому якщо середньоденні показники близькі до середньодобових, то середньонічні показники САТ у них під час рейсу на 10 % вищі порівняно з даними до рейсу. Відмітимо, що Е. Г. Даценко зі співавторами [5], визначивши циркадність ритму АТ у працівниць залізниці, зробили висновок, що в них майже втричі частіше спостерігаються патологічні гістограми добового профілю АТ. Автори статті рекомендують брати до уваги рівень АТ не тільки вдень, а й уночі, а у разі виявлення патологічних змін коригувати графік і умови праці.

Суттєвіші та різноспрямовані зміни роботи серцево-судинної системи відмічені у машиністів з АГ II стадії під час рейсу. Для машиністів цієї групи встановлено «монотонний» характер коливань САТ і ДАТ, із достовірно більшим підвищенням ранкового САТ. Воно, очевидно, зумовлене значнішими структурними порушеннями міокарда лівого шлуночка в осіб цієї групи [3; 9; 15]. Дані добового моніторингу АТ у машиністів, хворих на АГ, у групах залежно від ЧСС наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

**Показники добового моніторингу АТ у хворих на АГ залежно від ЧСС**

ЧСС, уд./хв	АТ	Середній АТ, мм рт. ст.			Індекс часу, %		Добовий індекс, %	
		добовий	денний	нічний	САТ	ДАТ	САТ	ДАТ
≤60	САТ	142 ± 13,7	194 ± 14,8*	131 ± 13,9	44,1	42,4	13,2	12,5
	ДАТ	80 ± 7,2	96 ± 7,5	66 ± 8,1				
61–80	САТ	172 ± 11,6*	196 ± 12,3*	142 ± 11,3*	74,5	67,1	16,2	17,3
	ДАТ	92 ± 9,1*	100 ± 8,2*	84 ± 10,5*				
81–100	САТ	181 ± 12,4*	204 ± 10,5*	138 ± 9,4*	100,1	100,1	8,4	9,2
	ДАТ	103 ± 10,4*	108 ± 10,4*	74 ± 10,1				

**Примітка:** \* – вірогідно відносно даних осіб контрольної групи при  $p < 0,05$ .

Значна варіабельність АТ у машиністів частіше співвідноситься з розвитком кризового перебігу артеріальної гіпертензії та супутньої ішемічної хвороби серця [5]. У залізничників, відповідно до переходу у групу з вищою ЧСС, відзначено зростання середніх добового, денного та нічного значень АТ. Недостатнє зниження нічного АТ в осіб із найвищими значеннями ЧСС свідчить про вищий ризик розвитку серцево-судинних ускладнень.

Проблема артеріальної гіпертензії у машиністів надзвичайно актуальна. За нашими спостереженнями, середній вік пацієнтів із гіпертонічною хворобою I ступеня становить 41,2, II ступеня – 46,7 років. Звертаємо увагу на інертність медицини в запобіганні такому швидкому прогресуванню хвороби.

### Висновки

У машиністів електровозів переважає початкова стадія артеріальної гіпертензії, однак має місце низка чинників виробничого процесу, які сприяють прогресуванню захворювання. Серед них – цілодобова позмінна робота, високий рівень нервово-емоційної напруги, вібрація та шум. У машиністів локомотивів під час рейсу достовірно підвищилися середньодобові показники ДАТ.

У машиністів з артеріальною гіпертензією I стадії індекс часу АТ вірогідно підвищений під час рейсу (як робота удень, так і вночі), що зумовлено недостатньою адаптацією осіб до фізичних і психоемоційних перенапружень.

У машиністів з артеріальною гіпертензією II стадії під час нічної зміни встановлено підвищення індексу часу, протягом якого величини діастолічного АТ перевищують критичний рівень на фоні незначного зниження індексу часу систолічного АТ, що свідчить про розвиток напруженого стану серцево-судинної системи в осіб у цих умовах.

Вірогідно збільшена величина ранкового АТ у машиністів локомотивів з АГ I стадії під час рейсу; незначно підвищена величина ранкового підвищення діастолічного АТ на фоні вірогідного збільшення величини ранкового підвищення систолічного АТ у машиністів з артеріальною гіпертензією II стадії.

### Бібліографічні посилання

1. **Алидзе Д.** Об основных профессиональных патологиях у рабочих железной дороги. – Баку : Медиа Сфера, 2010. – 216 с.
2. **Аналіз** стану здоров'я осіб, працюючих на посадах, пов'язаних з безпекою руху на залізничному транспорті, та заходи щодо поліпшення медичних аспектів професійного добору на Укрзалізниці / А. С. Діба, В. М. Остапчук, О. М. Тубольцев, Г. І. Кочуев // Медицина залізн. трансп. України. – 2002. – № 1. – С. 18–20.
3. **Даценко Е. Г.** Частота сердечных сокращений как фактор, влияющий на развитие и течение артериальной гипертензии / Е. Г. Даценко, Н. И. Яблучанский // Укр. терапевт. журн. – 2002. – № 1. – С. 5–10.
4. **Жолоб В. М.** Распространение артериальной гипертензии у машинистов в связи с факторами риска // Одес. мед. журн. – 1999. – № 1. – С. 34–37.
5. **Жолоб А. В.** Динаміка показників добового моніторингу артеріального тиску у машиністів локомотивів, котрі хворіють на артеріальну гіпертензію / А. В. Жолоб, Є. З. Доскач, В. М. Жолоб // Медицина залізн. трансп. України. – 2002. – № 1. – С. 39–42.
6. **Івер В. В.** Структура і динаміка первинної інвалідності на Придніпровській залізниці у 1992–2001 роках / В. В. Івер, В. П. Малий, Л. В. Шумакова // Медицина залізн. трансп. України. – 2003. – № 1. – С. 9–10.

7. **Капцов В. А.** Основные факторы профессионального риска у работников железнодорожного транспорта / В. А. Капцов, В. Б. Панкова, В. С. Кутовой // Гигиена и санитария. – 2001. – № 1. – С 38–43.
8. **Кобалава Ж. Д.** Артериальная гипертония. – М. : Медгиз, 2001. – 210 с.
9. **Коваль С. Н.** Современные подходы к лечению больных с артериальной гипертензией // Укр. терапевт. журн. – 2001. – № 4. – С. 64–72.
10. **Особливості** перебігу артеріальної гіпертензії у працівників локомотивних бригад: Вплив виробничих чинників, якість життя, лікування, профілактичні заходи / Ф. А. Звершхановський, О. Б. Праць, В. М. Жолоб, Є. З. Доскач // Медицина залізн. трансп. України. – 2004. – № 1. – С. 81–85.
11. **Тубольцев О. М.** Епідеміологія і медико-соціальна значущість артеріальної гіпертензії у робітників залізничного транспорту / О. М. Тубольцев, О. М. Люлько, О. В. Кривоший. – Харків : Інф.-видавн. центр ГНА України, 2003. – 153 с.
12. **Чепелевська Л. А.** Соціально-гігієнічна оцінка сучасної медико-демографічної ситуації в Україні / Л. А. Чепелевська, О. П. Рудницький // Охорона здоров'я України. – 2010. – № 2. – С. 72–77.
13. **Atrial dyssynchrony syndrome: An overlooked phenomenon and a potential cause of “diastolic” heart failure** // J. C. Eicher, G. Laurent, O. Barthez et al. // Eur. J. Heart Fail. – 2012. – Vol. 59, N 3. – P. 564–571.
14. **Capillary filtration is reduced in lungs adapted to chronic heart failure: Morphological and haemodynamic correlates** / W. Huang, M. P. Kingsbur, M. A. Turner et al. // Cardiovasc. Res. – 2001. – Vol. 49. – P. 207–217.
15. **Diurnal variation in incidence of stroke: Oxfordshire community stroke project** / S. J. Wroe, P. Sandercock, J. Bamford et al. // Brit. Med. J. – 2009. – Vol. 304. – P. 155–157.
16. **Franklin S. S.** Significance of white-coat hypertension in older persons with isolated systolic hypertension: A meta-analysis using the International Database on Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Relation to Cardiovascular Outcomes Population // S. S. Franklin, L. Thijs, T. W. Hansen // Hypertension. – 2012. – Vol. 59, N 2. – P. 198–204.
17. **Upper normal blood pressures predict incident atrial fibrillation in healthy middle-aged men: A 35-year follow-up study** / I. Grundvold, P. T. Skretteberg, L. K. Liest et al. // Hypertension. – 2012. – Vol. 59, N 2. – P. 198–204.

*Надійшла до редколегії 16.05.2012*

УДК 577.1:612.015.32:591.2-001.6:616.37-002

В. А. Макаrchук, Г. О. Ушакова

*Інститут гастроентерології НАМН України, Дніпропетровськ  
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

**ДИНАМІКА ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ПОЛ-АОЗ,  
ВУГЛЕВОДНОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В КРОВІ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ПРИ ПЕРЕХОДІ  
ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ У ХРОНІЧНУ ФОРМУ**

У результаті перев'язування щурам-самцям головного панкреатичного протоку у хвостовому відділі підшлункової залози у них спочатку розвивався гострий панкреатит, який поступово переходив у хронічну форму. У крові експериментальних тварин досліджено вміст показників перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ), вуглеводного та ліпідного обміну. У щурів із хронічним панкреатитом відбувається значна інтенсифікація процесів ліпопероксидації, пригнічення антиоксидантного захисту, гіперглікемія та гіперліпідемія.

В. А. Макаrchук, Г. А. Ушакова

*Інститут гастроентерології НАМН України, Дніпропетровськ  
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

**ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ПОЛ-АОЗ,  
УГЛЕВОДНОГО И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В КРОВИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС ПРИ ПЕРЕХОДЕ  
ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА В ХРОНИЧЕСКУЮ ФОРМУ**

В результате перевязывания крысам-самцам главного панкреатического протока в хвостовом отделе поджелудочной железы у них сначала развивался острый панкреатит, который постепенно переходил в хроническую форму. В крови экспериментальных крыс исследовано содержание показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ), состояние системы антиоксидантной защиты (АОЗ), углеводного и липидного обмена. Установлено, что у крыс с хроническим панкреатитом происходит значительная интенсификация процессов липопероксидации, угнетение антиоксидантной защиты, гипергликемия и гиперлипидемия.

V. A. Makarchuk, G. O. Ushakova

*Institute of Gastroenterology of NAMS of Ukraine, Dnipropetrovsk,  
Oles Honchar Dniropetrovsk National University*

**DYNAMICS OF SYSTEMS POL-AOP, CARBOHYDRATE  
AND LIPID METABOLISM IN BLOOD OF EXPERIMENTAL RATS  
IN TRANSITION OF ACUTE PANCREATITIS IN CHRONIC FORM**

In consequence of ligation of the main duct in pancreatic tail section of male rats the acute pancreatitis had developed but it gradually turned into a chronic form. In the blood of experimental animals processes of lipid peroxidation (LPO), the state of antioxidant protection system (AOP), carbohydrate and lipid me-

tabolism were studied. In rats with chronic pancreatitis the significant intensification of lipid peroxidation, inhibition of antioxidant system, hyperglycaemia, and hyperlipidaemia were found.

### Вступ

Підшлункова залоза відіграє унікальну роль в організмі людини. Вона виконує екзокринну та ендокринну функції – бере участь у процесі травлення та регуляції вуглеводного та інших видів обміну [4; 17; 25]. Встановлено чіткий взаємозв'язок між патологією підшлункової залози (хронічним панкреатитом) і порушенням ліпідного та вуглеводного метаболізму [6].

За останні роки в усьому світі та Україні спостерігається збільшення кількості хворих на гострий і хронічний панкреатит. У структурі шлунково-кишкового тракту ця патологія становить 5,1–9,0 % [13; 21]. Значний ріст захворюваності на гострий панкреатит, його трансформація у хронічну форму в 15–30 % випадків робить актуальними дослідження патогенетичних механізмів даної патології та пошук методів її корекції. Хронічний панкреатит – прогресуюче поліетіологічне запальне захворювання підшлункової залози, яке супроводжується розвитком її зовнішньо- та внутрішньо-секреторної недостатності. Ця патологія характеризується наявністю запального інфільтрату, прогресуючою деструкцією ацинарних клітин і фіброзом, що спричинює руйнування тканини залози [15; 28].

Роль біохімічних порушень у розвитку панкреатиту розкрита недостатньо. Не до кінця з'ясовано причини характерних змін інтенсивності ПОЛ у періоди загострення запального процесу у підшлунковій залозі та місце цих процесів у структурі факторів, що пошкоджують панкреатици [1]. Деякі автори вважають, що провідна роль у патогенезі гострого панкреатиту належить окиснювальному стресу [19], суть якого полягає у посиленні вільнорадикальних процесів за умов гострої локальної гіпоксії. При цьому протеолітичні та ліполітичні ензими, що містяться в неактивному стані всередині панкреатитів, можуть там само чи при виході із клітин підлягати атаці активних форм кисню та перетворюватися на свою активну форму. Подальше підтримання ПОЛ на значно вищому, ніж у нормі, рівні забезпечує гіпоксія тканини підшлункової залози та депресія системи АОЗ [18]. Таким чином, порушення балансу між активністю дії прооксидантних чинників і ефективністю антиоксидантної системи захисту організму, яке викликає окислювальний стрес, вважається універсальним механізмом розвитку багатьох захворювань [7; 26], у тому числі панкреатиту [18; 24].

Відмічено пряму залежність між ступенем морфологічних склеротичних змін паренхіми підшлункової залози та вираженістю функціональних порушень обміну глюкози [14; 27]. Вважається, що в основі розвитку цих змін лежить ураження клітин острівкового апарату залози, у результаті чого зменшується кількість і активність бета-клітин, а також число рецепторів інсуліну, розвивається інсулінорезистентність із поступовим порушенням вуглеводного та ліпідного метаболізму [16].

Мета цієї роботи – оцінити динаміку змін показників системи ПОЛ – АОЗ, вуглеводного та ліпідного обміну в крові експериментальних щурів при переході гострого панкреатиту у хронічну форму.

### Матеріал і методи досліджень

Експеримент проводили на білих лабораторних щурах-самцях (вік – 6 місяців, 190–200 г) згідно з Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках [5]. Щури перебували у стандартних умовах із природною зміною освітлення та дотриманням загальновіварійного раціону. В усіх тварин був вільний доступ до їжі та води.

За 20 годин до експерименту щурів піддавали харчовій депривації при вільному доступі до води. Для моделювання панкреатиту тваринам під наркозом (етамінал натрію, 85 мг/кг) шляхом хірургічного втручання здійснювали перев'язування (лігатуру) головного панкреатичного протоку у хвостовій частині підшлункової залози [20] ниткою «Кетгут», що не розсмоктується, 3/0. Операційну рану після маніпуляції зашивали пошарово.

Експериментальних тварин поділили на три групи (по шість у кожній): I група – із гострим панкреатитом (6-та доба після операції), II група – перехідна між гострим і хронічним панкреатитом (15-та доба після операції) та III група – із хронічним панкреатитом (30-та доба після операції). Контрольну групу склали 6 псевдооперованих щурів, яким здійснювали лише розтин шкірного покриву на череві та відразу його зашивали.

Після закінчення експерименту на 6, 15 і 30-ту добу тварин декапітували, попередньо увівши етамінал натрію. Гепаринізовану кров розділяли на плазму та червонокривці. Для оцінки інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали за інтенсивністю забарвлення триметилового комплексу, який утворюється в кислому середовищі при реагуванні МДА з 2-тіобарбітуровою кислотою [9]. Із метою оцінки стану ферментативної системи АОЗ у гемолізаті червонокривців активність глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.8.1.7) визначали за зменшенням вмісту NADPH у пробі [10], глутатіонпероксидази (ГПО, КФ 1.11.1.9) – методом, в основі якого лежить розвиток кольорової реакції при взаємодії *SH*-групи з реактивом Елмана [11], концентрацію відновленого глутатіону (ВГ) – методом Елмана [3]. Концентрацію церулоплазміну (ЦП) у плазмі крові визначали модифікованим методом Равіна, що базується на ферментативному окисненні *n*-фенілендіаміну за участю ЦП [8], гіалуронової кислоти (ГК) – методом Голда [23], вміст глюкози, тригліцеридів (ТГ) і холестерину (ХС) – тест-наборами фірми «Філісіт-діагностика».

Статистично результати опрацьовували методами варіаційної статистики, реалізованими у пакеті SPSS for Windows 7.0. При цьому для показника визначали вибіркоче середнє значення ( $M$ ) та похибку середнього ( $m$ ). Відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Деструктивний процес у підшлунковій залозі експериментальних тварин супроводжувався зростанням концентрації вторинного продукту ПОЛ – МДА: в 1,2 раза у групі з гострим панкреатитом (I група,  $t = 3,81$ ,  $p < 0,01$ ), в 1,8 раза – у перехідній групі (II група,  $t = 11,89$ ,  $p < 0,001$ ) та в 1,4 раза – у групі щурів із хронічним панкреатитом (III група,  $t = 5,68$ ,  $p < 0,001$ ) порівняно з контролем. Вміст МДА у II групі тварин був вищим, ніж у I та III групах в 1,4 ( $t = 9,98$ ,  $p < 0,001$ ) та 1,3 раза ( $t = 7,22$ ,  $p < 0,001$ ) відповідно (табл. 1).

Надмірна інтенсифікація ліпопероксидації викликає порушення мікроциркуляції, обмінних процесів та розвиток гіпоксії, які самі по собі індукують ПОЛ. Формується «замкнене коло» із порушенням іонного гомеостазу, що у випадку тривалого функціонування призводить до пошкодження та смерті клітини. Таким ефектам вільних радикалів протидіє система АОЗ, яка запобігає утворенню, забезпечує зв'язування та модифікацію вільних радикалів, екранування функціональних груп білків [2]. Але в даному випадку накопичення продуктів ПОЛ в організмі сприяло інгібуванню глутатіонзалежних ензимів (ГПО, ГР), пригніченню відновного потенціалу ВГ, що свідчило про виражений окислювальний дисбаланс клітин, який розвивався вже на початковому етапі захворювання. Це погіршувало його перебіг. Вірогідне зни-



ження вмісту ВГ у всіх групах експериментальних тварин свідчило про виснаження компенсаторних можливостей глутатіонової ланки.

ГР відновлює окислений глутатіон у відновлений, необхідний для функціонування ГПО, що, у свою чергу, відновлює перекиси водню, нуклеїнових кислот, білків та ліпідів. Тому зниження активності цих ензимів – несприятливий фактор. У щурів із гострим панкреатитом спостерігалася тенденція до зниження активності ГПО, у II групі тварин активність цього ензиму була вже на 15,6 % нижчою за контрольний показник ( $t = 3,29, p < 0,01$ ), а у групі із хронічним панкреатитом це зниження досягло 22,3 % ( $t = 4,47, p < 0,01$ ). Слід відзначити, що між I та III групами експериментальних тварин різниця активності ензиму була достовірною ( $p < 0,05$ ). Аналогічні зміни стосувалися і ГР (див. табл. 1): максимальне зниження її відбулося у групі тварин із хронічним панкреатитом (на 21,0 %,  $t = 2,06, p > 0,05$  порівняно з контрольною групою).

Таблиця 1

**Показники системи ПОЛ – АОЗ у крові щурів з експериментальним гострим і хронічним панкреатитом**

Показник	Контроль (n = 6)	I група (n = 6)	II група (n = 6)	III група (n = 6)
МДА, нмоль/мл	4,50 ± 0,23	5,57 ± 0,16**	8,05 ± 0,19***	6,16 ± 0,18***###
ВГ, ммоль/л	2,34 ± 0,06	1,97 ± 0,06**	1,86 ± 0,12**	1,73 ± 0,06***
ГПО, мкмоль/л·хв	202,4 ± 5,3	193,4 ± 8,7	170,5 ± 8,1**	157,4 ± 8,5***
ГР, нмоль/гНв·хв	6,38 ± 0,54	5,75 ± 0,54	5,21 ± 0,22	5,04 ± 0,36*
ЦП, мг/мл	475,1 ± 40,4	638,6 ± 26,8**	596,2 ± 34,8*	516,4 ± 30,6

**Примітки:** МДА – малоновий діальдегід, ВГ – відновлений глутатіон, ГПО – глутатіонпероксидаза, ГР – глутатіонредуктаза, ЦП – церулоплазмін; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  при порівнянні аналогічних показників експериментальних груп щурів із контролем; • –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  при порівнянні аналогічних показників групи щурів із ГП і перехідною групою і ГП та ХП між собою; ### –  $p < 0,001$  при порівнянні аналогічних показників перехідної групи щурів і групи з ХП між собою.

Рівень ЦП у крові зростає при гострих і хронічних запальних процесах, у тому числі при панкреатиті. ЦП циркулює у плазмі та перехоплює вільнорадикальні форми кисню, уберігаючи від їх пошкоджувальної дії ліпідумісні біоструктури. ЦП здійснює «гасіння» вільних радикалів, що утворюються в макрофагах і лейкоцитах при фагоцитозі та розвитку ПОЛ в осередку запалення. Максимальне зростання концентрації ЦП спостерігалася у групі щурів із гострим панкреатитом ( $t = 3,37, p < 0,01$ ), а мінімальне – із хронічним панкреатитом. У I групі тварин вміст цього білка гострої фази був в 1,2 раза вищим, ніж у III групі ( $t = 3,00, p < 0,05$ ).

Панкреатичний фіброз – характерна гістопатологічна риса хронічного панкреатиту. Фіброгенез запускається за допомогою чисельних сигналів і здійснюється панкреатичними зірчастими клітинами, присутніми у періацинальному просторі. Результат цього процесу – збільшення продукції речовин екстрацелюлярного матриксу (елементів сполучної тканини) – ГК, протеогліканів, ламініну, колагену (переважно IV типу) [12; 22]. Вміст ГК у плазмі крові відображає ступінь прогресування фіброзу при даній патології. Для групи тварин із хронічним панкреатитом характерне максимальне зростання концентрації цього показника (в 1,5 раза,  $t = 5,14, p < 0,001$  порівняно з контролем), що вказувало на значне фіброзування органа (табл. 2).

Оскільки вираженість порушення вуглеводного обміну залежить від ступеня фібротичних змін паренхіми підшлункової залози, закономірною була прогресуюча гіперглікемія у щурів із хронічним панкреатитом, що проявилася достовірним зростан-

ням концентрації глюкози у крові (в 1,7 раза,  $t = 3,86$ ,  $p < 0,01$ ). Рівень цього показника у III групі був в 1,6 раза вищим ( $t = 4,07$ ,  $p < 0,01$ ), ніж у тварин із гострим панкреатитом.

Таблиця 2

**Вміст гіалуронової кислоти, показників вуглеводного, ліпідного обміну у крові щурів із гострим і хронічним панкреатитом**

Показник	Контроль (n = 6)	I група (n = 6)	II група (n = 6)	III група (n = 6)
ГК, мг/мл	1,28 ± 0,06	1,43 ± 0,08	1,60 ± 0,12*	1,88 ± 0,10***
Глюкоза, ммоль/л	3,18 ± 0,42	3,42 ± 0,29	4,34 ± 0,30	5,37 ± 0,38***
ТГ, ммоль/л	1,00 ± 0,06	1,39 ± 0,17	1,55 ± 0,13**	1,63 ± 0,12***
ХС, ммоль/л	1,28 ± 0,09	1,46 ± 0,10	1,62 ± 0,07*	1,93 ± 0,15***

**Примітки:** ГК – гіалуронова кислота, ТГ – тригліцериди, ХС – холестерин; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  при порівнянні аналогічних показників експериментальних груп щурів із контролем; • –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  при порівнянні аналогічних показників групи щурів із ГП і ХП між собою.

У результаті ураження тканини підшлункової залози внаслідок розвитку панкреатиту порушується не тільки метаболізм вуглеводів, а і транспорт ліпідів. У щурів із хронічним панкреатитом спостерігається гіперліпідемія у плазмі крові, переважно за рахунок гіпертригліцеридемії та гіперхолестеринемії: вміст ТГ та ХС зріс в 1,6 ( $t = 4,69$ ,  $p < 0,001$ ) та 1,5 раза ( $t = 3,71$ ,  $p < 0,01$ ) відповідно порівняно з контрольною групою. Виражене порушення ліпідного обміну відмічалось вже у перехідній групі.

**Висновки**

Отримані дані свідчать про порушення рівноваги між ПОЛ і системою АОЗ у бік активації процесів вільнорадикального окиснення на фоні зниження захисних механізмів у щурів з експериментальним панкреатитом. При гострому панкреатиті значно зростає вміст ЦП, який відображає активність запального процесу у підшлунковій залозі, а при хронізації процесу спостерігається поступове зниження концентрації цього білка. Про заміщення паренхіми залози фіброзною тканиною у III групі тварин свідчить зростання вмісту ГК. Порушення вуглеводного та ліпідного обміну при хронічному панкреатиті відображає значна гіперглікемія та гіперліпідемія у плазмі крові експериментальних тварин.

**Бібліографічні посилання**

1. **Воронкин Д. А.** Метаболические изменения в органах и крови при экспериментальном хроническом панкреатите. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 03.01.04 – биохимия. – Краснодар : Ростов. гос. мед. ун-т, 2011. – 24 с.
2. **Глушко Л. В.** Методи корекції метаболічних порушень у хворих на хронічний панкреатит при його поєднанні з метаболічним синдромом / Л. В. Глушко, В. В. Романуха // Буковин. мед. вісник. – 2011. – Т. 15, № 3 (59). – С. 18–21.
3. **Горячковский А. М.** Клиническая биохимия. – Одесса : Астропринт, 1998. – 608 с.
4. **Губергриц Н. Б.** Экзо- и эндокринная функции поджелудочной железы: один шаг от дуэта до дуэли / Н. Б. Губергриц, Н. В. Беляева // Суч. гастроентерологія. – 2006. – Т. 30, № 4. – С. 18–30.
5. **Етика** лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідях // Екперим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
6. **Корочина И. Э.** Гастроэнтерологические аспекты метаболического синдрома // РЖГТК. – 2008. – № 1. – С. 26–37.
7. **Костюшова Н. В.** Функціональна роль –SH і –S-S-груп у розвитку оксидативного стресу при гострому коронарному синдромі // Одеський мед. журнал. – 2010. – Т. 119, № 3. – С. 61–64.

8. **Методы** клинических лабораторных исследований / Под ред. В. С. Камышникова. – 4-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2011. – 752 с.
9. **Овсянникова М. М.** Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС / М. М. Овсянникова, С. М. Альохіна, О. В. Дробінська. – К., 1999. – 6 с.
10. **Пересльги́на И. А.** Активность антиоксидантных ферментов слюны у здоровых детей // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 20–23.
11. **Разыграев А. В.** Активность глутатионпероксидазы в ткани шишковидной железы крыс и ее изменения при старении // Успехи гастроэнтерологии. – 2010. – Т. 23, № 3. – С. 392–395.
12. **Сіренко О. Ю.** Панкреатичні зірчасті клітини як морфологічна основа розвитку фіброзу підшлункової залози // Морфологія. – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 5–12.
13. **Склярів Є. Я.** Деякі аспекти діагностики хронічного панкреатиту / Є. Я. Склярів, Н. В. Курляк, І. В. Шалько // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. – № 2. – С. 79–83.
14. **Состояние** углеводного обмена после панкреатодуоденальных резекций у больных хроническим панкреатитом / А. Н. Лебедева, В. С. Демидова, А. Г. Кригер, Т. В. Шевченко // Хирургия. – 2011. – № 3. – С. 8–12.
15. **Фадеев Г. Д.** Селенсодержащие препараты в лечении больных хроническим панкреатитом / Г. Д. Фадеев, К. Ю. Дубров // Суч. гастроентерологія. – 2010. – Т. 55, № 5. – С. 69–75.
16. **Христич Т. Н.** Эндокринные нарушения как этиологический фактор развития панкреатита / Т. Н. Христич, Т. Б. Кендзерская // Consilium Medicum. Приложение. – 2008. – № 2. – С. 37–41.
17. **Чернобровий В. М.** Роль шлункової секреції в патогенезі хронічного панкреатиту / В. М. Чернобровий, І. В. Феджага // Буковин. мед. вісник. – 2008. – Т. 12, № 1. – С. 156–162.
18. **Чуанова Е. В.** Уровень свободнорадикального окисления в ферментативной фазе острого панкреатита и его прогностическое значение. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – СПб, 2009. – 25 с.
19. **Abu-Hilal M.** Malondialdehyde and superoxide dismutase as potential markers of severity in acute pancreatitis / M. Abu-Hilal, M. J. McPhail, L. Marchand // Journal of the Pancreas. – 2006. – Vol. 2, N 7. – P. 185–192.
20. **An immunocytochemical** profile of the endocrine pancreas using an occlusive duct ligation model / B. J. Page, D. F. du Toit, C. J. F. Muller et al. // Journal of the Pancreas. – 2000. – Vol. 1, N 4. – P. 191–203.
21. **Animal** models for investigating chronic pancreatitis / A. A. Aghdassi, J. Mayerle, S. Christochowitz et al. // Fibrogenesis Tissue Repair. – 2011. – Vol. 1, N 4. – P. 26.
22. **Effect** of emodin on pancreatic fibrosis in rats / C.-H. Wang, Z.-Q. Gao, B. Ye et al. // World J. Gastroenterol. – 2007. – N 13. – P. 378–382.
23. **Gold E. W.** The quantitative spectrophotometric estimation of total sulfated glycosaminoglican levels // Biochemica et Biophysica Acta. – 1981. – Vol. 673. – P. 408–415.
24. **Hackert T.** Antioxidant therapy in acute pancreatitis: Experimental and clinical evidence / T. Hackert, J. Werner // Antioxid Redox Signal. – 2011. – Vol. 10, N 15. – P. 2767–2776.
25. **Hereditary** chronic pancreatitis / J. Rosendahl, H. Bodeker, J. Mossner, N. Teich // Orphanet. J. Rare. Dis. – 2007. – Vol. 2, N 1. – P. 18–20.
26. **Packer L.** Oxidant and antioxidant revisited. New concept of oxidative stress / L. Packer, E. Cadenas // Free Rad. Research. – 2007. – N 9. – P. 951–952.
27. **Slezak L. A.** Pancreatic resection: Effect of glucose metabolism / L. A. Slezak, K. Dana, M. D. Andersen // World J. Surg. – 2001. – N 25. – P. 452–460.
28. **Tandon R. K.** Oxidative stress in chronic pancreatitis: Pathophysiological relevance and management / R. K. Tandon, P. K. Garg // Antioxid Redox Signal. – 2011. – Vol. 10, N 15. – P. 2757–2766.

Надійшла до редколегії 16.07.2012

УДК 581.1.03+631.531.173

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, О. В. Єліна, Є. А. Уланова

*Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара*

## **ВПЛИВ ЛОКАЛЬНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ НА БІОЕЛЕКТРИЧНУ АКТИВНІСТЬ ЛИСТЯ КУКУРУДЗИ**

Охарактеризовано закономірності дії різних доз рентгенівського опромінення на викликані холодовими стимулами біопотенціали листя кукурудзи. Проаналізовано динаміку амплітуди компонентів вказаних потенціалів після опромінення. Кількісно оцінено рівні потенціалів стабілізації для трьох доз опромінення. Встановлено залежність часу поновлення електричних властивостей опроміненних областей від експозиційної дози. При експозиційних дозах більше 0,2 Гр електрогенез клітин опроміненої частини листа повністю не поновлюється.

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, Е. В. Елина, Е. А. Уланова

*Днепрпетровский национальный университет им. Олеся Гончара*

## **ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ**

Охарактеризованы закономерности действия различных доз рентгеновского облучения на вызванные холодовыми стимулами биопотенциалы листьев кукурузы. Проанализирована динамика амплитуды компонентов указанных потенциалов после облучения. Количественно оценены уровни потенциалов стабилизации для трех доз облучения. Установлена зависимость времени восстановления электрических свойств облученной области от величины экспозиционной дозы. Выявлено, что при экспозиционных дозах свыше 0,2 Гр электрогенез клеток в облученных областях листьев полностью не восстанавливается.

M. P. Motsnyj, N. P. Botsva, O. V. Elina, Y. A. Ulanova

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University*

## **EFFECT OF LOCAL X-RAY IRRADIATION ON MAIZE LEAVES' BIOELECTRICAL RESPONSE**

Dynamics of maize leaves biopotentials evoked by X-rays stimuli is analysed. Qualitative similarity in dynamics of plant's bioelectrical response is determined. Hyperpolarization levels are quantitatively estimated for every series of the experiment. Dependence of the summarized hyperpolarization levels on photo-stimulus wave length is detected. The fact is ascertained that mean amplitude of hyperpolarization potentials reduces from 57.7 to 27.7 mV when the wave length decreases. Probable mechanisms of the initiation of photostimulated bioelectrical response are analysed.

### **Вступ**

Із часів відкриття явища радіоактивності дослідження взаємодії іонізуючих випромінювань з речовиною не втратили своєї актуальності [2; 3; 8; 11]. Найбільший інтерес викликають ефекти, пов'язані зі впливом указаних випромінювань на живі організми [5; 6; 11], при цьому актуальність вивчення впливу на живі системи рент-

генівського випромінювання визначається розширенням сфери застосування рентгенодіагностики у медицині та рентгеноструктурного аналізу в техніці. Дослідженням впливів іонізуючого випромінювання на функціональний стан вищих рослин у наш час присвячена значна кількість праць [2; 3; 14]. У більшості з них (особливо після аварії на Чорнобильській АЕС) вивчається вплив різних доз іонізуючого випромінювання або на генетичний апарат рослин, або на меристемні системи. При цьому питання впливу різних доз випромінювання на електрогенну функцію вищих рослин практично не вивчені. Мета цієї роботи – оцінити вплив локального рентгенівського опромінення на біоелектричну активність листя кукурудзи.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на паростках кукурудзи сорту Кадр-265. Попередньо відібране здорове насіння пророщували протягом 20–25 діб, після чого паростки, у яких на цей час було від трьох до п'яти листків, розподіляли на чотири групи: 1 – норма – рослини, які не опромінювали; 2, 3, 4 – рослини, які опромінювали експозиційними дозами 0,2, 0,3 і 0,4 Гр відповідно. Такі дози для рослин вважаються малими [2; 3].

Для опромінення застосовували стандартний дифрактометр серії ДРОН із напругою на трубці 25 кВ, вихідним струмом 20 мА та середньою довжиною хвилі  $\lambda_{сер} = 1,7902 \text{ \AA}$ . Під час опромінення листок рослини закріплювали на об'єктиві пристрою. На верхній листка робили позначку маркером для означення зони опромінення. Потужність дози вимірювали дозиметром ДП-451, який пройшов метрологічний контроль.

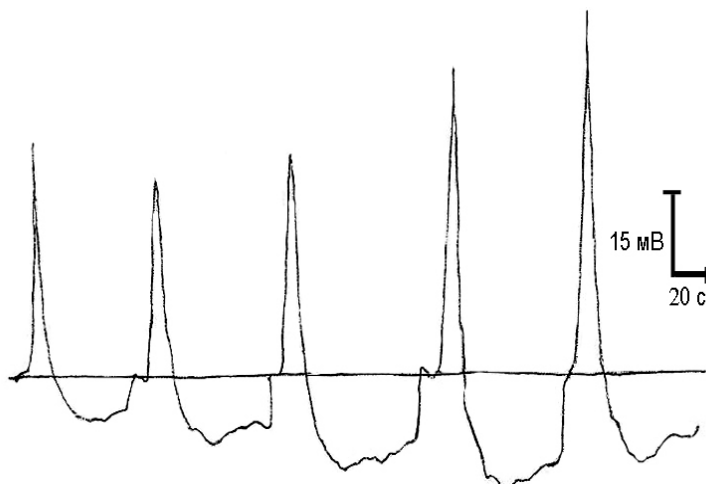
Для зменшення впливів зовнішніх електромагнітних полів паростки під час експериментів розміщували в екранованій камері. Електричну активність листя реєстрували за допомогою електродів, що не поляризуються. Сигнал з електродів подавали на підсилювач постійного струму з регульованим коефіцієнтом підсилення (1–10), а потім на самописець Endim. При вимірюванні амплітуди сигналів, що відводили від листя рослин, застосовували сигнал калібрування синусоїдальної форми частотою 1 Гц, який подавали на вхід підсилювача.

Електричні потенціали викликали холодowymi стимулами, які наносили на листя під відвідним електродом за допомогою спеціального термостимулятора. Параметри подразнювального стимулу вимірювали термопарою. Тривалість подразнення задавали за допомогою реле часу в межах 5–7 с. Температуру термостимулятора регулювали величиною струму, який проходив крізь нього та вимірювався амперметром [4; 5].

### Результати та їх обговорення

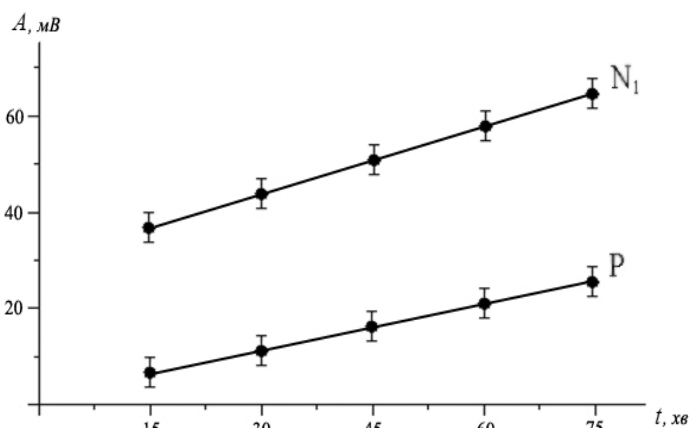
У першій групі дослідів опромінений рентгенівськими променями з експозиційною дозою 0,4 Гр паросток одразу розміщували в екранованій камері. Електроди наклали на опромінену ділянку листка. На листок наносили холодний термостимул тривалістю 5 с із максимальною температурою охолодження  $\Delta t = -7 \text{ }^\circ\text{C}$  і швидкістю охолодження  $v = 1,4 \text{ }^\circ\text{C/s}$ . Інтервал між імпульсами складав 15 хв. Результати одного з типових дослідів такої серії наведено на рисунку 1. Після опромінення параметри біопотенціалів значно змінюються: одразу після опромінення (рис. 1) загальна тривалість негативної фази (*N*-фази) складає лише близько 20 с (при нормі 40–45 с, рис. 4), а її амплітуда –35 мВ. Важливою ознакою потенціалу, що спостерігається, є наявність позитивної фази (*P*-фази), яка практично відсутня у нормі (рис. 3а). Подальша термостимуляція з інтервалом 15 хв веде до зростання амплітуди як *N*-, так і *P*-фази

реєстрованого потенціалу. При цьому тривалість потенціалів практично не змінюється (20–25 с, що значно менше норми).



**Рис. 1.** Потенціали листка кукурудзи, викликані холодним стимулом  $\Delta t = -7^\circ\text{C}$ ,  $v = 1,4^\circ\text{C}/\text{c}$  після локального опромінення рентгенівськими променями експозиційною дозою 0,4 Гр (реєстрації з інтервалом 15 хв після опромінення)

За результатами дослідів указаної серії побудовано графіки залежності максимальної амплітуди  $N$ - та  $P$ -фаз від часу після опромінення (рис. 2). Амплітуда  $N$ -фази потенціалу збільшується з 27 мВ на 15-й хвилині після опромінення до 60 мВ на 75-й хвилині. Амплітуда  $P$ -фази зростає з 7 до 28 мВ протягом 15–60 хв.

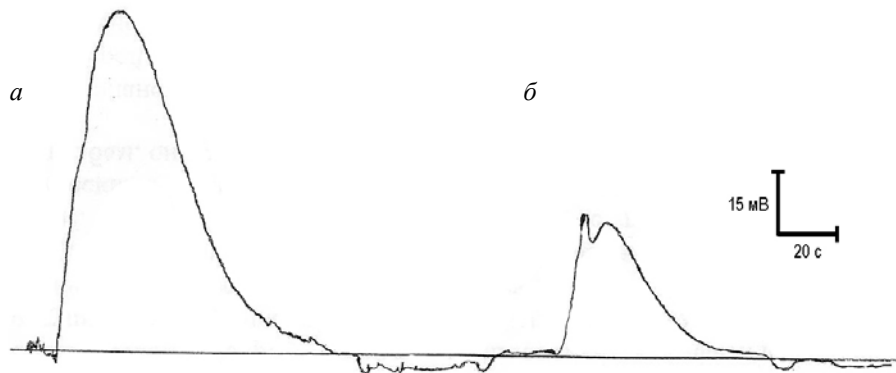


**Рис. 2.** Залежність максимальної амплітуди ( $A$ )  $N$ - та  $P$ -фаз біопотенціалу від часу ( $t$ ) після опромінення

Наступну реєстрацію біопотенціалів проводили через добу після опромінення (рис. 3). Через добу практично зникає  $P$ -фаза, із 20 до 40 с збільшується тривалість  $N$ -фази, а її амплітуда зменшується до 37 мВ, у той час як до опромінення потенціал має амплітуду близько 85 мВ і тривалість 50 с.

У наступній серії дослідів вивчали вплив локального рентгенівського опромінення на динаміку біопотенціалів листя кукурудзи при ритмічній холодовій стимуляції. Спочатку зареєстровано «норму»: динаміку потенціалів без опромінення, яка виявилась подібною при ритмічній стимуляції двома частотами 0,05 (рис. 4) та 0,025 Гц.

При частотній стимуляції амплітуда спочатку зменшується (протягом 0–50 с після першого стимулу), а потім стабілізується на певному, залежному від частоти рівні [5]. У нашому випадку для частот 0,050 і 0,025 Гц цей рівень становить відповідно 32 та 50 % амплітуди першого стимулу серії. У подальших експериментах ці рівні були критеріями оцінки впливу на електрогенез листя рентгенівського опромінення дозами 0,2, 0,3 та 0,4 Гр. Узагальнені результати таких експериментів при спостереженнях протягом 9 діб після опромінення наведено у таблиці.



**Рис. 3.** Потенціали листка кукурудзи, викликані холодним стимулом  $\Delta t = -7^\circ\text{C}$ ,  $v = 1,4^\circ\text{C}/\text{c}$  після локального рентгенівського опромінення експозиційною дозою 0,4 Гр до (а) та через добу (б) після опромінення



**Рис. 4.** Біопотенціали рослини («норма») без опромінення при стимуляції холодними стимулами  $\Delta t = -7^\circ\text{C}$ ,  $v = 1,4^\circ\text{C}/\text{c}$  із частотою 0,05 Гц

Результати експериментів свідчать, що при всіх експозиційних дозах рівень стабілізації після опромінення для двох частот стимуляції значно менший норми та з часом знижується. Середня амплітуда потенціалу також зменшується з часом.

Рентгенівське опромінення листка кукурудзи дозою 0,4 Гр спричинює помітні зміни основних характеристик біопотенціалів, викликаних холодовою стимуляцією. По-перше, після опромінення значно скорочується загальна тривалість  $N$ -фази потенціалу (з 45–50 до 20–25 с). Оскільки зареєстровані потенціали є сумарними потенціалами дії, то таке скорочення може бути пов'язане зі зниженням порогу збудливості клітин, що, у свою чергу, поліпшує синхронізацію відповідей і, як наслідок, зменшує їх тривалість [6; 7; 9; 13].

Збільшення амплітуди потенціалів після опромінення може бути спричинене як зниженням порогу, так і підвищенням рівня поляризації клітинних мембран. Така поляризація може виникати через вплив опромінення на АТФ-залежну компоненту мембранного потенціалу, яка збільшується при появі у клітинах вільних радикалів [11–14]. Про це свідчить той факт, що опромінення викликає появу значної позитивної  $P$ -фази, яка

слідє за *N*-фазою та є проявом слідової гіперполяризації мембран клітин, котрі беруть участь у формуванні сумарного потенціалу. Така гіперполяризація може виникати за рахунок збільшення активного транспорту іонів крізь мембрану як компенсація при порушенні її селективних властивостей.

Необхідно також відзначити, що через добу після опромінення тривалість потенціалу практично поновлюється (рис. 3б), але його амплітуда майже завжди залишається меншою, ніж амплітуда потенціалу неопроміненої рослини. Амплітуда сигналу поступово зменшується з часом, який минув із моменту опромінення. Причому чим більшу дозу отримала рослина, тим значнішим є зменшення амплітуди потенціалу. Можна припустити, що опромінення листя рентгенівськими променями викликає зменшення сумарної поляризації мембран, можливо, через їх пошкодження.

Таблиця

Динаміка параметрів електричної активності листя при різних дозах опромінення

Доба після опромінення	Рівень стабілізації потенціалу (% від амплітуди першої відповіді) для двох частот холодової стимуляції						Середнє значення потенціалу, мВ		
	0,025 Гц			0,050 Гц					
	0,2 Гр	0,3 Гр	0,4 Гр	0,2 Гр	0,3 Гр	0,4 Гр	0,2 Гр	0,3 Гр	0,4 Гр
1	42	40	35	38	30	40	18	13	8
2	35	32	16	20	30	25	12	9	6
4	35	35	17	25	20	10	8	7	3
7	43	22	12	20	15	5	6	4	2
9	50	25	10	20	15	5	5	3	1

Аналіз динаміки рівнів стабілізації (див. табл.) показав, що дія обраних доз рентгенівського опромінення значно зменшує рівні стабілізації, що, імовірно, пов'язано з послабленням поновлюваних функцій опромінених клітин. Важливим є той факт, що при малих дозах опромінення (0,2 Гр) на дев'ятій добі рівень електричної активності листя практично повертається до норми, у той час як при більших дозах (0,3 і 0,4 Гр) цей рівень залишається дещо нижчим за норму.

### Висновки

Опромінювання листя кукурудзи рентгенівськими променями довжиною хвилі  $\lambda_{сер} = 1,7902 \text{ \AA}$  дозою 0,4 Гр спричинює значні зміни параметрів біопотенціалів, викликаних холодовим подразненням. Протягом двох годин після опромінення помітно скорочується тривалість потенціалів, збільшується амплітуда та з'являється позитивна *P*-фаза. За добу тривалість потенціалів повертається до норми, але амплітуда завжди залишається меншою, ніж у контрольних неопромінених рослин. Рентгенівське опромінення малими дозами (0,2, 0,3, 0,4 Гр) викликає зниження середньої амплітуди потенціалів із часом протягом 9 діб спостережень. Таке опромінення спричинює також зниження поновлювальних функцій клітин, які генерують біопотенціали. За дози 0,2 Гр вказані функції повертаються до норми на дев'ятій добі, а за 0,3 і 0,4 Гр ефект поновлення не спостерігається. Оскільки початкові значення амплітуд потенціалів із часом не поновлюються, то, імовірно, в окремих клітинах через опромінення виникають необоротні процеси.

### Бібліографічні посилання

1. **Воденев В. А.** Обратимое изменение внеклеточного *pH* при генерации потенциала действия у высшего растения *Cucurbita pepo* / В. А. Воденев, В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин // Физиол. раст. – 2006. – Т. 53. – С. 538–545.



2. **Гроздинский Д. М.** Радиобиология растений. – К. : Наук. думка, 1989. – 147 с.
3. **Застосування** радіобіологічних методів для дослідження реакцій надчутливості у рослин / Ю. В. Шиліна, О. М. Міхеєв, М. У. Гуща, Д. М. Гроздінський // Доп. НАН України. – 1997. – Т. 11. – С. 175–177.
4. **Исследование** биоэлектрических реакций листьев кукурузы при фотостимуляции / М. П. Моцный, Н. П. Боцьва, Е. В. Елина, Л. Я. Садовская // Новости передовой науки. Матер. междунар. научн.-практ. конф. – 2011. – Т. 20. – С. 23–26.
5. **Моцный М. П.** Исследование биоэлектрической реакции растений, вызванной ритмической стимуляцией / М. П. Моцный, Е. В. Елина, С. В. Власова // Наука і освіта. Матер. VII Міжнар. наук.-практ. конф. – 2004. – Т. 55. – С. 37–38.
6. **Опритов В. А.** Биоэлектрогенез у высших растений / В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин, В. Г. Ретивин. – М. : Наука, 1991. – 216 с.
7. **Пятыйгин С. С.** Сопряжение генерации потенциала действия в клетках растений с метаболитом: современное состояние проблемы / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденеев, В. А. Опритов // Усп. соврем. биол. – 2005. – Т. 125. – С. 534–542.
8. **Пятыйгин С. С.** Деполяризация плазматической мембраны как универсальная первичная биоэлектрическая реакция растительных клеток на действие различных факторов / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденеев, В. А. Опритов // Усп. соврем. биол. – 2006. – Т. 126. – С. 493–502.
9. **Пятыйгин С. С.** Сигнальная роль потенциала действия у высших растений / С. С. Пятыйгин, В. А. Опритов, В. А. Воденеев // Физиол. раст. – 2008. – Т. 55. – С. 312–319.
10. **Смит К. Ю. М.** Биология сенсорных систем. – М. : Бином, 2005. – 583 с.
11. **Тарчевский И. А.** Метаболизм растений при стрессе. – Казань : Наука, 2001. – 448 с.
12. **Тарчевский И. А.** Сигнальные системы клеток растений. – М. : Наука, 2002. – 294 с.
13. **Davies E.** New functions for electrical signals in plants // New Phytol. – 2004. – Vol. 161. – P. 607–610.
14. **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.

*Надійшла до редколегії 18.07.2012*

УДК 611.82.2

С. Л. Попель

*Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника*

## **БУДОВА ТА КРОВОПОСТАЧАННЯ L2-S2 ДОРЗАЛЬНИХ КОРИНЦІВ СПИННОГО МОЗКУ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ**

Наведено дані гістометричного та електронномікроскопічного дослідження нервових волокон дорзальних корінців спинного мозку та їх кровоносного русла у щура у постнатальному періоді онтогенезу. Встановлено та охарактеризовано основні типи нервових волокон, показано їх композицію, яка відображає морфологічно взаємозумовлену структуру нервових провідників і шляхів мікроциркуляції крові. Це може визначати характер вікових процесів у дорзальних корінцях.

С. Л. Попель

*Прикарпатский национальный университет им. В. Стефаника*

## **СТРУКТУРА И КРОВОСНАБЖЕНИЕ L2-S2 ДОРЗАЛЬНЫХ КОРЕШКОВ СПИННОГО МОЗГА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

Представлены данные гистометрического и электронномикроскопического исследования нервных волокон дорзальных корешков спинного мозга и их кровеносного русла у крыс в постнатальном периоде онтогенеза. Выявлены и охарактеризованы основные типы нервных волокон, показана их композиция, отражающая тесную морфологическую взаимно обусловленную структуру нервных проводников и путей микроциркуляции крови. Это может определять характер возрастных процессов в дорзальных корешках.

S. L. Popel

*V. Stefanik Precarpatian National University*

## **STRUCTURE AND BLOOD SUPPLY OF L2-S2 DORZAL ROOT OF SPINAL CORD OF RATS OF DIFFERENTS AGE**

The paper presents information of hystometryc and electron microscopic research of nerve fibres of spinal cord dorsal roots and their blood circulation system of rats in the postnatal period of ontogenesis. The basic types of nerve fibres are revealed and characterized. Their composition which reflects the close morphological mutually causal structure of nerves and ways of blood microcirculatory is shown. It can determine the character of age-specific processes in the dorsal roots.

### **Вступ**

Літературні дані про міелоархітекτονіку ДК фрагментарні, неповні та суперечливі [1–3; 18]. Встановлено, що дорзальні корінці (ДК) спинного мозку (СМ) скомпановані з центральних відростків нейронів спинномозкових гангліїв (СМГ) і представлені мієліновими (МНВ) та безмієліновими (БНВ) нервовими волокнами [5; 12]. Існує багато невідповідностей щодо кількісного складу останніх у ДК. За результатами дослідження окремих авторів [13], у ДК грудних сегментів СМ кішки їх кількість стано-

вить 72 %, у Т8 щурів – 82 % [16], у морської свинки – 80 % [8], у сьомому сегменті СМ земноводних – тільки 70 % [11].

Протягом усього періоду вивчення будови ДК залишається дискусійним питання про співвідношення між числовими показниками сенсорних нервових клітин СМГ і нервовими волокнами (НВ) відповідних ДК. У попередніх дослідженнях виявлено значну кількісну перевагу нервових клітин над НВ [8], пізніше, у результаті ретельних підрахунків, між ними встановлені числові співвідношення [5; 12; 16]. Останім часом констатується, що центральні відростки аксонів сенсорних НК у межах вузлів або поза ними утворюють відгалуження, тому НВ ДК кількісно переважають нейрони СМГ [5; 9; 11; 13], а між ними встановлюється співвідношення 1,4 : 1 [5; 7].

Літературні дані про гемомікроциркуляторне русло (ГМЦР) корінців СМ поодинокі [2; 3; 15]. Детальне дослідження кровоносного русла корінців СМ у щурів знаходимо тільки у праці С. Petterson et al. (цит. за [6]), в якій виділяють зовнішні (великі) та внутрішні (дрібні) судини. Поряд із відомостями про джерело кровопостачання ДК потребують уточнення дані про внутрішньокорінцеву ангіоархітектоніку.

Мета цієї роботи – охарактеризувати гісто-ультраструктурну будову нервових волокон дорзальних корінців спинного мозку та їх кровоносного русла у щурів різного віку.

### Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – дорзальні корінці L2-S2 сегментів спинного мозку з правого боку у 15 статевозрілих лабораторних щурів-самців. Для дослідження використано гістологічні (методи фарбування нервових волокон (НВ) за Кульчицьким, Масоном і Ренсоном, імпрегнація за Більшовським – Грос) та електронномікроскопічний методи. Забір матеріалу проводили у 2, 12 і 24-місячних щурів згідно з «Правилами поводження з експериментальними тваринами» [17].

Кровоносне русло ДК вивчали за допомогою безін'єкційних та ін'єкційних методів. Кількість і діаметр НВ та їх аксонів, складових ланок внутрішньокорінцевих гемокапілярів визначали на площі поперечного перерізу ДК СМ під мікроскопом «Olympus Camedia C-480 ZOOM» за допомогою програми «Biovision 4.1». Всі МНВ поділяли на дрібні (1,0–4,0 мкм), середні (4,1–7,0 мкм) та великі (>7,0 мкм), згідно із запропонованою класифікацією [7]. Співвідношення діаметра аксона до товщини цілого МНВ встановлювали за формулою [17]:

$$g = \frac{a}{d},$$

де  $a$  – діаметр аксона,  $d$  – товщина мієлінового волокна.

Сумарну ємність внутрішньостовбурового капілярного русла досліджуваних дорзальних корінців підраховували на їх поперечних зрізах за формулою:

$$\Sigma C_{кр} = 0,785D^2,$$

де  $D$  – внутрішній діаметр капілярів.

Отриманий матеріал опрацьовано методами непараметричної статистики.

### Результати досліджень

У 12-місячних щурів кожний ДК заходить у дорзолатеральну борозну СМ суцільним стовбуром або 3–6 нитками. За довжиною вони досягають 4–6 мм і мають товщину 0,5–1,0 мм. Між сусідніми ДК зустрічаються гілки-анастомози, які можуть направлятися: 1) від нижче- до вищерозташованого, 2) від вище- до нижчерозташованого корінця і 3) проходити в обох напрямках одночасно. Подібну закономірність спостерігали В. А. Левицький [7] у собак, С. Б. Герашенко [2] та І. Л. Єрмолін [3] у

щурів, С. А. Мельчиков [8] у морських свинок. Анастомози спостерігаються не тільки між дорзальними корінцями різних сегментів. Приблизно в 1/3 усіх досліджень гілки-анастомози можна помітити між відповідними вентральними та дорзальними корінцями. За місцем розташування вони поділяються на передвузлові, післявузлові та внутрішньовузлові. Гістологічне дослідження цих анастомотичних гілок показало, що їх утворюють близько 150 НВ. Площа поперечного перерізу ДК підлягає значній індивідуальній варіації та коливається від 0,28 до 0,65 мм<sup>2</sup>. Переважна більшість ДК утворена 2–3 пучками, але в окремих випадках їх кількість збільшується до 8–10. Такі ж явища характерні для ДК інших тварин [6; 12].

На гістологічних препаратах товщина МНВ займає спектр від 1 до 12 мкм, а діаметр їх аксонів – від 0,5 до 7 мкм. Товщина безмієлінових НВ складає 0,5–1,5 мкм. Слід також наголосити, що у ділянці проникнення до речовини СМ МНВ звужуються та набувають дещо світлішого забарвлення (Redlich-Obersteiner's zone).

Дані про загальну кількість НВ і співвідношення між МНВ і БНВ наведено у таблиці 1. Метричний розподіл МНВ характеризується спадним унімодальним типом: дрібні НВ становлять 39,7, середні – 36,3, волокна великого діаметра – 24,0 %. Внаслідок різниці діаметра аксонів у МНВ показник *g* складає 0,35 у дрібних, 0,40 – у середніх і 0,45 – у великих МНВ, що свідчить про наявність прямої залежності між товщиною мієлінової оболонки (МО) і діаметром аксона [6]. Подібна залежність спостерігається між діаметром цілого МНВ і довжиною міжвузлових сегментів. Кількість БНВ значно переважає число МНВ. Ультраструктурною особливістю БНВ є те, що кожний нейролемоцит огортає не менше 6–8 аксонів, при цьому окремі з них не повністю ізольовані цитолоемою нейролемоцита і з одного боку вкриті тільки базальною мембраною.

Таблиця 1

Розподіл нервових волокон у L2-S2 дорзальних корінцях спинного мозку щурів різних вікових груп ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ;  $n = 5$ )

Вік, міс.	Загальна кількість волокон	Безмієлінові волокна	Мієлінові волокна			
			загальна кількість	дрібні	середні	великі
2	7460,0 ± 230,2	4960,0 ± 152,9	2500,0 ± 71,4	1720,0 ± 69,7	600,0 ± 30,2	180,0 ± 14,3
12	7010,0 ± 206,4	3960,0 ± 119,7	2743,0 ± 82,2	1088,0 ± 49,5*	995,0 ± 34,2	660,0 ± 23,4*
24	5608,0 ± 154,1	3067,0 ± 128,1	2541,0 ± 76,2	1019,0 ± 48,2	1026,0 ± 35,5	496,0 ± 18,0*

Примітка: \* – вірогідна різниця порівняно з показниками попередніх термінів досліджень.

Джерело кровопостачання ДК – дорзально-корінцеві артерії ( $d = 100\text{--}120$  мкм), які є похідними сегментарних гілок СМ. Вони мають прямолінійний або спіралеподібний характер і дають початок 3–6 артеріолам ( $d = 38\text{--}50$  мкм), які розгалужуються в епі- та периневрії ДК. Частина артеріол проникає в товщу корінців, де неодноразово дихотомічно поділяються та дають початок ендоневральному ГМЦР. Зокрема, від них відходять прекапіляри ( $d = 15\text{--}22$  мкм), які виступають джерелом капілярів ( $d = 5\text{--}12$  мкм). При цьому капіляри стають безпосереднім продовженням прекапілярів або утворюються внаслідок їх поділу. Широко анастомозуючи між собою, вони утворюють полігональну судинну сітку ( $55\text{--}70 \times 110\text{--}170$  мкм), петлі якої орієнтовані паралельно поздовжній осі корінців. В ендоневральній сполучній тканині серед НВ розташовуються кровоносні мікросудини різного діаметра. На площі поперечного перерізу кожного ДК

нараховується  $82,0 \pm 1,1$  гемокапілярів. При цьому сумарна ємкість ГМЦР складає  $3212,2 \pm 51,6$  мкм<sup>2</sup>, а кожний гемокапіляр забезпечує живлення 152,5 НВ, що визначає 0,34 мкм<sup>2</sup> сумарної ємкості ГМЦР на кожне НВ (табл. 2).

Таблиця 2

**Морфометричні показники кровопостачання L2-S2 дорзальних корінців спинного мозку щурів на етапах постнатального періоду онтогенезу ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ;  $n = 5$ )**

Вік, міс.	Кількість гемокапілярів на площі поперечного перерізу корінця	Сумарна ємність капілярного русла нерва, мкм <sup>2</sup>	Співвідношення між капілярами та НВ	Частка сумарної ємності капілярного русла, що припадає на одне НВ, мкм <sup>2</sup>
2	$56,0 \pm 0,42$	$1438,5 \pm 17,42$	1 : 274,4	0,12
12	$82,0 \pm 1,14^*$	$3212,2 \pm 51,64^*$	1 : 152,5	0,34
24	$52,0 \pm 1,22$	$1852,4 \pm 23,86$	1 : 256,1	0,10

**Примітка:** \* – вірогідна різниця порівняно з показниками попередніх термінів досліджень.

Гемокапіляри об'єднуються та формують посткапіляри ( $d = 16-26$  мкм), а ті, у свою чергу, переходять у венули ( $d = 40-50$  мкм), які зливаються у магістральну вену або поверхневе венозне сплетення СМ. Складові частини епі- та периневрального ГМЦР мають аналогічні метричні параметри, за винятком петель капілярної сітки, яким притаманна овальна форма та менші розміри (60–80 × 70–90 мкм).

Гемокапіляри ДК належать до соматичного типу. На ультраструктурному рівні вони мають нерівномірний просвіт і варіабельні розміри. Ядра ендотеліоцитів характеризуються нерівними контурами та відносно значною кількістю хроматину, який розташовується, головним чином, під їх каріолемою.

Зниженої електронної щільності цитоплазма займає значний об'єм клітин і зумовлює порівняно велику товщину ендотеліальної вистилки капілярів, що затруднює розмежування цих клітин на окремі зони (перинуклеарну, периферичну та біля-контактну). У цитоплазмі ендотеліоцитів спостерігається велика кількість мікропіноцитозних пухирців і вакуолей, недорозвинені комплекс Гольджі та гранулярна ендоплазматична сітка, незначна кількість вільних рибосом і полісом. Поряд із деструктивно зміненими зустрічаються мітохондрії, які мають дрібні розміри та ущільнений матрикс. Постійно спостерігаються окремі тільця Вейбеля – Паладе, які складаються із дрібних прямих або спіралеподібних трубочок, оточених відносно щільним матриксом. Вони – характерні органели капілярів, яким притаманні процеси росту, а їх функціональна активність пов'язана зі стимуляцією процесів гістаміноутворення [4]. Гістамін, виділяючись до цитоплазми ендотеліоцитів, взаємодіє із цитоскелетом і викликає його скорочення, що викликає ослаблення зв'язків між сусідніми клітинами.

У системі нейровазальних комплексів ДК існує гемато-невральний бар'єр, який забезпечується класичними складовими, що спостерігаються в інших відділах соматичної рефлекторної дуги [6].

Особливість будови ДК у двомісячних щурів – менша площа поперечного перерізу (0,34 мм<sup>2</sup>), з якої 4,6 % припадає на сполучнотканинні елементи оболонки корінців. Переважна більшість площі зайнята компактно розташованими БНВ. Міжкорінцеві анастомози спостерігаються дуже рідко. НВ ДК скомпоновуються, як правило, тільки в одному пучку, а загальний кількісний склад НВ у кожному з досліджуваних корінців підлягає значним індивідуальним коливанням. При цьому їх сумарна кількість складає  $7460,0 \pm 206,4$  НВ, що у 1,2 раза більше, ніж у 12-місячних тварин (див. табл. 1). Серед нервових провідників 66,5 % займають БНВ, що на 25,2 % більше, ніж у дорослих щурів. Частка дрібних МНВ складає 68,8 %, тоді як відносна

кількість волокон великого діаметра становить тільки 7,2 %. (див. табл. 1). При цьому діаметр аксонів малий (0,5–4,5 мкм), характеризується незначним коефіцієнтом варіації ( $C_v = 2,3$  %). Тому, порівняно з дорослими щурами, показник  $g$  має значно вищі, але майже однакові значення для волокон різного розміру ( $0,59 \pm 0,001 - 0,60 \pm 0,002$ ). У цьому віці міжвузлові сегменти МО мають різну та набагато меншу довжину (90–110 мкм). Вищенаведені морфометричні показники розподілу НВ, їх ранжування по групах і величини індексу  $g$  – приклад інтенсивних процесів мієлінізації НВ ДК у молодому віці, на які вказує ряд авторів.

Кровоносне русло досліджуваних ДК молодих щурів виглядає значно розрідженим. Магістральна дорзально-корінцева артерія наполовину вужча, а її розгалуження в межах корінців мають набагато менший діаметр. Зокрема, діаметр артеріол коливається в межах 22–25 мкм, прекапілярів – 8–12 мкм, капілярів – 2–5 мкм, посткапілярів – 10–16 мкм і венул – 25–40 мкм. Для петель капілярної сітки притаманна видовжено-полігональна форма та значно більші розміри (60–90 x 130–200 мкм), ніж у дорослих тварин, що характерно для інших тварин [6; 15]. В епіневрії зустрічаються тільки поодинокі мікросудини. На площі поперечного перерізу кожного ДК нараховується  $56,0 \pm 0,42$  тонких гемокапілярів, а сумарна ємкість ГМЦР складає  $1438,5 \pm 17,4$  мкм<sup>2</sup>. При цьому на один гемокапіляр припадає 274,2 НВ, що на 21,9 % більше, ніж у дорослих щурів, а кожне НВ обслуговується 0,12 мкм<sup>2</sup> сумарної ємності ГМЦР.

У цієї групи тварин місце входження ДК у речовину СМ не має характерної ультраструктурної будови, оскільки їх МНВ покриті тоненькою МО, а периаksonальні базальні мембрани мають несформовану будову. Поряд із недосконалою будовою стінки гемокапілярів (зокрема, неповними контактами цитоплазматичних відростків перичитів між собою) це вказує на відсутність фізіологічно надійного гемато-неврального бар'єру.

Зовнішня будова ДК у 24-місячному віці візуально нічим не відрізняється від такої у 12-місячних щурів. Однак сполучнотканинні елементи мають набагато більшу частку та займають 31,0 % усієї площі поперечного перерізу ДК. Оскільки сполучнотканинні оболонки ДК розвинуті краще, пучки НВ розташовуються менш компактно, але їх кількість помітно збільшується.

Значним кількісним і якісним змінам підлягає провідниковий апарат ДК. Кількісно він помітно зменшується та досягає  $5\,608,0 \pm 154,1$  НВ, що відповідно у 1,2 раза менше, ніж у дорослих щурів (див. табл. 1). У процес дегенерації втягуються всі групи МНВ і навіть БНВ, що викликає зниження обох популяцій НВ відповідно на 7,3 і 22,5 % ( $p < 0,05$ ).

На гістологічних препаратах спостерігається значна кількість продуктів дегенерації МО, а в окремих МНВ спостерігається набряк, зазубреність контурів і сегментарний розпад мієліну. Внаслідок виражених периаksonальних процесів показник  $g$  помітно знижується та коливається в межах 0,2–0,3.

На субмікроскопічному рівні встановлено, що МНВ підлягають частковій або повній деструкції, значно змінюються нейролемоцити: в їх ядрах конденсується хроматин, у цитоплазмі накопичуються продукти розпаду мієліну, мітохондрії вакуолізуються, у них редукуються кристи.

Певні регресивні зміни торкаються ГМЦР досліджуваних ДК. У 24-місячному віці кровоносне русло набирає розрідженого вигляду, що відбувається за рахунок помірного зменшення кількості та діаметра (на 2–5 мкм) усіх складових частин ГМЦР. Окремі із цих судин набувають зигзагоподібної форми та нерівних контурів, місцями цілком запусівають. Це викликає зменшення кількості гемокапілярів і зниження

сумарної ємності інтраорганного капілярного русла відповідно на 36,6 і 42,3 % ( $p < 0,05$ ). Переважна більшість судин має нерівні контури, нерівномірно заповнюється контрастною речовиною, за їх ходом чергуються значно розширені та звужені ділянки. В екстра- та інтраорганному кровоносному руслі зустрічаються безсудинні зони різної величини. Відмічені вище кількісні зміни провідникового апарату та ГМЦР ДК лежать в основі порушень нервово-капілярних співвідношень (див. табл. 2), які характеризують глибину деструктивних процесів, пов'язаних із віком.

У 24-місячному віці деструктивні процеси охоплюють мембранні структури в комплексі «гемокapіляр – НВ», які є причиною руйнування гематоневрального бар'єру. Компенсаторно-приспосувальні процеси з боку нейровазальних комплексів ДК аналогічні відповідним субмікроскопічним проявам у складових компонентах соматичної рефлекторної дуги, на які вказує ряд авторів [2; 7; 11].

### **Обговорення результатів досліджень**

Можемо підтвердити свідчення ряду авторів [7; 9; 13], які в ДК різних тварин нараховували переважно кількість БНВ. У наших дослідженнях ця популяція НВ становить 66,5 % у 2-місячних, 56,5 % – у 12-місячних і 54,7 % – у 24-місячних тварин. Підтвердженням наших даних можуть служити відомості літератури про зменшення кількості чутливих нейронів СМГ упродовж усього постнатального періоду онтогенезу [6], а також зменшення НВ у ДК [16; 18] та сідничному нерві [1; 2] різних тварин у ранньому постнатальному періоді онтогенезу. На нашу думку, таке розходження у поглядах на зміни кількісного складу нервових елементів простої рефлекторної дуги у різні періоди постнатального онтогенезу може бути пов'язане з різними вихідними даними при віковій періодизації тварин.

При цьому треба згодитися з думкою В. А. Левицького [6], що кількісне зменшення структурних складників простої рефлекторної дуги у постнатальному періоді онтогенезу продиктоване необхідністю приведення у відповідність кількості нейронів до величини ділянок аферентної та еферентної інервації. Крім того, як свідчать результати наших попередніх досліджень [6] і дані літератури [1; 2; 12], у постнатальному періоді онтогенезу відбувається ліквідація полінейрональної іннервації окремих м'язових волокон. Наступним суттєвим моментом у зменшенні кількості нервових елементів у складі простої рефлекторної дуги, на нашу думку, може бути недостатність їх живлення та аутоімунна агресія у зв'язку з незрілістю складових компонентів гематоневрального бар'єру [2; 12].

У пізньому постнатальному періоді онтогенезу в ДК теж відбуваються регресивні зміни, але їх механізм і ступінь вираженості мають якісно відмінний характер. Якщо в ранньому постнатальному періоді такі явища короточасні, зумовлені пристосуванням організму до нових умов існування, то у пізньому періоді онтогенезу вони триваліші, пов'язані з процесами старіння, які ведуть до обмеження адаптаційних можливостей організму [7]. Його пов'язують із накопиченням у клітинах недоокислених продуктів метаболізму та вільних радикалів, що провокує своєрідні ланцюгові реакції, які призводять до загибелі клітин [5]. На думку цих самих авторів, вільні радикали порушують цілісність мембран лізосом і підвищують їх проникливість для нуклеаз. Останні виходять у цитоплазму та пошкоджують геном клітин, що узгоджується з уявленнями багатьох авторів [5; 8; 13]. Старіння супроводжується також активізацією локусів хроматину, які визначають синтез антитіл на певний вид білків. Такі явища зумовлюють утворення в організмі антитіл на власні білки та пошкодження імунними комплексами окремих клітин і тканин [15]. На підтвердження цього у пізньому постна-

тальному періоді онтогенезу нами відмічене зменшення кількості НВ у ДК. У похилому віці провідниковий апарат ДК СМ зменшується за рахунок тільки МНВ. Серед них найбільшим кількісним змінам підлягають МНВ великого діаметра.

Таким чином, вищенаведені дані свідчать, що ранній та пізній періоди постнатального онтогенезу є критичними для кількісного набору всіх складових елементів ДК, тоді як у зрілому віці він відносно стабілізується, а незначні зменшення кількості нервових провідників у цьому віковому періоді мають статистично невірогідний характер.

Поряд із регресивними змінами спостерігаються явища ускладнення та диференціації нейрогліального та судинного компонентів ДК. Ранній період постнатального онтогенезу характеризується прогресивними процесами, які відбуваються на фоні деструктивних змін частини провідникового апарату, про що згадують С. Б. Герашенко [2], І. Л. Єрмолін [3] і В. А. Левицький [7]. Незважаючи на зменшення загальної кількості НВ протягом перших двох тижнів після народження, кількість МНВ зростає в усіх досліджуваних об'єктах в 1,1–1,3 рази. Аналогічні дані отримали В. В. Бобин зі співавторами (цит. за [7]), які досліджували провідниковий апарат багатьох периферичних нервів різних тварин і людини. Як свідчать отримані нами дані, кількість БНВ у ДК протягом постнатального періоду онтогенезу зменшується на 38,1% ( $p < 0,05$ ). Подібне явище спостерігав у шкірних нервах шийного сплетіння В. Н. Швалев [14]. Різниця в цифрових показниках зниження кількості БНВ і росту МНВ вказує, що БНВ не тільки мієлінізуються, а і підлягають, поряд із МНВ, дегенеративним змінам. Вони відображають процеси деструкції тіл окремих нейронів у відповідні вікові періоди, причини яких описані вище.

В аксонах, які не зазнають дегенеративних змін, нарастають прогресивні явища. Вони проявляються мієлінізацією та диференціацією НВ і поступовим потовщенням МО протягом усього раннього періоду онтогенезу, що підтверджується даними ультраструктурного та морфометричного аналізів і перекликаються з відомостями С. Б. Герашенко [1] і В. А. Левицького [6].

Ультраструктурні особливості будови нейролемоцитів (інвагіновані ядра з маргінально розташованим хроматином, багата на органоїди цитоплазма, велика кількість рибосом, цитоплазматичних пухирців та дрібних мітохондрій із дрібногранулярним матриксом) свідчать про перебіг інтенсивних процесів синтезу білків та ліпідів, необхідних для утворення ліпопротеїнових комплексів МО [4]. Правда, у молодих щурів в окремих паранодальних ділянках відсутні щільні контакти між плазмолемою нейролемоцитів та аксолемою, що свідчить про відсутність сформованого іонного бар'єру між позаклітинним простором вузла МНВ і периаksonальним простором [1; 12]. Це, у свою чергу, перешкоджає сальтаторному проведенню нервового імпульсу [6], що притаманне зрілим МНВ і забезпечує повноцінну передачу інформації уздовж усієї рефлекторної дуги [11].

Нами встановлено, що порівняно з молодими тваринами у дорослих щурів спостерігається збільшення діаметра осьових циліндрів і товщини МО, зменшення та диференціація показника  $g$ , збільшення довжини інтернодальних ділянок МО і метричний перерозподіл МНВ (наростання кількості середніх і великих, зменшення – дрібних волокон), що свідчить про дозрівання МНВ. Перекалібрування МНВ у бік збільшення середніх і великих волокон у такому ж віці спостерігали багато дослідників [2; 6; 15; 16], і пов'язують його з інтенсифікацією рухової активності м'язів. Зменшення ж показника  $g$ , як стверджують окремі автори [1; 2; 6; 7], лежить в основі удосконалення процесу проведення нервового імпульсу.



Отримані дані показали, що структура та становлення провідникового апарату ДК у ранньому постнатальному періоді онтогенезу – результат тісних взаємовідношень «центру» та «периферичного субстрату», які задіяні у рефлекторній активності. «Центр» модулює провідниковий апарат як неспецифічну інтеграційну структуру зв'язку, а «периферичний субстрат» індукує специфічні риси його будови, які проявляють себе у груповому перерозподілі НВ [7].

Період дозрівання НВ змінюється періодом стабілізації, який характеризується встановленням постійного метричного складу МНВ, сталого їх співвідношення з БНВ, стійкого показника  $g$  у різних групах МНВ. Така стабілізація будови провідникового компонента ДК зумовлена приведенням її у відповідність до фізіологічних потреб організму, який адаптувався до певних умов зовнішнього середовища. Саме на момент початку цього періоду досягають високого ступеня розвитку інтегративна роль нервової системи [12; 13], організація та функціональна активність інших, найважливіших систем організму, за рахунок яких забезпечується гомеостаз, коли при будь-яких змінах зовнішнього оточення відбувається урівноваження та компенсація внутрішнього середовища [6].

Поступове зниження компенсаторно-приспосувальних можливостей біологічних систем у процесі старіння викликає деструктивні зміни у рухових і чутливих центрах простої рефлекторної дуги та закономірно торкається її провідникового апарату. Вони проявляються у вигляді аксонального та периаксонального процесів, у результаті яких відбувається гіперімпрегнація аксолеми, набряк аксоплазми, варикозні розширення та локальні звуження аксонів НВ, їх фрагментація. На ультраструктурному рівні в аксоплазмі спостерігається знижена кількість мікротрубочок, агрегація нейрофіламентів у центральній частині аксона, велика кількість мітохондрій із просвітленим матриксом і зруйнованими гребінцями, що свідчить про порушення аксонного транспорту уздовж нервових волокон. В основі такого порушення аксотоку лежить зниження активності білоксинтезувальних і енергозабезпечувальних процесів при старінні у самій нервовій клітині [8], але і структурно змінені субмікроскопічні транспортні системи аксонів задіяні у цьому явищі [6; 7]. У кінцевому результаті вони ведуть до зниження функціональної активності НВ [1; 12; 13].

У цьому періоді відбувається структурна перебудова складових компонентів нейролемоцитів: МО місцями вакуолізується, розшаровується та фрагментується, що спричинює сегментарну демієлінізацію аксонів або їх деструкції. На ультраструктурному рівні цитоплазма нейролемоцитів набрякає, містить значну кількість лізосом і аутофагосом, що свідчить про посилення їх фагоцитарної активності та утилізацію ними продуктів розпаду мієліну [2]. Слід відзначити, що такі зміни МНВ мають стадійний характер, пов'язані з глибиною порушення обміну протеоліпідів і основного білка мієліну [1; 6; 7].

Порівняння отриманих нами даних із літературними відомостями дає змогу стверджувати, що описана вище гісто- та ультраструктурна перебудова НВ протягом усього постнатального періоду онтогенезу має неспецифічний характер, оскільки зустрічається при цілому ряді патологічних станів периферичної нервової системи [8; 10].

Діяльність нейронів нерозривно пов'язана з оточуючою макроглією та мікроциркуляторним руслом. Із часу описання єдиної нейроно-гліо-капілярної метаболічної системи [10; 14] зацікавленість до взаємовідношень її складових невпинно зростає. І все ж питання про їх становлення у процесі розвитку висвітлені недостатньо та мають суперечливий характер [6; 7; 9]. Що стосується літературних повідомлень про нервово-гліо-капілярні взаємовідношення у складових компонентах ДК, вони практично

відсутні. Що стосується кровопостачання ДК, ми не зовсім згодні з М. А. Bisby [16], який стверджує, що внутрішньостовбурове ГМЦР ДК представлене в основному гемокапілярами, оскільки ми знаходили в ньому всі складові компоненти ГМЦР.

ГМЦР у ранньому постнатальному періоді онтогенезу характеризується випереджальним ростом його артеріальної частини над венозною. Надалі спостерігається стабілізація венозного відділу зі збільшенням його об'єму, порівняно з артеріальним, що дає можливість визнати важливу роль шляхів відтоку у формотвірних процесах як у самому ГМЦР, так і у структурних компонентах ДК. Такий гетерохронний характер становлення складових ланок ГМЦР типовий для вікових перетворень мікросудин різних органів [1; 2; 12]. Відповідна перебудова МЦР в ранньому постнатальному періоді відображає дозрівання регуляторних механізмів мікроциркуляції, які лежать в основі певного гемодинамічного режиму, зумовлюють досконалість шляхів перерозподілу кровотоку, адекватного та економічного їх використання [6], що сприяє зростанню функціонального резерву ГМЦР.

Збільшення з віком кількості гемокапілярів ДК можна пояснити порушенням зв'язку між ендотеліоцитами. Нами встановлено, що фіксація між окремими ендотеліоцитами у молодому віці послаблена. Внаслідок цього вони стають мобільнішими та зміщуються в напрямку кровотоку, що виступає своєрідним стимулятором росту гемокапілярів [15].

На фоні сформованого гемато-неврального бар'єру інтенсивність кровопостачання у дорослих тварин, площа обмінної поверхні гемокапілярів і сумарна ємність кровоносного русла збільшуються. Таке саме явище спостерігали В. М. Швалев [14] у спінальних рухових центрах різних тварин, А. Bakshi [15] – у зірчастому вузлі симпатичного стовбура кішки, внутрішньом'язових нервах собаки та щурів [2; 6; 16]. Як стверджують ці автори, вища метаболічна активність МНВ вимагає значно інтенсивнішого кровопостачання.

У період стабілізації встановлюються тісні нервово-гліо-капілярні взаємовідношення ДК. Цей комплекс поліморфний і динамічний. Він залежить від гемодинаміки та механізмів мікроциркуляції, закономірностей міслоархітекtonіки, рівня метаболізму та активності нейрореміцитів [13; 14]. Екстрацелюлярні проміжки представлені міжклітинними щільностями, які обмежуються мембранними структурами нервово-гліо-капілярних комплексів і розглядаються як безпосередня ланка гемато-неврального бар'єру [2; 12]. Багатогранність фізіологічних процесів, які тут проходять, забезпечує підтримання сталості міжклітинного простору. Він представлений різними глікозаміногліканами [4] і доповнюється клітинами фібробластного ряду, окремими колагеновими волокнами [6]. Зміни концентрації та конформації цих компонентів визначають виникнення тривалих функціональних зрушень у системі всього нервово-гліо-капілярного комплексу. Крім того, звертається увага на наявність у цих просторах медіаторів, нейрогормонів, гормонів периферичних ендокринних залоз та інших біологічно активних речовин [14].

Таким чином, міжмембранний вміст треба розглядати одночасно як інтегроване та інтегровальне середовище, через яке реалізуються гуморальні механізми об'єднання всіх складових елементів ДК в одне ціле. При цьому мембранні структури та міжмембранні проміжки являють собою єдиний комунікаційний канал, який забезпечує вибіркового двосторонній транспорт речовин, регулює рівень метаболічних процесів.

У пізньому постнатальному періоді онтогенезу просторова організація та гістоультраструктура ГМЦР зазнають значних змін. Вони лежать в основі зменшення інтенсивності кровопостачання складових компонентів ДК і відображають глибоку

трансформацію процесів метаболізму при старінні. Це проявляється у значному розрідженні кровоносного русла, запустінні окремих капілярів, нерівномірності їх контурів, розриві капілярних петель. Наші дані про зменшення загальної кількості гемокапілярів ДК підтверджуються морфометричними показниками. Певні зміни гемокапілярів та їх взаємовідносин з оточуючими тканинами відбуваються на ультраструктурному рівні, що свідчить про зниження енергозабезпечення та білоксинтезувальної функції [1; 4; 12], гальмування процесів транспорту речовин [16], а також про посилення перекисного окиснення ліпідів. Такі явища у 24-місячних тварин мають генералізований характер. Вони доповнюються процесами клазматозу, який є проявом порушення гемоциркуляції та гіпоксії, спостерігається в інших органах і тканинах не тільки при старінні, а і при низці патологічних процесів [12]. Комплекс вищеперерахованих змін лежить в основі структурної та функціональної неповноцінності складових гематоневрального бар'єру у ДК.

### Висновки

Протягом постнатального періоду онтогенезу провідниковий апарат зазнає значних змін, які мають тісний корелятивний зв'язок зі змінами ГМЦР ДК. У структурній перебудові нервових провідників ДК розрізняються два етапи, які супроводжуються регресивними та прогресивними явищами. Перший характерний для раннього постнатального періоду онтогенезу, коли короточасні регресивні зміни, пов'язані зі зменшенням кількості НВ у досліджуваних корінцях, супроводжуються значно тривалішими прогресивними явищами, відображеними процесами мієлінізації та диференції НВ і поліпшенням їх кровопостачання. Другий етап охоплює пізній постнатальний період онтогенезу, коли провідниковий апарат ДК та його оточення підлягають вираженим кількісним і якісним змінам, що відбуваються на фоні незначних компенсаторно-приспосувальних процесів.

Перспектива подальших досліджень полягає у вивченні закономірностей гістоультраструктурної перебудови нервово-гліо-капілярного комплексу інших складових елементів простої рефлекторної дуги.

### Бібліографічні посилання

1. **Герашенко С. Б.** Аксонні та дендритні проекції сідничного нерва у спинному мозку та спинномозкових гангліях білих щурів // Буковинський медичний вісник. – 2001. – Т. 5, № 3–4. – С. 23–24.
2. **Герашенко С. Б.** Морфофункціональна характеристика гемато-нейронального бар'єру периферійних нервів та їх сегментарних центрів // Галицький лікарський вісник. – 2001. – Т. 8, № 2. – С. 24–27.
3. **Ермолин И. Л.** Структурные основы пластичности спинномозгового узла при его аутопластике в спинной мозг // Нижегородский мед. журнал. – 2004. – № 4. – С. 30–35.
4. **Козлова О. В.** Динамика изменения лизофосфолипидов при демиелинизации внутримышечных нервов / О. В. Козлова, В. В. Ревин // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 1. – С. 82–82.
5. **Левицький В. А.** Апоптоз та некроз складових компонентів простої рефлекторної дуги протягом постнатального періоду онтогенезу / В. А. Левицький, А. П. Мотуляк, І. В. Левицький // Зб. наук. пр. співроб. НМАПО ім. П. Л. Шупика. – К., 2008. – Вип. 17, кн. 3. – С. 258–264.
6. **Левицький В. А.** Становлення нейро-гліо-капілярних співвідношень в задніх корінцях спинного мозку на етапах постнатального періоду онтогенезу / В. А. Левицький, О. Я. Жураківська, С. Л. Попель // Актуальні проблеми ембріологічних досліджень. Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. – Дніпропетровськ, 2009. – С. 32–33.

7. **Левицький В. А.** Внутрішня будова С<sub>5</sub>-Th<sub>1</sub> вентральних і дорзальних корінців спинного мозку собак різного віку // Галицький лікарський вісник. – 2010. – Т. 17, № 2 (ч. 1). – С. 57–60.
8. **Мельчиков А. С.** Биохимические изменения нейронов спинальных ганглиев морских свинок при действии рентгеновских лучей (экспериментальное исследование) // Фундаментальные исследования. – 2005. – № 2. – С. 30–45.
9. **Михайлов И. В.** Возможности исследования состояния периферического нервно-мышечного аппарата человека в клинике и эксперименте / И. В. Михайлов, П. В. Ткаченко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2009. – № 5. – С. 25–28.
10. **Морозов В. И.** Изменение мышечных нервов голени белых крыс в постнатальном периоде онтогенеза / В. И. Морозов, В. М. Чучков, О. А. Паксютов // Морфология. – СПб., 2002. – Т. 121, № 2. – С. 108.
11. **Хашаев З. Х.-М.** Изучение механизма передачи информации в нервно-мышечном синапсе // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 9. – С. 18–21.
12. **Чайковский Ю. Б.** Периферический нерв: нейро-сосудисто-десмальные взаимоотношения в норме и при патологии / Ю. Б. Чайковский, С. Б. Герашенко, Е. И. Дельцова // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 2. – С. 100–102.
13. **Чельшев Ю. А.** Развитие, фенотипическая характеристика и коммуникации шванновских клеток / Ю. А. Чельшев, К. И. Сайткулов // Успехи физиологических наук. – 2000. – Т. 31. – С. 54–69.
14. **Швалев В. Н.** Нервная ткань и нейроглия. – СПб. : СпецЛит, 2001. – 433 с.
15. **Bakshi A.** Mechanically engineered hydrogel scaffolds for axonal growth and angiogenesis after transplantation in spinal cord injury / A. Bakshi, O. Fisher, T. Dagci // Neurosurg. Spine. – 2004. – Vol. 1. – P. 322–329.
16. **Bisby M. A.** Dependence of GAP<sub>43</sub> (B<sub>50</sub>, Fl) transport on axonal regeneration in rat dorsal root ganglion neurons // Brain Res. – 2008. – Vol. 16, N 1. – P. 157–161.
17. **European** convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasburg, 1986. – 52 p.
18. **Huang T.** Morphological and electrophysiological changes in mouse dorsal root ganglia after partial colonic obstruction / T. Huang, M. Hanani // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2005. – Vol. 289. – P. 670–678.

*Надійшла до редколегії 04.08.2012*

УДК 616.98:579.841.52 – 036.21:599.323

И. Т. Русев, В. Н. Закусило

*Український науково-дослідницький противочумний інститут ім. І. І. Мечникова*

## **ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ ВСПЫШКИ И ЭПИЗООТИИ ТУЛЯРЕМИИ, КАК ПОСЛЕДСТВИЯ АВИАЦИОННЫХ БОМБАРДИРОВОК В КОСОВЕ**

Анализ массовой эпидемической вспышки заболеваний людей туляремией в Косове после массовых бомбежек территории этого края в 1999 году свидетельствует о возможном антропогенном характере ее происхождения. Возникновение массовых эпизоотий среди диких млекопитающих и массовых вспышек заболевания среди людей такой особо опасной инфекцией как туляремия возможно либо в случае активизации природных очагов, либо в результате заноса (завоза) инфекции в свободные от нее территории. Природные очаги туляремии в Косове ранее зарегистрированы не были. Следовательно, эпидемические вспышки и эпизоотии туляремии носят антропогенный характер.

І. Т. Русев, В. М. Закусило

*Український науково-дослідницький противочумний інститут ім. І. І. Мечникова*

## **ЕПІДЕМІЧНІ СПАЛАХИ ТА ЕПІЗООТІЇ ТУЛЯРЕМІЇ ЯК НАСЛІДОК АВІАЦІЙНИХ БОМБАРДУВАНЬ У КОСОВІ**

Аналіз масового епідемічного спалаху захворювань людей на туляремію в Косові після масових бомбардувань території цього краю в 1999 році свідчить про можливий антропогенний характер її походження. Виникнення масових епізоотій серед диких ссавців і масових спалахів захворювання серед людей такою особливо небезпечною інфекцією як туляремія можливе або у випадку активізації природних вогнищ, або в результаті занесення (завезення) інфекції у вільні від неї території. Автохтонні природні вогнища туляремії в Косові раніше зареєстровані не були. Отже, епідемічні спалахи й епізоотії туляремії мають антропогенний характер.

I. T. Rusev, V. N. Zakusilo

*I. I. Mechnikov Ukrainian Antiplague Research Institute*

## **TULARAEMIA EPIDEMIC OUTBREAKS AND EPIZOOTICS AS A CONSEQUENCE OF THE AIRCRAFT BOMBING IN KOSOVO**

Analysis of mass outbreak of tularaemia in humans of Kosovo after the mass bombardments of the territory in 1999 suggests the possible anthropogenic nature of its origin. The emergence of mass epizooty among wild mammals and mass outbreaks of the disease among people of that dangerous infection may be possible in the case of activation of natural foci, or as a result of the infection import. Natural foci of tularaemia in Kosovo were not registered earlier. Consequently, outbreaks and epizootics of tularaemia may have the anthropogenic nature.

### **Введение**

Биологическая безопасность населения – сложная комплексная проблема, включающая санитарно-эпидемиологический, медицинский, экологический, социальный и

военный аспекты. Одним из возможных источников возникновения опасных инфекционных заболеваний на любой территории может явиться военная биологическая угроза. Авторы настоящего сообщения не преследуют абсолютно никаких политических целей. Все приведенные в статье факты взяты из открытых источников печати. Рассуждения и выводы основаны на многолетнем опыте работы авторов статьи в природных очагах туляремии, чумы и других особо опасных инфекций. Основная цель – научная, которая преследует желание разобраться в механизме становления, активизации и затухания подобных очагов.

По данным исследований, проведенных американскими учеными в 1994 г., со времени окончания Первой мировой войны произошло более 244 инцидентов с применением биологического и химического оружия. Позднее описаны еще 110 подозрительных эпизодов, когда террористы или члены криминальных групп использовали, приобретали, угрожали либо проявляли интерес к биологическому оружию [3].

В настоящее время ни одна страна не способна в достаточной степени противодействовать биологической террористической угрозе (БТУ). По мнению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире система общественного здравоохранения ведет борьбу со спонтанно возникающими инфекциями на пределе своих возможностей, и дополнительная БТУ может привести к тому, что ни социальная, ни экологическая системы не в состоянии будут с ней справиться. Уязвимость общества к биологическим агентам объясняется главным образом тем, что система медико-санитарной помощи не способна на данном этапе их своевременно обнаружить и предпринять необходимые меры защиты. Согласно рекомендациям ВОЗ, чтобы повысить готовность общественного здравоохранения к отражению биологической угрозы в той или иной стране, следует сосредоточить усилия на обучении персонала по программе, включающей ограниченную, но правильно выбранную группу биологических агентов.

В последние годы тема биологического терроризма и использования биологических патологических агентов под разными предлогами широко обсуждается в научной печати и прессе. После того как в начале III тысячелетия из Китая по всему миру распространился таинственный вирус атипичной пневмонии SARS некоторые ученые предположили, что имеют дело с одним из образцов биологического оружия, разработанного или нелегально приобретенного Китаем на черном рынке [6].

В конце XX и начале XXI века «тотальная война» сменилась этническими, националистическими и религиозными конфликтами. Именно в них бактериологическое оружие может сыграть немаловажную роль, компенсируя слабость или неэффективность обычных вооружений [15]. Участившиеся гражданские войны в Центральной Азии, Северной Африке, распространение исламского фундаментализма, конфликты в Ираке, Афганистане и других странах в любой момент могут спровоцировать в этих регионах применение биологического оружия для достижения поставленных целей.

Возбудитель туляремии *Francisella tularensis* наряду с возбудителями таких опасных заболеваний как чума, сибирская язва, натуральная оспа, ботулизм, вирусные геморрагические лихорадки (вызываемые аренавирусами, буньявирусами, флавовирусами, филовирусами), был также отнесен к самым опасным биоагентам категории А [23].

В 1999 г. силами НАТО реализован необычный эксперимент во время вооруженной операции в Крае Косово (в то время провинция бывшей Югославии). Для подавления югославских военных объектов применялись тогда бомбы и снаряды, оснащенные сердечниками из обедненного урана. За это время в Косове была взорвана 31 тысяча боеприпасов с ураном. Наибольшее число пораженных целей находилось в западных и юго-западных частях края, которые впоследствии стали зонами ответственности Италии и

Германии. Многие люди в зоне боевых действий почувствовали головную боль и боли в горле, гораздо более сильные, чем при простом гриппе. Нередко это сопровождалось воспалением лимфатических желез и возникновением страшных ран на коже.

В связи с изложенным высказывается предположение, что имело место воздействие не природного, а искусственного (антропогенного) фактора, который привел к эпидемической и эпизоотической вспышкам туляремии в Крае Косово.

### Материал и методы исследований

Материалом для статьи послужили публикации в открытой печати по эпизоотическим и эпидемическим вспышкам туляремии в Косове. В используемых зарубежных литературных источниках указаны сведения о развитии экологических, социальных, эпизоотических и эпидемических процессах, которые на этой территории ранее, до бомбардировок войсками НАТО, не наблюдались. Кроме указанных источников, использованы сравнительные данные по другим эпизоотическим по туляремии территориям, расположенным далеко за пределами описываемого региона и такому «антропогенному стрессу» не подвергавшимся, в которых авторам приходилось работать по эпизоотологическому мониторингу и выявлению причин возникновения вспышек заболевания людей.

### Результаты и их обсуждение

Анализ литературных источников позволил установить, что первый пациент из восточной части Косова обратился 22 марта 2000 года в госпиталь с необычной лихорадкой и фарингитом. И уже 14 апреля в региональной лаборатории в Риме был подтвержден диагноз особо опасной инфекции – туляремии. Впоследствии аналогичный диагноз был установлен и для других обследованных лиц, которые в предыдущие 6 месяцев имели сходный синдром. Пик заболеваний приходился на январь 2000 года (рис. 1).

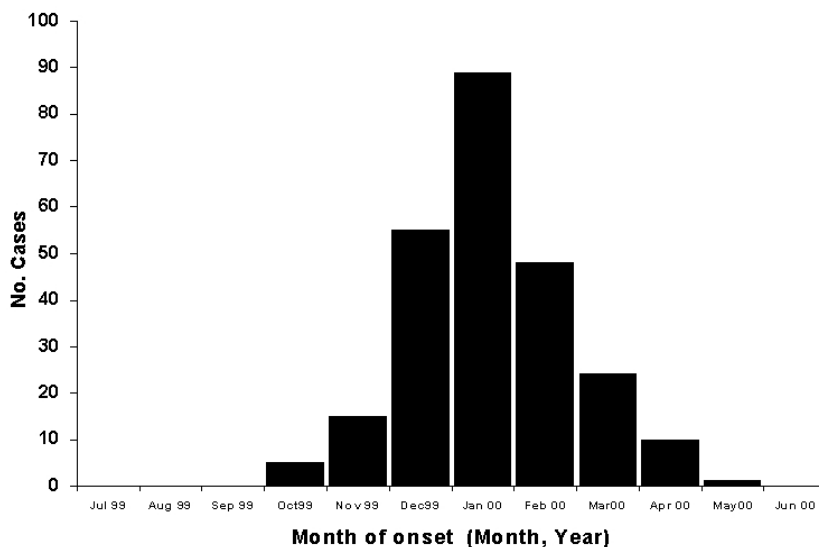


Рис. 1. Общее количество подтвержденных случаев туляремии в Косове в июле 1999 – мае 2000 [по 26]

Необходимо отметить, что на протяжении более 50 лет эта инфекция не проявлялась, а последний случай туляремии зарегистрирован на этой территории в 1946 г. [26]. В ходе эпидемиологического расследования европейскими специалистами установлено, что главные очаги заболеваний находились в городах Приштина, Печ и Гни-

лане. Поскольку на всей территории Косова во время натовских бомбардировок были разрушены водопроводы, там ощущалась острая нехватка питьевой воды, и никакие меры медицинской профилактики не были в состоянии остановить разрастание эпидемической вспышки. При этом эксперты ВОЗ констатировали, что подтвержденные случаи регистрировались на территории почти всех муниципалитетов.

В 1999–2000 гг. вспышками заболевания были охвачены преимущественно западные и северо-восточные регионы. Основная часть всех заболевших была сосредоточена в сельской местности восточнее Косова (рис. 2). Всего в зоне бомбардировок первоначально было зарегистрировано 823 случая туляремии [22]. Массовая вспышка оставила после себя много вопросов. Главный из них: откуда проникла или каким образом активизировалась особо опасная инфекция в регионе, в котором прежде она не отмечалась?

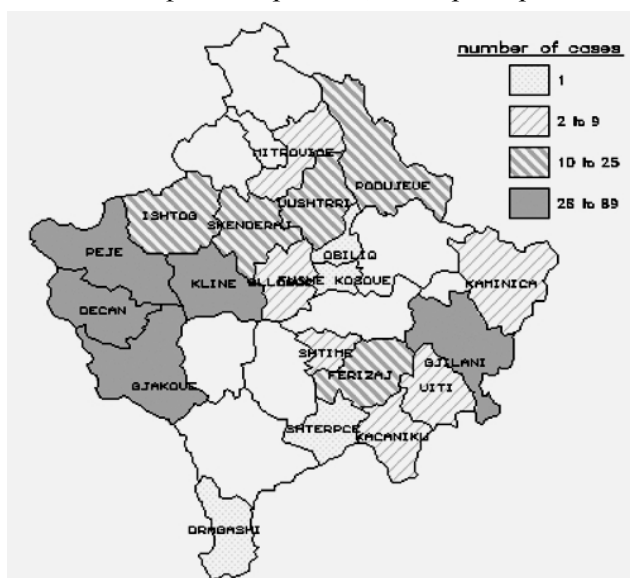


Рис. 2. Распределение заболевших по регионам [по 26]

С бомбардировкой территории, а тем более с использованием бактериологического оружия, появление болезни, разумеется, никто из официальных лиц даже и не думал связывать. Главной причиной вспышки, которая, по мнению специалистов ВОЗ, впоследствии якобы подтвердилась, было массовое размножение грызунов и заражение ими продуктов питания и воды. Однако мы, на основании многолетнего опыта работы в очагах особо опасных инфекций, полагаем, что грызуны – это лишь индикатор проявления «агрессивности» возбудителя туляремии в данном случае на территории Косова. В связи с этим резонно встает вопрос: если эта территория ранее не считалась энзоотичной по туляремии, каким образом так территориально широко, синхронно и массово появилась бактерия туляремии? Между тем, как считает Андерс Съестедт (Швеция), а также ряд других специалистов, именно по аналогичной причине (использование бактериологического оружия) около 100 тысяч немецких и русских военнослужащих, а также гражданских лиц заболели туляремией во время Сталинградского сражения зимой 1942 года [14–16].

Следует отметить и такой факт. После массовых бомбардировок НАТО весной 1999 года многие беженцы покинули прежние места проживания. При возвращении они оказались свидетелями массово разрушенной среды их обитания. Именно в этот период стала резко возрастать численность грызунов на полях, в садах, в разрушенных



домах [26]. Но высокая численность грызунов сама по себе ничего не значит без наличия опасного высоковирулентного возбудителя в их популяции. Мы полагаем, что в случае начинки используемых НАТО боеприпасов возбудителями туляремии во время бомбардировок эта инфекция могла беспрепятственно распространиться в виде мелкодиспертных частиц и заразить природные водоемы, почву, овощи, растения и зерновые культуры, что, вероятнее всего, впоследствии стало причиной заражения людей и грызунов. Характерным является и тот факт, что ретроспективными исследованиями показано преобладание (до 87 %) больных туляремией в Косове, у которых одновременно отмечались фарингиты и лимфадениты, что свидетельствует о доминировании ангинозно-бубонной клинической формы заболевания [18]. Известно, что ангинозно-бубонная форма туляремии развивается после проникновения возбудителя с инфицированной пищей или водой [13].

Известно также, что заболевание человека туляремией возникает при инокуляции или ингаляции всего 10 микробных клеток, а летальность при отсутствии лечения достигает 30–60 %. Генетическая основа такой высокой вирулентности пока не известна [4]. Именно из-за высокой вирулентности и контагиозности *F. tularensis* рассматривается на протяжении десятилетий рядом стран в качестве возможного агента для биотерроризма. Еще в середине XX столетия было известно, что туляремия, «выращенная» в лабораториях, очень хорошо и эффективно передается не только по воздуху, через воду, но и многими другими путями, выводя людей из строя на длительный период [9].

Т. Розбери, будучи во время Второй мировой войны руководителем отдела аэрогенной инфекции в центре по разработке бактериологического оружия в Кэмп-Детрике (США), считает, что в случае применения бактериологического оружия такого типа оно может привести к нарушению круговорота вещества в природе, то есть в конкретных экосистемах. Приводя в своем издании «Мир или чума» [9] примеры с применением возбудителя чумы, Т. Розбери считает, что использование туляремии в качестве бактериологического оружия в регионах и на территориях, где ранее этот возбудитель не встречался, приводит к заражению территории и последующим вспышкам заболеваний. Он также справедливо замечает, что центр Кэмп-Детрик является порождением страха. Далее Т. Розбери [9] пишет: «Теперь он сам внушает страх, и до тех пор, пока этот страх будет существовать, Кэмп-Детрик и ему подобные центры будут работать в интересах войны».

Важным и необычным фактом в процессе наблюдений в обнаруженных очагах являлось то, что территории, на которых зарегистрированы вспышки туляремии, оказались очень благоприятными для обитания таких грызунов как водяная (*Arvicola terrestris*) и обыкновенная полевки (*Microtus arvalis*). Специалисты, проводившие эпизоотологические обследования, почему-то не проводили отлов грызунов для лабораторных диагностических исследований. Поскольку корм для домашних животных, по их мнению, был доступен для диких животных, это и послужило одним из факторов инфицирования (контаминации) пометом этих животных продуктов воды, которую употребляли местные жители. Всего отловлено 64 экземпляра грызунов 5 видов. Из них 26 полевых (*A. agrarius*), 2 желтогорлые (*A. flavicollis*), 2 лесные (*A. sylvaticus*), 23 домовые мыши (*Mus musculus*) и 11 черных крыс (*Rattus rattus*). Биологический материал от этих грызунов был исследован на базе временной бактериологической лаборатории ВОЗ в Приштине. При этом антиген туляремии выявлен только в одном из образцов ткани печени полевой мыши. Из 48 образцов помета грызунов антиген туляремии выявлен только в 5 случаях: у полевой мыши (*A. agrarius*) (3 случая) и черной крысы (*Rattus rattus*) (2 случая) [26].

Подтверждением гипотезы о возможном использовании возбудителей туляремии в качестве бактериологического оружия в Косове в процессе бомбардировок может служить и факт отсутствия положительных находок возбудителя и серопозитивных мелких млекопитающих, которые относятся к первой группе высокочувствительных и высоковосприимчивых животных. Такое явление обычно наблюдается в природных очагах этой инфекции и относится, прежде всего, к домовым (*Mus musculus*) и лесным мышам (*A. sylvaticus*). Подозрительным является обнаружение антигена туляремии только у грызунов второй группы чувствительности (полевой мыши (*A. agrarius*) и черной крысы (*Rattus rattus*)), которые, как правило, являются биологическим тупиком при развитии эпизоотии [5].

Не менее странным кажется и другой факт. Как свидетельствуют местные жители и специалисты, проводившие мониторинг, в описываемый период наблюдалась очень высокая численность обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*). Однако на период эпизоотической вспышки этот вид носителей возбудителя вообще не был лабораторно исследован. Отсутствуют в доступных литературных источниках и сообщения о массовом падеже грызунов при наблюдавшейся их высокой численности. Между тем, в природных очагах туляремии, где одним из основных носителей является обыкновенная полевка, именно этот вид подвергается массовому падежу, что легко обнаружить в природных условиях.

Еще одним важным аспектом, вынуждающим сомневаться в естественном (природном) развитии эпизоотии туляремии, является территориально-пятнистое размещение населения заболевших туляремией в Косове. Отсутствие находок возбудителя в окружающей среде и заболеваний с 1946 года при обязательном и закономерном циклическом подъеме численности грызунов дает основание полагать, что возбудитель туляремии на территории Косова до 1999 года либо вообще отсутствовал в природе и поэтому не проявлялся ни в виде эпизоотий среди грызунов, ни в виде эпидемических вспышек, либо, если и были локальные и «дремлющие» природные очаги, они активизировались после стресса в результате активного рассеивания урана.

Не были зарегистрированы никакие положительные находки возбудителя, его антигена или антител к нему среди носителей и переносчиков, а также в других объектах. Отсутствовали и какие-либо признаки наличия природных очагов этой инфекции, так как не были зарегистрированы и заболевшие среди населения. При этом следует отметить, что в странах бывшей Югославии профилактического вакцинирования населения от туляремии практически не проводилось. Данный факт является важным эпидемиологическим индикационным признаком.

Важен и тот факт, что после выявления заболеваний среди грызунов, а также прошедшей вспышки заболеваний среди людей в 5 центральных муниципалитетах, в следующем сезоне (2001–2002 гг.) вновь были зарегистрированы больные туляремией (рис. 3). А в 2002–2005 гг. заболевания отмечались уже в 26 из 29 муниципалитетов Косова [22].

Следует отметить, что такая закономерность в частоте и территориальном распределении заболевших туляремией спустя 1–5 лет после неординарных для окружающей среды событий может свидетельствовать о возможном укоренении рассеянного искусственным путем возбудителя туляремии в окружающей среде [7].

Известно, что природный очаг туляремии является многокомпонентной биогеоценотической системой, которая существует в трех абиотических средах-подсистемах (воздушно-наземной, водной и грунтовой-подземной). Разнохарактерность функционирования подсистем в пределах всей системы обеспечивает сохранение туляремийного микроба. Чем разнообразней в структурном отношении сама система, тем она устой-

чивее в пространстве и времени. Поэтому природные очаги туляремии приурочены к тем территориям, где определенным образом сочетаются указанные три биогеоэкологические подсистемы. Наибольшим биологическим разнообразием характеризуются гидроморфные ландшафты, отличающиеся по этим показателям от плакоров. Поэтому на плакорных территориях эпизоотические проявления туляремии недолговечны [1]. Нами в результате многолетнего мониторинга выяснено, что естественные циклы эпизоотии и эпидемические вспышки туляремии крайне редко повторяются на плакорах непрерывно. Однако в Косове, где наличие гидроморфных территорий минимально (преобладают горные ландшафты), эпизоотии регистрировались ежегодно. Все это в определенной мере подтверждает гипотезу искусственного рассеивания возбудителя туляремии в окружающей среде.

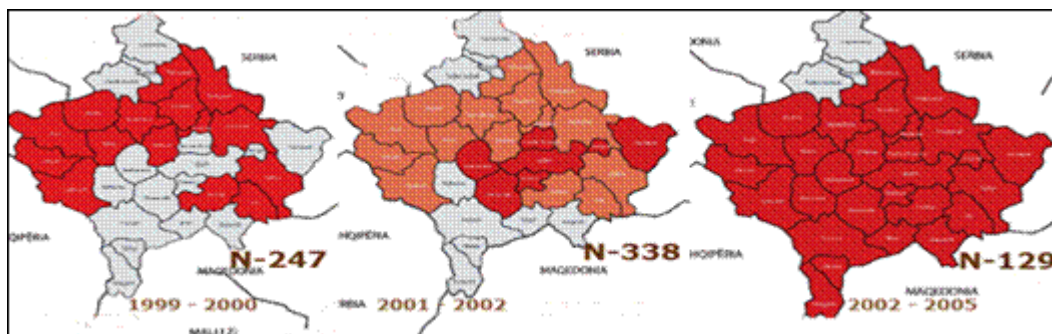


Рис. 3. Динамика географического распределения заболевших (N) туляремией за период 1999–2005 гг. [по 22]

Непонятным выглядит и тот факт, что до настоящего времени не проведены никакие работы по изучению выделенных генотипов туляремии из Косова (во всяком случае, нам такие публикации не встречались), хотя в настоящее время генотипирование является весьма обычной диагностической процедурой. Известно также, что в 1980–1990-х годах в этом регионе недалеко от бывшей Югославии (в Словакии и Австрии) от клещей и москитов выявлен номинативный подвид туляремии (*F. t. tularensis*) [19; 20]. Именно этот подвид туляремии является более вирулентным, чем европейский (*F. t. holarctica*), и характерен в основном для Северной Америки. Проведенное Р. Шодури с соавторами [19] секвенирование изолята FSC198 из Словакии и Австрии и сравнение его с лабораторным изолятом Schu S4 из Северной Америки позволило установить факт того, что геном FSC198 почти идентичен Schu S4, только с незначительными отличиями. Указанные авторы также считают, что туляремия может использоваться как биологическое оружие. Возможно, и в Косове циркулировал штамм, весьма близкий к Schu S4?

Впервые высоковирулентный штамм Schu S4 подвида *F. t. tularensis* был изолирован в штате Огайо в 1941 году [24]. С момента его выделения от больного человека он стал активно использоваться в лабораторных экспериментах, а в лабораторных условиях американские исследователи постоянно поддерживают его исходную вирулентность [4; 17; 20]. Несколько других подвидов (например *F. t. holarctica*) встречаются в Европе и Азии и, крайне редко, в Северной Европе. Другие подвиды (*F. t. mediasiatica*, *F. t. novicida* и японский вариант *F. t. holarctica*) имеют ограниченные ареалы распространения [21].

Эксперименты со штаммом Schu S4 проводились американскими исследователями неоднократно. В 1960-х годах этот штамм разрабатывали специально для использования во взрывающихся сферических бомбах малого калибра, а в 1965 году США в рамках специальной программы по биологическому оружию проводили полевые испытания на обезьянах в районе Гавайских островов, распыляя с самолетов аэрозоль с туляремийным микробом. При этом больше половины подопытных животных погибло [25].

В. И. Дубровина [4] считает, что в случае проявления среди людей и животных штамма *F. t. tularensis* Schu S4 он может быть вирулентен, независимо от пути попадания в макроорганизм. По нашему предположению, вероятнее всего, в Косове вспышку среди людей вызвал именно штамм *F. t. tularensis* Schu S4, что, естественно, требует лабораторного подтверждения.

Специальными исследованиями установлено, что с помощью одного самолета можно заразить территорию до 2 000 км<sup>2</sup>. Полевые опыты, проведенные в США, показали, что распыленный с борта самолета на протяжении 150 км аэрозоль образует облака, которые распределяются на площади в 55 000 миль<sup>2</sup>. Если распылить 500 л суспензии, то каждый житель в указанной зоне получит с вдыхаемым воздухом от 15 до 15 000 частиц, проникающих даже в закрытые помещения. И хотя для опытов использовали безвредные бактерии и светящиеся вещества, цель их не вызывает сомнений [12].

Академик АМН СССР О. В. Бароян [2] писал: «Если сегодня задать вопрос любому квалифицированному эпидемиологу мира, то есть тому, кто видел опустошительную силу естественно развивающихся эпидемий особо опасных инфекций, сколько будет человеческих жертв при искусственном применении патогенных для человека микроорганизмов или их токсинов, то любой честный ученый ответит, что десятиллионный город за несколько часов может быть превращен в сплошное кладбище». О. В. Бароян не раз участвовал в экспедициях по борьбе с особо опасными инфекциями как в нашей стране, так и за рубежом. Чтобы представить, как велика убийственная сила биологического оружия, он приводит такой пример. Для превращения обычной питьевой воды в яд в резервуар емкостью 5 000 м<sup>3</sup> достаточно внести 500 г культуры сальмонелл. Каждому, кто выпьет 100 мл такой воды, грозит тяжелое заболевание и потеря трудоспособности. Следовательно, от сравнительно небольшой дозы биологического оружия могут пострадать 50 млн человек – целое государство! Для того, чтобы получить аналогичную степень отравления такого количества людей, потребовалось бы не менее 10 т цианистого калия!

Комитет экспертов ВОЗ еще в 1969 г. подтвердил, что всего 50 кг бактерий туляремии, распыленных в аэрозольной форме над городом с населением 5 млн жителей, привели бы к заболеванию 250 000 и гибели 19 000 человек. Поскольку данное заболевание трудно оперативно диагностировать, пострадавшие были бы выведены из строя на несколько недель, а рецидивы заболевания продолжались бы месяцами после нападения. Специалистам ВОЗ понадобилось полгода, чтобы в 2000 г. поставить больным сенсационный диагноз: речь шла о туляремии в Косове, при этом рецидивы продолжались еще несколько лет [14; 25].

Все приведенные данные, а также тот факт, что туляремию как биологическое оружие широко использовали перед и во время Сталинградской битвы [15], наглядно свидетельствуют о том, что, вполне вероятно, земли Измаильской, Одесской области и Молдавской ССР в середине XX столетия также могли быть дополнительно искусственно заражены туляремией во время военных операций, поскольку в послевоенное время на этой огромной территории Северо-Западного Причерноморья разразилась наиболее масштабная за историческое время эпизоотия и эпидемические вспышки туляремии, на-

считывающие несколько десятков тысяч заболевших. Искусственное внедрение возбудителя могло усилить имеющиеся штаммы, а также рассеять возбудителя в те биоценозы, которые в силу ландшафтных особенностей территории были свободны от туляремии. Затем, в результате благоприятных экологических условий, которые способны «стимулировать» усиление агрессивности возбудителя [10], он масштабно, на огромной территории проявил свою эпизоотийную активность и привел к обширным эпидемическим вспышкам на различных территориях, которые далеко отстоят друг от друга [11].

Эксперты Службы внешней разведки России прогнозировали возрастающую угрозу биотерроризма задолго до событий 11 сентября 2001 года в США. В их докладе за 1993 г., в частности, отмечалось: «Наметившаяся тенденция к широкому распространению биотехнологий (имеющих, как правило, двойное назначение), трудности контроля за производством и применением биологических агентов и токсинов увеличивают вероятность использования биологического оружия (БО) странами «третьего мира» в локальных военных конфликтах, а также в диверсионных и террористических целях» [8].

Поэтому для установления истинных причин массовых эпизоотийных и эпидемических вспышек туляремии в Косове и исключения варианта применения биологического оружия экспертам ВОЗ следует открыть доступ для международного мониторинга сформировавшихся очагов туляремии в этом регионе, а также организовать проведение молекулярно-генетического анализа выявленных штаммов.

### **Выводы**

Отсутствие эпизоотийных и эпидемических вспышек туляремии в Косове на протяжении исторического периода является доказательством того, что в этом регионе природные очаги инфекции отсутствовали либо длительное время не проявляли своей активности. Возникновение массовых эпизоотий и массовых вспышек заболевания туляремией среди людей возможно либо в случае природной или антропогенной (массовое рассеивание урана) активизации природного очага, либо в результате заноса (завоза) инфекции на свободные от нее территории искусственным путем.

Массовое распространение грызунов и находки среди них зараженных в разных местах Косова не могут свидетельствовать о том, что грызуны явились причиной эпидемических процессов. Они лишь выступили в роли биологических индикаторов массово и диффузно распространившегося агрессивного штамма туляремии. Вспышка туляремии в Косове сразу после массовой бомбардировки края силами НАТО и с необычно синхронным и диффузным территориальным распространением возбудителя по территории может свидетельствовать об искусственном ее происхождении.

Для установления причин появления вспышки туляремии в Косове после массовых бомбардировок НАТО следует на уровне ООН и ВОЗ провести работы по секвенированию ДНК имеющихся в распоряжении соответствующих лабораторий штаммов возбудителя, сравнить выявленные штаммы туляремии с аналогичными из прилегающих европейских стран и других регионов мира.

### **Библиографические ссылки**

1. **Алексеев Е. В.** Природный очаг туляремии как биогеоценотическая функциональная система // Эпизоотология природно-очаговых инфекций. – Саратов, 1985. – С. 68–74.
2. **Бароян О. В.** Судьба конвенционных болезней: прошлое, настоящее, будущее. – М. : Медицина, 1971. – 327 с.
3. **Биотерроризм: национальная и глобальная угрозы** / Г. Г. Онищенко, Л. С. Сандахчиев, С. В. Нетесов, Р. А. Мартынюк // Вестн. Российской АН. – 2003. – Т. 73, № 3. – С. 195–204.

4. **Дубровина В. И.** Механизмы фагоцитоза и его роль при формировании резистентности организма к возбудителям чумы, псевдотуберкулеза и туляремии: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук: патологическая физиология. – Иркутск, 2004. – 42 с.
5. **Дунаева Т. Н.** Современное состояние изучения эпизоотологии туляремии в СССР // Природная очаговость и эпидемиология особо опасных инфекционных заболеваний. – Саратов, 1959. – С. 437–451.
6. **История** о русском секретном оружии «Красная смерть» // Известия-Наука. – 2004 ([www.ufg.com.ua/wu/print.php?module=Country&func=displaynew&news=342&dates=2004\\_09](http://www.ufg.com.ua/wu/print.php?module=Country&func=displaynew&news=342&dates=2004_09))
7. **Миرونчук Ю. В.** Жизнеспособность и вирулентность *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* в водных экосистемах (экспериментальное изучение) / Ю. В. Миرونчук, А. В. Мазела // Журн. микробиол. – 2002. – № 2. – С. 9–13.
8. **Новый** вызов после «холодной войны»: распространение оружия массового уничтожения / Открытый доклад СВР за 1993 г. ([www.svr.gov.ru/material/2-1.html](http://www.svr.gov.ru/material/2-1.html))
9. **Розбери Т.** Мир или чума: биологическая война и как предотвратить ее. – М. : Изд-во иностранной литературы и редакция литературы по военным вопросам, 1956. – 140 с.
10. **Ротшильд Е. В.** Инфекции в природе. Опасные недуги глазами натуралиста // Энвайронментальная эпидемиология. – 2011. – Т. 5, № 4. – С. 431–742.
11. **Русев И. Т.** Антропогенная трансформация природного очага туляремии в Дунай-Днестровском междуречье // Энвайронментальная эпидемиология. – 2011. – Т. 5, № 3. – С. 333–362.
12. **Токаревич К. Н.** По следам минувших эпидемий / К. Н. Токаревич, Т. И. Грекова // ([www.lib.rus.ec/b/166704/read](http://www.lib.rus.ec/b/166704/read))
13. **Туляремия** ([www.eurolab.ua/diseases/49](http://www.eurolab.ua/diseases/49))
14. **Туляремия** как бактериологическое оружие ([www.natureworld.ru/mirovyie-novosti/tulyaremiya-kak-bakteriologicheskoe-oruzhie.html](http://www.natureworld.ru/mirovyie-novosti/tulyaremiya-kak-bakteriologicheskoe-oruzhie.html))
15. **Alibek K.** Biohazard / K. Alibek, S. Handelman. – N. Y. : Random House, 1999. – 319 p.
16. **Croddy E.** Tularemia, biological warfare, and the Battle for Stalingrad (1942–1943) ([www.cns.miis.edu/archive/cbw/tula.htm](http://www.cns.miis.edu/archive/cbw/tula.htm))
17. **Eigelsbach H. T.** Studies on the variation of *Bacterium tularensis* / H. Eigelsbach, W. Braun, R. Herring // J. Bacteriol. – 1951. – Vol. 61. – P. 557–569.
18. **Dembek Z.** Epidemiology of biowarfare and bioterrorism / Z. Dembek, J. Pavlin, M. Kortepeter // ([www.bordeninstitute.army.mil/published\\_volumes/biological\\_warfare/BW-ch03.pdf](http://www.bordeninstitute.army.mil/published_volumes/biological_warfare/BW-ch03.pdf))
19. **Genome** sequencing shows that european isolates of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* are almost identical to US laboratory strain Schu S4 / R. Chaudhuri, C. Ren, L. Desmond, G. Vincent et al. // PLOS ONE. – 2007. ([www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0000352](http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0000352))
20. **Gurycova D.** First isolation of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* in Europe // Eur. J. Epidemiol. – 1998. – N 14. – P. 797–802.
21. **Hesselbrock W.** The morphology of *Bacterium tularensis* / W. Hesselbrock, L. Foshay // J. Bacteriol. – 1945. – Vol. 49. – P. 209–231.
22. **Kalaveshi A.** Tularemia outbreak in Kosova / A. Kalaveshi, L. Gashi. ([www.episouth.org/outputs/wp5/s\\_t\\_module/Curso/Day5/Tularemia\\_Kosovo.pdf](http://www.episouth.org/outputs/wp5/s_t_module/Curso/Day5/Tularemia_Kosovo.pdf))
23. **Public Health Assessment of Potential Biological Terrorism Agents** / L. Rotz, A. Khan, S. Lillibridge et al. // Emerging Infectious Diseases. – 2002. – Vol. 8, N 2. – P. 225–230.
24. **The complete** genome sequence of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularaemia / P. Larsson, P. Oyston, P. Chain et al. // Nat. Genet. – 2005. – Vol. 37. – P. 153–159.
25. **Tularemia** // Weapons of Mass Destruction (WMD) ([www.globalsecurity.org/wmd/intro/bio-tularemia.htm](http://www.globalsecurity.org/wmd/intro/bio-tularemia.htm))
26. **Tularemia** outbreak investigation in Kosovo: Case control and environmental studies / R. Reintjes, I. Dedushaj, A. Gjini et al. // Emerging Infection Diseases. – 2002. – Vol. 8, N 1. – P. 69–73.

Надійшла до редакції 19.07.2012

УДК 577.156 + 612.015

О. В. Сухаренко<sup>1</sup>, Р. О. Новіцький<sup>2</sup>, В. С. Недзвецкий<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Керченський морський технологічний університет

<sup>2</sup>Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

### **ВИКОРИСТАННЯ БІОМАРКЕРІВ МОЗКУ ДОННИХ РИБ ДЛЯ ОЦІНКИ ЗАБРУДНЕННЯ КЕРЧЕНСЬКОЇ ПРОТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ**

Комплексні іхтіотоксикологічні, біохімічні та імунохімічні дослідження, збирання матеріалу та спостереження проводили на мелководді бухти Керченська, в зоні надзвичайної екологічної ситуації після корабельної аварії 2007 року. За результатами досліджень у Керченській протоці та умовно чистій акваторії р. Ворскла отримано дані про порушення метаболізму специфічного білка цитоскелета нейроглії бичка-пісочника (*Neogobius fluviatilis*) внаслідок негативного впливу нафтопродуктів на донні біотопи Керченської протоки та гідробіонтів. Оцінено стан популяції бичка-пісочника за допомогою визначення рівня астрогліальної реактивності мозку. Результати зумовлюють необхідність екологічного моніторингу донних біотопів цього району Чорного моря.

Е. В. Сухаренко<sup>1</sup>, Р. А. Новицкий<sup>2</sup>, В. С. Недзвецкий<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Керченский морской технологический университет

<sup>2</sup>Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОМАРКЕРОВ МОЗГА ДОННЫХ РЫБ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ КЕРЧЕНСКОГО ПРОЛИВА ЧЕРНОГО МОРЯ**

Комплексные ихтиотоксикологические, биохимические и иммунохимические исследования, сбор материала и наблюдения проводили на мелководном участке бухты Керченская в зоне чрезвычайной экологической ситуации после корабельной аварии 2007 года. По результатам исследований в Керченском проливе и условно чистой акватории р. Ворскла получены данные о нарушении метаболизма специфического белка цитоскелета нейроглии бычка-песочника (*Neogobius fluviatilis*) в результате негативного воздействия нефтепродуктов на донные биотопы Керченского пролива и гидробионтов. Оценено состояние популяции бычка-песочника с помощью определения уровня астроглиальной реактивности мозга. Результаты обуславливают необходимость экологического мониторинга донных биотопов этого региона Черного моря.

E. V. Sukharenko<sup>1</sup>, R. A. Novitsky<sup>2</sup>, V. S. Nedzvetsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kerch Sea Technology University

<sup>2</sup>Oles Honchar Dnepropetrovsk National University

### **USING BIOMARKERS OF GROUND FISH BRAIN FOR POLLUTION ASSESSMENT OF THE KERCH STRAIT (THE BLACK SEA)**

Fish were sampled at the shallow part of the Kerch Strait, where the shipwreck brought to ecological emergency in 2007. There were used ichthyotoxicology, biochemistry and immunochemistry methods for the research of fish populations. Comparative investigation of samples from both polluted and uncontaminated

regions (Vorskla River) shows the changes in metabolism of cytoskeleton proteins of astrocytes from the monkey goby *Neogobius fluviatilis*. The results are evidence of the neural cell pathology of ground fish from the polluted region. The neural system pathology could be a result of long-term effect of oil pollution in the Kerch Strait. There was shown the validity of the *N. fluviatilis* brain's astroglial reactivity for the assessment of the population state. The presented data substantiate the necessity of ecological monitoring of the shallow biotopes of that region of the Black Sea.

### Вступ

Відносне зниження промислових викидів за останні роки принципово не відбивається на екологічному стані водних біоресурсів України [1; 2; 15]. Це зумовлено низкою об'єктивних причин. У деяких регіонах навіть зафіксоване значне погіршення показників забруднення акваторій. Наприклад, із 2000 по 2005 р. із 10 до 30 тисяч зростає кількість суден, що проходять по Керч-Єнікальському каналу [14]. Суттєво збільшився об'єм перевантажень, велика частина яких припадає на вугілля, кокс, кальциновану соду, феросплави, мінеральні добрива. Інтенсифікація судноплавства спричинила зростання ерозійних процесів і прогресуючої реседиментації донних відкладів [4; 6]. Збільшенню забруднення акваторії сприяла робота декількох морських портів і рейдово-перевантажувальних комплексів.

Суттєве погіршення екологічного стану району спричинила аварія 6 російських суден у водах Керченської протоки 11 листопада 2007 р. внаслідок шторму. За різними оцінками, в морське середовище потрапило 1 300–1 600 т нафтопродуктів та 2 000–2 500 т технічної сірки [7]. Після такої великої корабельної аварії район Керченської протоки офіційно оголошено зоною надзвичайної ситуації [10].

При проведенні досліджень акваторії Керченської протоки встановлено, що значна частина нафтопродуктів, які потрапили в море, осіла на морське дно. У результаті десорбції нафтопродуктів із донних відкладів кількість малотрансформованої фракції смол і асфальтенів у придонних і поверхневих водах стійко зростала, досягнувши пікових значень у листопаді 2008 року (0,223 мг/л). У водах придонного горизонту концентрація смол і асфальтенів значно перевищувала (3,2 ГДК) аналогічні показники поверхневого горизонту (2,4 ГДК). У 2009 р. рівень забруднення придонних вод був також значно вищий за рівень забруднення поверхневого горизонту. Характерна особливість складу придонних вод березня – червня 2009 року – високий вміст фракції смол і асфальтенів, що у 5,3–31,0 раз перевищував максимальний вміст цих сполук у придонних водах до аварії [3].

Ситуація, що склалася в Керченській протоці, вимагає комплексної оцінки на всіх рівнях організації біологічних систем. Необхідно встановити небезпечність впливу існуючих забруднень на екосистему Керченської протоки. Присутні в екосистемі нафтопродукти можуть бути джерелом критичного впливу на стан біоценозів акваторії. Критичний рівень забруднень нафтопродуктами, за якого починається деградація донних біоценозів, зміни трофічної структури бентосу, складає 1 мг/г сухої ваги [9]. Представники зообентосу – основні об'єкти живлення донних промислових риб, і саме тому забруднення донних відкладів може викликати порушення екологічної рівноваги у популяціях донних риб (бичків кругляка та пісочника (*Neogobius melanostomus*, *N. fluviatilis*), кефалі сингиля (*Liza aurata*) і лобана (*Mugil cephalus*), камбали-калкана (*Psetta maotica*), камбали-глоси (*Platichthys flesus luscus*)).

Анатомо-морфологічні характеристики риб не завжди є об'єктивними показниками рівня забруднення. Ці показники – дуже далекі похідні біохімічних, молекулярних і клітинних порушень. На користь цього свідчать результати порівняльно-морфологічного аналізу: виявлено відсутність істотних відмінностей показників риб із



забруднених і умовно чистих водойм [11; 13]. У сучасних умовах особливої актуальності набувають дослідження молекулярних механізмів, які лежать в основі фізіологічних, репродукційних та інших біологічних процесів, є основою неспецифічної реакції організму на критичні зміни довкілля. Чутливий індикатор рівня комбінованої дії токсинів на рівновагу метаболічних процесів – клітини нервової тканини. Найчутливіші клітини нервової тканини – астроцити. Незважаючи на різноманіття, кількість і локалізацію астроцитів, зумовлену їх видовими особливостями, обов'язковим компонентом цитоскелета цих клітин є гліальний фібрилярний кислий білок (ГФКБ). Підвищений синтез ГФКБ – характерний показник реакції астроцитів у відповідь на ушкодження внаслідок дії несприятливих чинників різної природи [22; 24].

Мета дослідження – оцінити особливості астрогліозу, вміст специфічного цитоскелетного маркера астроглії – гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ) у мозку бичка-пісочника (*Neogobius fluviatilis*), який є типовим представником промислових донних риб Керченської протоки.

### Матеріал і методи досліджень

Іхтіотоксикологічні, біохімічні та імунохімічні дослідження, збирання матеріалу та спостереження проводили на акваторії р. Ворскла (притока Дніпродзержинського водосховища) у межах існуючого іхтіологічного заповідника, що практично не потрапляє під техногенний вплив, і зони узбережжя бухти Керченська, в якій розташована низка діючих портових комплексів.

Іхтіологічний матеріал (38 екз. *Neogobius fluviatilis*) відібрано відповідно до загальноприйнятих методик [8; 12] у водах Керченської бухти у травні – червні 2011 року. Для порівняльного аналізу наведено також результати, отримані у 2010 р. на забрудненій ділянці р. Самара. Візуально спостерігали особливості фенотипу риб, аналізували морфологічні характеристики. Відповідно до методики оцінювали відсоток особин із різними морфологічними та фізіологічними абераціями [11; 12].

Склад поліпептидних фрагментів ГФКБ визначали імунохімічними методами. Фракції розчинних і цитоскелетних білків мозку риб отримували шляхом диференційного центрифугування у буфері з низькою іонною силою та буфері з 4 М сечовиною, як це описано раніше [18]. Визначення вмісту та поліпептидного складу гліальних філаментів проводили за допомогою імуноблотингу з використанням поліклональної моноспецифічної антисироватки у розведенні 1 : 2 500 [18].

Відносну інтенсивність забарвлення поліпептидних зон вимірювали за допомогою комп'ютерної обробки сканованих результатів імуноблотингу. Кількісний аналіз ГФКБ проводили шляхом порівняння інтенсивності забарвлення відповідних поліпептидних зон, що були віднесені до кількості загального білка у фракції. Загальний білок визначали методом О. Лоурі в модифікації Г. Л. Міллера [20]. Рівень перекисного окиснення ліпідів вимірювали з використанням тест-набору LPO-586 (Oxis, Int. Inc., USA) [23]. Обробку отриманих даних проводили методами математичної статистики для малих вибірок [5]. Відносний вміст ГФКБ виражали у вигляді середньої величини та стандартної похибки середньої. Достовірну відмінність між групами оцінювали із застосуванням *t*-критерію Стьюдента ( $p < 0,01$ ) після перевірки гіпотез про нормальність розподілу та відмінність між генеральними дисперсіями.

## Результати та їх обговорення

Анатомо-морфологічне дослідження риб у всіх групах не виявило відхилень від нормального розвитку, аберацій і вироджень. У той же час, кількісна оцінка вмісту білка гліальних проміжних філаментів у мозку риб показала значні відмінності досліджених груп (рис. 1). У мозку бичка-пісочника, виловленого у прибережних водах бухти Керченська, виявлено зростання вмісту ГФКБ у 2,28 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з умовно чистою ділянкою (р. Ворскла). Отриманий результат вказує на розвиток гліальної реактивації у результаті метаболічних порушень, викликаних підвищеним вмістом токсинів у придонних біотопах бухти Керченська. Цей показник також вищий, ніж у риб із р. Самара, що вказує на значний несприятливий вплив забруднювачів у бухті Керченська.

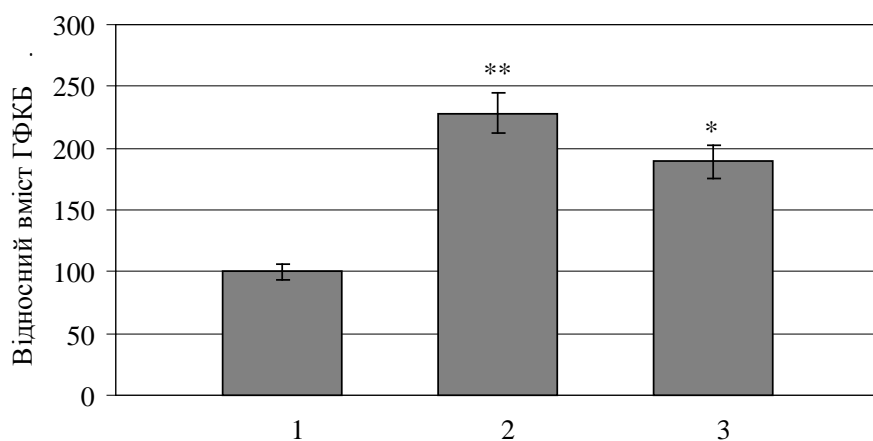
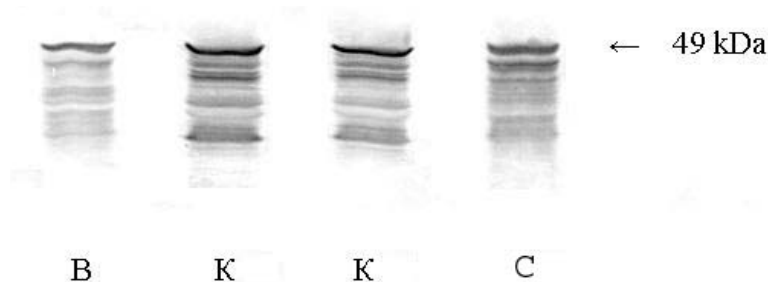


Рис. 1. Відносний вміст ГФКБ у мозку бичка-пісочника бухти Керченська (2), р. Ворскла (1) і р. Самара (3): \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$

Підвищення вмісту білка гліальних філаментів – наслідок збільшення числа субпопуляцій окремих гліоцитів, у першу чергу, за рахунок диференціації гліальних попередників у зрілі астроцити. У ході диференціації в астроцитах активується експресія білка гліальних проміжних філаментів. Астроцити – спеціалізовані гліальні клітини, число яких більше ніж у п'ятеро перевищує кількість нейронів у ЦНС. Вони щільно, подібно до черепиці, вкривають поверхню нейронів і виконують багато важливих складних функцій ЦНС у нормі. Астроцити відповідають на усі форми інсультів через посередництво характерного процесу, який отримав назву «астрогліоз». Астрогліоз індукується різними за природою чинниками, є ознакою патогенетичних і структурних ушкоджень ЦНС.

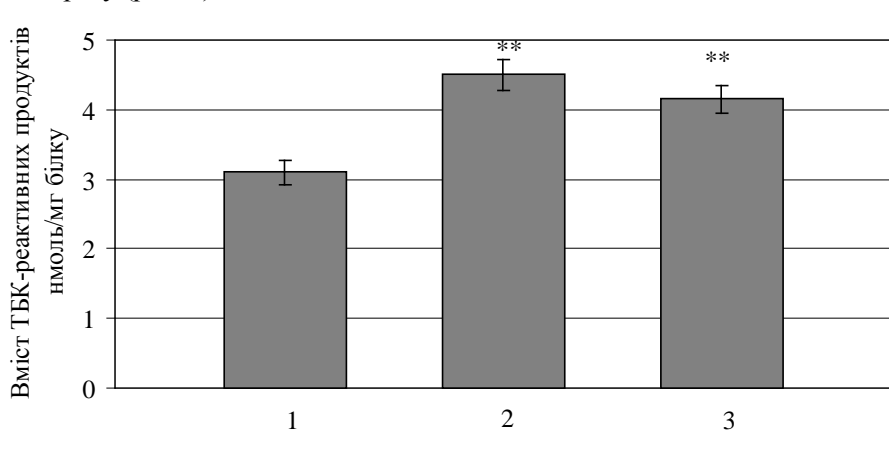
Участь астроцитів у репарації ушкоджень ЦНС останнім часом широко вивчається. Використання сучасних досягнень молекулярної та клітинної біології дозволило розкрити природу та деякі механізми астрогліальної реактивної відповіді на дію фізичних, хімічних чинників і метаболічних порушень. Нині відомо, що астрогліоз – не просто феномен відповіді за принципом «так – ні». Цей процес – тонко градуйована послідовність змін, які реалізуються ситуаційно-залежним способом і регулюються як зовнішніми сигналами, так і нейрон-гліальною взаємодією [25]. Зміни, якими супроводжується астрогліоз, спрямовані від зворотних змін експресії генів і клітинної гіпертрофії до тривалого формування рубців і перебудови структури окремих ділянок мозку.

Визначення поліпептидного складу ГФКБ у мозку риб, які мешкають у прибережних зонах бухти Керченська і р. Самара, показало зростання кількості деградованих поліпептидів ГФКБ (рис. 2). Найзначніші зміни ГФКБ виявлено у цитоскелетних фракціях білків.



**Рис. 2.** Результати імуноблотингу цитоскелетних фракцій білків із мозку бичка-пісочника р. Ворскла (В), бухти Керченська (К – дві проби) та р. Самара (С)

Вміст кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканині мозку групи риб, виловлених у вищезгаданих ділянках, свідчить про передумови розвитку окисного стресу (рис. 3).



**Рис. 3.** Вміст кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів у мозку бичка-пісочника р. Ворскла (1), бухти Керченська (2) і р. Самара (3): достовірність відмінності груп 2 і 3 відносно групи 1 (\*\*) $p < 0,01$

Показники окисного стресу та астрогліозу мозку бичка-пісочника бухти Керченська, р. Самара та Ворскла мали високий коефіцієнт кореляції ( $r = 0,69 \pm 0,091$  і  $r = 0,74 \pm 0,087$  відповідно).

Вивчення відповідних реакцій популяцій донних риб – актуальне завдання при оцінюванні дії несприятливих чинників, у тому числі і десорбції нафтопродуктів із донних відкладів. Риби – зручні об'єкти екологічних досліджень через високу чисельність, поширеність і доступність для вивчення реакції на дію полнотантів [17]. Використання як біомаркерів гістоспецифічних цитоскелетних білків, які виконують життєво необхідні функції і надзвичайно чутливі до дії несприятливих чинників, – перспективний напрям [19; 21]. Як і в інших хребетних, у риб нейроглія відіграє життєво важливу роль у підтриманні та забезпеченні функціонування нейронів. Нейрогліальні клітини особливо важливі для підтримання гомеостазу мозку, репарації ушкоджень, захисту нейронів від різних чинників. Несприятливі дії різної природи індукують характерну

клітинну відповідь глії – астрогліоз. Астрогліоз, тобто реактивація астроцитів, завжди супроводжується активацією фібрилогенезу та синтезу ГФКБ [21]. Надмірно інтенсивний фібрилогенез – головний показник реактивної відповіді астроцитів на нейрональні ушкодження. Перебудова проміжних філаментів астроглії може бути необхідною умовою адекватного функціонування гліальних клітин за дії пошкоджувальних чинників [25].

Виявлене нами підвищення експресії білка гліальних проміжних філаментів свідчить про індукований астрогліоз, тобто функціональну відповідь нейроглії на дію несприятливих факторів. Характерне збільшення кількості деградованих поліпептидних фрагментів ГФКБ – ознака цитоскелетних перебудов, порушення стану цитоскелета, морфології та функціонування клітин нервової тканини. Отже, стан гліального цитоскелета може бути індикаторним показником токсичної дії нафтового забруднення морських вод.

Окисний стрес розглядається як одне з найпоширеніших метаболічних порушень, викликаних дією несприятливих чинників [16]. Проміжні високореактивні продукти окисного стресу – важлива причина нейродегенерації та зниження життєздатності в умовах дії токсичних забруднювачів різної природи. Дія промислових поллютантів на організм викликає порушення енергетичного метаболізму клітин, морфологічні та структурні аномалії.

Виявлена в наведеному дослідженні позитивна кореляція показників астрогліозу, тобто стану цитоскелета нейроглії, та окисного стресу в мозку бичка-пісочника з промислово забруднених і умовно чистих ділянок водоєм вказує, що окисні ушкодження можуть бути одним з основних механізмів реалізації токсичних ефектів поллютантів. Порушення на молекулярному рівні лежить в основі патологічних процесів та відбивається на вищих рівнях біологічної організації, у тому числі на структурно-функціональній організації екосистем.

Отриманий результат щодо реактивного астрогліозу в мозку риб, які мешкають у забрудненому середовищі Керченської протоки, вказує на певний рівень адаптації клітин нервової системи до несприятливих умов, викликаних забрудненням.

### **Висновки**

Вивчення впливу забруднювальних речовин на гідроекосистему не може бути виконане проведенням дослідів лише на організмовому рівні, оскільки це дозволяє виявити аномальні зміни лише на пізніх стадіях інтоксикації, коли організм перебуватиме на межі загибелі. Дослідження реактивної відповіді астроцитів мозку різних тварин – апробована та результативна методика екотоксикології, що підтверджується і нашими даними. Цитоскелетні перебудови мозку риб виникли під впливом антропогенних чинників. Це дає змогу розглядати ГФКБ як надійний і достовірний маркер токсичного впливу поллютантів, за допомогою якого можна оцінити пошкоджувальні ефекти на ранніх етапах їх прояву, розробити ефективні заходи компенсації патогенетичних порушень.

Отримано дані про порушення метаболізму специфічного білка цитоскелета нейроглії бичка-пісочника з бухти Керченська, які свідчать про негативний вплив нафтопродуктів на донні біотопи Керченської протоки та гідробіонтів, що населяють їх. Наведені результати вказують на необхідність здійснення екологічного моніторингу та комплексного дослідження донних біотопів цього району.

## Бібліографічні посилання

1. **Бланк Ю. І.** Екологічні аспекти природокористування в районі Керченської протоки / Ю. І. Бланк, Л. К. Себах, О. А. Петренко // Проблеми екологічної безпеки і розвитку морегосподарського і нафтогазового комплексу. Матер. IV Міжнар. наук.-практ. конф. – Севастополь, 2004. – С. 194–198.
2. **Вплив** перевантаження нафтопродуктів на компоненти екосистеми Керченської протоки. Розвиток підприємств морегосподарського і нафтогазового комплексів. Проблеми екології і економіки / Л. К. Себах, Т. М. Авдеева, С. С. Жугайло та ін. // Проблеми екологічної безпеки і розвитку морегосподарського і нафтогазового комплексу. Матер. V Міжнар. наук.-практ. конф. – Южный-Одесса : Друк, 2006. – С. 111–115.
3. **Вплив** техногенної катастрофи 11 листопада 2007 р. на стан морської екосистеми Керченської протоки / О. А. Петренко, Т. М. Авдеева, Л. К. Себах та ін. // Основні результати комплексних досліджень в Азово-Чорноморському басейні і світовому океані. Тр. ЮгНИРО (т. 47). – 2009. – С. 55–60.
4. **Жугайло С. С.** Сучасний рівень забруднення прибережних вод Керченської бухти / С. С. Жугайло, О. А. Петренко // Екологія міст та рекреаційних зон. Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. – Одеса : ІНВАЦ, 2008. – С. 261–264.
5. **Кокунин В. А.** Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Укр. биохим. журн. – 1975. – № 6. – С. 776–791.
6. **Кудрик І. Д.** Реседиментація донних відкладень як негативний екологічний наслідок евтрофікації вод Чорного і Азовського морів / І. Д. Кудрик, А. В. Ошкадер, А. А. Бусарова // Рибе господарство України. – 2010. – № 5 (70). – С. 34–37.
7. **Матишов Г. Г.** Экосистемный мониторинг и оценка действия разливов нефтепродуктов в Керченском проливе. Аварии судов в ноябре 2007 г. / Г. Г. Матишов, С. В. Бердников, Р. М. Савицкий. – Ростов-на-Дону : ЮНЦ РАН, 2008. – 73 с.
8. **Методика** збору й обробки іхтіологічних і гідробіологічних матеріалів із метою визначення лімітів промислового вилучення риб із великих водосховищ і лиманів України. – К. : ІРГ, 1998. – 47 с.
9. **Мионов О. Г.** О предельно допустимых концентрациях нефтепродуктов в донных отложениях прибрежной зоны Черного моря / О. Г. Мионов, Н. Ю. Милованова, Л. Н. Кирюхина // Гидробиол. журн. – 1986. – Т. 22, № 6. – С. 76–78.
10. **Надзвичайна** ситуація в Керченській протоці – випадковість або неминуча закономірність / О. А. Петренко, С. С. Жугайло, Л. К. Себах та ін. // Проблеми екологічної безпеки і розвитку морегосподарського і нафтогазового комплексу. Матер. VI Міжнар. наук.-практ. конф. – Керч – Одеса : Пасаж, 2008. – С. 10–14.
11. **Наумов В. М.** Методы сбора и обработки ихтиологических проб. Информ. обзор. Вып. 1. Рыбохозяйственное использование ресурсов Мирового океана // В. М. Наумов, А. П. Мусатов. – М. : ЦНИТЗИРХ, 1976. – 48 с.
12. **Правдин И. Ф.** Руководство по изучению рыб. – М. : Пищ. пром-сть, 1966. – 376 с.
13. **Сухаренко Е. В.** Новые молекулярные биомаркеры состояния гидробионтов в условиях антропогенного загрязнения / Е. В. Сухаренко, В. С. Недзвецкий, Р. А. Новицкий // Рибе господарство України. – 2011. – № 6. – С. 49–54.
14. **Фашук Д. Я.** Екологічні проблеми Боспора Кіммерійського / Д. Я. Фашук, С. Н. Овсиенко, О. А. Петренко // Чорноморський вісник. – 2007. – № 1. – С. 52–78.
15. **Фашук Д. Я.** Керченська протока – найважливіша транспортна артерія і рибпромисловий район Азово-Чорноморського басейну / Д. Я. Фашук, О. А. Петренко // Південь Росії: екологія, розвиток. – 2008. – № 1. – С. 15–22.
16. **Baydas G.** Neuroprotection by  $\alpha$ -lipoic acid in streptozotocin-induced diabetes / G. Baydas, E. Donder, M. Kiliboz // Biochemistry. – 2004. – Vol. 69, N 9. – P. 1001–1005.
17. **Bucher F.** Effects of treated paper mill effluents on hepatic morphology in male bullhead (*Cottus gobio* L.) / F. Bucher, R. Hofer, W. Salvenmoser // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1992. – N 23. – P. 410–419.

18. **Effects** of vitamin *E* against aluminum neurotoxicity in rats / V. S. Nedzvetskii, M. Tuzcu, A. Yasar, A. A. Tikhomirov // *Biochemistry*. – 2006. – Vol. 71, N 3. – P. 239–244.
19. **Kalman M.** Glial fibrillary acidic protein – immunopositive structures in the brain of a crocodilian, caiman crocodilus, and its bearing on the evolution of astroglia / M. Kalman, M. Pritz // *The J. of Comparative Neurology*. – 2001. – P. 460–480.
20. **Miller G. L.** Protein determination for large numbers of samples // *Anal. Chem.* – 1959. – Vol. 31, N 5. – P. 964–966.
21. **Nedzvetskiy V. S.** Hyperthyreosis effects on the learning, memory and glial intermediate filaments of a rat brain / V. S. Nedzvetskiy, P. A. Nerush // *Int. J. Physiology and Pathophysiology*. – 2011. – Vol. 2, is. 3.70. – P. 269–278.
22. **Norton W. T.** Quantitative aspects of reactive gliosis: A review / W. T. Norton, D. A. Aquino, I. Hozumi // *Neurochem. Res.* – 1992. – Vol. 17, N 9. – P. 877–885.
23. **Ohkawa H.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 95, N 2. – P. 351–358.
24. **Ridet J. L.** Reactive astrocytes: Cellular and molecular cues to biological function / J. L. Ridet, S. K. Malhotra, A. D. Privat // *Trends Neurosci.* – 1997. – Vol. 20, N 12. – P. 570–577.
25. **Sofroniew M. V.** Astrocytes: Biology and pathology / M. V. Sofroniew, H. V. Vinters // *J. Acta Neuropathol.* – 2010. – Vol. 119. – P. 7–35.

*Надійшла до редколегії 24.08.2012*

УДК 577.1:612.015.11

І. Г. Сущенко<sup>2</sup>, О. М. Лещук<sup>1</sup>, І. В. Дрегваль<sup>1</sup>, А. І. Руденко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

<sup>2</sup>Інститут гастроентерології АМН України

### **ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ РЕОГЕПАТОГРАМИ ПРИ ЗБІЛЬШЕННІ КОНЦЕНТРАЦІЇ NO В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ**

Визначено основні характеристики мікроциркуляторного русла печінки щурів при розвитку панкреатиту різного ступеня важкості за допомогою методу реографії, а також їх прогностичне значення. Підвищення вмісту NO в організмі тварин спричинює виражене зменшення тону у великих судинах печінки. На судини середнього та малого діаметра підвищений вміст NO впливає менш виражено і нетривало. Використовуючи показники реогепатограм, можна визначити порушення гемодинаміки печінки та розпал хвороби – ішемії печінки, зниження опору артеріальних судин печінки, зменшення відтоку портальної крові на тлі гіпердинамічного типу кровообігу.

І. Г. Сущенко<sup>2</sup>, О. М. Лещук<sup>1</sup>, І. В. Дрегваль<sup>1</sup>, А. І. Руденко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

<sup>2</sup>Институт гастроэнтерологии АМН Украины

### **ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕОГЕПАТОГРАММЫ ПРИ УВЕЛИЧЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ NO В ОРГАНИЗМЕ КРЫС**

Определены основные характеристики микроциркуляторного русла печени крыс при развитии панкреатита разной степени тяжести с помощью метода реографии, а также их прогностическое значение. Повышение содержания NO в организме животных приводит к более выраженному уменьшению тону крупных сосудов печени, на сосуды среднего и малого диаметра влияние менее выражено и непродолжительно. Используя показатели реогепатограмм, можно определить нарушение гемодинамики печени при развитии болезней печени.

I. G. Sushchenko<sup>2</sup>, O. M. Leshchuk<sup>1</sup>, I. V. Dregval<sup>1</sup>, A. I. Rudenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University

<sup>2</sup> Institute of Gastroenterology of NAMS of Ukraine

### **CHANGES OF RHEOHEPATOGRAMME INDICES UNDER INCREASING NO CONCENTRATION IN RATS**

Basic descriptions of the rats liver microvasculature and its prognostic significance under development of pancreatitis of different severity were determined by a rheography method. Increased nitric monoxide content in the rats entails even more pronounced reduction of a tone of the liver's great vessels. The vessels of medium and small diameter are less influenced and the reduction was short-term. Using the rheohepatogramme indices makes possible to determine the disturbance of liver's haemodynamics under the hepatopathy development.

## Вступ

Захворювання печінки – одне з найтяжчих, широко розповсюджених і складно діагностованих захворювань органів черевної порожнини. Його супроводжує ряд ускладнень, а клінічний перебіг і результат захворювання часто важко передбачувати. При важких панкреатитах насамперед страждають мікроциркуляція та системна гемодинаміка [2]. Актуальною залишається проблема прогнозування потенційної ваги гострого панкреатиту, можливості передбачити деструктивний процес на початку захворювання. Наявність періоду оборотних патологічних змін (ішемії та некробіозу) у перебігу гострого деструктивного панкреатиту дозволяє проводити терапію захворювання [1; 3; 5]. Однією з можливостей поліпшити стан при розвитку захворювання є збільшення мікроциркуляції крові у печінці.

Мікрогемодинаміка печінки може змінюватись залежно від концентрації  $NO$  в організмі. Оксид азот – один із найважливіших біологічних медіаторів, залучений у безліч фізіологічних і патофізіологічних процесів. Характерна риса  $NO$  – його здатність швидко активувати одні ензими усередині клітини та інгібувати інші.  $NO$  є вазодилаторною молекулою, що змінює тонус у деяких судинних басейнах [14], включаючи легені та системний кровообіг [16]. Ця молекула утворюється переважно з індукцибельної (iNOS) та ендотеліальної (eNOS) синтаз оксиду азоту у печінці [15], зокрема оксид азоту, що синтезується за допомогою eNOS – важливий фактор регуляції нормального печінкового кровотоку.  $L$ -аргінін – субстрат для всіх ізоформ NOS при продукуванні  $NO$  [11]. Оксид азоту ефективно полегшує портальну гіпертензію при цирозах печінки [12]. Він також бере участь у реалізації багатьох важливих фізіологічних функцій, таких як вазодилатація, регуляція тонусу гладеньких м'язів, нейротрансмісія тощо [4; 7; 9].

Вплив  $NO$  вивчається за допомогою експериментальних моделей захворювань печінки. На сьогодні існують моделі патології, які індукуються нітро- $L$ -аргініном, тетрахлоркарбонем ( $CCl_4$ ), етанолом ( $C_2H_5OH$ ), нітропурсидом натрію. Викликаючи певні розлади у системі внутрішньопечінкового кровообігу, виникає проблема реєстрації зміни кровонаповнення. Сучасні методи функціональної діагностики розладів периферичного кровообігу мають різні діагностичні можливості [10; 13; 17].

Для визначення змін кровообігу в експериментальних умовах нами уперше запропоновано реографічний метод реєстрації показників мікроциркуляції крові у печінці в експериментальних умовах на дрібних лабораторних тваринах.

Метод реографії дозволяє оцінювати загальні та регіональні зміни у судинній системі печінки, викликані функціональними судинними розладами. В основі методу реографії лежить принцип реєстрації мінливих у часі коливань електричного опору судинної системи печінки. Ці зміни електричного опору відбуваються у ритмі скорочення серця та залежать від змін обсягу крові, що протікає у судинній системі печінки. Метод реографії належить до неінвазивних методів дослідження кровообігу у печінці, що дозволяє побічно судити про кровонаповнення різних відділів судинної системи, тонус та еластичність судин, стан судинної стінки при різних патологіях (судинної недостатності, спазмі). Дана методика безпечна, проста у використанні та аналізі отриманих результатів, досить інформативна, а також може за необхідності застосовуватися багаторазово на одній тварині. Повторні дослідження на тій самій тварині дозволяють порівнювати різні реографічні криві та цим самим спостерігати за динамікою гемодинамічних змін.



Тому завдання нашого дослідження полягало у визначенні основних характеристик мікроциркуляторного русла при розвитку панкреатиту різного ступеня важкості за допомогою методу реографії, а також його прогностичного значення. Зважаючи на те, що гемодинамічне порушення з'являється вже на ранніх стадіях захворювання [18] і характеризується зростанням загального судинного опору, зниженням обсягу циркулюючої крові, зменшенням центрального венозного тиску та порушеннями мікроциркуляції, ми провели дослідження зі зниження загального опору судин та, як наслідок, підвищення мікроциркуляції крові у печінці.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на 10 білих щурах-самцях масою 180–240 г віком 6 місяців. Усі тварини утримувались в однакових умовах. Тварин поділили на три групи. Першу групу склали інтактні тварини, другу – тварини, яким одноразово вводили нітропрусид натрію (1,5 мг/кг маси тіла), до третьої увійшли тварини після тривалого (6-денного) уведення нітропрусиду натрію (1,5 мг/кг маси тіла). За 16–20 годин до експериментів тварин піддавали харчовій депривації при вільному доступі до води.

Реєстрацію реограми печінки щурів здійснювали за допомогою поліграфа ПБЧ-01 із комп'ютерною обробкою результатів дослідження. Методика реографії [4; 9] в наших експериментах була дещо видозмінена у зв'язку з тим, що реогепаатограма (РГГ) щурів ще ніколи не мала місця у науковій практиці. Реєстрація РГГ у щурів відрізняється від методики реографії, яку використовують при записі РГГ людини, вона проводиться під наркозом.

У наших експериментах тварини черевом догори у стані наркозу були закріплені на спеціальних дошках за допомогою марлевих фіксаторів. До кінцівок тварини приєднували електроди для реєстрації електрокардіограми (ЕКГ, друге відведення) та реограми печінки. Для реєстрації РГГ використовували два електроди: великий, що являє собою прямокутну мідну пластинку (6 x 10 см), та маленький біполярний (1,5 x 3 см). Для підвищення електропровідності та зменшення опору між електродами та шкірою тварин використано прокладку, змочену фізіологічним розчином.

Великий електрод (індиферентний) розміщувався на середині спини лабораторного щура (вигін хребта) в області розташування печінки, менший (активний) – на центрі грудної клітки та під правим реберним краєм тварини.

Запис РГГ проводили синхронно з ЕКГ. Під час аналізу отриманих реограм вивчали форму вершини основної хвилі, кількість і виразність додаткових зубців, а також кількісно визначали час поширення пульсової хвилі, кут нахилу анакроти, тривалість висхідної та спадної частин пульсової хвилі, їх співвідношення та амплітуди. За літературними даними [8], у нормі вершина реограми повинна бути гострою, без додаткових зубців, а інцизура та дикротичний зубець чітко виражені.

Найважливіші параметри РГГ, які підлягали аналізу в наших експериментах:

–  $Q_x$  – відображає час асинхронного та ізометричного скорочення шлуночків, вимірюється від початку зубця Q на ЕКГ до початку РГГ. Цей показник характеризує швидкість розповсюдження пульсової хвилі на ділянці «серце – судини» печінки;

–  $a$  – тривалість систолічної хвилі (с) від початку підйому реограми до інцизури. Характеризує час артеріального наповнення печінки у фазу швидкого та повільного наповнення печінкової артерії та її гілок;

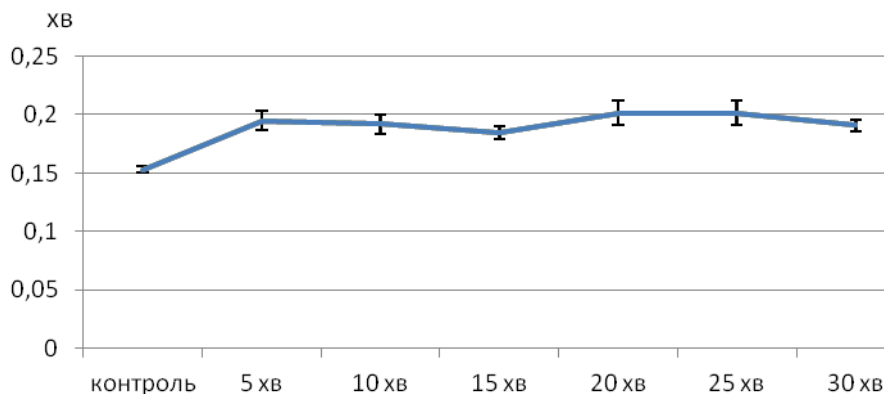
–  $b$  – тривалість постсistolічної хвилі (с) від інцизури до з'єднання кривої з ізолінією. Характеризує час кровонаповнення басейну ворітної вени;

- $a/b$  – змінюється при порушенні кровонаповнення артеріального або портального басейну;
- $\alpha/\beta$  – відношення тривалості підйому систолічної хвилі (період максимального наповнення) до тривалості спуску всієї хвилі (тривалість катакрити). Характеризує тонус судин та їх еластичність;
- $h_1/h_2$  – частка від поділу амплітуди систолічної хвилі на амплітуду постсистолическої хвилі (співвідношення артеріального кровотоку до венозного);
- PI – реографічний індекс – співвідношення амплітуди систолічної хвилі до каліброваного імпульсу. Характеризує величину систолічного припливу;
- АЧП – амплітудно-частотний показник. Характеризує інтенсивність кровообігу у мікроциркуляторному руслі.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерних програм із використанням методів варіаційної статистики [6; 8]. При цьому для показника визначали середнє арифметичне значення ( $M$ ) та похибку середнього ( $m$ ). Досліджувані співвідношення вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

На першому етапі наших досліджень встановлено, що при одноразовому введенні нітропрусида натрію на РГГ спостерігалось збільшення артеріального припливу (показник (a) табл. 1), що ймовірно є наслідком зниження пульсових коливань артеріальних печінкових судин. Це підтверджується даними реограм (час максимального підйому на реограмі). Артеріальне наповнення печінки у фазі швидкого та повільного наповнення печінкової артерії та її гілок відбувалося за 10 та 20 хв відповідно (рис. 1).



**Рис. 1. Динаміка тривалості артеріального наповнення печінки щурів після введення нітропрусида натрію:** на осі абсцис – час замірів тривалості постсистолическої хвилі реогепаатограм щурів; на осі ординат – час тривалості постсистолическої хвилі реогепаатограм щурів після введення нітропрусида натрію

Найбільший ефект зменшення портального кровотоку у наших дослідженнях спостерігався через 15 хв після введення препарату нітропрусид натрію в організм щурів. Незважаючи на зменшення портального кровотоку печінки в 2,5 раза порівняно з контролем (показник (a/b) табл. 1), збільшення тривалості діастолічної хвилі (показник (b) табл. 1) на реограмі, ймовірно, свідчить про застій у портальній системі печінки, що може бути розвитком тенденції до збільшення загального судинного опору печінки.

Уведення нітропрусида натрію викликає зменшення тонусу великих судин і збільшення наповнення печінки. За даними наших досліджень, на судини середнього

та малого радіусу уведення нітропрусиду натрію впливає не так істотно, як на судини великого радіусу (рис. 2, 3). Відтік крові від печінки дещо зменшується відносно її притоку. Це викликає збільшення печінки у розмірі та деякий застій крові. Найбільший ефект спостерігається на 15-й хв після уведення нітропрусиду натрію, потім його дія дещо слабшає, але до контрольних величин діаметр великих судин не доходить. Ефект зменшення тону судин можна простежити за показником ( $\alpha/\beta$ ) (див. табл. 1).

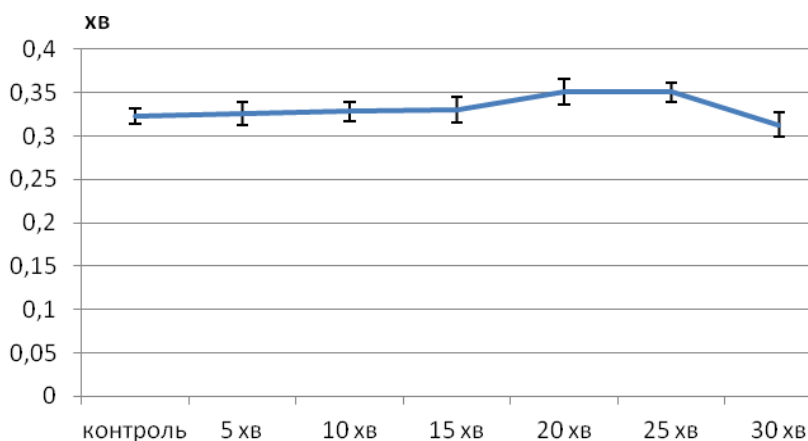
На 25-й хв спостерігалось збільшення відтоку крові, що ймовірно є впливом нітропрусиду натрію на судини середнього та малого діаметра, але вже на 30-й хв цей вплив зменшується. За даними наших експериментів, після уведення препарату спостерігалось збільшення тривалості постсистоличної хвилі з піком на 20-й хв експерименту (див. рис. 2).

Таблиця 1

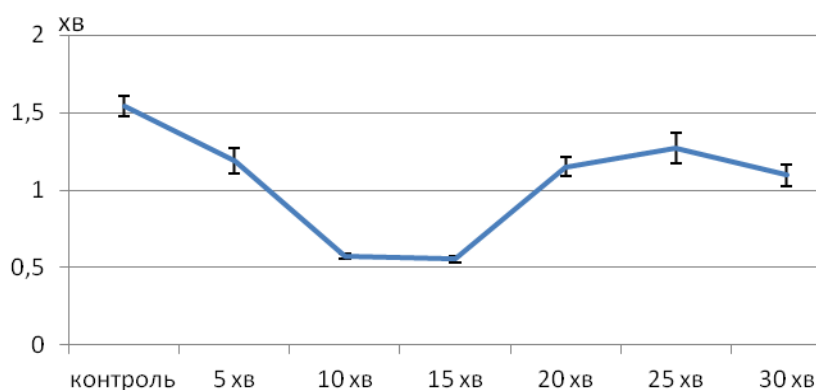
Показники реоенатограм щурів до та після уведення нітропрусиду натрію

Показники реограми		контроль	5 хв	10 хв	15 хв	20 хв	25 хв	30 хв
Qx	M	0,021	0,015	0,019	0,019	0,020	0,020	0,024
	m	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,006
a	M	0,153	0,195	0,192	0,185	0,201	0,201	0,191
	m	0,003	0,009	0,008	0,005	0,010	0,010	0,005
b	M	0,323	0,326	0,329	0,330	0,350	0,350	0,313
	m	0,009	0,013	0,011	0,015	0,015	0,010	0,014
a/b	M	0,490	0,645	0,614	1,290	0,598	0,680	0,639
	m	0,015	0,038	0,024	0,064	0,026	0,029	0,063
$\alpha/\beta$	M	1,540	1,189	0,576	0,554	1,151	1,272	1,097
	m	0,067	0,080	0,015	0,018	0,064	0,097	0,071
h <sub>1</sub> /h <sub>2</sub>	M	0,565	0,567	0,576	0,554	0,531	0,521	0,561
	m	0,017	0,026	0,015	0,018	0,021	0,023	0,027
RI	M	1,496	1,453	1,431	1,431	1,414	1,396	1,335
	m	0,024	0,023	0,018	0,018	0,017	0,014	0,023
АЧП	M	3,020	2,958	2,784	2,927	2,717	2,946	2,768
	m	0,079	0,161	0,112	0,134	0,148	0,131	0,112

Збільшення тривалості постсистоличної хвилі, можливо, пов'язане з повільним впливом нітропрусиду натрію на судини середнього та малого діаметра, що відображається у мікроциркуляції крові у печінці. Тільки через 30 хв після уведення препарату спостерігалось збільшення мікрогемодинаміки печінки, що, можливо, пов'язано, з одного боку, з дією лікарського засобу на судини середнього та малого діаметра, з іншого – із припиненням дії нітропрусиду натрію на судини великого діаметра (показник ( $\alpha/\beta$ ) табл. 1).



**Рис. 2.** Динаміка тривалості постсистолічної хвилі реогепаграм щурів після введення нітропрусиду натрію: показники ті самі, що і на рис. 1



**Рис. 3.** Динаміка відношення тривалості систолічної та діастолічної хвилі реограми печінки щурів після введення нітропрусиду натрію: показники ті самі, що і на рис. 1

Враховуючи будову печінки щура, котра складається з п'яти частин, до яких кров потрапляє двома шляхами: від ворітної вени та печінкової артерії, після введення препарату амплітуда систолічної хвилі дещо знижується, але тривалість підвищується у зв'язку з наповненням чисельних гілок і синусів печінки. Збільшення тривалості кровонаповнення судин печінки також пов'язане зі зниженням тиску крові як одного з факторів дії нітропрусиду натрію на судинну систему щурів.

Характеризуючи тонус судин та їх еластичність, можна відзначити, що найбільше зменшення тонусу судин спостерігалось на 15-й хв після введення нітропрусиду натрію в організм щурів (див. рис. 3). Подальше збільшення тривалості кровообігу у мікроциркулярному руслі печінки щурів пов'язане із загальним зниженням тонусу судин та тиску крові за дії препарату. Величина об'ємного кровотоку після введення нітропрусиду натрію дещо зменшується з піком на 20-й хв, але протягом досліджень вона мала більш або менш стабільні коливання (див. табл. 1).

### Висновки

Підвищення вмісту оксиду азоту в організмі тварин викликає виражене зменшення тонусу великих судин печінки. На судини середнього та малого діаметра вплив

підвищеного вмісту оксиду азоту менш виражений і нетривалий. Підвищений вміст оксиду азоту може викликати деякий застій крові у печінці, що імовірно є одним із факторів розвитку панкреатиту. Використовуючи показники реогепаатограм, можна визначити порушення гемодинаміки печінки та розпал хвороби – ішемії печінки, зниження опору артеріальних судин печінки, зменшення відтоку портальної крові на фоні гіпердинамічного типу кровообігу (збільшення серцевого викиду та зниження загального периферичного опору).

### Бібліографічні посилання

1. **Вострокнутов И. В.** Хирургическое лечение больных острым билиогенным панкреатитом: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Новосибирск: Новосиб. гос. мед. акад, 2004. – 21 с.
2. **Кровотечение** и трансфузиология / Ю. С. Винник, Л. В. Кочетова, Е. А. Карлова, С. С. Дунаевская. – М. : Феникс, 2007. – 160 с.
3. **Кондратенко П. Г.** Острый панкреатит / П. Г. Кондратенко, А. А. Васильев, М. В. Конькова. – Донецк, 2008. – 352 с.
4. **Логинов А. С.** Реограмма печени в норме и патологии / А. С. Логинов, Ю. Т. Пушкарь // Терапевтический архив. – 1962. – № 3. – С. 81–83.
5. **Метод** лапароскопически ассоциированной операции при деструктивном панкреатите / Э. Г. Абдуллаев, Г. В. Ходос, В. В. Бабышин и др. // Эндоскоп. хирургия. – 2003. – Т. 9, № 5. – С. 58–59.
6. **Петри А.** Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин. – М. : Геотар-мед, 2003. – 143 с.
7. **Полищук В. И.** Техника и методика реографии и реоплетизмографии / В. И. Полищук, Л. Г. Терехова. – М. : Медицина, 1983. – 175 с.
8. **Справочник** по дифференциальной диагностике внутренних болезней / Под ред. Г. П. Матвейкова. – Минск : Беларусь, 1990. – 607 с.
9. **Таджиев К. Т.** Изменение реограммы печени при различных заболеваниях // Советская медицина. – 1967. – № 2. – С. 13–16.
10. **Boros M.** Methods for *in vivo* investigation of human microcirculation // Orv. Hetil. – 2001. – Vol. 142 (21). – P. 1111–1114.
11. **Bruckdorfer R.** The basics about nitric oxide // Mol. Aspects Med. – 2005. – Vol. 26. – P. 3–31.
12. **Differential** expression and localization of nitric oxide synthases in cirrhotic livers of bile duct-ligated rats / C. L. Wei, H. E. Khoo, K. H. Lee, W. M. Hon // Nitric Oxide. – 2002. – N 7. – P. 91–102.
13. **Hwang T. L.** The changes of hepatic sinusoidal microcirculation and effects of nitric oxide synthase inhibitor during sepsis / T. L. Hwang, M. L. Han // Hepatogastroenterology. – 2003. – Vol. 50 (49). – P. 213–216.
14. **Management** of cirrhosis and ascites / P. Gines, A. Cardenas, V. Arroyo, J. Rodes // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 350. – P. 1646–1654.
15. **Marletta M. A.** Catalysis by nitric oxide synthase / M. A. Marletta, A. R. Hurshman, K. M. Rusche // Curr. Opin. Chem. Biol. – 1998. – Vol. 2. – P. 656–663.
16. **Nitric** oxide modulates hepatic vascular tone in normal rat liver / M. K. Mittal, T. K. Gupta, F. Y. Lee et al. // Am. J. Physiol. – 1994. – Vol. 267. – P. G416–G422.
17. **Tawadrous M. N.** Persistence of impaired hepatic microcirculation after non arterialized liver transplantation in the rat / M. N. Tawadrous, A. Zimmermann, X. Y. Zhang // Microcirculation. – 2002. – Vol. 9, N 5. – P. 363–375.
18. **The course** of bacterial infection of the pancreas and its relation to disease severity in rodent model of acute necrotizing pancreatitis / T. Foitzik, K. Mithofer, M. J. Ferraro et al. // Ann. Surg. – 1999. – Vol. 220. – P. 193–198.

Надійшла до редколегії 02.08.2012

УДК 591.146:636.2

В. В. Цюпко, В. В. Цюпко

*Институт животноводства НААН Украины*

## **СОСТАВ МОЛОКА И ЗАКОНОМЕРНОСТИ СИНТЕЗА ЖИРА, БЕЛКА И ЛАКТОЗЫ В МОЛОКЕ КОРОВ**

Изучены изменения содержания жира, белка и лактозы в молоке коров в зависимости от ряда факторов, на основании которых рассматриваются закономерности синтеза основных компонентов молока. Синтез лактозы и казеина не имеет достаточно тесной связи, повышенный удой в период доминанты лактации и снижение его в конце лактации сопровождается заметным изменением концентрации лактозы в молоке, а объем продуцируемого молока определяется количеством лактозы, синтезированной в молочной железе.

В. В. Цюпко, В. В. Цюпко

*Институт тваринництва НААН України*

## **СКЛАД МОЛОКА ТА ЗАКОНОМІРНОСТІ СИНТЕЗУ ЖИРУ, БІЛКА ТА ЛАКТОЗИ У МОЛОЦІ КОРІВ**

Вивчено зміни вмісту жиру, білка та лактози в молоці корів залежно від низки чинників, на підставі яких розглядаються закономірності синтезу основних компонентів молока. Синтез лактози та казеїну не має достатньо тісного зв'язку, підвищений удій у період домінантної лактації та зниження його в кінці лактації супроводжується помітною зміною концентрації лактози в молоці, а обсяг продукovanого молока визначається кількістю лактози, синтезованої в молочній залозі.

V. V. Tsiupko, V. V. Tsiupko

*Institute of Animal Science NAAS of Ukraine*

## **COWS' MILK COMPOSITION AND REGULARITIES OF FAT, PROTEIN AND LACTOSE SYNTHESIS**

Changes in fat, protein and lactose content in cows' milk depending on several factors were studied. Common patterns of synthesis of the milk major components are under consideration on the basis of those changes. The syntheses of lactose and casein have no close connection. Increased milk yield during lactation dominant and its decrease in late lactation are accompanied by a noticeable change of lactose concentration in the milk. The volume of milk produced is determined by the amount of lactose synthesized in the mammary gland.

### **Введение**

Изучению состава и продукции молока посвящено огромное количество работ. Однако в большей их части изучено влияние уровня кормления и состава рациона на показатели состава молока у коров разных пород и в разных условиях содержания и доения [4; 8–11; 15]. Рассмотрение синтеза составных частей молока касается главным образом рассмотрения структуры клетки альвеолярного эпителия, поглощения предшественников молока выменем [2; 5–7; 12–14]. С точки зрения физико-химической

классификации молоко можно рассматривать как высокодисперсную систему. Высокодисперсное (коллоидное) состояние молока определяется свойствами воды. Являясь полярным веществом, вода обеспечивает возможность существовать и интенсивно двигаться в броуновском движении, независимо друг от друга, частицам дисперсной фазы (прежде всего мицеллам казеина и других белков). С точки зрения химии, молоко относится к золям (точнее, к гидрозолям), то есть к системе, обеспечивающей независимое друг от друга движение частиц, интенсивно передвигающихся в среде (в дисперсной среде) в процессе броуновского движения.

Коллоидное состояние допускает размеры частиц дисперсной фазы от 10 до 200 нм. Более мелкие молекулы (лактоза – 1,0–1,5 нм) находятся в растворе, а более крупные быстро выделяются из водной фазы как не способные к независимому броуновскому движению. В молоке частицы находятся в трех формах: молекулярно-ионные (лактоза и соли), коллоидные (белки) и взвешенные (жир) [3].

Формирование дисперсной среды (представленной раствором лактозы) и дисперсной фазы (состоящей из казеина, альбуминов и глобулинов) является объектом исследований закономерностей синтеза отдельных компонентов.

В данной работе изучены изменения содержания жира, белка и лактозы в молоке коров в зависимости от ряда факторов, на основании которых рассматриваются закономерности синтеза основных компонентов молока.

### **Материал и методы исследований**

Исследования проводили на основе определения содержания перечисленных компонентов в ежемесячных пробах молока коров опытного хозяйства «Кутузовка» Харьковского района Харьковской области. Молоко от каждой коровы отбирали во время контрольного доения. Доильные аппараты снабжены специальными приспособлениями для отбора средней пробы. В каждый цикл отбора проб в течение трех смежных дней отбирали 400–500 и более проб молока. Таким образом, ежемесячно анализировали достаточное количество проб для точной характеристики закономерностей изменения состава молока ввиду нивелирования влияния индивидуальных особенностей животных.

Анализ проб молока проводили в лаборатории экологического мониторинга и оценки качества продукции животноводства ИЖ НААНУ на приборе «Бентли» (Bentley-150 Comby). Полученные данные анализировали по следующим направлениям:

- оценка состава молока на «зимних» и «летних» рационах;
- влияние стадии лактации на состав молока;
- определение состава молока у коров с разным удоем.

Данные обработаны методами описательной статистики, проведен корреляционный анализ степени взаимосвязи отдельных показателей.

Кормление коров в опытном хозяйстве «Кутузовка» осуществлялось в соответствии с существующими нормами энергетического, протеинового и минерального питания и достаточно строго корректировалось с учетом фактической питательной ценности используемых кормов. Основу рационов в осенний и зимний периоды, а также ранней весной составляли консервированные корма (силос кукурузный, сенаж и сено). В летний период при достаточно высоком накоплении питательных веществ в зеленых растениях (зеленая масса озимых, люцерна, кукуруза) в течение июня – августа животные получали зеленую массу перечисленных кормов. Общий состав рационов корректировали концентратами в соответствии с составом основного грубого корма.

## Результаты и их обсуждение

Наиболее значимы различия молока на зимних и летних рационах по содержанию жира (табл. 1). Содержание жира в молоке на летних рационах могло снизиться вследствие изменения характера брожения в преджелудках коров. На летних рационах, богатых растворимыми углеводами, уменьшается содержание кетогенных ацетата и бутирата и увеличивается продукция пропионовой кислоты. Снижение продукции ацетата и бутирата как основных предшественников синтеза жирных кислот, видимо, является причиной снижения содержания жира в молоке в летний период [1].

Таблица 1

Состав молока коров на зимних и летних рационах

Показатели		Зима, $M \pm m$ ( $n = 4463$ )	Лето, $M \pm m$ ( $n = 1875$ )	Лето/зима, %
Суточный удой, кг		$16,63 \pm 0,090$	$16,95 \pm 0,153$	101,9
Состав молока, %	жир	$3,45 \pm 0,010$	$3,26 \pm 0,013$	94,3***
	белок	$3,32 \pm 0,005$	$3,32 \pm 0,008$	99,9
	лактоза	$4,98 \pm 0,005$	$4,88 \pm 0,007$	98,1**

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Содержание белка и жира в молоке закономерно увеличивалось к концу лактации, а содержание лактозы – снижалось (табл. 2). Таким образом, в разгар, или в период доминанты лактации, имеет место повышенный синтез лактозы, а в конце лактации, перед запуском, синтез лактозы снижается. Следовательно, состояние дисперсной среды в течение лактации изменяется, обеспечивая благоприятные условия существования всей полидисперсной системы, каковой является молоко.

Таблица 2

Состав молока ( $M \pm m$ ) коров на разных стадиях лактации

Характеристика	Продолжительность периода после отела, дней						
	14–30 ( $n = 44$ )	31–80 ( $n = 717$ )	81–150 ( $n = 1368$ )	151–305 ( $n = 2835$ )	306–500 ( $n = 1374$ )	в целом ( $n = 6338$ )	
Возраст (в лактациях)	$3,39 \pm 0,29$	$3,15 \pm 0,07$	$3,09 \pm 0,05$	$2,97 \pm 0,03$	$2,53 \pm 0,05$	$2,92 \pm 0,02$	
Суточный удой, кг	$21,69 \pm 1,09$	$20,80 \pm 0,25$	$19,33 \pm 0,17$	$16,05 \pm 0,10$	$13,23 \pm 0,13$	$16,72 \pm 0,78$	
Содержание в молоке, %	жира	$3,12 \pm 0,09$	$3,28 \pm 0,02$	$3,27 \pm 0,02$	$3,40 \pm 0,01$	$3,58 \pm 0,02$	$3,40 \pm 0,01$
	белка	$3,04 \pm 0,05$	$3,05 \pm 0,01$	$3,19 \pm 0,01$	$3,36 \pm 0,01$	$3,53 \pm 0,01$	$3,32 \pm 0,01$
	лактозы	$5,08 \pm 0,04$	$5,05 \pm 0,01$	$4,99 \pm 0,01$	$4,92 \pm 0,01$	$4,90 \pm 0,01$	$4,95 \pm 0,01$
Продукция в суточном удое, г	жира	$661,0 \pm 30,5$	$671,0 \pm 8,1$	$622,7 \pm 5,5$	$535,3 \pm 3,5$	$467,0 \pm 4,6$	$555,6 \pm 2,5$
	белка	$654,3 \pm 32,6$	$630,3 \pm 7,5$	$611,6 \pm 5,3$	$534,1 \pm 3,3$	$463,6 \pm 4,4$	$547,3 \pm 2,4$
	лактозы	$1101,9 \pm 56,8$	$1051,9 \pm 12,7$	$967,7 \pm 8,7$	$793,1 \pm 5,3$	$652,1 \pm 6,7$	$831,6 \pm 4,0$

Анализ состава молока коров различной продуктивности (табл. 3) свидетельствует о том, что с увеличением удоя концентрация жира и белка в молоке закономерно снижается, а содержание лактозы – увеличивается. Наиболее интересными являются изменения в содержании лактозы. Эти изменения в общем невелики (4,79–5,05 %) и мало отражаются на суммарной продукции.

Существует прямая связь между содержанием лактозы и удоем (рис.). Таким образом, в молочной железе достаточно точно подготавливается дисперсная среда для выделения и существования в ней и дисперсионной фазы подвижных белков (казеин, альбумины, глобулины), и нерастворенных глобул жира. Можно считать, что количество продуцированного молока определяется количеством синтезированной в эпителиальных клетках альвеол лактозы.



Таблица 3

Состав молока, продукция жира, белка и лактозы ( $M \pm m$ ) у коров с разным удоем

Характеристика	Суточный удой, кг						
	5–10 (n = 1077)	11–15 (n = 1723)	16–22 (n = 24545)	23–27 (n = 746)	28–35 (n = 312)	36–42 (n = 26)	
Возраст (в отелах)	3,4 ± 0,05	2,9 ± 0,04	2,7 ± 0,04	2,8 ± 0,06	3,2 ± 0,09	3,2 ± 0,26	
Дней лактации	274,2 ± 3,4	248,1 ± 2,7	199,3 ± 2,0	150,6 ± 3,2	111,2 ± 3,7	96,3 ± 14,7	
Содержание в молоке, %	жира	3,70 ± 0,02	3,52 ± 0,02	3,30 ± 0,01	3,17 ± 0,02	3,01 ± 0,03	2,85 ± 0,05
	белка	3,49 ± 0,01	3,41 ± 0,01	3,27 ± 0,01	3,15 ± 0,01	3,07 ± 0,02	3,00 ± 0,05
	лактозы	4,79 ± 0,01	4,94 ± 0,01	4,99 ± 0,01	5,00 ± 0,01	5,02 ± 0,01	5,05 ± 0,04
Продукция в суточном удое, г	жира	296,3 ± 2,34	461,1 ± 2,17	618,4 ± 2,43	776,8 ± 5,08	906,8 ± 8,70	1070,8 ± 21,0
	белка	280,2 ± 1,94	446,6 ± 1,51	613,0 ± 1,61	771,3 ± 3,08	923,4 ± 5,88	1128,7 ± 21,2
	лактозы	386,2 ± 2,63	649,0 ± 2,00	937,4 ± 2,23	1226,9 ± 3,37	1510,9 ± 6,21	1896,1 ± 21,1

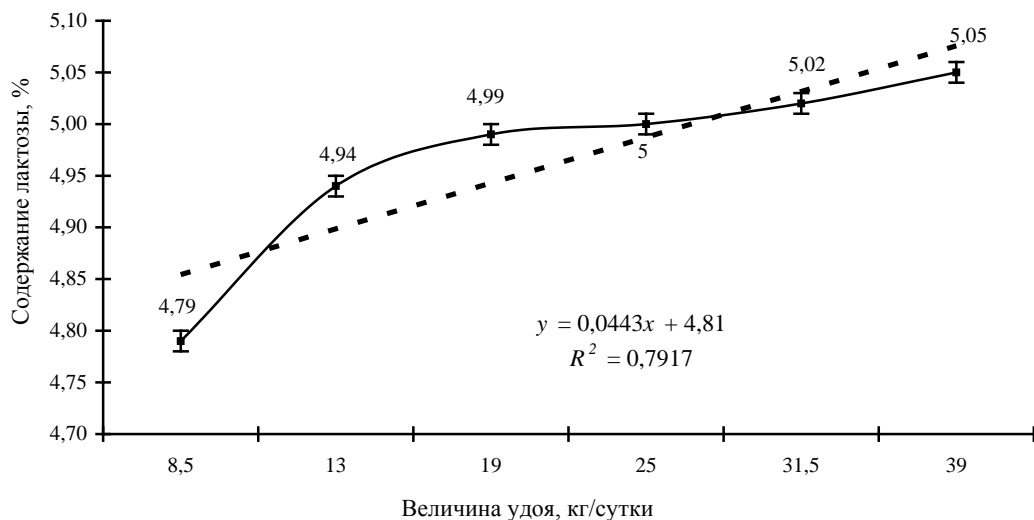


Рис. Связь между величиной удоя и содержанием лактозы

Коррелятивные связи между основными компонентами и удоем выражены слабо или являются недостоверными (табл. 4). Для жира и белка во всех случаях корреляции с удоем были отрицательными, для лактозы – положительными. Не только направленность, но и величины связи близки как в среднем по всему массиву данных, так и по данным, полученным по молоку от коров на зимних (кормление консервированными кормами – силос, сенаж, сено) и летних рационах (зеленая масса ранних озимых, люцерна, зеленая кукуруза). Таким образом, данные корреляционного анализа указывают на прямую связь между удоем и концентрацией лактозы в молоке.

Таблица 4

## Коррелятивные связи между содержанием основных компонентов молока и величиной удоя

Характеристики	По всему массиву	На зимних рационах	На летних рационах
Удой – жир	-0,32	-0,34	-0,35
Удой – белок	-0,35	-0,32	-0,40
Удой – лактоза	0,22	0,27	0,28
Жир – белок	0,27	0,31	0,28
Жир – лактоза	-0,07	-0,11	-0,12
Белок – лактоза	-0,19	-0,22	-0,16

Синтез белка в альвеолярном эпителии производится рибосомами с последующим насыщением казеина кальцием и фосфором в аппарате Гольджи. Синтез лактозы (как преобразование глюкозы в галактозу, так и конденсация глюкозы и галактозы) полностью происходит в аппарате Гольджи. Молекула лактозы выходит через мембранный аппарат в содержимое клетки и через клеточную мембрану поступает в содержимое альвеолы. Мицеллы казеина выходят из систем аппарата Гольджи, окруженные плазматической мембраной, и попадают в альвеолярную полость через апикальный конец клетки секреторного эпителия [2].

Концентрация жира в молоке у низкопродуктивных животных повышена, однако общая продукция жира ниже, чем у коров с высоким удоем. Видимо, изменения продукции жира при этом в наибольшей степени связаны со скоростью кровотока и доставкой жира. Известно, что одним из основных регуляторов лактации является гормон гипофиза пролактин, действующий на уровне изменений кровотока и проницаемости мембран для глюкозы. Исходя из этого можно считать, что пролактин является гормоном, регулирующим поступление глюкозы и жирных кислот в молочную железу.

Интересные данные получены нами при изучении состава молока разных порций удоя [5]. В цистернальной порции молока, выделяемой в начале доения, содержание лактозы составляет  $4,30 \pm 0,11$  %, жира –  $1,84 \pm 0,12$  %, а белка –  $3,06 \pm 0,05$  %. В альвеолярной порции, полученной после стимуляции вымени по окончании обычного доения, содержание лактозы осталось практически тем же, содержание жира достигло  $6,97 \pm 0,27$  %, а белка снизилось до  $2,85 \pm 0,03$  %. Содержание лактозы в общем было близким к величинам, полученным по всему удою. Это говорит о непрерывной «работе» лактозосинтезирующей системы, находящейся в аппарате Гольджи секреторной клетки. Содержание белка в молоке в данном исследовании было низким во всех порциях удоя и мало различалось в разных порциях. Как отмечалось, синтез молекулы казеина производится рибосомами (полисомами) с последующим включением ионов кальция и фосфора также в аппарате Гольджи. Низкое содержание белка при обычном содержании лактозы указывает на разное место воздействия на синтез в клетке и разные пути регуляции синтеза лактозы и казеина.

Сравнительно высокое содержание в молоке лактозы как основного элемента дисперсионной среды коллоида происходит независимо от того, какое количество элементов дисперсной фазы (казеин, альбумины, глобулины) будет выделено в молоко. Удой (количество продуцированного молока) таким образом зависит от продукции лактозы, независимо от количества дисперсной фазы – белков, поступающих из эпителиальной клетки. Из приведенных данных можно заключить, что синтез лактозы является, во-первых, относительно независимым от синтеза белка и жира, и во-вторых, количество синтезированной лактозы определяет величину удоя. Содержание жира, не входящего в коллоидную систему, в большей степени зависит от поступления жирных кислот из крови и синтеза их в самой молочной железе.

### **Выводы**

Синтез основных специфических компонентов молока – лактозы и казеина – не имеет достаточно тесной связи.

Регуляция уровня молочной продуктивности (повышенный удой в период доминанты лактации и снижение его в конце лактации) сопровождается заметным изменением концентрации лактозы в молоке: повышенной концентрацией в период максимальных удоев и пониженной в конце лактации.

Объем продуцируемого молока определяется количеством лактозы, синтезированной в молочной железе.

### Библиографические ссылки

1. **Вудмаска І. В.** Метаболізм у рубці та його вплив на жирнокислотний склад ліпідів молока корів за різного вуглеводного і ліпідного складу раціону: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – Львів : Ін-т біології тварин, 2008. – 38 с.
2. **Грачев И. И.** Цитофизиология секреции молока / И. И. Грачев, С. М. Попов, В. П. Скопичев. – Л. : Наука, 1976. – 24 с.
3. **Инихов Г. С.** Биохимия молока и молочных продуктов. – М. : Пищ. пром-сть, 1970. – 317 с.
4. **Крейлис М. Л.** Физиология молокоотдачи и практика доения коров: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – Харьков, 1987. – 32 с.
5. **Янович В. Г.** Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин / В. Г. Янович, Л. І. Сологуб. – Львів : Триада плюс, 2000. – 384 с.
6. **Bauman D. E.** Nutritional regulation of milk fat synthesis / D. E. Bauman, J. M. Griinari // *Ann. Rev. Nutr.* – 2003. – Vol. 23. – P. 203–227.
7. **Bauman D. E.** Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis / D. E. Bauman, K. J. Harvatine, A. L. Lock // *Annual Review of Nutrition.* – 2011. – Vol. 31. – P. 299–319.
8. **Early** lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival / F. Toni, L. Vincenti, L. Grigoletto et al. // *J. Dairy Sci.* – Vol. 94, N 4. – P. 1772–1783.
9. **Effect** of restricted access time to pasture on dairy cow milk production, grazing behavior, and dry matter intake / E. Kennedy, M. McEvoy, J. P. Murphy, M. O'Donovan // *J. Dairy Sci.* – 2009. – Vol. 92. – P. 168–176.
10. **Lefevre C. M.** Evolution of lactation: Ancient origin and extreme adaptations of the lactation system / C. M. Lefevre, J. A. Sharp, K. R. Nicholas // *Annual Review of Genomics and Human Genetics.* – 2010. – N 11. – P. 219–238.
11. **Prediction** of energy balance in a high yielding dairy herd in early lactation: Model development and precision / C. Heuer, W. M. van Straalen, Y. H. Schukken et al. // *Livest. Prod. Sci.* – 2000. – Vol. 65. – P. 91–105.
12. **Relationship** of early lactation and bovine somatotropin on nutrient uptake by cow mammary glands / P. S. Miller, B. L. Reis, C. C. Calvert et al. // *J. Dairy Sci.* – 1991. – Vol. 74, N 11. – P. 3800–3806.
13. **Seasonal** variation in the Dutch bovine raw milk composition / J. M. L. Heck, H. J. F. van Valenberg, J. Dijkstra, A. C. M. van Hooijdonk // *J. Dairy Sci.* – 2009. – Vol. 92, N 10. – P. 4745–4755.
14. **The effect** of supplementary protein on *in vivo* metabolism of the mammary gland in lactating dairy cows / J. A. Metcalf, J. D. Sutton, D. Wray-Cahen et al. // *J. Dairy Sci.* – 1994. – Vol. 77, N 7. – P. 2081–2090.
15. **Weiss W. P.** Use of a corn milling product in diets for dairy cows to alleviate milk fat depression // *J. Dairy Sci.* – 2012. – Vol. 95. – P. 2081–2090.

Надійшла до редколегії 14.07.2012

## ЗМІСТ

<b>Алсібай О. В., Полушкін П. М., Бессонова І. Є., Шевченко І. І.</b> Шляхи вдосконалення окремих методик фізіотерапії, що використовуються під час медичної реабілітації .....	3
<b>Більчук В. С., Россихіна-Галича Г. С.</b> Аскорбат-глутатионова система захисту рослин кукурудзи в умовах дії іонів нікелю .....	9
<b>Бойко О. О.</b> Сезонна динаміка чисельності нематод копитних природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» .....	15
<b>Воронкова О. С., Сірокваша О. А., Полішко Т. М., Вінніков А. І.</b> Перспективи використання діагностичних та лікувальних препаратів бактеріофагів у медицині .....	20
<b>Дяченко М. В., Борбуляк І. З., Білько Д. І., Перехрестенко Т. П., Третяк Н. М., Дягіль І. С., Білько Н. М.</b> Зв'язок функціональної активності клітин-попередників кісткового мозку при хронічній мієлоїдній лейкемії з індивідуальною відповіддю на терапію .....	26
<b>Жерноскова І. В.</b> Фізіологічна активність біопрепаратів стрептоміцету та комерційних препаратів відносно рослин квасолі ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) .....	32
<b>Іскра Р. Я.</b> Антиоксидантна система та азотистий обмін у крові кроликів за дії хлориду хрому .....	37
<b>Корженевська О. Р., Севериновська О. В.</b> Оцінка стану серцево-судинної системи машиністів локомотивів .....	42
<b>Макарчук В. А., Ушакова Г. О.</b> Динаміка зміни показників системи ПОЛ-АОЗ, вуглеводного та ліпідного обміну в крові експериментальних щурів при переході гострого панкреатиту у хронічну форму .....	48
<b>Моцний М. П., Боцьва Н. П., Єліна О. В., Уланова Є. А.</b> Вплив локального рентгенівського опромінення на біоелектричну активність листя кукурудзи .....	54
<b>Попель С. Л.</b> Будова та кровопостачання I <sub>2</sub> -s <sub>2</sub> дорзальних корінців спинного мозку щурів різного віку .....	60
<b>Русев І. Т., Закусило В. Н.</b> Эпидемические вспышки и эпизоотии туляремии как последствия авиационных бомбардировок в Косове .....	71
<b>Сухаренко О. В., Новіцький Р. О., Недзвецький В. С.</b> Використання біомаркерів мозку донних риб для оцінки забруднення Керченської протоки Чорного моря .....	81
<b>Сущенко І. Г., Лещук О. М., Дрегваль І. В., Руденко А. І.</b> Зміни показників реогепатограми при збільшенні концентрації NO в організмі щурів .....	89
<b>Цюпко В. В., Цюпко В. В.</b> Состав молока и закономерности синтеза жира, белка и лактозы в молоке коров .....	96
<b>ЗМІСТ</b> .....	102

**ВІСНИК ДНІПРОПЕТРОВСЬКОГО  
УНІВЕРСИТЕТУ**

***Біологія. Медицина***

Заснований у 1993 р.

Випуск 3 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 14.10.2012. Формат 70×108 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Папір друкарський. Друк плоский.  
Ум. друк. арк. 9,1. Ум. фарбовідб. 9,1. Обл.-вид. арк. 9,8. Тираж 100 пр. Вид. № 1751.  
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

*Друкується за рішенням вченої ради  
Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара  
згідно з планом видань на 2012 рік*

**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. Гасо; 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. Дюдюн; д-р. мед. наук, проф. Т. М. Єрошкіна; д-р біол. наук, проф. В. М. Зверковський; д-р мед. наук, проф. Г. М. Кременчуцький; канд. біол. наук, ст. н. с. А. Ф. Кулик; д-р мед. наук, проф. Ф. Й. Куликова; д-р біол. наук, проф. Ю. В. Лихолат; д-р мед. наук, проф. О. Є. Лоскутов; д-р біол. наук, проф. В. П. Ляшенко; канд. біол. наук, проф. О. Б. Мурзін; д-р біол. наук, проф. Л. П. Мицик; д-р біол. наук, проф. В. С. Недзвецький; канд. мед. наук, доц. Н. М. Поліон; канд. біол. наук, доц. Т. М. Полішко; д-р біол. наук, проф. Т. М. Сатарова; д-р біол. наук, проф. О. В. Севериновська; д-р мед. наук, проф. О. П. Татаровський; д-р мед. наук, проф. С. М. Тимчук; чл.-кор. НАНУ, д-р біол. наук, проф. А. П. Травлєєв; 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, 2012

© Видавництво Дніпропетровського  
університету, оформлення, 2012

Для нотаток