

Міністерство освіти і науки України

ВІСНИК



*Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна*

*Серія "Біологія"
Випуск 27*

Харків-2016

ISSN 2075-5457

Міністерство освіти і науки України

ВІСНИК

*Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна*

Серія "Біологія"

Випуск 27

Започаткований у 1970 р.

THE JOURNAL

of V. N. Karazin Kharkiv

National University

Series "Biology"

Issue 27

Founded in 1970

Харків-2016

ЗМІСТ *** CONTENT

*** БІОХІМІЯ *** BIOCHEMISTRY ***

Ганусова Г.В., Охріменко С.М. Вплив хлориду кадмію на деякі біохімічні показники печінки, сім'яників та надниркових залоз щурів.....	5
Коновалова О.С., Бабій С.О., Штеменко О.В., Штеменко Н.І. Вплив системи Реній-Платина на біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв	11

*** БОТАНІКА ТА ЕКОЛОГІЯ РОСЛИН *** BOTANY AND PLANT ECOLOGY ***

Блінкова О.І., Лавров В.В., Сагдєєва Т.Ю., Житовоз А.В., Березніченко Ю.Г. Еколого-фітоценотичні особливості антропогенних змін урочища «Голендерня».....	19
Махія Л.М. Угруповання <i>Bidentif frondosae–Bidentetum connatae</i> ass. nova (поширення, еколого-ценотична характеристика).....	31

*** ГЕНЕТИКА *** GENETICS ***

Багацька Н.В., Дєєнкова І.Г., Начьотова Т.А. Обтяжений сімейний анамнез – фактор ризику формування порушень менструальної функції у дівчат-підлітків.....	39
Безуглая Е.Н. Мета-аналіз асоціації <i>T102C</i> поліморфізму гена <i>HTR2A</i> рецептора 5-НТ _{2A} с шизофренією.....	46
Герман Е.Ю., Дикая Л.Д., Эткало Е.Н., Гаркуша Е.А. Влияние метионина на радиобиологическую реакцию клеток корневой меристемы проростков лука <i>Allium cepa</i> L.	51
Шкарупа В.М. Цитогенетичний аналіз антимутагенної дії лігногумату натрію при індукції мутацій мітоміцином С в <i>Allium</i> -тесті.....	58

*** ЗООЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ *** ZOOLOGY AND ECOLOGY ***

Жуков А.В., Кунах О.Н., Новикова В.А. Пространственная организация сообщества мезопедобионтов дерново-борової почвы на арене р. Днепр.....	63
Токарский В.А., Грубник В.В., Токарская Н.В. Особенности биологии и морфологии обыкновенной лисицы <i>Vulpes vulpes</i> L. (1758) в Харьковской области.....	80

*** КРІОБІОЛОГІЯ *** CRYOBIOLOGY ***

Трутаева И.А., Киروشка В.В., Гавас А.А., Бондаренко В.А. Значение эмбриональной телячьей сыворотки в составе гиперосмолярных растворов 1,2-пропандиола для сохранения морфологической целостности овариальной ткани.....	91
---	----

*** ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН *** PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ***

Бильченко О.С., Оспанова Т.С., Веремеенко О.В., Красовская Е.А., Бильченко А.А. Этиология и факторы риска внебольничной пневмонии.....	99
Дунаєвська О.Ф. Морфологічні зміни селезінки під впливом різноманітних чинників.....	106
Жегунов Г.Ф., Баєва Т.І., Васіліна К.Г. Метаболічний профіль сироватки крові спортивних коней української верхової породи в умовах фізичного та емоційного навантаження.....	125

Pohorila M.S., Popov M.M., Romanova O.A., Sherbak O.M., Martinov A.V. Dynamics of hematopoiesis regulators content in bone marrow under the poultry embryonic tissue extract usage for the radiation-caused immune damage correction.....	131
Скубицька Л.Д., Севериновська О.В. Комплексний аналіз показників крові та кислотоутворююча функція шлунка при захворюваннях гепатобіліарної системи з супутніми патологіями	139
Ткачов О.В., Шеремета В.І. Вплив фізіологічної кількості кишкової палички на ефективність кріоконсервування сперми жеребців.....	150

*** ФІЗИОЛОГІЯ РОСЛИН *** PLANT PHYSIOLOGY ***

Пушкарьова Н.О., Каліста М.С., Белокурова В.Б., Кучук М.В. Отримання культури рослин <i>in vitro</i> зникаючого виду <i>Crambe steveniana</i> та вивчення впливу асептичних умов культивування на їх біохімічний склад.....	155
--	-----

*** КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ *** BRIEF COMMUNICATIONS ***

Си У, Корниенко Е.М., Плотников А.Д., Пырина И.С., Кот Е.В., Кот Ю.Г., Перский Е.Э. Влияние длительного введения <i>in vivo</i> низких доз Co^{2+} на гемолиз эритроцитов.....	163
---	-----

*** ІНФОРМАЦІЯ *** INFORMATION ***

Правила для авторів	167
----------------------------------	-----

••• БІОХІМІЯ ••• BIOCHEMISTRY •••

УДК: [577.121+577.152.2]:57.044

Вплив хлориду кадмію на деякі біохімічні показники печінки, сім'яників та надниркових залоз щурів Г.В.Ганусова, С.М.Охріменко

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)
g.ganusova@karazin.ua; s.okhrimenko@karazin.ua*

Досліджено вплив хронічного (1 мкг/кг маси тіла, 28 діб), одноразового – 0,6 мг/кг і поєданого введення хлориду кадмію на вміст білка, ТБК-реагуючих продуктів, тиолових груп у сім'яниках і надниркових залозах, а також на активність ферменту тирозинамінотрансферази у печінці щурів. Маса надниркових залоз підвищилася при введенні хлориду кадмію хронічно (1 мкг/кг, 28 діб), а маса сім'яників не змінилася у всіх досліджуваних групах. Збільшення маси надниркових залоз спостерігається, як правило, при тривалому впливі стресових факторів. Після введення хлориду кадмію у дозі 0,6 мг/кг на тлі хронічного введення CdCl₂ виявлено підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів (121%) у сім'яниках, а також зниження вмісту небілкових тиолових груп (63%) у надниркових залозах щурів; в інших експериментальних групах не встановлено достовірних змін цих показників. При надходженні солей кадмію до організму зростання вмісту ТБК-реагуючих продуктів та зниження вмісту тиолів у досліджуваних залозах свідчать про порушення балансу в системі прооксиданти-антиоксиданти. Активність тирозинамінотрансферази печінки підвищувалась у тварин усіх експериментальних груп, що може свідчити про стресорну дію сполук кадмію.

Ключові слова: кадмій, надниркові залози, сім'яники, печінка, ТБК-реагуючі продукти, тиолові групи, тирозинамінотрансфераза.

Effect of cadmium chloride on some biochemical parameters of liver, testes and adrenal glands of rats G.V.Ganusova, S.M.Okhrimenko

The effect of chronic (1 mg/kg of body weight, 28 days), single – 0.6 mg/kg of b. w. and combined administration of cadmium chloride on protein level and content of TBA-reactive products and thiol groups in testes and adrenal glands, as well as tyrosine transaminase activity of rat liver was investigated. Adrenal glands weight increased when cadmium chloride administered chronically (1 mg/kg, 28 days), and testes mass did not change in all groups. Increased adrenal glands mass is usually observed at prolonged exposure to stress factors. After administration of cadmium chloride at a dose of 0.6 mg/kg, with chronic administration of CdCl₂ there were revealed elevated levels of TBA-reactive products (121%) in testes, as well as reduced content of non-protein thiol groups (63%) in adrenal glands of rats, in other experimental groups significant changes of studied parameters were not found. When a salt of cadmium enters the body, increase of TBA-reactive products content and reduction of thiols in investigated glands indicate an imbalance in the system of prooxidants-antioxidants. Activity of liver tyrosine transaminase was increased in animals of all experimental groups, which may indicate stress effect of cadmium compounds.

Key words: cadmium, adrenal glands, testes, liver, TBA-reactive products, thiol group, tyrosine transaminase.

Влияние хлорида кадмия на некоторые биохимические показатели печени, семенников и надпочечников крыс Г.В.Ганусова, С.М.Охріменко

Исследовано влияние хронического (1 мкг/кг массы тела, 28 суток), однократного – 0,6 мг/кг и сочетанного введения хлорида кадмия на содержание белка, ТБК-реагирующих продуктов, тиоловых групп в семенниках и надпочечниках, а также на активность фермента тирозинамінотрансферазы в печени крыс. Масса надпочечников повысилась при введении хлорида кадмия хронически (1 мкг/кг, 28 дней), а масса семенников не изменилась во всех исследуемых группах. Увеличение массы надпочечников наблюдается, как правило, при длительном воздействии стрессовых факторов. После введения хлорида кадмия в дозе 0,6 мг/кг на фоне хронического введения CdCl₂ выявлено повышение содержания ТБК-реагирующих продуктов (121%) в семенниках, а также снижение содержания

небелковых тиоловых групп (63%) в надпочечниках крыс; в других экспериментальных группах не установлено достоверных изменений этих показателей. При поступлении солей кадмия в организм увеличение содержания ТБК-реагирующих продуктов и снижение содержания тиолов в исследуемых железах свидетельствуют о нарушении баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты. Активность тирозинаминотрансферазы печени повышалась у животных всех экспериментальных групп, что может свидетельствовать о стрессорном действии соединений кадмия.

Ключевые слова: кадмий, надпочечники, семенники, печень, ТБК-реагирующие продукты, тиоловые группы, тирозинаминотрансфераза.

Вступ

Кадмій – один із найпоширеніших токсикантів навколишнього середовища, що потрапляє туди при промисловому виробництві даного металу, продукції нікель-кадмієвих батарей, пігментів, пластика та інших синтетичних продуктів. В організм людини кадмій надходить з атмосфери, з водою, їжею, а також при палінні з тютюновим димом. Небезпека цього металу полягає в тому, що при надходженні в організм він дуже повільно виводиться і, як наслідок, накопичується у тканинах (Давыдова, Тагась, 2002). Головними мішенями даного металу є печінка та нирки, ендокринні та інші органи (Sharma et al., 2014). Токсичні ефекти кадмію залежать від кількості і тривалості надходження. Всесвітня організація охорони здоров'я встановила показник тимчасового припустимого споживання кадмію в середньому 1 мкг/кг маси тіла людини на добу. Летальна разова доза кадмію – 350–3500 мг (Лудевиг, Лос, 1983). Гостре харчове отруєння кадмієм спостерігається при надходженні великих разових доз з їжею (15–30 мг) або з водою (13–15 мг). Токсична дія іонів кадмію пов'язана з його впливом на компоненти клітин, молекули клітинних органел і мембран (Куценко, 2004). Один із механізмів токсичної дії іонів кадмію полягає у його здатності підсилювати вільнорадикальні процеси, що призводить до утворення надлишкової кількості активних форм кисню (АФК), посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і розвитку оксидативного стресу (Liu, 2009; Sharma et al., 2014).

При досить великій кількості робіт, присвячених вивченню дії важких металів на організм, малодослідженими є механізми адаптації до хронічної інтоксикації низькими, допустимими дозами важких металів і можливість формування стійкості до більш високих доз. Раніше нами було показано, що введення хлориду кадмію в дозі 0,6 мг/кг викликало збільшення вмісту ТБК-реагуючих продуктів у печінці щурів і не змінювало цей показник при попередньому тривалому введенні цієї солі в дозі 1 мкг/кг (Охріменко та ін., 2014). Збереження гомеостазу та формування адаптивних змін метаболізму при надходженні токсикантів у організм забезпечується системою нейрогуморальної регуляції, в якій важливе місце займають стероїдні гормони. Одним з індикаторів активації системи нейрогуморальної регуляції виступає фермент тирозинаминотрансфераза (ТАТ), що має в печінці індукцибельну форму, яка знаходиться під контролем глюкокортикоїдів.

У зв'язку з цим метою даної роботи було дослідження тривалого введення малих доз іонів кадмію, одноразового введення підгострої дози, їх поєднаного впливу на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу у сім'яниках і надниркових залозах щурів, а також активність гормончутливого ферменту тирозинаминотрансферази печінки.

Об'єкти та методи дослідження

У роботі були використані щури-самці лінії Wistar масою 180–240 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію Харківського національного університету. Тварини були розділені на 4 групи: 1 – контроль, тваринам вводилася вода протягом 28 діб; 2 – тварини, яким вводився розчин хлориду кадмію в дозі 1 мкг/кг протягом 28 діб; 3 – тварини, які отримали одноразову дозу розчину хлориду кадмію в дозі 0,6 мг/кг за добу до декапітації на тлі тривалого введення води; 4 – тварини, які отримали одноразову дозу розчину хлориду кадмію в дозі 0,6 мг/кг за добу до декапітації на тлі тривалого введення малих доз хлориду кадмію. Вода і розчини солі вводилися за допомогою зонда. На 29 добу щурів декапітували з використанням легкого ефірного наркозу. Сім'яники (0,7 г) і надниркові залози (50–60 мг) відокремлювали від жиру і гомогенізували в 2,5 і 1,1 мл 0,1 М Na⁺,K⁺-фосфатного буфера (рН=7). Печінку перфузували, готували 20% гомогенат на 0,02 М фосфатному буфері рН=7,6. У гомогенатах сім'яників і надниркових залоз визначали вміст ТБК-реагуючих продуктів спектрофотометрично (532 нм) і виражали в нмоль МДА/мг білка (Mirana et al., 1980); також в цих гомогенатах визначали вміст загальних і небілкових SH-груп за допомогою реактиву Елмана спектрофотометрично (412 нм) і виражали у мкмоль/мг білка (Северин, Соловьева, 1989). Активність тирозинаминотрансферази визначали в гомогенаті печінки за

допомогою кольорової реакції на пара-оксифенілпіруват і виражали в нмоль п-ОФП/мг білка (Schepard, 1969). Вміст білка у гомогенатах визначали методом Лоурі у модифікації Міллера (Miller, 1959). Статистичну обробку результатів проводили із використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та обговорення

Надниркові залози і сім'яники є життєво важливими ендокринними органами, що беруть участь у адаптивних реакціях на стрес. При введенні хлориду кадмію (табл. 1) в дозі 0,6 мг/кг і хронічно (1 мг/кг, 28 діб) маса сім'яників не змінилася, а маса надниркових залоз підвищилася при тривалому введенні хлориду кадмію (група 2, 118%). Збільшення маси надниркових залоз (гіпертрофія і гіперплазія) спостерігається при хронічному впливі стресових факторів і супроводжується підвищенням концентрації глюкокортикоїдів у плазмі крові (Harvey, 2016; Ulrich-Lai et al., 2006).

Таблиця 1.

Маса органів та вміст білка у сім'яниках та надниркових залозах щурів при введенні хлориду кадмію (n=6–8)

Органи	1 група	2 група	3 група	4 група
Маса органів: сім'яники (г), надниркові залози (мг)				
Сім'яники	3,13 ± 0,35	3,21 ± 0,32	2,92 ± 0,43	3,26 ± 0,4
Надниркові залози	29,6 ± 3,9	35,0 ± 5,6*	29,7 ± 4,1	29,4 ± 4,5
Вміст білка (мг/ мл)				
Сім'яники	98,7 ± 12,7	113,3 ± 22,7	93,8 ± 16,1	93,7 ± 14,3
Надниркові залози	18,0 ± 3,1	21,6 ± 7,1	18,8 ± 3,8	19,2 ± 3,4

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.

При введенні хлориду кадмію вміст загального білка в сім'яниках і надниркових залозах достовірно не змінився (табл. 1). Однак, при хронічному введенні хлориду кадмію (група 2) показники вмісту білка у сім'яниках і надниркових залозах перевищували значення контролю (115% і 120% відповідно), у цій групі відзначена висока варіабельність результатів. Збільшення вмісту білка у досліджуваних ендокринних тканинах, як правило, пов'язане із синтезом білків-ферментів, які беруть участь у стероїдогенезі (Теппермен, Теппермен, 1989).

Важливою характеристикою функціонального стану різних ендокринних тканин є їх прооксидантно-антиоксидантний стан. Раніше було показано, що вплив кадмію (гострий та хронічний) супроводжується утворенням АФК, активацією ПОЛ в еритроцитах і органах (печінка, нирки, легені, мозок і сім'яники) і, як результат, призводить до оксидативного пошкодження ліпідів, білків і ДНК (El-Refaiy, Eissa, 2013). Недавні дослідження показали, що надниркові залози особливо чутливі до токсичного впливу кадмію (Alkhedaide et al., 2016).

У даній роботі показано (табл. 2), що через добу після введення хлориду кадмію в дозі 0,6 мг/кг на тлі тривалого введення CdCl₂ виявлено підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів (121% до контролю) у сім'яниках щурів, що свідчить про прооксидантну дію кадмію. В інших експериментальних групах не встановлено достовірних змін досліджуваного показника. У ряді робіт (El-Refaiy, Eissa, 2013; Siu et al., 2009) продемонстровані пошкодження сім'яників, що індуковані кадмієм (у дозах від 3 до 5 мг/кг): зниження ваги сім'яників, порушення гемато-тестикулярного бар'єру, набряк та крововиливи, некроз, зменшення кількості зародкових клітин і стерильність. Тестикулярна токсичність кадмію супроводжувалася зниженням рівня експресії ферментів стероїдогенезу і концентрації тестостерону у сироватці крові (Alkhedaide et al., 2016; El-Refaiy, Eissa, 2013; Sen Gupta et al., 2004). Слід відзначити, що у більшості робіт використовувалися високі дози солей кадмію, що значно перевищували гранично допустимі. У нашому експерименті показано, що тривале введення солі кадмію (1 мг/кг) та однократне введення більш високої дози (0,6 мг/кг) не викликало змін вмісту ТБК-реагуючих продуктів у сім'яниках і надниркових залозах щурів, що може відображати відносну безпеку цих концентрацій кадмію та ефективність захисних систем організму тварин.

Кадмій не є редокс-активним металом. Однак, він може стимулювати синтез АФК шляхом впливу на тіол-дисульфідний обмін у тканинах (Alkhedaide et al., 2016; Sharma et al., 2014). При хронічному введенні низьких доз хлориду кадмію (табл. 3, група 2) відзначено незначне зниження

вмісту загальних тілових груп у сім'яниках щурів (84%), в інших досліджуваних групах цей показник не змінився. Однак, після введення хлориду кадмію у дозі 0,6 мг/кг на тлі тривалого введення CdCl₂ відзначено достовірне зниження вмісту небілкових тілових груп (63%) у надниркових залозах щурів. Згідно з даними літератури, кадмій викликає розвиток оксидативного стресу шляхом зв'язування сульфгідрильних груп білків, зниження концентрації відновленого глутатіону та активності антиоксидантних ферментів (Sen Gupta et al., 2004; Sharma et al., 2014; Valko, 2005). У надниркових залозах та сім'яниках утворення АФК відбувається в процесі їх функціональної активності, що пов'язано із синтезом стероїдних гормонів. Для цих тканин характерний високий рівень як ферментативної, так і неферментативної ланки антиоксидантного захисту. Однак, при тривалому надходженні хлориду кадмію, можливо, відбувається накопичення металу, порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Таблиця 2.

Вміст ТБК-реагуючих продуктів у сім'яниках та надниркових залозах щурів при введенні хлориду кадмію, нмоль МДА/ мг білка (n=6–8)

Органи	1 група	2 група	3 група	4 група
Сім'яники	0,28 ± 0,05	0,26 ± 0,07	0,24 ± 0,05	0,34 ± 0,06*
Надниркові залози	0,21 ± 0,05	0,19 ± 0,08	0,19 ± 0,08	0,21 ± 0,05

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.

Таблиця 3.

Вміст загальних і небілкових тілових груп у сім'яниках та надниркових залозах щурів при введенні хлориду кадмію, мкмоль/мг білка (n=6–8)

Органи	1 група	2 група	3 група	4 група
	Загальні тілові групи			
Сім'яники	45,2 ± 5,0	37,8 ± 9,7	45,8 ± 8,0	46,8 ± 14,0
Надниркові залози	69,8 ± 13,0	67,7 ± 16,0	65,6 ± 12,0	66,2 ± 9,0
	Небілкові тілові групи			
Сім'яники	10,0 ± 1,0	8,8 ± 2,0	10,5 ± 1,2	9,5 ± 1,7
Надниркові залози	3,1 ± 0,21	3,0 ± 0,25	3,1 ± 0,3	1,95 ± 0,2*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.

Печінка є першим органом-мішенню при надходженні кадмію в організм. Введення солей кадмію викликає швидке накопичення кадмію в печінці щурів. Приблизно ½ кадмію швидко акумулюється у печінці, що у результаті знижує надходження кадмію у такі органи, як нирки і сім'яники, які є більш чутливими до токсичної дії кадмію. При введенні кадмію у дозі 5 мг/кг протягом 1 місяця виявлена гепатотоксична дія кадмію: підвищення активності аланін- та аспартатамінотрансфераз, лактатдегідрогенази у сироватці, збільшення рівня ТБК-реагуючих продуктів, гідроперекисей ліпідів та карбоніліруваних білків у печінці (Renugadevi, Prabu, 2010). Одним із механізмів захисту гепатоцитів та інших типів клітин від токсичної дії кадмію є індукція синтезу металотіонеїнів, що утворюють комплекси кадмій-металотіонеїн (Klaassen et al., 2009).

Функціональний стан надниркових залоз обумовлює роботу метаболічних шляхів у стресовій ситуації, у тому числі при інтоксикації організму важкими металами. Підвищення вмісту стероїдних гормонів у крові при стресі, зокрема глюкокортикоїдів, стимулює синтез ряду білків у органах-мішенях, що пов'язано з формуванням адаптивних змін метаболізму у відповідь на дію стресора. Один із білків, індукція синтезу якого відбувається за дії глюкокортикоїдів, – індубельна форма тирозинамінотрансферази (ТАТ) печінки. Фермент приймає участь у метаболізмі тирозину та контролює його вміст, тому що ряд похідних цієї амінокислоти є біологічно активними сполуками. Підвищення активності ТАТ при інтоксикації організму важкими металами встановлено в роботах (Калиман, Охрименко, 2003, 2005).

У даній роботі при різних схемах введення в організм хлориду кадмію у всіх групах тварин значно підвищувалась активність ТАТ у печінці (табл. 4) – у групах 2 і 3 майже вдвічі, а у групі 4 – у

2,5 раза. Механізми підвищення активності ТАТ при введенні хлориду кадмію можуть бути пов'язаними як із посиленням синтезу ферментного білка *de novo* за умов оксидативного стресу та зміни гормонального фону, так і зі зменшенням швидкості деградації ферментного білка внаслідок окиснення SH-груп білків, що приймають участь у його деградації (Калиман, Охріменко, 2005; Gross-Mesilaty et al., 1997). Про розвиток стрес-реакції при введенні щурам хлориду кадмію свідчать дані про підвищення вмісту АКТГ та кортикостерону у крові, зниження вмісту глікогену у печінці та посилення азотного метаболізму (Охріменко, Яковенко, 2010). В експериментах із застосуванням інгібітора синтезу білка актиноміцину Д було встановлено, що підвищення активності ТАТ у печінці щурів при введенні солей важких металів спричинено активацією синтезу ферменту *de novo* (Охріменко, 2006). Виходячи з цього, можна припустити, що підвищення активності ТАТ у печінці щурів як при хронічному введенні низької дози, так і при однократному введенні більш високої дози хлориду кадмію пов'язано з функціональною активністю надниркових залоз, а саме посиленням стероїдогенезу. В той же час, значне підвищення активності ТАТ у 4 групі тварин, що є достовірно підвищеним відносно не тільки контролю, але й показників 2 і 3 груп, може свідчити про наявність адитивного ефекту, який може бути спричинений включенням двох механізмів регуляції активності даного ферменту. Ймовірно, паралельно з індукцією синтезу ТАТ за дії глюкокортикоїдів, при підвищенні вмісту іонів кадмію у гепатоцитах знижується швидкість тіолзалежного процесу деградації ферментного білка. Результати нашого паралельного дослідження свідчать про зміни пулу тіолів у клітинах печінки при введенні хлориду кадмію (Охріменко та ін., 2014), що може впливати на функціонування тіолзалежних систем, у тому числі на убіквітинову систему деградації білків.

Таблиця 4.

Активність тирозинамінотрансферази у печінці щурів при введенні хлориду кадмію, нмоль п-ОФП/хв на мг білка (n=6–8)

1 група	2 група	3 група	4 група
17,2±2,4	31,2±4,0*	34,0±3,1*	43,4±3,0*#●

Примітки: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # – $p \leq 0,05$ порівняно з групою 2, ● – $p \leq 0,05$ порівняно з групою 3.

Результати даного дослідження демонструють, що показники редокс-балансу у сім'яниках та надниркових залозах, а також деякі інші характеристики цих органів практично не змінюються при хронічній інтоксикації хлоридом кадмію в дозі 1 мкг/кг, але при подальшому надходженні більш високої дози у деяких випадках відзначені зміни показників системи прооксиданти-антиоксиданти. При цьому при усіх видах впливів значно підвищувалась активність ТАТ у печінці щурів. При дослідженні показників, що вивчались, не виявлено адаптивного ефекту хронічного надходження малих доз хлориду кадмію щодо подальшої дії більш високої дози солі даного металу. Доцільно продовжити дослідження функціонального стану та метаболічних процесів у надниркових залозах, сім'яниках та інших ендокринних залозах при надходженні солей кадмію до організму.

Список літератури

- Давыдова С.Л., Тагась В.И. Тяжелые металлы как супертоксианты XXI века. – М.: Изд-во РУДН, 2002. – 140с. /Davydova S.L., Tagas' V.I. Tyazhelyye metally kak supertoksikanty XXI veka. – M.: Izd-vo RUDN, 2002. – 140s./
- Калиман П.А., Охрименко С.М. Влияние хлорида ртути на активность тирозинаминотрансферазы и некоторые стороны азотистого и углеводного обмена в печени крыс // Актуальные проблемы медицины и биологии. – 2003. – №1. – С. 416–422. /Kaliman P.A., Okhrimenko S.M. Vliyaniye khlorida rtuti na aktivnost' tirozinaminotransferazy i nekotorye storony azotistogo i uglevodnogo obmena v petcheni krysa // Aktualnyye problemy meditsyny i biologii. – 2003. – №1. – S. 416–422./
- Калиман П.А., Охрименко С.М. Цикл глюкоза-жирные кислоты при оксидативном стрессе у крыс, вызванном хлоридом кобальта // Укр. біохімічний журнал. – 2005. – Т.77, №2. – С. 154–158. /Kaliman P.A., Okhrimenko S.M. Tsykl glukozha-zhyrnyye kisloty pry oxydativnom stresse u krysa, vyzvannom khloridom kobalta // Ukr. biokhimichnyy zhurnal. – 2005. – T.77, №2. – S. 154–158./
- Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления. – М.: Медицина, 1983. – 560с. /Ludevig R., Los K. Ostryye otravleniya. – M.: Meditsina, 1983. – 560s./
- Куценко С.А. Основы токсикологии. – М.: Фолиант, 2004. – 570с. /Kutsenko S.A. Osnovy toksikologii. – M.: Foliant, 2004. – 570s./

- Охріменко С.М. Регуляція активності тирозинамінотрансферази печінки щурів за умов оксидативного стресу // Медична хімія. – 2006. – №2. – С.105–108. /Okhrimenko S.M. Regulyatsiya aktivnosti tyrosynaminotferazy pechinky shchuriv za umov oksydatyvnoho stresu // Medychna khimiya. – 2006. – №2. – S.105–108./
- Охріменко С.М., Сєдова К.В., Козлова О.В. Вплив хлориду кадмію на деякі показники прооксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах щурів // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, серія «Біологія». – 2014. – Вип.22, №1126. – С. 28–32. /Okhrimenko S.M., Syedova K.V., Kozlova O.V. Vplyv khlorynu kadmiyu na deyaki pokaznyky prooksydantno-antyoksydantnogo balansu v tkanynakh shchuriv // Visnyk Kharkivs'kogo natsionalnogo universytetu imeni V.N. Karazina, seriya «Biologiya». – 2014. – Vyp.22, №1126. – S. 28–32./
- Охріменко С.М., Яковенко М.Г. Механізми формування захисних реакцій у щурів за введення хлориду кадмію // Матеріали X Українського біохімічного з'їзду. – Укр. біохімічний журнал. – 2010. – Т.82, №4 (додаток 2). – С. 291. /Okhrimenko S.M., Yakovenko M.G. Mekhanizmy formuvannya zahysnykh reaktsiy u shchuriv za vvedennya khlorynu kadmiyu // Materialy X Ukrain'skogo biokhimichnogo z'yizdu. – Ukr. biokhimichnyy zhurnal. – 2010. – T.82, №4 (dodatok 2). – S. 291./
- Северин С.Е., Солов'єва Т.А. Практикум по биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 160–161. /Severin S.Ye., Solov'yova T.A. Praktikum po biokhimii. – M.: Izd-vo MGU, 1989. – S. 160–161./
- Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс. – М.: Мир, 1989. – 656с. /Teppermen Dzh., Teppermen Kh. Fiziologiya obmena veshchestv i endokrinnoy sistemy. Vvodnyy kurs. – M.: Mir, 1989. – 656p./
- Alkhedaide A., Alshehri Z.S., Sabry A. Protective effect of grape seed extract against cadmium-induced testicular dysfunction // Molecular Medicine Reports. – 2016. – No 4. – P. 3101–3109.
- El-Refaiy A.I., Eissa F.I. Histopathology and cytotoxicity as biomarkers in treated rats with cadmium and some therapeutic agents // Saudi. J. Biol. Sci. – 2013. – Vol.20, no 3. – P. 265–280.
- Gross-Mesilaty S., Hargrove J.L., Ciechanover A. Degradation of tyrosine aminotransferase (TAT) via the ubiquitin-proteasome pathway // FEBS Lett. – 1997. – Vol.405, no 2. – P. 175–180.
- Harvey P.W. Adrenocortical endocrine disruption // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2016. – Vol.155. – P. 199–206.
- Klaassen C.D., Liu J., Diwan B.A. Metallothionein protection of cadmium toxicity // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol.238, no 3. – P. 215–220.
- Liu J., Qu W., Kadiiska M.V. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis // Toxicol. Appl. Pharm. – 2009. – Vol.238, no 3. – P. 159–165.
- Miller G.L. Protein determination for large number samples // Anal. Chem. – 1959. – Vol.31, no 5. – P. 964–966.
- Mirana M., Uchieama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency // Bioch. Med. – 1980. – Vol.23, no 3. – P. 302–311.
- Renugadevi J., Prabu S.M. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin // Exp. Toxicol. Pathol. – 2010. – Vol.62, no 2. – P. 171–181.
- Schepard B. New method for assay of tyrosine transaminase // Anal. Biochem. – 1969. – Vol.30. – P. 443–448.
- Sen Gupta R., Sen Gupta E., Drakal B.K. et al. Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species // Mol. Cells. – 2004. – Vol.17. – P. 132–139.
- Sharma B., Singh S., Siddiqi N.J. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems // Biomed Research International. – 2014. – Vol.2014: 640754. – 26p.
- Siu E.R., Mruk D.D., Porto C.S. et al. Cadmium-induced testicular injury // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol.238, no 3. – P. 240–249.
- Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress // Curr. Med. Chem. – 2005. – Vol.12, no 10. – P. 1161–1208.
- Ulrich-Lai Y.M., Figueiredo H.F., Ostrander M.M. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol.291, no 5. – P. 965–973.

Представлено: О.А.Наконечна / Presented by: O.A.Nakonechna

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 20.09.2016

УДК: 577.352.3+615.277.3+616-006.6+616.36

Вплив системи Реній-Платина на біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв

О.С.Коновалова¹, С.О.Бабій², О.В.Штеменко³, Н.І.Штеменко⁴

¹ДЗ Дніпропетровська медична академія МОЗ України (Дніпро, Україна)

²ДУ Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України (Дніпро, Україна)

³ДЗ Український державний хіміко-технологічний університет (Дніпро, Україна)

⁴Інститут біохімії імені О.В.Палладіна Національної академії наук України (Київ, Україна)
kulinich.es@gmail.com

Досліджено вплив системи Реній-Платина на біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв при розвитку резистентної до цисплатину пухлини (РКГ) та здійснено їхнє порівняння з параметрами печінки щурів при розвитку звичайної карциноми Герена (КГ). Показано, що введення сполуки Ренію сприяє нормалізації процесів вивільнення діагностичних ферментів в кров (енземії) та активації ферментів у тканині печінки. Показано, що за введення протипухлинної системи Реній-Платина в печінці пухлиноносіїв з РКГ відбувається інтенсивна активація гамма-глутамілового циклу сполуками Ренію у порівнянні із групою КГ. Введення системи Реній-Платина призводить до зниження активності радикальних процесів та підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту, концентрації глутатіону і активності ферментів глутатіонової ланки захисту в тканинах щурів з КГ, а особливо з РКГ, що може пояснити низький рівень ферментемії і гепатоцелюлярної дистрофії в печінці тварин-пухлиноносіїв. Запропоновано механізм дії потужних антиоксидантів з почверним зв'язком щодо гепатопротекції за участі глутатіонової системи та щодо регуляції оксидативного стресу організму щурів з резистентною до цисплатину пухлиною. Зроблено висновок про перспективність використання наноліпосомних форм кластерних сполук Ренію у антираковій терапії.

Ключові слова: печінка, звичайна і резистентна до цисплатину карцинома Герена, система Реній-Платина, цисплатин, енземія, глутатіонова система захисту, оксидативний стрес.

Влияние системы Рений-Платина на биохимические параметры печени крыс-опухоленосителей

Е.С.Коновалова, С.А.Бабий, А.В.Штеменко, Н.И.Штеменко

Исследовано влияние системы Рений-Платина на биохимические параметры печени крыс-опухоленосителей при развитии резистентной к цисплатину опухоли (РКГ) и проведено их сравнение с параметрами печени крыс при развитии обычной карциномы Герена (КГ). Показано, что введение соединения Рения способствует нормализации активности диагностических ферментов в крови и повышению активности ферментов в ткани печени. Показано, что при введении противоопухолевой системы Рений-Платина в печени опухоленосителей с РКГ происходит интенсивная активация гамма-глутамилового цикла соединениями рения по сравнению с группой КГ. Введение системы Рений-Платина приводит к снижению активности радикальных процессов и повышению активности ферментов антиоксидантной защиты, концентрации глутатиона и активности ферментов глутатионового звена защиты в тканях крыс с КГ, а особенно с РКГ, что может объяснить низкий уровень ферментемии и гепатоцеллюлярной дистрофии в печени животных-опухоленосителей. Предложен механизм действия мощных антиоксидантов с четвертичной связью в отношении гепатопротекции с участием глутатионовой системы, а также в отношении регуляции оксидативного стресса организма крыс с резистентной к цисплатину опухолью. Сделан вывод о перспективности использования наноліпосомних форм цитостатиків в антираковій терапії.

Ключевые слова: печень, обычная и резистентная к цисплатину карцинома Герена, система Рений-Платина, цисплатин, энземия, глутатионовая система защиты, оксидативный стресс.

The influence of the Rhenium-Platinum system on biochemical parameters of tumor-bearing rats' liver

O.S.Konovalova, S.O.Babiy, O.V.Shtemenko, N.I.Shtemenko

The influence of the Rhenium-Platinum system on biochemical characteristics of liver of tumor-bearing rats with cisplatin resistant Guerin carcinoma (RGC) was investigated and comparison with the parameters of rat liver with ordinary Guerin carcinoma (GC) was made. It was shown that introduction of rhenium compounds resulted in normalization of diagnostic enzymes activity in the blood (enzymia) and in activation of the

enzymes in the liver tissue. Administration of antitumor Rhenium-Platinum system led to activation of gamma-glutamyl cycle in the liver of rats' tissue with RGC in comparison with GC group. Introduction of the system reduced activity of radical processes and increased activity of antioxidant enzymes, concentration of glutathione and enzyme activity of the glutathione cycle protection in the tissues of rats with GC and especially in RGC. That may explain reducing of enzemia and hepatocellular distrophia. There was proposed a mechanism of action of powerful antioxidants with quadruple bond in regard to hepatoprotection regulation involving participation of the glutathione defense system and to oxidation stress regulation of rats whose bodies contain cisplatin-resistant tumor. The conclusion was drawn regarding the prospects of using nanoliposomal forms of cytostatics in anticancer therapy.

Key words: *liver, ordinary and resistant to cisplatin Guerin carcinoma, Rhenium-Platinum system, cisplatin, enzemia, glutathione system of defense, oxidative stress.*

Вступ

У наших попередніх роботах (Івчук та ін., 2011) було показано, що сполуки Ренію з ізобутиратними лігандами призводили до гальмування процесів цитолізу клітин печінки та зниження активності ферментативних процесів тканин печінки за розвитку карциноми Герена та введення цисплатину (Кулініч та ін., 2013). Було запропоновано схему, що пояснювала можливу роль глутатіонової системи у гепатопротекторній функції сполук з почверним зв'язком та підкреслено можливу активацію роботи гамма-глутамілового циклу. Реній (Re) – це перехідний метал (атомний номер 75, атомна маса 186,21 г/моль), який має найбільш широкий діапазон ступенів окиснення, ніж будь-який відомий елемент: -1, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7. Однією з унікальних особливостей цього елемента є здатність до утворення почверного біметалічного Re-Re зв'язку, відсутнього серед природних молекул. Почверний зв'язок утворений одним σ -, двома π - і одним δ -зв'язками. Саме δ -зв'язок, що може бути утворений тільки перекриванням у певному напрямку d-орбіталей електронів перехідних металів, обумовлює значні антиоксидантні, антигемолітичні, гепато- і нефро-протекторні властивості сполук Ренію з органічними лігандами. Як синтез більшості сполук Ренію, так і дослідження біохімічних властивостей сполук Ренію з почверним зв'язком є пріоритетом України (Штеменко и др., 2001; Shtemenko et al., 2007, 2013).

Також було показано різний біохімічний стан печінки щурів за розвитку звичайної (КГ) і резистентної (РКГ) карциноми Герена (Кулініч, Штеменко, 2015; Коновалова, 2016). На основі дослідження явища енземії, активації ферментів тканини та параметрів оксидативного стресу було показано різну ступінь пошкодження тканин печінки щурів з КГ і РКГ, як у процесі розвитку новоутворення, так і за введення цисплатину. Для тканин печінки щурів з РКГ практично відсутнє підвищення активності ферментів (за виключенням гамма-глутамілтранспетидази) як за росту новоутворення, так і за введення цисплатину. Низька активність радикальних процесів, які обумовлюють перекисне окиснення ліпідів, висока активність ферментів антиоксидантного захисту і глутатіонового циклу та високий вміст глутатіону в тканинах печінки щурів з РКГ у порівнянні з КГ може пояснити відсутність або низький рівень ферментемії і пошкодження гепатоцитів за розвитку новоутворення і введення цисплатину (сPt). Також у роботах нашої групи було показано, що протипухлинна система Реній-Платина (Re+cPt) – система введення сPt і сполук Ренію – була ефективною щодо гальмування росту як звичайного штаму КГ (Li et al., 2015; Shtemenko et al., 2013), так і резистентного до цисплатину РКГ (Грабовська та ін., 2014).

Отже, метою роботи і наступним етапом нашого дослідження було дослідити біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв при розвитку звичайної та резистентної карциноми Герена та за введення системи Реній-Платина.

Об'єкт та методи дослідження

Досліджувалася сполука цис-диізобутиратодиреній(III)тетрахлорид – $(\text{Re}_{\text{cis}}\text{isobyt})$ – $\text{cisRe}_2(\text{iC}_3\text{H}_7\text{COO})_2\text{Cl}_4$. Сполука та наноліпосомні форми препаратів синтезувалися на кафедрі неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету (м. Дніпро, Україна) (Штеменко и др., 2001).

Експеримент проводили на щурах лінії Wistar вагою 100–150 г, яким перещеплювали підшкірно в ліву задню ногу звичайну карциному Герена (0,5 мл 20% суспензії клітин пухлини у фізіологічному розчині) (Тимофеевский, 1960) та резистентну карциному Герена. Штами клітин було отримано з Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Є.Кавецького НАН України. Маніпуляції з тваринами проводилися відповідно до правил

«Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1985 р.). Цисплатин (сPt) вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на 9 добу після трансплантації пухлини у розчині (сPt). Тварини були розділені на 7 груп (по 6 щурів у кожній): 1 – інтактні тварини (Контроль); 2 – тварини з карциномою Герена Т8 (КГ); 3 – тварини з карциномою Герена Т8, яким вводили цисплатин у вигляді наноліпосом (КГ+[сPt]nl); 4 – тварини з карциномою Герена Т8, яким вводили систему Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом (nl) розміром 10–100 нм, навантажених цисплатином та сполукою Ренію у співвідношенні компонентів 4:1 (КГ+[Recisob+cPt]nl); 5 – тварини з резистентною карциномою Герена (РКГ); 6 – тварини з резистентною карциномою Герена Т8, яким вводили цисплатин у вигляді наноліпосом (РКГ+[сPt]nl); 7 – тварини з резистентною карциномою Герена, яким вводили систему Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом (nl) розміром 10–100 нм, навантажених цисплатином та сполукою Ренію у співвідношенні компонентів 4:1 (РКГ+[Recisob+cPt]nl);

На 21 день після трансплантації пухлини проводили декапітацію щурів під етерним наркозом.

Визначення біохімічного стану плазми крові та печінки щурів проводили за змінами активності аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) за методом (Reitman, Frankel, 1957), лактатдегідрогенази (ЛДГ) і гамма-глутамілтрансфетидази (ГГТП) з використанням стандартних лабораторних методик і тест-наборів (Реагент, Україна, м. Дніпропетровськ), за методами (Murata et al., 2004).

Рівень ТБК-активних продуктів визначали у гомогенаті печінки за методикою Андреевої (Андреева, 1988), вміст відновленого глутатіону (GSH) за (Hayakawa et al., 2003), активність глутатіон-S-трансферази (ГТ), глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП) за (Медицинские..., 2002), активність супероксиддисмутази (СОД) за (Чевари і др., 1988), активність каталази (Кат) за (Королук, 1988).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили в Microsoft Excel з визначенням ймовірних відмінностей з використанням t-критерію Стьюдента (Лакин, 1990).

Результати та обговорення

У процесі розвитку як звичайної, так і резистентної пухлини відмічалось явище енземії, на що вказує збільшення активності діагностичних ензимів в плазмі крові щурів порівняно з контролем (табл. 1).

Таблица 1.

Активність ферментів плазми крові щурів (Од/л, М±m; n=6)

Групи	АсАТ	АлАТ	ЛДГ	ГГТП
Контроль	6,98±0,37	5,92±0,37	19,86±0,76	0,82±0,06
КГ	17,83±1,90*	14,80±1,04*	64,94±2,09*	3,93±0,11*
КГ+[сPt]nl	11,01±0,67#	7,10±0,60#	19,10±2,60#	1,3±0,05#
КГ+[Recisob+cPt]nl	8,27±0,26#	6,04±0,68#	15,60±1,07#	5,09±0,62#
РКГ	10,85±0,60*	5,49±0,22	12,42±1,07*	4,53±0,50*
РКГ+[сPt]nl	10,96±0,78	9,09±1,12##	24,38±1,61##	5,33±0,18
РКГ+[Recisob+cPt]nl	8,51±0,71##	5,84±0,90	12,92±2,53	6,93±1,39##

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P<0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P<0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P<0,05$).

Як відмічалось у вступі, розвиток РКГ призводив до менш вираженої гепатотоксичності, ніж розвиток КГ. Так, активність ензимів плазми крові за розвитку КГ збільшувалася: АсАТ у 2,6 раза, АлАТ у 2,5 раза, ЛДГ у 3,3 раза, ГГТП у 5 разів, а при розвитку РКГ не спостерігалось суттєвого підвищення жодного ферменту, окрім ГГТП (у 5,5 раза), активність якого була підвищена практично на такому самому рівні, як у групі КГ, у порівнянні з контрольною групою. Більше того, активність ЛДГ у плазмі крові щурів з РКГ була нижчою, ніж у плазмі щурів контрольної групи (на 60%) (Коновалова, 2016).

При застосуванні наноліпосомної форми цисплатину активність ензимів знижувалася: АсАТ у 1,6 раза, АлАТ у 2 рази, ЛДГ у 3,4 раза, ГГТП у 3 рази порівняно з групою КГ. При розвитку РКГ,

навпаки, спостерігалось збільшення активності досліджуваних параметрів: АлАТ у 1,7 раза, ЛДГ у 2 рази, ГГТП у 1,2 раза, а АсАТ суттєво не змінилась.

Введення системи Реній-Платина знижувало активність усіх діагностичних ензимів в обох групах щурів-пухлиноносіїв, за виключенням ГГТП в групі РКГ+[Recisisob+cPt]nl. Так, при розвитку КГ: АсАТ у 2,2 раза, АлАТ у 2,5 раза, ЛДГ у 4 рази. При розвитку РКГ: АсАТ у 1,3 раза, АлАТ та ЛДГ у 1,1 раза, при цьому в обох експериментальних групах активність ГГТП збільшилась: в групі з КГ у 1,3 раза, а в групі щурів з РКГ у 1,5 раза у порівнянні з групами щурів-пухлиноносіїв. Це значно відрізняє вплив системи Реній-Платина від впливу цисплатину.

Слід відмітити, що активність ензимів за введення системи Реній-Платина у плазмі крові щурів з РКГ має приблизно такий самий рівень, як і у щурів з КГ, і близький до контрольних значень, тобто сприяє нормалізації процесу ензимів у пухлиноносіїв. Оскільки це явище більш інтенсивне у КГ-носіїв, то в цих групах відбувається більш ефективний вплив системи Реній-Платина на біохімічний стан печінки. Зниження активності діагностичних ферментів в крові пухлиноносіїв під впливом системи Реній-Платина відбувається більш ефективно, ніж під впливом цисплатину (Коновалова, 2016).

Наступним етапом дослідження став аналіз впливу системи Реній-Платина на біохімічні показники тканин печінки експериментальних тварин (табл. 2).

Таблиця 2.

Активність ферментів тканин печінки щурів (Од/г тканини, $M \pm m$; $n=6$)

Групи	АсАТ	АлАТ	ЛДГ	ГГТП
Контроль	11,94±0,19	9,18±0,46	42,78±8,49	2,73±0,20
КГ	22,48±1,73*	16,58±0,41*	61,12±2,70*	3,05±0,54
КГ+[cPt]nl	12,71±0,58#	9,10±0,19#	44,31±2,59#	3,19±0,13
КГ+[Recisisob+cPt]nl	13,26±0,28#	12,18±2,55	40,10±1,39#	5,60±0,32#
РКГ	13,44±1,81	11,61±0,06*	43,14±2,54	9,58±0,05*
РКГ+[cPt]nl	23,81±1,07##	14,43±0,38##	36,02±1,41##	6,75±0,67##
РКГ+[Recisisob+cPt]nl	14,51±0,71	11,7±0,20	34,11±0,65##	10,36±1,56

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P<0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P<0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P<0,05$).

Введення системи Реній-Платина в обох експериментальних групах зменшувало активність амінотрансфераз на 70% та 36%, проте вона не досягала значень норми. Активність ЛДГ у тканині печінки щурів з РКГ була нижчою, ніж у щурів контрольної групи (на 26%), а в тканині печінки з КГ наближалася до контрольних значень. Активність ГГТП в групі РКГ+[Recisisob+cPt]nl була вища за рівень норми. В тканині печінки щурів з РКГ, на відміну від КГ, відбувається активація цього ензиму. Так, активність ГГТП в тканині печінки щурів-пухлиноносіїв з КГ перевищує таку в контрольній групі у 1,1 раза, а в групі РКГ у 3,5 раза.

Отже, показано односпрямований вплив системи Реній-Платина на активність амінотрансфераз крові як діагностичних ферментів, що характеризують ступінь ушкодження гепатоцитів. А також на активність цих ферментів в тканині печінки щурів-пухлиноносіїв, що характеризує активацію процесу транс-амінування під впливом екзогенних речовин. Знайдено, що за введення системи відбувається зниження активності ЛДГ як в крові, так і в тканині печінки щурів-пухлиноносіїв, проте для групи із звичайною карциномою відбувається нормалізація рівня активності цього ферменту, а для групи із резистентною пухлиною це зниження нижче за норму у 1,3 раза. Доведено, що в печінці пухлиноносіїв з резистентною карциномою відбувається активація гамса-глутамілового циклу сполуками Ренію.

Незважаючи на те, що КГ і РКГ є зручними експериментальними моделями для дослідження ефективності антиканцерогенних препаратів і виникнення явища резистентності, редокс стан печінки у цих моделях не вивчався, за виключенням окремих робіт (Хіміч та ін., 2011). Дослідженнями нашої групи показано, що, поряд із більш повільним розвитком РКГ у порівнянні з КГ, у крові тварин з РКГ знайдено меншу концентрацію кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (Грабовська та ін., 2014). Таке саме явище ми спостерігаємо і у тканинах печінки (табл. 3).

Розвиток КГ викликав значне підвищення (на 85%) інтенсивності процесу перекисного окиснення ліпідів в печінці щурів-пухлиноносіїв, а в групі щурів з РКГ на 44%. Введення ліпосомальної форми цисплатину в групі КГ знижувало рівень ТБК-активних продуктів на 66%, а в групі РКГ зниження концентрації ТБК-активних продуктів не відбувалось. Це можна пояснити різним механізмом розвитку штамів карциноми, провідною роллю радикальних процесів у розвитку новоутворень (Novo, Parola, 2008) та у формуванні резистентності до лікарських препаратів (Кулик и др., 2009). Введення системи Реній-Платина призводило до більш ефективного гальмування процесу перекисного окиснення ліпідів в обох групах пухлиноносіїв. Так, у групі КГ+[Recisisob+cPt]nl рівень ТБК-активних продуктів знижувався на 88%, а в групі РКГ+[Recisisob+cPt]nl на 48%. Це можна пояснити потужною антиоксидантною властивістю сполук Ренію (Шамелашвілі, 2016) завдяки наявності у їхній структурі почверного зв'язку.

Таблиця 3.

Параметри оксидативного стресу у тканині печінки щурів

Групи	ТБК, ммоль/г тканини	GSH, мкМ/г тканини	СОД, Од/г протеїну	Кат, Од/г протеїну
Control	1,37±0,27	0,78±0,02	198,82±10,42	78,14±5,18
КГ	2,50±0,50*	0,07±0,01*	150,44±11,23*	64,36±4,23*
КГ+[cPt]nl	1,50±0,22#	1,20±0,14#	232,10±12,54#	49,95±1,92#
КГ+[Recisisob+cPt]nl	1,09±0,14#	2,34±0,43#	298,07±15,96#	73,26±7,69
РКГ	1,97±0,22	0,97±0,03*	251,18±12,52*	84,18±5,23
РКГ+[cPt]nl	2,06±0,56	2,17±0,52##	272,11±16,54	107,89±9,97##
РКГ+[Recisisob+cPt]nl	1,33±0,32	3,24±0,04##	318,30±20,96##	145,94±10,52##

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P<0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P<0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P<0,05$).

Слід звернути увагу на відносно високий вміст глутатіону (GSH) у тканині печінки тварин з РКГ у порівнянні з групою КГ: за розвитку КГ відбувається зниження вмісту GSH практично у 11 разів, а розвиток РКГ супроводжується статистично достовірним підвищенням GSH на 24%. Введення цисплатину призводить до підвищення вмісту глутатіону в печінці обох груп щурів-пухлиноносіїв, у групі КГ+[cPt]nl у 17 разів, у групі РКГ+[cPt]nl у 2 рази. Введення системи Реній-Платина призводить до більш ефективного збільшення вмісту GSH: у групі щурів з КГ у 33 рази, а в групі щурів з РКГ у 3 рази. Підвищений рівень GSH може бути пов'язаний з активацією ГГТП – прискорюється процес вивільнення компонентів глутатіону для синтезу його *de novo* (Кулініч та ін., 2013).

Як показано раніше (Коновалова, 2016; Кулініч, Штеменко, 2015), у тканині печінки щурів з РКГ спостерігається більша активність ферментів антиоксидантного захисту, ніж в групах з КГ, та різний відгук ферментативних систем на введення цисплатину. Так, розвиток КГ призводить до дезактивації СОД на 32%, Кат на 21%, а розвиток РКГ – до активації СОД на 26%, Кат на 7,7% у порівнянні з контролем. Введення цисплатину призводило до активації СОД в КГ на 54%, в РКГ – на 8%; до дезактивації Кат в КГ на 28% та до активації Кат в РКГ на 28%. Введення системи Реній-Платина, на відміну від введення цисплатину, призводить до активації обох ферментів: в групі щурів з КГ СОД – на 98%, Кат – на 14%, а в групі щурів з РКГ СОД – на 27%, Кат – на 73%. Отже, зниженням активності радикальних процесів, що обумовлюють перекисне окиснення ліпідів, можна пояснити низький рівень ферментемії і гепатоцелюлярної дистрофії в печінці тварин-пухлиноносіїв; а також підвищенням активності ферментів антиоксидантного захисту в тканинах щурів з КГ, а особливо щурів з РКГ. Якщо такий процес відбувається не тільки в печінці, то така дія системи Реній-Платина може пояснити її здатність ефективного гальмування як звичайної, так і резистентної до цисплатину пухлини.

Активність ферментів глутатіонового захисту пригнічується при розвитку КГ. Так, активність ГП зменшується у 4 рази, ГТ у 3,6 рази, ГР у 4,4 рази (табл. 4).

Натомість, в тканинах печінки щурів з РКГ активність цих ферментів зберігається на високому рівні і навіть перебільшує контрольні значення. Введення цисплатину в наноліпосомній формі в

групі щурів з КГ також призводило до зниження практично усіх досліджуваних ферментів, а в групі РКГ активність ферментів достовірно не змінюється відносно РКГ. За введення системи Реній-Платина відмічалось збільшення активності ферментів глутатіонового захисту. Так в групі КГ активність ГП збільшується в 4 рази, ГТ в 4 рази, ГР в 4,4 рази, в тканинах печінки щурів з РКГ активність цих ферментів зберігається на високому рівні і навіть перебільшує контрольні значення. Отже, як і слід було очікувати, введення системи Реній-Платина призводило до активації ферментів глутатіонового захисту в тканині печінки обох груп пухлиноносіїв, на відміну від ефекту одного цисплатину, введеного у тій самій концентрації, що і в системі Реній-Платина. Тобто активуючі ефекти належать сполуці Ренію, як підкреслювалося вище.

Таблиця 4.

Активність глутатіон-залежних ферментів у тканині печінки (ммоль/год на мг протеїну)

Групи	ГП	ГТ	ГР
Control	2,18±0,06	8,14±0,32	2,15±0,11
КГ	0,56±0,07*	2,28±0,18*	0,49±0,24*
КГ+[cPt]nl	0,24±0,08#	3,58±0,22#	0,58±0,18
КГ+[Recisob+cPt]nl	2,64±0,14#	9,28±1,38#	2,54±1,24#
РКГ	2,24±0,12	7,78±0,16	2,08±0,12
РКГ+[cPt]nl	2,42±0,18	6,98±1,02	2,16±0,16
РКГ+[Recisob+cPt]nl	2,28±0,11	8,64±1,14	3,44±1,28##

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P<0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P<0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P<0,05$).

Отже, отримані дані порівняльного дослідження впливу системи Реній-Платина на біохімічні характеристики печінки щурів-пухлиноносіїв з КГ і РКГ дозволяють підтвердити запропонований нами механізм дії кластерних сполук Ренію як потужних антиоксидантів, а саме: в клітинах печінки існує два шляхи для знешкодження пероксиду водню – каталазна і глутатіонпероксидазна реакції. Вірогідно, сполука $Re_{cisisobyt}$ взаємодіє з радикалами за типом супероксиддисмутазної або каталазної реакції, або й раніше, з супероксиданіоном O_2^- . Внаслідок цього глутатіонпероксидазна реакція гальмується субстратно – відсутністю пероксиду водню, і глутатіон може здійснювати більш ефективну детоксикацію cPt, утворюючи кон'югат: $GSH + cPt \rightarrow GS-cPt$. Тобто гальмування пероксидного стресу сполукою Ренію призводить до більш інтенсивної детоксикаційної функції печінки пухлиноносіїв шляхом вивільнення глутатіону з глутатіонпероксидазної реакції. Такий перебіг реакцій здійснюється в печінці пухлиноносіїв з КГ і РКГ, що пояснюється активацією антиоксидантних ферментів ренієвими сполуками. Гамма-глутаміловий цикл працює в печінці щурів з РКГ більш інтенсивно, ніж з КГ, що пояснюється активацією ГТП та призводить до підвищеного рівня глутатіону.

Висновки

Вперше досліджено вплив системи Реній-Платина на біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв за розвитку резистентної до цисплатину пухлини та здійснено їхнє порівняння з параметрами печінки щурів за розвитку звичайної карциноми.

Одночасно із ефективним гальмуванням звичайної і резистентної пухлини введення сполуки Ренію сприяє нормалізації процесів вивільнення діагностичних ферментів в кров (енземії) та нормалізації активності ферментів у тканині печінки.

Знайдено, що за введення протипухлинної системи Реній-Платина в печінці пухлиноносіїв з резистентною карциномою відбувається активація гамма-глутамілового циклу сполуками Ренію у порівнянні із звичайним штамом.

Введення системи Реній-Платина призводить до зниження активності радикальних процесів та підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту, концентрації глутатіону і активності ферментів глутатіонової ланки захисту в тканинах щурів з КГ, а особливо з РКГ, що може пояснити низький рівень ферментемії і гепатоцелюлярної дистрофії в печінці тварин-пухлиноносіїв.

Вірогідно, це може пояснити здатність протипухлинної системи Реній-Платина до зняття резистентності до цисплатину.

Вперше запропоновано механізм дії потужних антиоксидантів з почверним зв'язком щодо гепатопротекції при участі глутатіонової системи та, можливо, щодо зняття резистентності пухлин до цисплатину.

Список літератури

- Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1988. – №2. – С. 41–43. /Andreyeva L.I. Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy // Laboratornoye delo. – 1988. – №2. – С. 41–43./
- Грабовська О.І., Кириченко С.В., Штеменко Н.І. Інтенсивність оксидативного стресу крові щурів за розвитку карциноми Герена та введення цисплатину // Медична хімія. – 2014. – Т.16, №2 (59). – С. 42–46. /Grabovs'ka O.I., Kyrychenko S.V., Shtemenko N.I. Intensyvnynt' oksydatyvnoho stresu krovi shchuriv za rozvytku kartsynomy Gerena ta vvedennya tsysplatynu // Medychna khimiya. – 2014. – Т.16, №2 (59). – С. 42–46./
- Івчук В.В., Полішко Т.М., Голіченко О.А. та ін. Вплив протипухлинної системи реній-платина на біохімічний стан печінки // Український біохімічний журнал. – 2011. – Т.83, №3. – С. 76–84. /Ivchuk V.V., Polishko T.M., Golichenko O.A. ta in. Vplyv protypukhlynnoyi systemy reniy-platyna na biokhimichnyy stan pechinky // Ukrayins'kyy biokhimichnyy zhurnal. – 2011. – Т.83, №3. – С. 76–84./
- Коновалова О.С., Бабій С.О., Штеменко О.В., Штеменко Н.І. Біохімічна характеристика стану печінки щурів-пухлиноносіїв за розвитку звичайної та резистентної карциноми Герена і введення цисплатину // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Т.1, №131. – С. 101–105. /Konovalova O.S., Babiy S.O., Shtemenko O. V. Biokhimichna kharakterystyka stanu pechinky shchuriv-pukhlynonosiyiv za rozvytku zvychnoyi ta rezystentnoyi kartsynomy Gerena i vvedennya tsysplatynu // Visnyk problem biologiyi i medytsyny. – 2016. – Т.1, №131. – С. 101–105./
- Короліук М.А. Способ определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 6–19. /Korolyuk M.A. Sposob opredeleniya aktivnosti katalazy // Laboratornoye delo. – 1988. – №1. – С. 6–19./
- Кулініч О.С., Дьомшина О.О., Штеменко Н.І. Модуляція гепатотоксичності цисплатину кластерними сполуками ренію (III) у моделі канцерогенезу // Медична хімія. – 2013. – Т.15, №3 (56). – С. 21–26. /Kulinich O.S. Modulyatsiya hepatotoksychnosti tsysplatynu klasternymy spolkukamy reniyu (III) u modeli kantserogenezu // Medychna khimiya. – 2013. – Т.15, №3 (56). – С. 21–26./
- Кулініч О.С., Штеменко Н.І. Вплив ліпосомальної та розчинної форми цисплатину на стан печінки щурів за умови карциноми Герена // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2015. – Вип.69. – С. 57–64. /Kulinich O.S., Shtemenko N.I. Vplyv liposomal'noyi ta rozchynnoyi formy tsysplatynu na stan pechinky shchuriv za umovy kartsynomy Gerena // Visnyk L'vivs'kogo universytetu. Seriya biologichna. – 2015. – Vyp.69. – С. 57–64./
- Кулик Г.І., Пивнюк В.М., Носко М.М. Липосомальные препараты: путь к преодолению лекарственной устойчивости к цисплатину // Онкология. – 2009. – Т.11, №1. – С. 76–80. /Kulik G.I., Pivnyuk V.M., Nosko M.M. Liposomalnyye preparaty: put' k preodoleniyu lekarstvennoy ustoychivosti k tsisplatynu // Onkologiya. – 2009. – Т.11, №1. – С. 76–80./
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – Москва: Высшая школа, 1990. – 352с. /Lakin G.F. Biometriya. – Moskva: Vysshaya shkola, 1990. – 352s./
- Медицинские лабораторные технологии. Справочник в 2-х т. / Под ред. А.И.Карпищенко. – Санкт-Петербург: Интермедика, 2002. – 600с. /Meditsinskiye laboratornyye tekhnologii. Spravochnik v 2-kh t. / Pod red. A.I.Karpishchenko. – Sankt-Peterburg: Intermedika, 2002. – 600s./
- Тимофеевский А.Д. Модели и методы экспериментальной онкологии. – М.: Медгиз, 1960. – 245с. /Timofeyevskiy A.D. Modeli i metody eksperimental'noy onkologii. – M.: Medgiz, 1960. – 245s./
- Хіміч М.В., Раєцька Я.Б., Строщка Є.А. та ін. Вплив препарату «ГРІНІЗАЦІЯ ГРІН R» на злорякисний ріст у щурів з карциномою Герена, а також з резистентною формою карциноми Герена // Фізика живого. – 2011. – Т.19, №2. – С. 35–38. /Khimich M.V., Rayets'ka Ya.B., Strots'ka Ye.A. ta in. Vplyv preparatu «GRINIZATsIYa GRIN R» na zloyakisnyy rist u shchuriv z kartsynomoyu Gerena, a takozh z rezystentnoyu formoyu kartsynomy Gerena // Fyzyka zhyvogo. – 2011. – Т.19, №2. – С. 35–38./
- Чевари С., Чаба І., Сеней І. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале // Лабораторное дело. – 1988. – №11. – С. 678–681. /Chevari S., Chaba I., Seney I. Rol superoksiddismutazy v oksislitelnykh protsessakh kletki i metodyi yeye opredeleniya v biologicheskom materiale // Laboratornoye delo. – 1988. – №11. – С. 678–681./
- Шамелашвілі К.Л., Штеменко Н.І., Леус І.В. та ін. Зміни інтенсивності оксидативного стресу крові щурів-пухлиноносіїв за введення системи реній-платина різними способами // Український біохімічний журнал. – 2016. – Т.88, №4. – С. 29–39. /Shamelashvili K.L., Shtemenko N.I., Leus I.V. ta in. Zminy intensyvnosti oksydatyvnoho stresu krovi shchuriv-pukhlynonosiyiv za vvedennya systemy reniy-platyna riznyy sposobamy // Ukrayins'kyy biokhimichnyy zhurnal. – 2016. – Т.88, №4. – С. 29–39./

- Штеменко А.В., Голиченко А.А., Семёнова И.Г., Вербицкая Я.С. Синтез и свойства цис-тетрагалогено-ди-карбоксилатных производных дирения(III) с адамантанкарбоновыми кислотами // Вопросы химии и хим. технологии. – 2001. – №4. – С. 31–34. /Shtemenko A.V., Golichenko A.A., Semyenova I.G., Verbitskaya Ya.S. Sintez i svoystva tsis-tetragalogeno-di-karboksilatnykh proizvodnykh direniya(III) s adamantankarbonovymi kislotami // Voprosy khimii i khim. tekhnologii. – 2001. – №4. – S. 31–34./
- Hayakawa J., Depatie C., Ohmichi M. The activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) by DNA-damaging agents serves to promote drug resistance via activating transcription factor 2 (ATF2)-dependent enhanced DNA repair // Biol. Chem. – 2003. – No 278. – P. 82–92.
- Li Zhanyong, Shtemenko N.I., Yegorova D.Y. et al. Liposomes loaded with a dirhenium compound and cisplatin: preparation, properties and improved in vivo anticancer activity // Journal of Liposome Research. – Vol.25 (1). – 2015. – P. 78–87.
- Murata T., Haisa M., Uetsuka H. et al. Molecular mechanism of chemoresistance to cisplatin in ovarian cancer cell lines // International Journal of Molecular Medicine. – 2004. – Vol.13, no 6. – P. 865–868.
- Novo E., Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis // Fibrogenesis & Tissue Repair. – 2008. – No 1. – P. 1–58.
- Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases // American Journal of Clinical Pathology. – 1957. – No 28. – P. 56–63.
- Shtemenko N.I., Domasevitch K., Golichenko A. et al. Synthesis, X-ray structure, interactions with DNA, remarkable in vivo tumor growth suppression and nephroprotective activity of cis-tetrachloro-dipivalato dirhenium(III) // Journal of Inorganic Biochemistry. – 2013. – Vol.129. – P.127–134.
- Shtemenko N.I., Collery P., Shtemenko A.V. Dichlorotetra-m-isobutiratodirhenium (III): Enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties // Anticancer Res. – 2007. – Vol.27, no 4. – P. 2487–2492.

Представлено: Ю.С.Воронкова / Presented by: Yu.S.Voronkova

Рецензент: Г.В.Ганусова / Reviewer: G.V.Ganusova

Подано до редакції / Received: 07.10.2016

••• БОТАНІКА ТА ЕКОЛОГІЯ РОСЛИН ••• ••• BOTANY AND PLANT ECOLOGY •••

УДК: 504.73.03:630

Еколого-фітоценотичні особливості антропогенних змін урочища «Голендерня»

О.І.Блінкова^{1,2}, В.В.Лавров³, Т.Ю.Сагдєєва³, А.В.Житовоз³, Ю.Г.Березніченко¹

¹Інститут еволюційної екології НАН України (Київ, Україна);

²Національний університет біоресурсів і природокористування МОН України (Київ, Україна);

³Білоцерківський національний аграрний університет МОН України (Біла Церква, Україна)
e-mail: elena.blinkova@gmail.com, vitaliy.lavrov@gmail.com

Визначено чинники та еколого-фітоценотичні особливості антропогенної дигресії лісових насаджень урочища «Голендерня» Державного дендрологічного парку «Олександрія». Зміни екологічних умов урочища спричинені нерегульованою рекреацією, фізичним і біологічним забрудненням, реконструкцією лісового типу ландшафту в парковий тип та механічним впливом (збір лікарських рослин, грибів). З використанням факторіального аналізу виявлено просторові особливості поширення змін екологічних умов едафотопу та аеротопу лісової екосистеми, а також відповідні зміни структури рослинного покриву залежно від відстані до м. Біла Церква та р. Рось. Встановлено, що дубові насадження урочища деградуєть на рівні III стадії рекреаційної дигресії. Показано антропогенні зміни урочища за біоморфологічним спектром, типами екологічної стратегії та екоморфічною структурою трав'яного ярусу. Найбільший розвиток багаторічних рослин зафіксовано в ядрі насадження, найменший – в приміській парковій зоні. Встановлено, що безрозеткові трав'яні рослини та рослини, які не мають спеціалізованих видозмін підземних пагонів, домінують в усіх зонах урочища. В умовах значної антропогенної трансформації в трав'яному покриві відсутні виоленти та пацієнти, превалюють види із змішаним типом стратегії. Серед гідроморф переважають гігомезофіти та мезофіти. Показано нітрифікацію екоотопів за розподілом нітрморф. Відзначено розвиток адвентивних видів в усіх зонах урочища. Підтверджено, що рослинний, особливо трав'яний покрив, чутливо реагує на зміну екологічних режимів лісового середовища та інтегровано відбиває характер цих змін.

Ключові слова: *свіжа грабова діброва, об'єкт природно-заповідного фонду, екологічні чинники, антропогенний вплив, фітоіндикація, рослинний покрив, екологічна стратегія, біоморфологічна структура.*

Эколого-фитоценотические особенности антропогенных изменений урочища «Голендерня»

Е.И.Блинкова, В.В.Лавров, Т.Ю.Сагдеева, А.В.Житовоз, Ю.Г.Березниченко

Определены факторы и эколого-фитоценотические особенности антропогенной дигрессии лесных насаждений урочища «Голендерня» Государственного дендрологического парка «Александрия». Изменения экологических условий обусловлены нерегулируемой рекреацией, физическим и биологическим загрязнением, реконструкцией лесного типа ландшафта в парковый тип и механическим влиянием (сбор лекарственных растений, грибов). При использовании факториального анализа показаны пространственные особенности распространения изменений экологических условий эдафотопы и аеротопы лесной экосистемы, а также соответствующие изменения структуры растительного покрова в зависимости от расстояния до города Белая Церковь и речки Рось. Установлено, что дубовые насаждения урочища деградируют на уровне III стадии рекреационной дигрессии. Показаны антропогенные изменения урочища по оценке биоморфологического спектра, типам экологической стратегии и экоморфической структуре травянистого покрова. Наибольшее развитие многолетних растений зафиксировано в ядре насаждений, наименьшее – в пригородной парковой зоне. Установлено, что безрозеточные травянистые растения и растения, которые не имеют специализированных видоизменений подземных побегов, доминируют во всех зонах урочища. В условиях значительной антропогенной трансформации в травянистом покрове отсутствуют виоленты и пацієнти, превалируют виды с смешанным типом стратегии. Среди гидроморф преобладают гигромезофиты и мезофиты. Показано нитрификацию экотопов по распределению нитроморф. Определено развитие адвентивных видов во всех зонах урочища. Подтверждено положение, что

растительный, особенно травянистый покров, чутко реагирует на изменение экологических режимов лесной среды и интегрировано отражает характер этих изменений.

Ключевые слова: *свежая грабовая дубрава, объект природно-заповедного фонда, экологические факторы, антропогенное воздействие, фитоиндикация, растительный покров, экологическая стратегия, биоморфологическая структура.*

Ecological and phytocenotic peculiarities of anthropogenic changes of the stow "Holendernya"

O.I.Blinkova, V.V.Lavrov, T.Yu.Sagdeeva, A.V.Zhitovos, Yu.G.Bereznichenko

The factors and ecological and phytocenotic peculiarities of anthropogenic digression of forest plantations of the stow «Holendernya» of the State Dendrological Park «Alexandriya» have been characterized. Changes of ecological conditions of the stow were caused by unregulated recreation, physical and biological contamination, reconstruction of the forest type in the landscape park type and mechanical action (collection of herbs, mushrooms). The spatial distribution of changes of ecological conditions of edaphotop and aerotop in a forest ecosystem has been determined by means of factor analysis. The relevant changes in the structure of vegetation, depending on the distance to the city Bila Tserkva and river Ros have been also analyzed. Oak plantation of the stow degraded at the III stage of recreational digression. Anthropogenic changes of the stow have been shown by biomorphological spectrum, types of ecological strategies, ecomorphical structure of herbaceous cover. The greatest development of perennials has been observed in the core of plantations, the least – in the suburban park area. Non-rosellate herbal plants and plants that do not have special modifications of underground shoots dominated in all zones of the stow. Stress-tolerators and competitors were absent, species of mixed type of ecological strategy prevailed in conditions of significant human transformation in grass cover. Hydromesophytes and mesophytes dominated among hidromorphes. Nitrification of ecotypes has been revealed by the distribution of nitromorphes. Development of adventives species has been revealed in all zones of the stow. We proved that the plant cover, especially herbaceous, is sensitive to the change of ecological regimes within forest environment and could be an integrated indicator of such changes.

Key words: *fresh hornbeam-oak forest, object of nature reserve fund, ecological factors, human impact, phytointication, plant cover, ecological strategy, biomorphological structure.*

Вступ

Рослинний покрив відіграє ключову роль у формуванні та функціонуванні наземних екосистем і є індикатором стану природного довкілля. Фітоценози чутливо реагують на зміну екологічних режимів та доволі об'єктивно віддзеркалюють зміни в структурі екосистем на різних рівнях організації живого (Блінкова, 2014; Воробьев, 1967; Голубець та ін., 2003; Кузнецов, Клименко, 1999; Лавров, 2003; Миркин, 1985; Работнов, 1983; Раменский, 1971). Залежно від предмету дослідження та рівня аналізу оцінка наслідків впливу антропогенної діяльності на рослинний покрив часто відрізняється. Це певним чином гальмує процес пізнання природних явищ на синекологічному рівні та унеможливорює вироблення методів системного регулювання наслідків негативного впливу на навколишнє природне середовище (Блінкова, 2014; Голубець та ін., 2003; Лавров, 2003; Лавров та ін., 2015; Миркин, 1985; Работнов, 1983).

Загальновідомо, що внаслідок рекреації механічний вплив людини на лісові екосистеми проявляється, перш за все, у вигляді витоптування підстилки і живого надґрунтового покриву, ущільнення поверхневого шару ґрунту, механічного пошкодження рослин деревостану та трав'яного ярусу. З часом відбувається погіршення санітарного стану та зрідження деревостану. Зазначені порушення в сукупності призводять до змін екологічних режимів у лісовій екосистемі, які в свою чергу зумовлюють структурно-функціональні зміни рослинних угруповань (Блінкова, 2014; Гаїдамак та ін., 1994; Кузнецов, Клименко, 1999; Лавров, 2003; Рысин и др., 2003). Зрідження деревного намету часто стимулює активний розвиток підліску і живого надґрунтового покриву, що перешкоджає природному поновленню лісоутворювальних порід. Внаслідок розмежування стежками та іншими витоптаними ділянками нижніх ярусів відбувається фрагментація фітоценозів і зміна їх видового складу і будови. Тому для підвищення точності діагностики та оцінки наслідків впливу антропогенної діяльності на лісові екосистеми доцільно аналізувати на синекологічних засадах з урахуванням системного ефекту – емерджентності. Перш за все, заслуговують уваги кількісні і якісні зміни системоутворювальних компонентів різних ієрархічних рівнів організації

екосистеми та їх причинно-наслідкові зв'язки (Блінкова, 2014; Вороб'єв, 1967; Ворон та ін., 2008; Дідух, Плюта, 1994; Кузнецов, Клименко, 1999; Лавров, 2003; Лавров, Блінкова, 2011; Рысин и др., 2003; Царик, 1994). Проте зручним, актуальним та інформативним об'єктом для дослідження комплексного впливу людини є рослинний покрив зелених зон навколо міст, який є важливим структурним елементом урбоєкосистем і складником розбудови екологічної мережі в якості екокоридорів та біоцентрів – за наявності об'єктів і територій природо-заповідного фонду (ПЗФ) України. На територіях ПЗФ дослідження зазвичай зосереджують на питаннях збереження біотичного і ландшафтного різноманіття і його раціонального використання, проте недостатньо уваги приділяють виявленню та аналізу екологічних загроз.

В якості об'єкта дослідження нами обрано екосистему лісопаркового типу – урочище «Голендерня» у Державному дендрологічному парку НАН України «Олександрія» (400,7 га), який є пам'яткою садово-паркового мистецтва загальнодержавного значення ПЗФ України. Цей об'єкт ПЗФ був заснований у 1793 р. на лівому березі р. Рось, у 1998 р. його площу було збільшено до 297 га. В 2008 р. до дендропарку було передано урочище «Голендерня» (103,7 га) – ботанічна пам'ятка природи місцевого значення. Дослідженню дендропарку «Олександрія» присвячено низку праць (Гайдамак та ін., 1994, Драган, 2011, 2012; Клименко, 2010; Лавров та ін., 2015; Плєскач, Кондратюк, 2014; Blinkova, Ivanenko, 2014), в яких вже охарактеризовано ґрунти, видовий склад і структуру фітобіоти, консорції дерев та ксилотрофних грибів, лісопатологічний та загальний стан деревостанів та ін. Найбільше уваги приділено питанням інтродукції та акліматизації. В поодиноких ландшафтознавчих (Клименко, 2010), лісознавчих (Гайдамак та ін., 1994; Галкін та ін., 2011; Драган, 2011, 2012) та флористичних (Галкін та ін., 2011; Кузнецов, Клименко, 1999) дослідженнях охарактеризовано рекреаційний вплив на урочище. Проте цих даних недостатньо для синекологічної оцінки ситуації, удосконалення заходів зі збереження та розвитку цієї території, регулювання її використання як природного ресурсу, оскільки не враховано впливу господарювання суміжного приватного сектора міста (фізичного і біологічного забруднення), наслідків реконструкції лісового типу ландшафту в парковий тип, забудови, видобування піску, збору лікарських рослин тощо. Привабливість урочища «Голендерня» для рекреантів зумовлена тим, що воно межує з м. Біла Церква, знаходиться на березі р. Рось, має добрий транспортний зв'язок. Лісовий масив має розвинуту мережу стежок, фітоценози середньої доступності, напіввідкриті простори, численні мальовничі поляни, місця огляду і прогулянок, різних видів відпочинку.

Тому метою дослідження було з'ясувати еколого-фітоценотичні та просторові особливості антропогенних змін урочища «Голендерня» дендропарку «Олександрія».

Об'єкти та методи дослідження

Урочище «Голендерня» розташовано у північно-східній частині Правобережного Лісостепу, на першій надзаплавній терасі правого берега р. Рось, на околиці м. Біла Церква Київської області. Історичні відомості про це урочище (в минулому частина садиби Браницьких), його топографічний, ландшафтний та таксаційний плани наведено у праці Ю.О.Клименка (Клименко, 2010). Серед фітоценозів домінують стиглі і перестійні насадження *Quercus robur* L. (72,98 га, або 73% від озелененої площі). Пануючим типом лісу в урочищі є свіжа грабова діброва, що сформувалася на сірих лісових супіщаних ґрунтах, які на глибині 2–4 м підстиляються гранітним щитом. Потужність гумусового горизонту коливається від 2–15 см до 20–25 см, на витоптаних ділянках цей шар відсутній (Галкін та ін., 2011). Ю.О.Клименком в урочищі виділено чотири типи садово-паркового ландшафту: лісовий, парковий, лучний та альпійський (Клименко, 2010). Домінує лісовий тип (84,2 га, 84,2% від озелененої площі). Смуга лісового масиву шириною до 200 м з боку забудови приватного сектору міста у минулому була реконструйована у парковий тип ландшафту (14,5 га, 14,5%). Лучний та альпійський ландшафти мають незначну частку – відповідно 0,2% і 1,1%.

В останній декаді червня 2013 р. відповідно до принципів порівняльної екології і фітоіндикації було закладено екологічний профіль (екопрофіль) за градієнтом інтенсивності рекреаційного навантаження та інших антропогенних чинників (рис. 1). Стан деревостанів оцінювали за санітарними правилами (Санітарні правила..., 1995), зони погіршення санітарного стану деревостанів виділяли за їх таксаційними показниками і середньозваженим індексом (I_c) санітарного стану: I – здорові дерева ($I_c=1,00-1,50$); II – ослаблені ($I_c=1,51-2,50$); III – сильно ослаблені ($I_c=2,51-3,50$); IV – такі, що всихають ($I_c=3,51-4,50$); V – свіжий сухостій (дерева всохли у

поточному році) та VI – старий сухостій (дерева всохли раніше) ($I_c=4,51-6,00$). Механічно пошкодженими вважали дерева та чагарники, які мають зрубану або спляну гілку, рану на стовбурі до камбію або виражені ознаки цих пошкоджень незалежно від часу їх нанесення. Зімкнутість деревного намету як едіфікатора умов екосистеми встановлювали візуально, також визначали видовий склад та проективне покриття трав'яних рослин. Під час польових досліджень використовували загальноприйняті у лісознавстві та ботаніці методи (Воробьев, 1967; Раменский, 1971). Латинські назви таксонів рослинності наведені за С.Л.Мосякіним та М.М.Федорончуком (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999). Біоморфологічна структура наведена за І.Г.Серебряковим (Серебряков, 1962). Типи екологічних стратегій описували за схемою Раменського-Грайма (Раменский, 1971; Grime, 1977). Ступінь фітоценотичної схожості рослинних угруповань встановлювали за коефіцієнтом Г.Глізона (Дідух, Плюта, 1994). Зміну екологічних умов виявляли за екологічною структурою трав'яного ярусу, використовуючи відповідні шкали (Цыганов, 1983; Didukh, 2011).

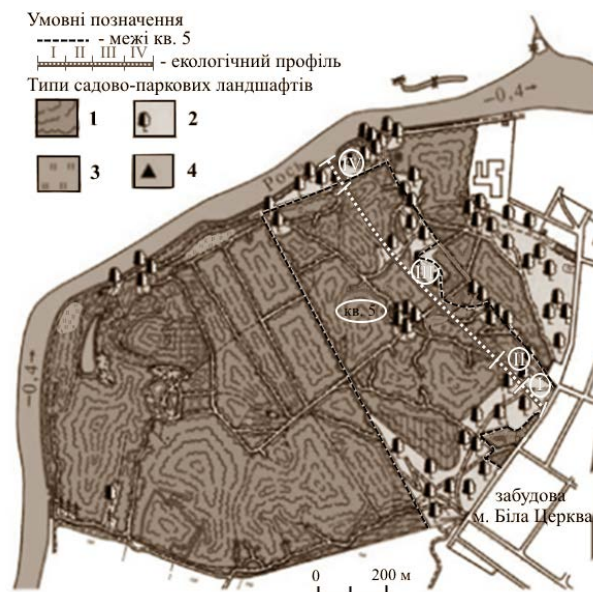


Рис. 1. Ландшафтний план урочища «Голендерня» за типами садово-паркових ландшафтів: 1 – лісовий (84,2% від озелененої площі), 2 – парковий (14,5%), 3 – лучний (0,2%), 4 – альпійський (1,1%) (за Клименком, 2010); екологічний профіль (наші дані): I зона (105–116 м; ПП1); II зона (117–200 м; ПП2); III зона (201–745 м; ПП3); IV зона (746–816 м; ПП4)

Профіль проходив від узлісся лісового масиву (вул. Лісова приватної забудови) до р. Рось з контролем в його центрі – ядрі лісового масиву з найбільш збереженим перестійним деревостаном *Q. robur* віком 213 років (виділ 5). Ця ділянка ідентична ділянці дендропарку «Олександрія», відомій у літературі як «Вікова діброва» (Галкін та ін., 2011), що має значення для певного співставлення і передбачення вірогідних наслідків рекреаційного навантаження (Драган, 2011, 2012). Взагалі виділ 5 займає площу 29,2 га і охоплює майже третину урочища «Голендерня». Таксаційна характеристика деревостану: видовий склад – 10 Дз, середня висота (H) становить 18,7 м, середній діаметр (D) – 61,5 см, густина (N) – 283 шт./га, сума площ перетину стовбурів – 86 м²/га, клас бонітету – IV. Середня зімкнутість першого ярусу становить 0,6, щільність крон *Q. robur* – 36,6%, індекс стану (I_c) – 3,5. У другому ярусі переважає *Acer platanoides* L. (N=150 шт./га), менше *Pyrus communis* L. (67 шт./га), зустрічаються *Ulmus laevis* Pall., *U. glabra* Huds., *Tilia cordata* L., *Fraxinus excelsior* L., *Malus domestica* Borkh. та інші види (H=10,9–12,3 м; D=15,3–21,2 см). У підрості домінують *U. laevis* (N=3744 шт./га), *A. platanoides* (1783), *Acer campestre* L. (1749 шт./га). Підлісок формують *Euonymus verrucosa* Scop. (2816 шт./га), *Crataegus monogyna* Jacq. (866), *Berberis vulgaris* L. (366), *Sambucus nigra* L. (367), *Acer tataricum* L. (83 шт./га). Найбільші і найвищі (понад 7

м) біогрупи формує *C. monogyna*. Наявність по всьому виділу 5 галявин площею від 80 до 1200 м² свідчить про значні рубки в минулому.

В межах екопрофілю, довжиною 816 м, були виділені чотири зони (рис. 1), в кожній закладено та описано пробні площі (ПП) по 0,12 га. I зона (ПП1) – смуга шириною 105–116 м від узлісся до заростей *C. monogyna*, яку пересікає ґрунтова дорога шириною 2 м; на відстані до 20 м від узлісся трапляються внаслідок вирубки дерев галявини площею понад 100 м² та сміттєзвалища діаметром до 3 м; тип ландшафту – парковий з однарусним деревостаном *Q. robur* і відсутністю підросту і підліску. II зона (ПП2) – проміжна смуга між ландшафтами паркового та лісового типів шириною 117–200 м із домінуванням *C. monogyna*, а починаючи з 120 м від узлісся – поодинокими екземплярами у підліску *A. tataricum*, *U. laevis*, *C. betulus*, *T. cordata*. III зона (ПП3) – смуга шириною 201–745 м в межах лісового типу ландшафту; фітоценоз із найбільш збереженою структурою, проте на задернілих полянах (площею 80–1200 м²) є сліди згарищ (2,2 × 4,6 м); засміченість полян коливається в межах 3–12 %, вигоптаність сягає 35% площі, а ближче до річки кількість згарищ і сміття збільшується. IV зона (ПП4) – перехідна смуга від лісового до лучного типу ландшафту та насаджень прибережної ділянки без участі *Q. robur* шириною 746–816 м. Цю зону відділяє від р. Рось безліса задерніла смуга (2–16 м завширшки), що тягнеться вздовж стежки і бровки берега. Починаючи з позначки 390 м йде помітний ухил (4°) до р. Рось; наразі перепад висот на екопрофілі становить 153,3 м над рівнем моря – I–II зони, 150,2 м – III зона, 144,0 м – IV зона.

Результати та обговорення

За літературними даними, деградація екосистем урочища «Голендерня» (ослаблення, всихання деревостанів, дигресія ґрунту тощо) спричинена, насамперед, надмірним нерегульованим рекреаційним впливом (Гайдамак та ін., 1994; Галкін та ін., 2011, 2014; Драган, 2011, 2012; Клименко, 2010; Лавров та ін., 2015; Плескач, Кондратюк, 2014; Blinkova, Ivanenko, 2014). Рекогносцирувальне обстеження показало, що на території, крім рекреаційної дигресії, є чимало ознак й інших впливів діяльності людини: реконструкція лісового типу ландшафту в парковий тип, яка не підтримується належним чином; фізичне (будівельне, побутове сміття, рослинні залишки з приватних агрогідь) і біологічне (забур'янення) забруднення від суміжного приватного сектора міста і кінцевої зупинки міського транспорту; забудова; видобування піску; збір лікарських рослин, грибів, ягід тощо.

Внаслідок дії зазначених чинників та перестійного віку (більше 200 років) деревостан ядра лісового масиву починає деградувати. Він має гірший стан ($I_c=3,7$), ніж ідентичний деревостан «Вікова діброва» дендропарку «Олександрія», хоча відвідуваність рекреантами його значно менша. За даними Ю.О.Клименка, у цій частині урочища (площею 5,6 га) «...на близько 500 здорових дубів припадає майже 20 суховерхих та 35 всохлих ...» (Клименко, 2010; с. 14). Слід зазначити, що навіть на ділянках лісового типу ландшафту із деревостаном 50–90 років (вид. 9, 29, 40) дуб втрачає домінуючу роль, зріджуючись подекуди до зімкненості першого ярусу 0,4. Разом з тим в найбільш вцілілих двох'ярусних частинах зімкненість деревного ярусу може сягати 0,8, а з розростанням підросту та підліску доходити до 1,0. В цілому, ступінь деградації зменшується з віддаленням від міста – від однарусного, зрідженого до 0,6 і засміченого деревостану в парковій зоні I і перехідній зоні II до двох'ярусного з розвинутим підростом і підліском із зімкнутістю до 0,8 (подекуди 1,0) у лісовому типі ландшафту ядра масиву (зона III). Проте далі, з наближенням до рекреаційно привабливого берега річки знову різко зростає зрідження деревостану. Однак, на відміну від паркової, приміської смуги, більше за *Q. robur* наявні його супутники, які ближче до річки (з пониженням рельєфу) витісняються *Robinia pseudoacacia* L., *Populus tremula* L. та заростями *A. tataricum* і *Salix viminalis* L.

Відомо, що найбільшою лабільністю характеризується живий надґрунтовий покрив, який інтегровано і доволі швидко віддзеркалює характер змін внутрішньосистемних умов фітоценозу, що обумовлено тісним взаємозв'язком між біотичними й абіотичними складовими. Ця закономірність спостерігається й на досліджуваному екопрофілі. Загальне проективне покриття трав'яного ярусу зростало у двох напрямках: з 68,3% (в ядрі лісового масиву III зони) до 93,1% в перехідній II зоні та 96,2% в парковій, приміській I зоні, а також до 75,5% у прибережній смузі IV зони. Істотно змінюється і видовий склад рослинних угруповань – багаторічні лісові трави (*Carex pilosa* Scop., *Polygonatum multiflorum* (L.) All., *Adoxa moschatellina* L., *Asarum europaeum* L., *Glechoma hederacea* L., *Scilla bifolia* L., *Vincetoxicum hirundinaria* Medic. тощо) витісняються адвентами,

рудералами, світлолюбними видами, багато з яких є однорічниками. Найчастіше трапляються *Asperula odorata* L., *Elytrigia repens* L., *Galium aparine* L., *Geum urbanum* L., *Poa pratensis* L., *Stellaria media* L., *Urtica dioica* L. тощо).

Взагалі природний комплекс урочища «Голендерня» характеризується високим фіторізноманіттям: 70 деревних видів із 41 роду, 23 родин та 252 види квіткових трав'янистих рослин, що належать до 165 родів і 43 родин (Клименко, 2010). В межах екопрофілю у трав'яному ярусі зафіксовано 88 видів судинних рослин: зона I – 23 видів; зона II – 25 видів; зона III – 68 видів; зона IV – 31 вид. Найбільш різноманітно були представлені родини Rosaceae, Asteraceae, Ranunculaceae (відповідно 13,6; 11,5 та 10,4% від загального числа видів). На кожну з родин Liliaceae, Boraginaceae, Rubiaceae припадало по 8,7%. Хоча адвентивні види зустрічалися в усіх зонах профілю, у I та II зонах зафіксовано їх максимальну кількість (*Amaranthus retroflexus* L., *Ambrosia artemisifolia* L., *Asclepias syriaca* L. *Canabis ruderalis* Janisch., *Cardaria draba* L., *Cyclachaena xanthifolia* (Nutt.) Fresen., *Datura stramonium* L., *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv., *Euphorbia cyparissias* L., *Erigeron canadensis* L., *Heracleum sibiricum* L., *Galinsoga parviflora* Cav., *Geranium popovii* (Tzvelev) Tzvelev, *Glyceria striata* (Lam.) Hitchc., *Impatiens parviflora* L., *Malva sylvestris* L., *Oxalis stricta* L., *Partenocissus quinquefolia* (L.) Planch., *Phalaris canariensis* L., *Xanthium strumarium* L.), за рахунок чого коефіцієнт фітоценотичної схожості рослинних угруповань цих зон (KG) становить 88,5%. Цей показник є значно меншим для зон II і III (KG=45,0%), I і III (KG=25,0%), що пояснюється переважанням у рослинних угрупованнях зони III лісових видів. Найбільше відрізняється від всіх інших рослинні угруповання IV зони (I і IV – KG=15,0%; II і IV – KG=11,5 %; III і IV – KG=5,5%).

Як відомо, біоморфа є результатом взаємодії складного комплексу зовнішніх екологічних чинників, відповідних фітоценотичних умов і внутрішніх еволюційно-генетичних, фізіологічних, біохімічних адаптацій рослин (Глухов и др., 2011; Царик, 1994). Представлений біоморфічний спектр трав'яних рослин для кожної зони екопрофілю демонструє особливості пристосувань рослинного покриву дослідженої території до антропогенних змін (табл. 1).

Таблиця 1.

Спектри біоморф трав'яного покриву урочища «Голендерня»

Біоморфи	Число видів, %			
	I*	II	III	IV
Тривалість життєвого циклу				
Багаторічники	43,8	63,1	78,5	61,1
Дворічники	12,5	15,9	7,2	11,1
Однорічники	43,7	21,0	14,3	27,8
Структура надземних пагонів				
Безрозеткові	56,2	52,5	67,8	55,5
Напіврозеткові	-	5,3	3,6	5,6
Розеткові	18,8	15,9	17,9	22,2
Повзучі	25,0	26,3	10,7	16,7
Структура підземних пагонів				
Короткокореневищні	15,5	10,5	21,4	33,3
Довгокореневищні	40,5	31,6	22,1	22,2
Цибулинні	-	-	7,2	-
Без спеціалізованих пагонів	44,0	57,9	49,3	45,5
Структура кореневої системи				
Стрижнева	62,5	63,2	53,6	66,6
Мичкувата	37,5	36,8	46,4	33,3

Примітка: * номер зони екопрофілю.

В трав'яному покриві переважають безрозеткові рослини; менше розеткових та рослин з повзучими надземними пагонами; найменша кількість напіврозеткових рослин, які в приміській парковій смугі (зона I) зовсім відсутні. В ядрі лісового масиву домінують багаторічні трав'яні

рослини (78,5% від загальної кількості видів – зона III), а найменше їх в приміській смузі. Протилежна тенденція спостерігається у розподілі малорічників. Найчисельнішою є група видів, які не мають спеціалізованих підземних пагонів (39,3–57,9 %). Цибулинні рослини *Gagea pusila* (F.W. Schmidt) Schult. et Schult., *Gagea minima* (L.) Ker Gawl, *Gagea lutea* (L.) Ker Gawl, *Galanthus nivalis* L., *Scilla bifolia* L. збереглись лише всередині насадження (7,2%). Частка кореневищних видів є вищою для більш антропогенно порушених I і II зон, що, можливо, спричинене більшою трансформацією поверхні ґрунту. Проте, кореляції між кількістю саме короткочореневищних або довгочореневищних видів і ступенем антропогенної трансформації не виявлено. В рослинних угрупованнях всіх зон переважають види зі стрижневою кореневою системою, разом з тим, в ядрі лісового масиву виявлено найбільшу (порівняно із іншими зонами) кількість видів із мичкуватою кореневою системою. Загалом, виявлені під час аналізу біоморфологічного спектру тенденції (вплив антропогенної трансформації на тривалість життєвого циклу, структуру надземних, підземних пагонів та кореневих систем) збігаються з даними досліджень інших авторів (Бессонова та ін., 2014; Куземко, Ковтонюк, 2015).

Характер життєвої стратегії видів в екосистемах теж можна розглядати як їх адаптацію до певних умов середовища існування. Стратегія виду не є константною, вона змінюється в мікроеволюційних процесах і впродовж всього онтогенетичного розвитку особини (Миркин, 1985; Работнов, 1983; Раменский, 1971; Grime, 1977). Типи стратегій рослин за схемою Раменського-Грайма – один з найпопулярніших сучасних варіантів опису цих характеристик. Фітоценологами було виділено три первинних типи стратегій рослин: віоленти (C), пацієнти (S), експлеренти (R) (Раменский, 1971; Grime, 1977). Разом з тим, J.Grime підкреслює, що не завжди виражений типовий первинний тип стратегії, часто наявні перехідні групи – CR, CS, RS, CRS (Grime, 1977). Б.М.Міркин, об'єднавши систему Раменського-Грайма та Т.А.Работнова з враховуванням аут- і синекологічної природи адаптацій рослин у різних екологічних і ценотичних умовах, виділив систему еколого-ценотичних стратегій перехідних груп (Миркин, 1983). В трансформованих людиною екосистемах змінюються внутрішні умови, зростають амплітуди коливань умов та напрями динаміки. Тому саме види з перехідними формами між різними типами стратегій можуть найкраще віддзеркалити зазначені антропогенні зміни в екосистемі (рис. 2).

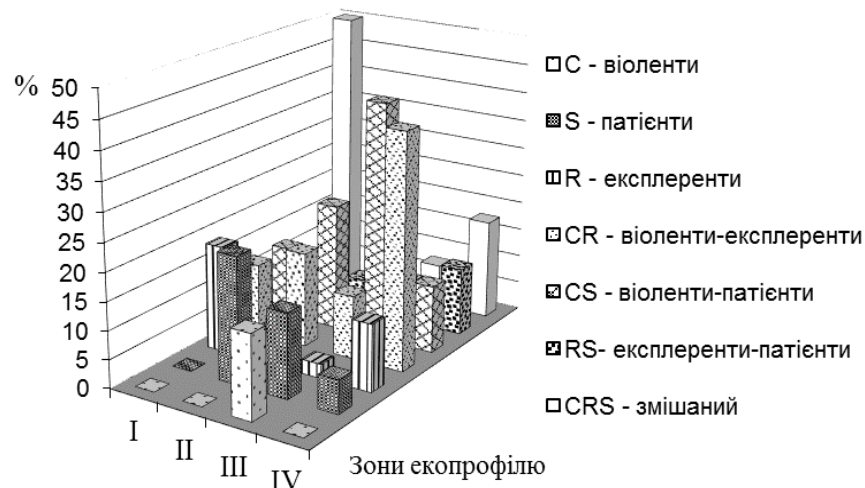


Рис. 2. Розподіл видів трав'яного покриву за типами екологічної стратегії

В умовах значної антропогенної трансформації (зона I) в трав'яному покриві були відсутні як віоленти, так й пацієнти, натомість домінували (50,0%) види із змішаним типом стратегії – *Galeopsis tetrahit* L., *G. urbanum*, *I. parviflora*, *P. quinquefolia* тощо. Найбільшу кількість пацієнтів (22,2%) зафіксовано в перехідній зоні (*Geranium sylvaticum* L., *Melampyrum nemorosum* L., *Setaria viridis* (L.) Beauv. тощо). Віоленти ж взагалі зустрічаються лише в найменш ушкодженій частині лісового масиву (зона III – 14,8%), де майже половина всіх видів (42,0%) є віолентами-пацієнтами. До

перших належать *Arrhenatherum elatius* (L.) J. Presl., *Asarum europaeum* L., *Viola odorata* L. тощо, останні представлені *Anthoxanthum odoratum* L., *Galium odoratum* (L.) Scop., *Festuca gigantea* L., *Valeriana stolonifera* Czern., *Veronica chamaedrys* L. тощо. Із зменшенням антропогенної трансформації в трав'яному покриві відповідно зменшується частка експлерентів, експлерентів-патентів та видів зі змішаним типом стратегії, досягаючи мінімальних показників (у зоні III – 2,5; 11,1 та 7,4% відповідно). Про істоту трансформацію зони IV зокрема свідчить також значна кількість віолентів-експлерентів (41,2%), наприклад, розвиток *Aegopodium podagraria* L., *H. sibiricum*, *Linaria vulgaris* Mill., *Ranunculus repens* L. тощо.

Зміни екоотопів під впливом антропогенної діяльності проявляються значною мірою в порушенні едафічних умов, які визначають розподіл рослинних угруповань у просторі, їх продуктивність та розвиток. З часом це, зазвичай, спричиняє зниження повноти насаджень, зімкнутості деревного намету. Це, в свою чергу, призводить до збільшення проникнення атмосферних опадів до нижніх ярусів і поверхні ґрунту, але також й до збільшення світла і тепла, що посилює випаровування та сприяє ще більшому висушуванню ущільненого ґрунту. Екоморфична структура трав'яного покриву добре віддзеркалює ці зміни (табл. 2).

Таблиця 2.

Спектри екоморф трав'яного покриву урочища «Голендерня»

Екоморфи	Число видів (%)			
	I	II	III	IV
Гідроморфи, Hd				
Гігрофіти	-	-	-	6,3
Гігромезофіти	33,3	50,0	57,1	25,0
Мезофіти	44,5	38,9	25,9	37,5
Субмезофіти	22,2	11,1	17,9	25,0
Гідроконтрастоморфи, fH				
Гідроконтрастобоби	-	-	10,5	11,7
Гемігідроконтрастобоби	56,3	50,0	55,2	17,7
Гемігідроконтрастофіли	43,7	33,3	34,3	70,6
Гідроконтрастофіли	-	16,7	-	-
Ацидоморфи, Rc				
Ацидофіли	12,5	-	-	-
Субацидофіли	50,0	50,0	61,1	58,8
Нейтрофіли	37,5	50,0	38,9	41,2
Трофоморфи, Tr				
Мезотрофи	12,5	16,7	31,0	5,9
Семіевтрофи	50,0	61,1	48,3	64,7
Евтрофи	31,3	22,2	20,7	23,5
Субглікотрофи	6,2	-	-	5,9
Нітроморфи, Nt				
Субанітрофіли	-	-	3,5	-
Гемінітрофіли	31,3	27,8	34,5	29,4
Нітрофіли	50,0	61,1	51,8	64,7
Еунітрофіли	18,7	22,2	10,3	5,9
Аероморфи, Ae				
Субаерофіли	37,5	38,9	37,9	29,4
Геміаерофоби	50,0	38,9	44,7	41,2
Субаерофоби	12,5	22,2	17,4	29,4

В трав'яному покриві в межах всього екологічного профілю превалюють гігромезофіти та мезофіти (як і має бути в умовах D₂), і тільки біля р. Рось з'являються гігрофіти. Це такі види, як *Bidens cernua* L., *Myosotis scorpioides* L., *Lythrum salicaria* L., *Filipendula denudate* L., *Petasites hybridus* L. тощо. Дослідження показали, що із збільшенням антропогенної трансформації

зменшується також частка гігомезофітів з 57,1% (зона III) до 33,3% (зона I) та 25,0% (зона IV). Натомість збільшується частка мезофітів (до 44,5% у зоні I) за рахунок лучно-рудеральних та адвентивних видів – *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., *Hieracium pilosella* L., *Chaerophyllum aromaticum* L., *I. parviflora*, *M. sylvestris*, *O. stricta*, *Taraxacum officinale* L., *U. dioica* тощо. Збільшення фітоценотичного внеску субмезофітів (*A. retroflexus*, *Dactylis glomerata* L., *Chelidonium majus* L., *Lotus arvensis* L., *Poa pratensis* L., *Polygonum aviculare* L., *Potentilla reptans* L. тощо) на деградованих приузлісних смугах (зони I та IV) свідчить про значну антропогенну трансформацію цих зон. Серед гідроморф превалюють гемістенотопи.

Для характеристики коливань водного режиму едафотопу ще Л.Г.Раменським (1971) було введено поняття змінності зволоження. Даний екологічний чинник істотно впливає на період та тривалість вегетації рослин, на аерацію та інші характеристики ґрунтів. У зонах II та IV простежується збільшення від 33,3% до 70,6% внеску гемігідроконтрастофілів, які загалом є характерними для свіжих лісолучних екоотопів з помітно нерівномірним зволоженням кореневмісного шару ґрунту (Дідух та ін., 2000). Варто зазначити, що лише на у цих зонах присутні гідроконтрастофоби, які, в свою чергу, характерні лише для екоотопів з рівномірно стійким зволоженням кореневмісного шару ґрунту (*A. europaeum*, *Arctium lappa* L., *G. odoratum*, *Polygonatum multiflorum* (L.) All. тощо). Натомість у зоні II у видовому складі є гідроконтрастофіли, що, вірогідно, спричинене більшим витоптуванням поверхні ґрунту на цій ділянці. Таким чином, змінність зволоження збільшується внаслідок порушення цілісності деревного намету, зменшення зімкненості підросту й підліску, розмежування стежками нижніх ярусів. Такий розподіл видів трав'яного ярусу за обома показниками водного режиму ґрунтів свідчить про антропогенне порушення режиму водозабезпечення різних типів ландшафтів дослідженої діброви, а також зміну видового складу в бік збільшення частки видів, толерантних до браку вологи, переважно полі- та евриморфних екологічних груп (*Rumex confertus* L., *S. annua*, *S. canadensis*, *U. dioica* тощо).

Загальновідомо, що кислотність і сольовий режим ґрунту залежать від його структури, водних властивостей, зокрема від особливостей промивного режиму. Зміна ацидоморфічного складу у різних типах ландшафтів дослідженої діброви полягає у збільшенні домінування гемістенотопних та геміевритопних субацидофілів від 50,0% до 61,1% та присутності ацидофілів (12,5%; *O. acetosella*, *P. quinquefolia* тощо) лише на ділянках зони I, найближчих до житлових масивів міста. Такий розподіл свідчить про слабке підкислення сірого лісового супіщаного ґрунту внаслідок впливу міста, зростання засміченості і викидів автотранспорту. Превалюють серед усіх досліджених груп ацидоморф гемістенотопні та геміевритопні види.

Узагальнений сольовий режим, мінералізованість (Tr), або трофність за Д.М.Цигановим визначаються присутністю у ґрунті різних солей (Цыганов, 1983). Мінералізованість ґрунту на екопрофілі збільшується відповідно до градієнту зростання антропогенного навантаження. Серед трофоморф різних типів ландшафту діброви майже у всіх зонах переважають семіевтрофи (від 48,3% до 64,7% загального числа видів; наприклад, *Atriplex patula* L., *Carex pillosa* Scop., *G. sylvaticum*, *G. odoratum*, *Trifolium hybridum* L., *Vinca minor* L. Це є доволі характерним для рослинності даного типу ґрунту у приміській зоні (Драган, 2012). Мезотрофів найбільше (31,0%) у лісовому типі ландшафту, натомість на найбільш трансформованих приузлісних ділянках зон I та IV внесок мезотрофів знижується за рахунок субглікотрофів. Майже третину (31,3%) серед трофоморф трав'яного ярусу у найбільш трансформованій зоні I становлять евтрофи, що зазвичай супроводжує помірний антропогенний вплив (*C. majus*, *E. repens*, *H. sibiricum*, *Plantago major* L., *P. aviculare* та ін.). Загалом, показники трофності відповідають семіевтрофному глікофільному типу сольового режиму широколистяних лісів (Дідух, Плюта, 1994).

Одним з найважливіших показників ґрунту є також вміст в ньому засвоєваних форм азоту. За даними фітоіндикації ґрунти в межах екопрофілю відносно забезпечені мінеральним азотом. Поміж нітроморф домінує група нітрофілів – 50,0–64,7 % та гемінітрофілів – 27,8–34,5 %. Найменше еунітрофілів виявлено поблизу р. Рось (5,9%), що можливо спричинено вимиванням рухомих форм азоту. Натомість, субанітрофіли трапляються лише в центральній частині масиву (зона III), яка є найменш антропогенно порушеною. Розподіл за нітроморфами показав, що інтенсивний антропогенний вплив зумовлює певну нітрифікацію екоотопів.

Як відомо, аерація ґрунту впливає на процеси його окислення, визначає характер ґрунтоутворення, розвиток мікрофлори, а також лімітує поширення багатьох видів рослин. Серед аероморф на екопрофілі домінують геміаерофоби: *Agrostis gigantea* Roth., *Fragaria vesca* L.,

G. odoratum, *Lamium album* L., *Myosotis arvensis* (L.) Hill, *Rubus caesius* L. та ін. Найбільше субаерофобів трапляється ближче до вищепаних ділянок уздовж берега річки (зона IV; 29,4%) та в зоні лісових доріг (зона II; 22,2%). Геміаерофоби превалюють в парковій зоні (зона I; 50,0%). Загалом, спрямованої динаміки за аероморфами не виявлено.

Висновки

Отже, зміни екологічних умов урочища «Голендерня» дендропарку «Олександрія» спричинені внаслідок: нерегульованої рекреації; фізичного (будівельне, побутове сміття, рослинні залишки з приватних агрогідь) і біологічного забруднення; реконструкції лісового типу ландшафту в парковий тип, яка не підтримується належним чином; забудови; видобування піску; збору лікарських рослин, грибів, ягід тощо. Внаслідок комплексного впливу зазначених чинників перестійні дубові насадження урочища деградуєть на рівні III стадії рекреаційної дигресії. Це проявляється в порушенні цілісності фітоценозів, зрідженні деревного намету та зміні структури деревостану, що зростає з наближенням від ядра лісового масиву до приміського узлісся, менше – до річки.

Зміни екологічних режимів едафотопу та аеротопу лісової екосистеми урочища зумовлюють зміну видового складу трав'яного покриву. Всього в межах екопрофілю у трав'яному ярусі виявлено 88 видів судинних рослин. Найбільш різноманітно представлені родини Rosaceae, Asteraceae, Ranunculaceae. Адвентивні види поширені в усіх зонах урочища, але найбільше їх у приміській частині паркового типу ландшафту (I та II зони). Біоморфологічний аналіз свідчить про особливості пристосувань рослинного покриву до антропогенних змін. Найбільшу частку багаторічних рослин встановлено в ядрі насадження (78,5%), найменше – в самій деградованій приміській парковій смузі (43,8%). Переважають безрозеткові трав'яні рослини та рослини, які не мають спеціалізованих видозмін підземних пагонів. Частка кореневищних видів є вищою в рослинних угрупованнях більш антропогенно трансформованих приміських I і II зон урочища. За типами екологічної стратегії встановлено, що в умовах значної антропогенної трансформації паркового типу ландшафту (зона I) в трав'яному покриві відсутні віоленти та пацієнти, домінують види із змішаним типом стратегії, віоленти розвиваються (14,8%) лише в найменш трансформованій центральній частині насадження (зоні III), де зберігся лісовий тип ландшафту. Доведено, що антропогенні зміни урочища відображає також екоморфічна структура трав'яного покриву. Серед гідроморф превалюють гігромезофіти та мезофіти, але виявлено збільшення фітоценотичного внеску субмезофітів на деградованих приузлісних смугах деревостану (зони I та IV), що свідчить про значну їх антропогенну трансформацію. Зміна ацидоморфічного складу полягає у збільшенні домінування гемістенотопних та геміевритопних субацидофілів від 50,0% до 61,1% та присутності ацидофілів. Розподіл за нітроморфами показав, що інтенсивний антропогенний вплив зумовлює певну нітрифікацію екоотопів.

Список літератури

- Бессонова В.П., Зайцева І.А., Яковлева-Носарь С.О. Вплив рекреації на стан ділянок балки Широкої острова Хортиця // Науковий вісник НЛТУ України. – 2014. – Вип.24.9. – С. 109–114. /Bessonova V.P., Zaytseva I.A., Yakovleva-Nosar' S.O. Vplyv rekreatsyyi na stan dilyanok balky Shyrokojy ostrova Khorhtysya // Naukovyy visnyk NLTU Ukrayiny. – 2014. – Vyp.24.9. – S. 109–114./
- Блінкова О.І. Синфітоіндикація рекреагенних змін екологічних умов заповідного урочища «Боржава» (Закарпатська низовинна область) // Вісник ОНУ. Серія: Біологія. – 2014. – Т.19, вип.2 (35). – С. 21–33. /Blinkova O.I. Synfitoindikatsiya rekreagennykh zmin ekologichnykh umov zapovidnogo urochyscha «Borzava» (Zakarpats'ka nyzovynna oblast') // Visnyk ONU. Seriya: Biologiya. – 2014. – T.19, vyp.2 (35). – S. 21–33./
- Воробьев Д.В. Методика лесотипологических исследований. – К.: Урожай, 1967. – 388с. /Vorob'yev D.V. Metodika lesotipologicheskikh issledovaniy. – K.: Urozhay, 1967. – 388s./
- Ворон В.П., Івашинюта С.В., Коваль І.М., Бондарук М.А. Ліси зеленої зони м. Рівне та їх еколого-захисні функції. – Харків: Нове слово, 2008. – 224с. /Voron V.P., Ivashinyuta S.V., Koval' I.M., Bondaruk M.A. Lisy zelenoyi zony m. Rivne ta yikh ekologo-zakhysni funktsiyi. – Kharkiv: Nove slovo, 2008. – 224s./
- Гайдамак В.М., Мордатенко Л.П., Головка Є.А. Діброва дендропарку «Олександрія»: стан, проблеми оптимізації і відновлення. – Біла Церква: Дендропарк «Олександрія» НАН України, 1994. – 42с. /Gaydamak V.M., Mordatenko L.P., Golovko Ye.A. Dibrova dendroparku «Oleksandriya»: stan, problemy optymizatsiyi i vidnovlennya. – Bila Tserkva: Dendropark «Oleksandriya» NAN Ukrayiny, 1994. – 42s./
- Галкін С.І., Калашнікова Л.В., Дойко Н.М., Рубіс В.Л. Екологічна стежка державного дендропарку «Олександрія» НАН України як форма соціальної структури на природно-заповідних територіях // Екосистеми, их оптимизация и охрана. – 2014. – Вип.10. – С. 221–226. /Galkin S.I., Kalashnikova L.V.,

- Doyko N.M., Rubis V.L. Ekologichna stezhka derzhavnogo dendroparku «Oleksandriya» NAN Ukrayiny yak forma sotsial'noyi struktury na prirodno-zapovidnykh terytoriyakh // Ekosistemy, ikh optimizatsiya i okhrana. – 2014. – Vyp.10. – S. 221–226./
- Галкін С.І., Драган Н.В., Пидорич Ю.В., Оверченко І.Г. Старовікова діброва урочища «Голендерня» дендрологічного парку «Олександрія»: стан та умови розвитку // Каразинські природничі студії: Матеріали міжн. наук.-практ. конф. – Харків, 2011. – С. 254–260. /Galkin S.I., Dragan N.V., Pydorych Yu.V., Overchenko I.G. Starovikova dibrova urochishcha «Golendernya» dendrologichnogo parku «Oleksandriya»: stan ta umovi rozvytku // Karazins'ki pryrodnychi studiyi: Materialy mizhn. nauk.-prakt. konf. – Kharkiv, 2011. – S. 254–260./
- Голубець М.А., Марискевич О.Г., Крок Б.О. Екологічний потенціал наземних екосистем. – Львів: Поллі, 2003. – 180с. /Golubets' M.A., Maryskevych O.G., Krok B.O. Ekologichnyy potentsial nazemnykh ekosystem. – L'viv: Polli, 2003. – 180s./
- Глухов А.З., Хархота А.І., Прохорова С.І. Стратегии популяций растений в техногенных экосистемах // Промышленная ботаника. – 2011. – Вып.11. – С. 3–13. /Glukhov A.Z., Kharkhota A.I., Prokhorova S.I. Strategii populyatsiy rasteniy v tekhnogennykh ekosistemakh // Promyshlennaya botanika. – 2011. – Vyp.11. – S. 3–13./
- Дідух Я.П., Плюта П.Г. Фітоіндикація екологічних факторів. – К.: Наук. думка, 1994. – 280с. /Didukh Ya.P., Plyuta P.G. Fitoindikatsiya ekologichnykh faktoriv. – K.: Nauk. dumka, 1994. – 280s./
- Дідух Я.П., Плюта П.Г., Протопопова В.В. та ін. Екофлора України. Т.1. – Київ: Фітосоціоцентр, 2000. – 284с. /Didukh Ya.P., Pyuta P.G., Protopopova V.V. ta in. Ekoflora Ukrayiny. T.1. – Kyiv: Fitosotsiotsentr, 2000. – 284s./
- Драган Н.В. Причини і особливості деградації старовікової діброви дендрологічного парку «Олександрія» НАНУ // Проблеми збереження, відновлення та стабілізації степових екосистем. – Маріуполь, 2011. – С. 24–30. /Dragan N.V. Prychyny i osoblyvosti degradatsiyi starovikovoyi dibrovy dendrologichnogo parku «Oleksandriya» NANU // Problemy zberezheniya, vidnovlennya ta stabilizatsiyi stepovykh ekosystem. – Mariupol', 2011. – S. 24–30./
- Драган Н.В. Антропогенна трансформація ґрунтів вікової діброви урочища «Голендерня» державний дендрологічний парк «Олександрія» НАНУ // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2012. – Т.4, вип.3. – С. 288–293. /Dragan N.V. Antropogenna transformatsiya gruntiv vikovoyi dibrovy urochishcha «Golendernya» (derzhavnyy dendrologichnyy park «Oleksandriya» NANU) // Naukovyy visnyk Chernivets'kogo universytetu. Biologiya (Biologichni systemy). – 2012. – T.4, vyp.3. – S. 288–293./
- Клименко Ю.О. Рельєф, ландшафти та насадження урочища «Голендерня» Державного дендрологічного парку «Олександрія» НАН України (м. Біла Церква) // «Наукові доповіді НУБіП». – 2010. – Т.2 (18). (<http://nd.nubip.edu.ua/2010-2/10kyaubt.pdf>). /Klymenko Yu.O. Rel'yef, landshafty ta nasadzhennya urochishcha «Golendernya» Derzhavnogo dendrologichnogo parku «Oleksandriya» NAN Ukrayiny (m. Bila Tserkva) // «Naukovi dopovidi NUBiP». – 2010. – T.2 (18)./
- Куземко А.А., Ковтонюк А.І. Таксономічна та екологічна структура спонтанної флори Національного дендрологічного парку «Софіївка» НАН України // Автохтонні та інтродуковані рослини. – 2015. – Вип.11. – С. 111–120. /Kuzemko A.A., Kovtonyuk A.I. Taksonomichna ta ekologichna struktura spontannoi flory Natsional'nogo dendrologichnogo parku «Sofiivka» NAN Ukrayiny // Avtokhtonni ta introdukovani roslyny. – 2015. – Vyp.11. – S. 111–120./
- Кузнецов С.І., Клименко Ю.А. Об актуальных биоэкологических проблемах зеленого строительства // Бюлетень державного Нікітського саду. – 1999. – Вип.81. – С. 50–55. /Kuznetsov S.I., Klimenko Yu.A. Ob aktual'nykh bioekologicheskikh problemakh zelenogo stroitel'stva // Byuleten' derzhavnogo Nikits'kogo sadu. – 1999. – Vyp.81. – S. 50–55./
- Лавров В.В. Системний підхід як методологічна основа для оцінки і зменшення загроз біорізноманіттю (лісові екосистеми) // Оцінка і напрямки зменшення загроз біорізноманіттю. – К.: Хімджест, 2003. – С. 156–273. /Lavrov V.V. Systemnyy pidkhid yak metodologichna osnova dlya otsinky i zmenshennya zagroz bioriznomanittyu (lisovi ekosystemy) // Otsinka i napryamky zmenshennya zagroz bioriznomanitttyu. – K.: Khimdzhest, 2003. – S. 156–273./
- Лавров В.В., Блінкова О.І. Синфітоіндикація рекреагенних змін екологічних умов реліктових ялівцевих фітоценозів Південного берега Криму // Агроекологічний журнал. – 2011. – №4. – С 76–82. /Lavrov V.V., Blinkova O.I. Synfitoindykatsiya rekreagennykh zmin ekologichnykh umov reliktovykh yalivtsevykh fitotsenoziv Pivdenного берега Krymu // Agroekologichnyy zhurnal. – 2011. – №4. – S 76–82./
- Лавров В.В., Стадник А.П., Житовоз А.В. та ін. Лісові насадження зеленої зони м. Біла Церква за впливу промислового добування граніту // Агроекологічний журнал. – 2015. – №3. – С. 25–33. /Lavrov V.V., Stadnyk A.P., Zhytovoz A.V. ta in. Lisovi nasadzhennya zelenoyi zony m. Bila Tserkva za vplyvu promyslovogo dobuyannya granitu // Agroekologichnyy zhurnal. – 2015. – №3. – S. 25–33./
- Миркин Б.М. О типах эколого-ценотических стратегий у растений // Журнал общей биологии. – 1983. – Т.64. – С. 3–13. /Mirkin B.M. O tipakh ekologo-tsenoticheskikh strategiy u rasteniy // Zhurnal obshchey biologii. – 1983. – T.64. – S. 3–13./
- Миркин Б.М. Теоретические основы современной фитоценологии. – М.: Наука, 1985. – 136с. /Mirkin B.M. Teoreticheskiye osnovy sovremennoy fitotsenologii. – M.: Nauka, 1985. – 136s./

- Плескач Л.Я., Кондратюк С.Я. Дослідження видового складу ліхенофлори дендропарку «Олександрія» НАН України // Науковий вісник НЛТУ України. – 2014. – Вип.24.4. – С. 119–125. /Pleskach L.Ya., Kondratiuk S.Ya. Doslidzhennya vydivogo skladu likhenoflory dendroparku «Oleksandriya» NAN Ukrayiny // Naukovyy visnyk NLTU Ukrayiny. – 2014. – Vyp.24.4. – S. 119–125./
- Работнов Т.А. Фитоценология. – М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1983. – 296с. /Rabotnov T.A. Fitotsenologiya. – M.: Izd-vo Mosk. gos. un-ta, 1983. – 296s./
- Раменский Л.Г. Избранные работы. Проблемы и методы изучения растительного покрова. – Л.: Наука, 1971. – 334с. /Ramenskiy L.G. Izbrannyye raboty. Problemy i metody izucheniya rastitel'nogo pokrova. – L.: Nauka, 1971. – 334s./
- Рысин Л.П., Савельева Л.И., Полякова Г.А. Мониторинг рекреационных лесов. – М.: ОНТИ ПНЦ РАН, 2003. – 167с. /Rysin L.P., Savel'yeva L.I., Polyakova G.A. Monitoring rekreatsionnykh lesov. – M.: ONTI PNTs RAN, 2003. – 167s./
- Санітарні правила у лісах України. Постанова Кабінету Міністрів України № 555 від 27 липня 1995 р. – К., 1995. – 20с. /Sanitarni pravyla u lisakh Ukrayiny. Postanova Kabinetu Ministriv Ukrayiny № 555 vid 27 lypnya 1995 r. – K., 1995. – 20s./
- Серебряков И.Г. Экологическая морфология растений. – М.: Высш. шк., 1962. – 378с. /Serebryakov I.G. Ekologicheskaya morfologiya rasteniy. – M.: Vyssh. shk., 1962. – 378s./
- Царик Й.В. Деякі уявлення про стратегію популяцій рослин // Укр. ботан. журн. – 1994. – Т.51, №3. – С. 5–10. /Tsaryk Y.V. Deyaki uyavlennya pro strategiyu populyatsiy roslin // Ukr. botan. zhurn. – 1994. – T.51, №3. – S. 5–10./
- Цыганов Д.Н. Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов. – М.: Наука, 1983. – 197с. /Tsyganov D.N. Fitoindikatsiya ekologicheskikh rezhimo v v podzone khvoyno-shirokolistvennykh lesov. – M.: Nauka, 1983. – 197s./
- Blinkova O., Ivanenko O. Co-adaptive tree vegetation system of wood-destroying (xylotrophic) fungi in artificial phytocoenoses, Ukraine // Forestry Journal. The Journal of National Forest Centre. – 2014. – Vol.60, iss.3. – P. 168–176.
- Didukh Ya.P. The ecological scales for the species of Ukrainian flora and their use in synphytoindication. – К.: Phytosociocentre, 2011. – 176p.
- Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. – Kiev: M.G.Kholodny Institute of Botany, 1999. – 345p.
- Grime J.P. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory // Am. Nat. – 1977. – Vol.111. – P. 1169–1194.

Представлено: М.М.Мірошниченко / Presented by: M.M.Miroshnychenko

Рецензент: О.В.Безроднова / Reviewer: O.V.Bezrodnova

Подано до редакції / Received: 12.01.2016

УДК: 528.58.071

Угруповання *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* ass. nova (поширення, еколого-ценотична характеристика)

Л.М.Махиня

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця (Київ, Україна)
Larisa_2015@ukr.net

Досліджувалося поширення та еколого-ценотичні особливості угруповань нової асоціації *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae*. Встановлено їх приуроченість до болотистих місцезростань переважно вільхових лісів. Основними факторами, що визначають розподіл угруповань на досліджуваній території, є відмінності рельєфу, ґрунтового покриву та гідрологічного режиму. Найбільші площі масиви угруповань займають у нижній частині долини завдяки наявності островів. З'ясовані особливості географічної структури ценофлори як важливого інструменту ідентифікації синтаксонів, її видового складу у порівнянні з іншими асоціаціями союзу *Bidention tripartitae*, порядку *Bidentetalia tripartitae*, класу *Bidentetea tripartitae*. Досліджена асоціація відрізняється від інших за видовим складом, зокрема наявністю групи діагностичних видів, які не представлені у такому поєднанні в інших асоціаціях даного класу, а також видами, які є диференційними для союзу, зокрема *Juncus bufonius* L. та *Polygonum hydropiper* L. Склад ценофлори відзначався середнім видовим багатством і налічував 54 види судинних рослин. Більша їх кількість відносяться до плуризональної та борео-меридіональної (30%) зональних хорологічних груп. У регіональному відношенні вони переважно (35%) належать до циркумполярної хорологічної групи. За градієнтом океанічності-континентальності більшість видів асоціації є індиферентними (84%).

Ключові слова: синтаксономія, *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae*, прибережно-водна рослинність, Дніпро, *Bidens*.

Сообщества *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* ass. nova (распространение, эколого-ценотическая характеристика)

Л.М.Махиня

Исследовали распространение и эколого-ценотические особенности сообществ новой ассоциации *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae*. Установлена их приуроченность к болотистым местообитаниям преимущественно ольховых лесов. Основными факторами, определяющими распределение сообществ на исследуемой территории, являются различия рельефа, почвенного покрова и гидрологического режима. Наибольшие площади массивы сообщества занимают в нижней части долины благодаря наличию островов. Выявлены особенности географической структуры ценофлоры как важного инструмента идентификации синтаксонов, ее видового состава по сравнению с другими ассоциациями союзу *Bidention tripartitae*, порядка *Bidentetalia tripartitae*, класса *Bidentetea tripartitae*. Исследованная ассоциация отличается от других по видовому составу, в частности наличием группы диагностических видов, которые не представлены в таком сочетании в других ассоциациях данного класса, а также видами, которые являются дифференциальными для союзу, в частности *Juncus bufonius* L. и *Polygonum hydropiper* L. Состав ценофлоры отмечался средним видовым богатством и насчитывал 54 вида сосудистых растений. Больше их количество относится к плуризональной и борео-меридиональной (30%) зональным хорологическим группам. В региональном отношении они преимущественно (35%) относятся к циркумполярной хорологической группе. По градиенту океаничности-континентальности большинство видов ассоциации являются индифферентными (84%).

Ключевые слова: синтаксономия, *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae*, прибрежно-водная растительность, Днепр, *Bidens*.

Communities of *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* ass. nova (distribution, ecological and cenological characteristic)

L.M.Makhynya

We investigated distribution, ecological and cenological features of communities of the new association *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae*. There has been found, that they belong to swampy habitats of alder forests mostly. The main factors, which determine the distribution of communities on the studied territory, are

difference in topography, soil and hydrological regime. The communities occupy the largest areas in the bottom of the valley due to the presence of islands. The features of the geographical structure of cenoflora, as an important tool to identify syntaxa, and its species composition compared with other associations of the union *Bidention tripartitae*, order *Bidentetalia tripartitae*, class *Bidentetea tripartitae* have been revealed. The studied association differs from others by species composition, in particular by the presence of groups of diagnostic species, which are not presented in such combination in other associations of the class, and by species that are differential for the union, in particular *Juncus bufonius* L. and *Polygonum hydropiper* L. The composition of cenoflora has been characterized by medium richness of species (54 species of vascular plants). The most of them belong to plurizonal and boreal-meridional (30%) zonal chorological groups. Regionally, they are mostly (35%) belong to the circumpolar chorologic group. Most of the species of the association are indifferent (84%) by oceanic-continental gradient.

Key words: *syntaxonomy, Bidenti frondosae–Bidentetum connatae, coastal-aquatic vegetation, Dnipro, Bidens.*

Вступ

Ключову роль у відтворенні порушених екосистем та здійсненні прямого чи опосередкованого впливу на формування прибережної природної рослинності відіграють угруповання алювіофітів, зокрема класу *Bidentetea tripartitae* Tüxen et al. ex von Rochow 1951 (Ишбирдин и др., 2005). В Україні клас нараховує 6 асоціацій (табл. 1). У їх складі нами була виявлена нова асоціація *Bidenti frondosae–Bidentetum connatae*. Діагностичними видами виступають *Bidens frondosa* L. та *B. connata* Muhl. ex Wild., поширені на території Північної Америки та Європи.

На території європейського континенту відбувається формування нових угруповань за участю піонерного адвентивного виду – *B. connata*. В Україні він був виявлений ще у 1988 на Київському Поліссі С.Л.Мосякіним (Мосякін, 1988). У зв'язку з цим особливий інтерес складає еколого-ценотична характеристика асоціації.

Угрупування *Bidentetea tripartitae* відзначаються високим ступенем подібності їх видів. Це зумовлює необхідність пошуку додаткових ознак, за якими можна успішно виділяти синтаксони класу. Одним із цих показників є географічний аналіз, який дозволяє більш успішно ідентифікувати виділений синтаксон.

Метою роботи є характеристика еколого-ценотичних особливостей угруповань асоціації *Bidenti frondosae–Bidentetum connatae* та порівняльний аналіз географічної структури її видового складу з іншими асоціаціями союзу *Bidention tripartitae*, порядку *Bidentetalia tripartitae*, класу *Bidentetea tripartitae*.

Об'єкт та методи досліджень

Еколого-ценотичні дослідження рослинних угруповань за участю видів роду *Bidens* проводились протягом 2005–2015 років з використанням традиційних геоботанічних методів (Баркман, 1989; Миркин и др., 2002). Дослідні ділянки площею 16 м² закладалися на знижених територіях заплавної тераси Дніпра (Бориспільський р-н Київської обл., Черкаський р-н Черкаської обл., Світловодський р-н Кіровоградської обл.) та на прибережних територіях Кременчуцького водосховища (Кременчуцький р-н Полтавської обл.). Ділянки розміщувалися на трансектах різної довжини (від 500 м до 5 км). Було здійснено 50 геоботанічних описів. Збір польових даних та їх камеральну обробку виконували за методом Браун-Бланке (Braun-Blanquet, 1964). Впорядкування геоботанічного матеріалу проводилося шляхом створення бази даних форматі TURBOVEG 2.79 (Hennekens, 1995) та їх обробки з використанням програмного пакету JUICE 7.0.83 (Tichy, 2002). Діагностичні види синтаксонів визначали відповідно до значень коефіцієнта ρ_i (порогові значення 25%) (Willner et al., 2009). Назви синтаксонів наведені згідно з правилами третього видання Міжнародного кодексу фітосоціологічної номенклатури (ICPN) (Weber et al., 2000). Номенклатуру подано у відповідності з «Определитель ...» (1999). Географічний аналіз здійснений за методикою Х.Мойзеля зі співавторами (Meusel et al., 1965).

Результати та обговорення

У 1960 р. серед угруповань класу *Bidentetea tripartitae* ценози асоціації *Bidenti frondosae–Atriplicetum prostratae* були описані одними з перших (Tüxen, 1960); пізніше, у 1993 р., описані для Західної Європи (Gutermann, Mucina, 1993). За даними М.Хитри зі співавторами (Vegetace Česk

republiky, 2011), до угруповань даної асоціації входить 52 види з 43 родів та 24 родин. З них 33% видів належать до плюризональної, 25% – до борео-субмеридіональної, 17% – борео-меридіональної, 12% – до температурно-меридіональної, 9% – до температурно-субмеридіональної та по 2% – до субмеридіональної та аркто-меридіональної зональних хорологічних груп. У регіональному відношенні вони належать до циркумполярної (44%), гемікосмополітної (19%), євразійської (12%), європівнічноамериканської (9%), космополітної (8%), європейської (4%), по 2% – до євросибірської та древньосередземноморської хорологічних груп. За градієнтом океанічності-континентальності більшість видів асоціації є індіферентними (90%), по 4% – евконтинентальними, евриконтинентальними та 2% – євриокеанічними.

У 1988 р. O.de Bolos, J.M.Montserrat, A.M.Romo описали асоціацію *Myosoton aquaticum*–*Bidentum frondosae* для Франції (Bolos et al., 1988), у складі угруповань якої налічується 40 видів з 33 родів та 19 родин. З них 40% видів належать до плюризональної, по 18% – до борео-меридіональної, температурно-меридіональної, температурно-субмеридіональної та по 3% – до борео-субмеридіональної і аркто-меридіональної зональних хорологічних груп. У регіональному відношенні більше третини видів (35%) належать до гемікосмополітної і четверта частина – до циркумполярної хорологічних груп; до євразійської та європейської входить відповідно по 13%, а до європівнічноамериканської та космополітної – по 8%. За градієнтом океанічності-континентальності більшість видів асоціації є індіферентними (83%), 10% – євриокеанічними та 7% евриконтинентальними.

У 2002 р. В.Б.Голуб описав асоціацію *Bidentum frondosae*–*Salicion triandrae* для долини р. Волга, до складу угруповань якої входить 52 види з 48 родів та 28 родин (Golub, 2002). Найбільше видів (29%) належать до борео-меридіональної зональної хорологічної групи, по 15% – до борео-субмеридіональної, температурно-меридіональної, температурно-субмеридіональної, плюризональної груп, по 3% – до субмеридіональної і субмеридіонально-меридіональної та 2% – до аркто-меридіональної. За регіональною приналежністю більше половини видів належить до циркумполярної (31%) і євразійської (27%) хорологічних груп; європейська, європівнічноамериканська, древньосередземноморська групи включають по 8% видів, космополітна та гемікосмополітна – по 6%, причорноморська та євро-західносибірська по 2%. За градієнтом океанічності-континентальності 69% видів є індіферентними, 17% – євриокеанічними, 12% – евриконтинентальними та 2% – евконтинентальними.

У 2006 р. Javier Amigo була описана асоціація *Cypero eragrostidi*–*Bidentum frondosae* для Іспанії (Amigo, 2006). У складі угруповань цієї асоціації 91 вид з 65 родів та 35 родин: 23% видів належать до плюризональної, 20% – до борео-меридіональної, 16% – до температурно-меридіональної, по 15% – до борео-субмеридіональної, температурно-субмеридіональної, 4% – до субмеридіональної, 3% – до субмеридіонально-меридіональної і по 1% – до аркто-меридіональної та аркто-субмеридіональної зональних хорологічних груп. Гемікосмополітна та євразійська хорологічні групи представлені відповідно 23% і 20% видів; до циркумполярної входить 16%, європейської – 15%, європівнічноамериканської – 13%, древньосередземноморської – 8%, євросибірської – 2% та по 1% – до космополітної та євразійської. За градієнтом океанічності-континентальності майже три чверті видів асоціації є індіферентними (74%); 15% – євриокеанічними, 9% – евриконтинентальними та 2% – евконтинентальними.

Угруповання, утворені *Bidens connata*, у літературі висвітлені досить мало. У 1996 році Н.Passarge описав асоціацію *Juncus bufonii*–*Bidentum connatae* для західної Європи (Delassus et al., 2014; Passarge, 1996). До даної асоціації входило 79 видів з 46 родів та 23 родин. З них 33% видів належать до борео-меридіональної, 23% – до плюризональної, 14% – до борео-субмеридіональної, 10% – до температурно-меридіональної, 9% – до температурно-субмеридіональної, 6% – до аркто-меридіональної, 4% – до субмеридіональної та 1% – до аркто-субмеридіональної зональних хорологічних груп. У регіональному відношенні вони належать до циркумполярної (38%), євразійської (17%), гемікосмополітної (15%), космополітної (8%), європейської (6%), по 5% – до європівнічноамериканської та євросибірської, 4% – до древньосередземноморської і 1% – до причорноморської хорологічних груп. За градієнтом океанічності-континентальності більшість видів асоціації є індіферентними (87%), 7% – євриокеанічними, 4% – евриконтинентальними та 1% – евконтинентальними.

Для долини Дніпра характерні значні масиви угруповань асоціацій союзу *Bidentum tripartitae*, порядку *Bidentetalia tripartitae*, класу *Bidentetea tripartitae*, поширених на заплавах ділянках приток

Дніпра (річки Тясмин, Супой, Рось, Золотоношка, Крапивна). Найбільші площі масиви угруповань займають у нижній частині долини завдяки наявності островів (Динька, Калантаїв, Шаламай, Стрілецький та ін.). У верхній частині площа масивів менша, що зумовлено посиленням антропогенного впливу (одамбування, ставкобудівництво, штучне затоплення, надмірна забудова прибережних територій). Угруповання досліджуваної нами асоціації *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* були вперше виявлені саме в долині Дніпра. У флористичному складі угруповань налічується 54 види, які належать до 40 родів та 22 родин. Більшість видів є гемікарбонатобіями (67%), семіевтрофами (59%), субацидофілами (52%), нітрофілами (48%). В той час як карбонатобіями є всього 15% видів, мезотрофами – 9%, субанітрофілами – 4%. За зональними хорологічними групами види розподіляються наступним чином: плюризональна і борео-меридіональна – по 30%, борео-субмеридіональна – 24%, температурно-меридіональна – 13%, субмеридіональна і температурно-субмеридіональної – 2% і 1% відповідно. У регіональному відношенні види належать до циркумполярної (35%), гемікосмополітної (20%), євразійської (15%) хорологічної групи. Менша кількість відносяться до європейськоамериканської (9%), євросибірської (7%), європейської (5%), космополітної (4%), древньосередземноморської (4%) хорологічних груп. За градієнтом океанічності-континентальності більшість видів асоціації є індиферентними (84%); менше – евриконтинентальних (7%) і евріокеанічних (7%), а евконтинентальних усього 2%.

Діагностичними видами асоціації *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* (ass. nova hoc. loco) є *Bidens frondosa*, *B. connata* (табл. 1).

Таблиця 1.

Зведена синоптична таблиця *Bidentetea tripartitae*

Проективне покриття, %	70	68	80	79	78	84
Кількість видів	39	40	46	56	44	38
Кількість описів	13	19	15	17	15	13
Номер асоціації*	1	2	3	4	5	6
<i>Bidens frondosa</i> L.	V	IV	V	V	V	V
<i>Bidens connata</i> Muhl. ex Wild.	V	V
Д. в. союзу <i>Bidention tripartitae</i> , порядку <i>Bidentetalia tripartitae</i> , класу <i>Bidentetea tripartitae</i>						
<i>Juncus bufonius</i> L.	III	V	I	II	I	I
<i>Polygonum hydropiper</i> L.	III	III	V	V	IV	II
<i>Bidens cernua</i> L.	I	I	I	II	V	.
<i>Bidens tripartita</i> L.	I	I	V	V	V	V
<i>Polygonum persicaria</i> L.	I	I	I	I	II	I
<i>Potentilla anserina</i> L.	.	.	V	II	II	IV
<i>Rorippa palustris</i> (L.) Bess.	.	.	III	I	II	III
<i>Lythrum salicaria</i> L.	I	I	I	III	II	.
<i>Lycopus europaeus</i> L.	IV	IV	IV	III	IV	V
Д. в. союзу <i>Chenopodioton rubri</i>						
<i>Chenopodium album</i> L.	II	I	I	I	.	II
<i>Chenopodium rubrum</i> L.	I
Інші види						
<i>Urtica dioica</i> L.	III	IV	I	II	I	I
<i>Carex acuta</i> L.	II	III	II	III	IV	II
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	II	II
<i>Leersia oryzoides</i> (L.) Sw.	II	II	I	III	II	I
<i>Thelypteris palustris</i> Schott.	II	II
<i>Equisetum palustre</i> L.	II	II	I	.	I	I

<i>Mentha aquatica</i> L.	II	I	I	I	I	I
<i>Calystegia sepium</i> (L.) R. Br.	II	I	.	.	I	.
<i>Galium aparine</i> L.	II	II	I	.	.	I
<i>Plantago major</i> L.	II	I	II	III	II	II
<i>Cicuta virosa</i> L.	II	I
<i>Alisma plantago-aquatica</i> L.	I	II	.	I	I	.
<i>Ranunculus repens</i> L.	I	I	I	I	.	I
<i>Senecio vulgaris</i> L.	I	I	I	.	.	.
<i>Solanum dulcamara</i> L.	I	I
<i>Agrostis canina</i> L.	I	I	IV	I	II	IV
<i>Lysimachia nummularia</i> L.	I	I	I	I	.	I
<i>Xanthium albinum</i> L.	I	I	II	II	I	II
<i>Myosotis palustris</i> L.	I	I	I	II	II	I
<i>Acer negundo</i> L.	I	I	.	I	.	.
<i>Solanum nigrum</i> L.	I	I	.	I	I	.
<i>Salix triandra</i> L.	I	I	I	I	.	I
<i>Sagittaria sagittifolia</i> L.	I	I
<i>Epilobium palustre</i> L.	I	I	.	II	I	.
<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	I	I	I	II	II	I
<i>Lysimachia vulgaris</i> L.	I	I	I	I	I	I
<i>Typha latifolia</i> L.	I	I	.	I	.	.
<i>Butomus umbellatus</i> L.	I	I
<i>Glechoma hederacea</i> L.	I	I	I	.	.	.
<i>Sium latifolium</i> Bieb.	.	I
<i>Ranunculus sceleratus</i> L.	.	.	II	.	I	II
<i>Scutellaria galericulata</i> L.	.	.	II	II	.	II
<i>Ptarmica cartilaginea</i> Ledeb.	.	.	II	I	.	II
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	.	.	II	I	.	II
<i>Mentha spicata</i> L.	.	.	II	I	I	II
<i>Inula britannica</i> L.	.	.	I	I	I	I
<i>Achillea submillifolium</i> L.	.	.	I	I	.	I
<i>Gratiola officinalis</i> L.	.	.	I	.	.	I
<i>Vicia cracca</i> L.	.	.	I	.	.	I
<i>Ambrosia artemisifolia</i> L.	.	.	I	I	I	I
<i>Trifolium repens</i> L.	.	.	I	.	.	I
<i>Veronica longifolia</i> L.	.	.	I	.	.	I
<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth.	.	.	I	I	II	I
<i>Eupatorium cannabinum</i> L.	.	.	I	II	II	.
<i>Rumex aquaticus</i> L.	.	.	I	II	II	.
<i>Sambucus nigra</i> L.	.	.	I	.	I	.
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	.	.	I	.	.	I
<i>Agrostis stolonifera</i> L.	.	.	I	.	I	.
<i>Sonchus palustris</i> L.	.	.	.	II	.	.
<i>Setaria glauca</i> (L.) Beauv.	.	.	.	II	.	.
<i>Odontites vulgaris</i> Moench.	.	.	.	I	.	.
<i>Typha angustifolia</i> L.	.	.	.	I	.	.
<i>Polygonum aviculare</i> L.	.	.	.	I	I	.
<i>Erigeron canadensis</i> L.	.	.	.	I	.	.

<i>Oenothera biennis</i> L.
<i>Stenactis annua</i> Nees.
<i>Amorpha fruticosa</i> L.
<i>Artemisia vulgaris</i> L.
<i>Stachys palustris</i> L.
<i>Taraxacum officinale</i> Welb ex Wigg.
<i>Arctium lappa</i> L.
<i>Poa annua</i> L.
<i>Ranunculus acris</i> L.
<i>Urtica urens</i> L.
<i>Humulus lupulus</i> L.
<i>Eleocharis acicularis</i> (L.) Roem. et Schult.
<i>Sium latifolium</i> L.
<i>Betula pendula</i> Roth.
<i>Rumex acetosella</i> L.
<i>Atriplex prostrata</i> L.	V

*Примітка: номерами позначені асоціації 1. *Bidenti frondosae*-*Bidentetum connatae*, 2. *Juncus bufonii*-*Bidentetum connatae*, 3. *Bidentetum tripartitae*, 4. *Bidenti tripartitae*-*Polygonetum hydropiperis*, 5. *Bidentetum cernuae*, 6. *Bidenti frondosae*-*Atriplicetum prostratae*.

Номенклатурний тип: Київська обл., Бориспільський р-н, с. Проців, заплавна лука (50°14'08'' п.ш., 30°47'10'' с.д.), 15.09.2006. Л.М.Махія.

Ценотична характеристика: загальне проективне покриття травостою 80–100 %; *B. frondosa* – 70–80 %, *B. connata* – 50–55 %, *Juncus bufonius* L. – 1–5 %. Склад флори відзначається середнім видовим багатством і налічує 53 види. Для нього характерні переважно представники класу *Bidentetea tripartita*, трапляються діагностичні види класів *Alnetea glutinosa* (*Alnus glutinosa* Gaertn.), *Phragmiti*-*Magno-Caricetea* (*Lycopus europaeus* L.). Кількість видів у описах коливається в межах 8–13.

Синекологія: угруповання приурочені до ділянок, що мають змінний гідрорежим під час вегетації з мулистопіщаними слабозадернованими ґрунтами. Характерні для прибережних ділянок малих річок (Павлівка, Ірдинка), озер (Баклажанне), штучних водойм, каналів, кар'єрів торфорозробок (Ірдинські болота), заплавних лісів (угруповання з *A. glutinosa*) та ділянок болотистих лук.

Синморфологія: угруповання двопід'ярусні, їх утворюють види з широкою екологічною амплітудою. Перший під'ярус (50–120 см) формують *Bidens cernua* L., *B. connata*, *B. frondosa*, *Polygonum hydropiper* L., *Lycopus europaeus*, *Leersia oryzoides* (L.) Sw., *Chenopodium album* L., *Mentha spicata* L., *Equisetum sylvaticum* L.; другий (10–45 см) формують *Carex acuta* L., *Plantago major* L., *Juncus bufonius*. Ценози мають вигляд окремих локалітетів.

Синдинаміка: угруповання започатковують еколого-ценотичні ряди прибережно-водної рослинності, їх змінюють угруповання лучної (*Molinio*-*Arrenatheretea*), рідше – рудеральної (*Stellarietea mediae*, *Plantagineta majoris*) рослинності.

Синхорологія: ценози трапляються у верхній частині Канівського та нижній Кременчуцького водосховищ і спорадично на Ірдинських болотах. В інших регіонах України досі не фіксувалися.

В асоціації *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* високою вірністю відзначаються такі види: *Bidens connata* (ϕ – 58,5), *Chenopodium album* (ϕ – 35), *Mentha spicata* (ϕ – 30), *Bidens frondosa* (ϕ – 27,5) (Махія, 2015).

Порівняльний аналіз *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* з іншими асоціаціями союзу *Bidentetum tripartitae*, порядку *Bidentetalia tripartitae*, класу *Bidentetea tripartitae* виявив приуроченість останніх до більш мезофітних, мезотрофних, антропогенно трансформованих місцезростань (*Bidenti frondosae*–*Atriplicetum prostratae*, *Supero eragrostidi*–*Bidentetum frondosae*, *Juncus bufonii*–*Bidentetum connatae*) або до більш гідрофітних, еутрофних, злегка антропогенно трансформованих прибережних місцезростань (*Myosoton aquaticum*–*Bidentetum frondosae*, *Bidenti frondosae*–*Salicion triandrae*). За кількістю видів *Bidenti frondosae*–*Bidentetum connatae* поступається більшості інших

асоціацій. Порівняльний аналіз географічної структури показав, що найчисельнішою в усіх асоціаціях є плюризональна група, в той час як в описаній нами асоціації найбільшою кількістю видів представлені дві групи – борео-меридіональна і плюризональна (30% кожна). Найменша ж кількість видів належить до температурно-субмеридіональної групи, тоді як у решти асоціацій — до європейсько-середземноморської і голарктичної зональних хорологічних груп. У регіональному відношенні найбільша кількість видів, як для *Bidentifrondosae*–*Bidentitetum connatae*, так і ще для 3 асоціацій, належить до циркумполярної і гемікосмополітної хорологічних груп. Найменше всього в описаній асоціації видів із космополітної і древньосередземноморської груп, а у решти асоціацій – із євразійсько-сибірської та причорноморської груп. За градієнтом океанічної-континентальності найбільше представників в усіх асоціаціях належить до індиферентних, а найменша – до евконтинентальних.

Взагалі за особливостями географічної структури угруповання асоціацій відзначалися певною подібністю, що є закономірним у зв'язку з умовами місцезростань піонерної рослинності. Разом з тим ця закономірність стосується лише широкоареальних видів. Для зональних хорологічних груп це види плюризональної, борео-субмеридіональної, борео-меридіональної та температурно-меридіональної; у регіональному відношенні – циркумполярної, гемікосмополітної, євразійської та європівнічноамериканської груп; у кліматичному відношенні – групи індиферентних видів. Відмінності географічної структури були за рахунок видів з вузькими ареалами: для зональних хорологічних груп – субмеридіональної, аркто-меридіональної, субмеридіонально-меридіональної та аркто-субмеридіональної, у регіональному відношенні – євросибірської, древньосередземноморської, причорноморської та євразійсько-сибірської груп; у кліматичному відношенні – евконтинентальної групи видів.

Висновки

Виділена нами асоціація відрізняється від інших за видовим складом, зокрема наявністю групи діагностичних видів, які не представлені у такому поєднанні в інших асоціаціях даного класу; а також видами, які є диференційними для союзу, зокрема *Juncus bufonius* та *Polygonum hydropiper*, що представлені в описах (коефіцієнт постійності 4,3) асоціації *Bidentifrondosae*–*Bidentitetum connatae*. Оскільки угруповання *Bidentifrondosae*–*Bidentitetum connatae* приурочені до болотистих місцезростань вільхових лісів, їх подальше поширення на території України можливе лише на півночі та північному заході. Вони не займатимуть великих територій, рідко зможуть утворювати значні масиви і не становитимуть конкуренції місцевим видам.

Список літератури

- Баркман Я.Я. Современные представления о непрерывности и дискретности растительного покрова и природе растительных сообществ в фитосоциологической школе Браун-Бланке // Ботанический журнал. – 1989. – Т.74, №11. – С. 1545–1551. /Barkman Ya.Ya. Sovremennyye predstavleniya o nepreryvnosti i diskretnosti rastitel'nogo pokrova i prirode rastitel'nykh soobshchestv v fitosotsiologicheskoy shkole Braun-Blanke // Botanicheskiy zhurnal 1989. – T.74, №11. – S. 1545–1551./
- Ишбирдин А.Р., Ишмуратова М.М., Жирнова Т.В. Стратегии жизни ценопопуляции *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. на территории Башкирского государственного заповедника // Вестник Нижегородского ун-та имени Н.И.Лобачевского. Сер. Биология. – 2005. – №1. – С. 85–98. /Ishbirdin A.R., Ishmuratova M.M., Zhrynova T.V. Strategii zhizni tsenopopulyatsii *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. na territorii Bashkirskogo gosudarstvennogo zapovednika // Vestnik Nizhegorodskogo un-ta imeni N.I.Lobachevskogo. Ser. Biologiya. – 2005. – №1. – S. 85–98./
- Махиня Л.М. Синтаксономія класу *Bidentetea tripartitae* долини Дніпра (в межах Лісостепу України) // Український ботанічний журнал. – 2015. – №5 (72). – С. 310–324. /Makhynya L.M. Syntaksonomiya klasu *Bidentetea tripartitae* dolyny Dnipro (v mezhakh Lisostepu Ukrayiny) // Ukrayinskyy botanichnyy zhurnal. – 2015. – №5 (72). – S. 310–324./
- Миркин Б.М., Наумова Л.Г., Соломешч А.И. Современная наука о растительности. – М.: Логос, 2002. – 262с. /Mirkin B.M., Naumova L.G., Solomeshch A.I. Sovremennaya nauka o rastitelnosti. – 2002. – M.: Logos, – 262s./
- Мосякін С.Л. Знахідка нового для флори СРСР виду *Bidens connata* Muehl. ex Willd. на Київському Поліссі // Український ботанічний журнал. – 1988. – Т.45, №2. – С. 72–74. /Mosyakin S.L. Znakhidka novogo dlya flory SRSR vydu *Bidens connata* Muehl. ex Willd. na Kyiv's'komu Polissi // Ukrayinskyy botanichnyy zhurnal. – 1988. – T.45, №2. – S. 72–74./

- Определитель высших растений Украины / Д.Н.Доброчаева, М.И.Котов, Ю.Н.Прокудин и др. – К.: Фітосоціоцентр, 1999. – 545с. /Opredelitel vysshykh rasteniy Ukrainy / D.N.Dobrochayeva, M.I.Kotov, Yu.N.Prokudin i dr. – K.: Fitosotsiotsentr, 1999. – 545s./
- Amigo J. Los Herbazales terófiticos higrónitrofilos en el noroeste de la Península Ibérica (*Bidentetea tripartitae* Tüxen, Lohmeyer & Preising ex von Rochow 1951) // *Lazaroa*. – 2006. – Vol.27. – P. 43–58.
- Bolos O., Montserrat J.M., Romo A.M. Comunitats vegetals higrónitrofiles de la Catalunya Pirinenca i de les terres properes // *Acta Botanica Barcinonensia*. – 1988. – Vol.37. – P. 33–44.
- Braun-Blanquet J. *Pflanzensoziologie*. – Wien, New-York: Springer-Verlag, 1964. – 865s.
- Delassus L., Magnanon S., Colasse V. et al. *Classification phytosociologique et phytosociologique des végétations de Basse-Normandie, Bretagne et Pays de la Loire*. – Brest: Conservatoire botanique national de Brest, 2014. – 262p.
- Golub V.B. Communities of the all. *Bidenti frondosae*-*Salicion triandrae* all. nova on the territory of the Lower Volga Valley // *Український фітоценологічний збірник*. Сер. А. – К., 2002. – Вип.1 (18). – С. 31–37.
- Gutermann W., Mucina L. *Nomenklatorische Korrektur einiger Syntaxon-Namen*. – *Tuexenia*, 1993. – B.13. – S. 541–545.
- Hennekens S.M. *TURBO(VEG)*. Software package for input processing and presentation of plantsociological data. User's guide // *IBN-DLO Wageningen et University of Lancaster*. – 1995. – 70p.
- Meusel H., Jäger E., Weinert E. *Vergleichende Chorologie der Zentraleuropäischen Flora*. – Jena: Fischer Verlag, 1965. – Vol. 1–2. – 583s.
- Passarge H. *Pflanzengesellschaften Nordostdeutschlands. I. Hydro- und Therophytosa*. – Berlin, Stuttgart: J. Cramer Verlag, 1996. – 298s.
- Tichý L. JUICE, software for vegetation classification // *Journal of Vegetation Science*. – 2002. – Vol.13. – P. 451–453.
- Weber H.E., Moravec J., Theurillat J.-P. *International code of phytosociological nomenclature*. 3rd edition // *Journal of Vegetation Science*. – 2000. – Vol.11. – P. 739–768.
- Tüxen J. *Zur systematischen Stellung des Ruppion-Verbandes* // *Mitt. Flor.-Soz. Arbeitsgem.* – 1960. – N.F.Heft 8. – S.180.
- Vegetace České republiky. 3. Vodní a mokřadní vegetace = Vegetation of the Czech Republic. 3. Aquatic and wetland vegetation / K.Šumberová, P.Hájková, M.Hájek et al.; Milan Chytrý (editor). – Vyd.1. – Praha: Academia, 2011. – 828s.
- Willner W., Tichý L., Chytrý M. Effects of different fidelity measures and contexts on the determination of diagnostic species // *Journal of Vegetation Science*. – 2009. – Vol.20. – P. 130–137.

Представлено: Д.В.Дубина / Presented by: D.V.Dubyna
Рецензент: О.В.Безроднова / Reviewer: O.V.Bezrodnova
Подано до редакції / Received: 25.05.2016

••• ГЕНЕТИКА ••• GENETICS •••

УДК: 575.1:618.17-008.8-053.6

Обтяжений сімейний анамнез – фактор ризику формування порушень менструальної функції у дівчат-підлітків

Н.В.Багацька, І.Г.Дємєнкова, Т.А.Начьотова

*Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН» (Харків, Україна)
iozdp@ukrpost.ua, nv_bagatska@ukr.net*

У роботі надано результати генеалогічного аналізу, проведеного в сім'ях дівчат-підлітків з різними порушеннями становлення менструальної функції: пубертатними матковими кровотечами, олігоменореєю, вторинною аменореєю. Серед обстежених хворих у 49 дівчат із олігоменореєю (ОМ), у 47 із пубертатними матковими кровотечами (ПМК), у 42 із вторинною аменореєю (ВА) порушення менструальної функції виникли в перший рік становлення менархе. Аналіз родоводів дозволив встановити, що спадкову обтяженість щодо гінекологічних захворювань мали 70,2% дівчат із ПМК, 69,4% – із ОМ та 78,6% – із ВА. Серед родичів пробандів в усіх обстежуваних групах гінекологічні захворювання (окрім запальних) найчастіше реєструвались у матерів дівчат: у 53,2% матерів дівчат із ПМК, у 53,1% матерів дівчат із ОМ та у 52,4% матерів дівчат із ВА. Досить часто гінекологічна патологія виявлялась у бабусь та тіток пробандів. При аналізі загальної частоти гінекологічних захворювань у родичок трьох ступенів спорідненості дівчат із порушеннями менструальної функції встановлено підвищення частоти досліджуваної патології у родичок I ступеня порівняно з родичками II та III ступенів спорідненості в усіх групах спостереження. Дослідження родоводів сімей хворих дівчат виявило наявність захворювань ендокринної, серцево-судинної, кишково-шлункової систем та онкології у родичів трьох ступенів спорідненості.

Ключеві слова: *дівчата-підлітки, пубертатні маткові кровотечі, олігоменорея, вторинна аменорея, родоводи.*

Family history as a risk factor for menstrual dysfunction in adolescent girls

N.V.Bagatska, I.G.Demenkova, T.A.Nachotova

The results of genealogical analysis carried out in families of adolescent girls with such disorders of menstrual function onset as puberty uterine bleeding (PUB), oligomenorrhea (OM) and secondary amenorrhea (SA) have been presented. The menstrual dysfunctions have started their manifestation in the first year of the menarche in 49 patients with oligomenorrhea, in 47 patients with puberty uterine bleeding and in 42 patients with secondary amenorrhea. The genealogies analysis has shown that the hereditary load by gynecological diseases occurs in 70.2% of girls with PUB, 69.4% of girls with OM and in 78.6% girls with SA. Among the relatives of probands in all surveyed groups gynecological diseases (except inflammation) were more often diagnosed in mothers of girls: in 53.2% of mothers of girls with PUB, in 53.1% of mothers of girls with OM and in 52.4% of mothers of girls with SA. Quite often gynecological pathology was diagnosed in grandmothers and aunts of probands. When analyzing the overall frequency of gynecological diseases among relatives of girls with menstrual function disorders we have established an increased frequency of the studied disease in I degree relatives compared with relatives of II and III degrees of relationship in all groups of observation. The analysis of genealogies of patients' families allowed establishing the presence of diseases of endocrine, cardiovascular, gastrointestinal systems and cancer in relatives of three degrees of relationship.

Key words: *adolescent girls, puberty uterine bleeding, oligomenorrhea, secondary amenorrhea, genealogies.*

Отягощенный семейный анамнез – фактор риска формирования нарушений менструальной функции у девочек-подростков

Н.В.Багацкая, И.Г.Деменкова, Т.А.Начетова

В работе представлены результаты генеалогического анализа, проведенного в семьях девочек-подростков с различными нарушениями становления менструальной функции: пубертатными маточными кровотечениями, олигоменореей, вторичной аменореей. Среди обследованных больных у

49 дівочек с олигоменореей (ОМ), у 47 – с пубертатними маточними кровотеченьями (ПМК), у 42 – с вторичной аменореей (ВА) нарушения менструальной функции возникли в первый год становления менархе. Анализ родословных позволил установить, что наследственную отягощенность по гинекологическим заболеваниям имели 70,2% девушек с ПМК, 69,4% – с ОМ и 78,6% – с ВА. Среди родственников пробандов во всех обследованных группах гинекологические заболевания (кроме воспалительных) чаще регистрировались у матерей девушек: у 53,2% матерей девушек с ПМК, у 53,1% матерей девушек с ОМ и у 52,4% матерей девушек с ВА. Достаточно часто гинекологическая патология выявлялась у бабушек и теток пробандов. При анализе общей частоты гинекологических заболеваний у родственниц трех степеней родства девушек с нарушениями менструальной функции установили повышение частоты исследуемой патологии у родственниц I степени в сравнении с родственницами II и III степеней родства во всех группах наблюдения. Анализ родословных семей больных девушек позволил установить наличие заболеваний эндокринной, сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной систем и онкопатологии у родственников трех степеней родства.

Ключевые слова: *девочки-подростки, пубертатные маточные кровотечения, олигоменорея, вторичная аменорея, родословные.*

Вступ

Турбота щодо стану здоров'я дівчат, зокрема їх репродуктивної системи, є вагомим внеском у майбутнє суспільства, тому вирішення цього завдання є одним із шляхів щодо поліпшення та збереження генофонду нації. Кількість порушень менструальної функції у підлітковому віці за останні 20–30 років збільшилася майже у два рази (з 7,5% до 14,6% серед мешканок міста і з 4,2% до 10,6% серед мешканок села), при цьому найчастіше реєструються такі порушення як олигоменорея (ОМ), вторинна аменорея (ВА) та пубертатні маткові кровотечі (ПМК) (Андреева, Машталова, 2011; Багацкая, Начетова, 2010; Дынник, 2015; Начетова, 2014а; Сибирская, 2011).

У відповідності до сучасних уявлень патологічний процес, що розвивається у людини, перебігає при взаємодії генетичної схильності та чинників оточуючого середовища і на кожному етапі онтогенезу супроводжується проявами тих чи інших змін різного ступеня специфічності для кожного захворювання на органічному, клітинному та молекулярному рівні (Кудинова, 2007). За останні декілька років було виявлено, що найбільша кількість мутацій, які впливають на функцію гонад, знаходяться у генах рецепторів лютеїнізуючого гормону (ЛГ) та фолікулоstimулюючого гормону (ФСГ). Було ідентифіковано поодинокі мутації, які вважаються причиною порушень репродуктивної функції: описано дві мутації в генах β -субодиниць ЛГ та ФСГ, в той же час мутацій в генах гонадотропин-рилізінг гормону (ГнРГ) та α -субодиниці, що є загальною для ЛГ і ФСГ, не виявлено (Дубоссарская, 2012).

Існують дані, щодо блокування апоптозу у дівчат із ОМ та ПМК за рахунок системного дефіциту синтезу фактору некрозу пухлин- α (ФНП- α) та гіперпродукції розчинних форм рецепторів ФНП- α (Андреева, Машталова, 2011).

Однією з причин виникнення ПМК також вважається наявність мутації в гені метилентетрагідрофолатредуктази (*MTFR*) фолатного циклу. Ця мутація призводить до порушення взаємодії між антитромботичним комплексом та факторами каскаду згортання, що призводить до надмірного тромбоутворення з наступною активацією цього процесу. Вважається, що цей механізм може сприяти матковим кровотечам у дівчат (Сибирская, 2011).

При порушеннях становлення менструальної функції у дівчат-підлітків досить часто виявляється сімейна схильність до різних порушень репродуктивної системи. Існуючі нейроендокринні порушення у матерів, батьків та близьких родичів дівчат мають значення для прогнозування патології репродуктивної системи у пробандів у майбутньому. Порушення соматичного та репродуктивного здоров'я обумовлює накопичення патологічної домінанти у поколіннях батьків і прабабків та виявляється розладами менструальної функції у дівчат-підлітків (Кудинова, 2007).

За даними деяких авторів (Ушакова, Елгина, 1996; Яковлева, Голоденко, 2004), спадкова обтяженість щодо захворювань статевої системи як за материнською, так і батьківською лініями відмічається у 64–68 % дівчат із гинекологічною патологією. Також важливу роль у виникненні порушень становлення статевої функції відіграють несприятливі умови пренатального розвитку: хвороби матері до і під час вагітності, патологія вагітності та пологів.

Доведено також негативний вплив психогенних чинників на функціонування яєчників. До цих факторів належать психічні травми, розумове та фізичне виснаження, різка зміна способу життя,

побутових умов, кліматичних зон. Так, для дівчат із гінекологічною патологією найбільш значущими є: неповна родина, нераціональне харчування та гіподинамія, несприятливі житлово-побутові умови, недостатнє перебування на свіжому повітрі, шкідливі звички батьків (Михеенко, Баженова, 2006; Уварова, 2006; Hackshaw et al., 2011).

Вивчення ролі генетичних та середовищних чинників в ґенезі порушень становлення репродуктивної системи дозволяє вважати можливим поєднання цих факторів із наступним закріпленням у нащадків (Багацька, Диннік, 2012; Яковлева, Голоденко, 2004). Отже, враховуючи, що в останній час суттєво збільшується кількість дівчат, які мають проблеми зі своєчасним терміном становлення статевої системи, настала необхідність визначити чинники, які можуть спричинити появу цих порушень; до таких чинників можна віднести як негативні фактори зовнішнього середовища, так і спадкові.

Метою роботи є вивчення сімейного накопичення мультифакторних хвороб в родовах дівчат-підлітків із різними порушеннями менструальної функції.

Матеріали і методи досліджень

Збір первинної інформації у батьків дівчат із порушеннями менструальної функції проводився в лабораторії медичної генетики; клінічне обстеження – в клініці ДУ «ІОЗДП НАМН». Проаналізовано 50 родоводів дівчат-підлітків із пубертатними матковими кровотечами (ПМК), 63 родоводи дівчат-підлітків із олігоменореєю (ОМ) та 79 родоводів дівчат із вторинною аменореєю (ВА) у віці 13–17 років.

Генеалогічний аналіз проводився за П.Харпером (Харпер, 1989) відповідно до принципів Гельсінської Декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та чинного законодавства України. Аналізували три ступеня спорідненості з пробандом: I ступінь – батьки, матері, рідні брати та сестри; II ступінь – бабусі, дідусі, дядьки, тітки; III ступінь – двоюрідні сибси, прабабусі та прадідусі.

Результати обстеження дівчат-підлітків об'єднано в електронний банк даних, математична обробка яких була проведена загальноприйнятими статистичними методами (Атраментова, Утевская, 2008) за допомогою пакетів програм SPSS Statistics 17,0 та Excel.

Результати та обговорення

За результатами клінічного обстеження хворих дівчат встановили, що порушення менструальної функції в перший рік становлення менархе виникли у 49 дівчат із ОМ, у 47 – із ПМК та у 42 – із ВА. Аналіз родоводів хворих дівчат дозволив встановити, що спадкову обтяженість щодо гінекологічних захворювань мали 70,2% дівчат із ПМК, 69,4% – із ОМ та 78,6% – із ВА.

Серед родичів пробандів в усіх обстежуваних групах гінекологічні захворювання (окрім запальних) найчастіше реєструвались у матерів дівчат: у 53,2% матерів дівчат із ПМК, у 53,1% матерів дівчат із ОМ та у 52,4% матерів дівчат із ВА. Досить часто гінекологічна патологія виявлялась у бабусь та тіток пробандів (рис. 1).

При співставленні частоти даної патології у різних категорій родичів вірогідних відмінностей не встановлено.

При порівнянні загальної частоти гінекологічних захворювань у родичок трьох ступенів спорідненості дівчат із порушеннями менструальної функції встановили підвищення частоти досліджуваної патології у родичок I ступеня порівняно з родичками II та III ступенів спорідненості в усіх групах спостереження (табл. 2).

Також встановлено значне підвищення частоти гінекологічної патології у родичок I та II ступеня спорідненості порівняно з родичками III ступеня спорідненості у дівчат всіх обстежуваних груп.

При вивченні сімейної агрегації гінекологічної патології у поколіннях встановлено, що передача патологічних ознак значно частіше здійснюється по лінії матері в групах хворих ($p < 0,001$) (рис. 2). Так, у групі дівчат із ВА по материнській лінії патологічні ознаки спадкувалися в 90,6% випадків, що вірогідно частіше, ніж у групах із ОМ та ПМК ($p < 0,05$). Також у групі із ВА вірогідно рідше реєструвалося спадкування ознак по обох лініях одночасно ($p < 0,01$). Отже, отримані дані свідчать про накопичення досліджуваної патології в сім'ях дівчат обстежуваних груп.

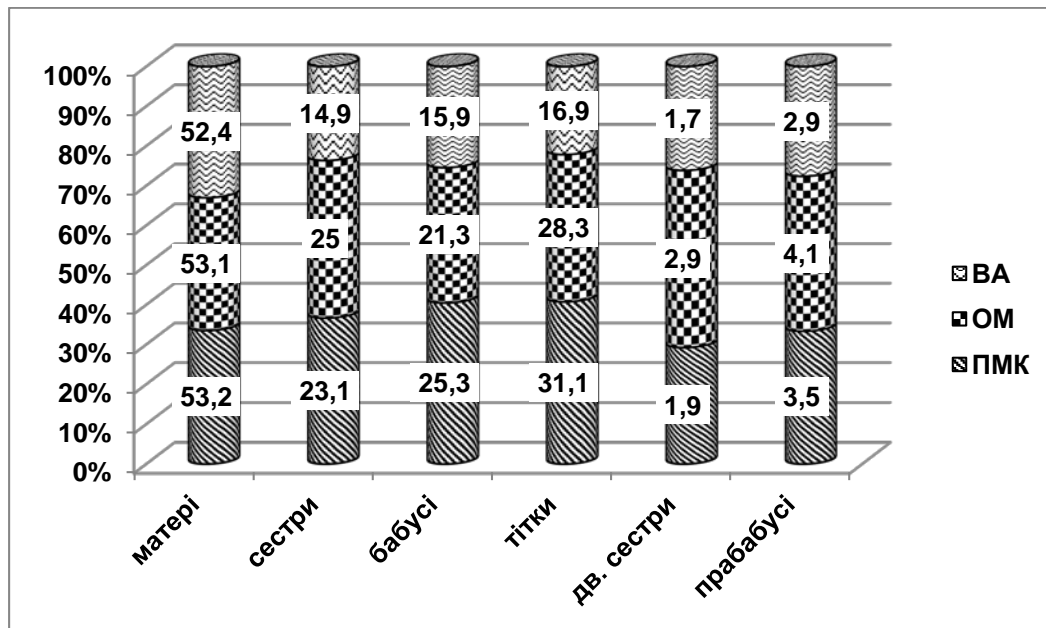


Рис. 1. Частота гінекологічної патології у різних категорій родичів дівчат із порушеннями менструальної функції, М, %

Таблиця 2.

Порівняння частоти гінекологічної патології у родичів трьох ступенів спорідненості хворих, $M \pm m$, %

Групи хворих	Ступінь спорідненості з пробандом			Вірогідність	
	I ступінь, n=117	II ступінь, n=282	III ступінь, n=272	P ₁	P ₂
ПМК	46,9±6,4	28,0±3,8	2,9±0,9	<0,001	<0,001
ОМ	57,1±7,1	24,4±3,7	5,3±2,3	<0,001	<0,001
ВА	46,9±7,2	16,3±3,2	2,1±1,0	<0,001	<0,001

Примітки: P₁ – вірогідність розбіжностей між частотою патології у родичів I та II ступенів спорідненості; P₂ – між родичами I і III ступенів спорідненості.

Дослідження родоводів сімей хворих дівчат виявило наявність у родичів трьох ступенів спорідненості захворювань ендокринної (цукровий діабет II типу, аутоімунний тиреоїдит, токсичний зоб, ожиріння), серцево-судинної (гіпертонічна хвороба, ішемічна хвороба серця, інсульти тощо), кишково-шлункової (гастрити, гастродуоденіти, виразкова хвороба 12-палої кишки) та онкологічної (молочної залози, кишечника, легенів) патології. Найчастіше у родичів пробандів усіх обстежених груп реєструвалась серцево-судинна та ендокринна патологія. Статистично значущі відмінності встановлено при порівнянні частоти серцево-судинної патології у родичів II і III ступенів порівняно з родичами I ступеня спорідненості при ПМК ($p < 0,001$); у родичів II ступеня порівняно з родичами I ступеня спорідненості при ОМ ($p < 0,001$) та ВА ($p < 0,001$) (табл. 3).

Слід відзначити, що у родичів III ступеня спорідненості хворих дівчат із ВА частота серцево-судинних захворювань була вірогідно нижчою, ніж у родичів дівчат із ПМК ($p < 0,001$) та ОМ ($p < 0,01$).

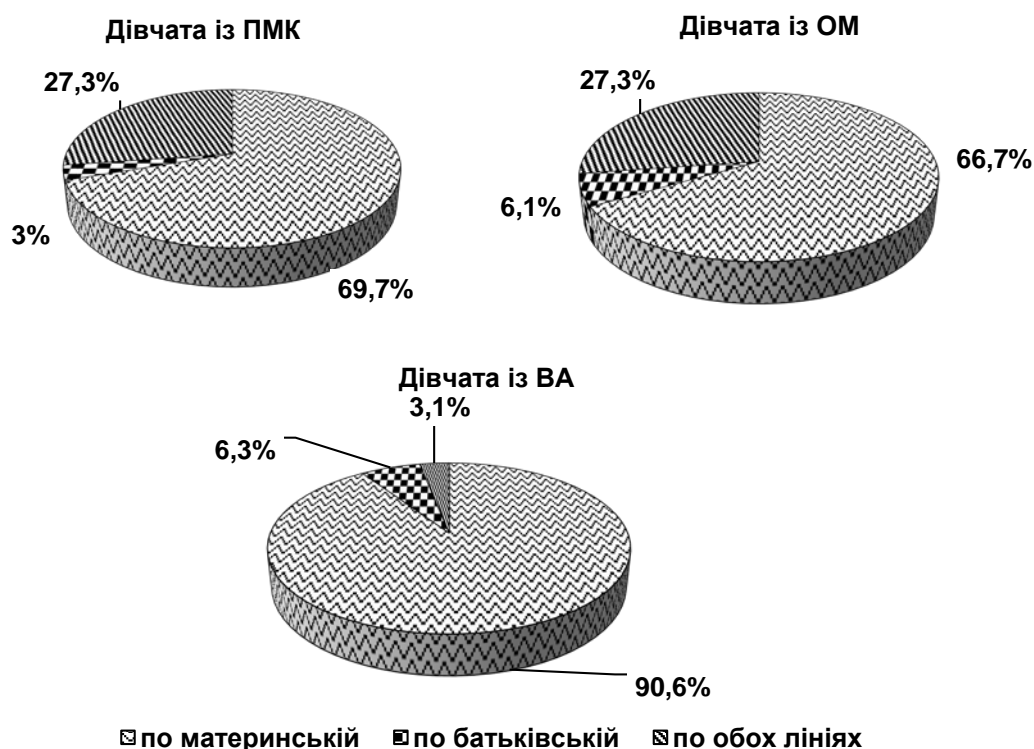


Рис. 2. Спадкування патологічних ознак у сім'ях дівчат із порушеннями менструальної функції

Таблиця 3.
 Частота серцево-судинної патології у родичів I–III ступенів спорідненості з пробандом, %

Ступінь спорідненості	Родичі пробандів		
	ПМК	ОМ	ВА
I ступінь	11,1±2,9	19,8±3,6	15,7±3,6
II ступінь	37,9±2,9***	38,3±2,9***	35,6±2,9***
III ступінь	27,9±2,8***	23,6±2,6	12,9±2,5

Примітка: ***вірогідність розбіжностей між частотою патології у родичів I та II, III ступенів спорідненості $p < 0,001$.

Ендокринні захворювання у родичів трьох ступенів спорідненості дівчат із ПМК реєструвались з однаковою частотою. У родичів трьох ступенів спорідненості дівчат із ОМ та ВА ендокринні хвороби вірогідно рідше реєструвались у родичів III ступеня спорідненості порівняно з частотою патології у родичів I та II ступеня спорідненості (табл. 4).

Слід відзначити, що частота спадкової обтяженості до гінекологічних захворювань в обстежених нами групах не відрізняється від даних, отриманих окремими авторами раніше (Яковлева, Голоденко, 2004). За даними (Начетова, 2014б) до найбільш несприятливих чинників, які спричиняють вплив на формування ВА у дівчат-підлітків, слід віднести наявність пізніх менархе у матерів, що підвищує ризик виникнення ВА у дівчинки в 16 разів, що повною мірою співпадає з нашими даними, тому що спадкоємність ВА у дівчат-підлітків по материнській лінії дорівнює 90,6%. При ПМК у дівчат-підлітків також визначено спадкову обтяженість щодо порушень репродуктивної системи (70,2%), що не відрізняється від отриманих нами результатів раніше (74,5%) (Багацька, Диннік, 2012).

Таблиця 4.

Частота ендокринної патології у родичів I–III ступенів спорідненості з пробандом, %

Ступінь спорідненості	Родичі пробандів		
	ПМК	ОМ	БА
I ступінь	8,6±2,6	16,5±3,4***	11,8±3,2*
II ступінь	12,8±1,9	17,2±2,2***	13,0±2,1***
III ступінь	8,0±1,7	4,7±1,3	3,8±1,4

Примітка: вірогідність розбіжностей між родичами I, II ступенів та III ступня спорідненості: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$.

Отже, в сім'ях дівчат з різними порушеннями менструального циклу визначено сімейне накопичення мультифакторних захворювань, зокрема гінекологічних, серцево-судинних та ендокринних тощо.

Висновки

Встановлено, що близько 70% відсотків дівчат в усіх обстежуваних групах мають спадкову обтяженість щодо гінекологічних захворювань, причому найчастіше гінекологічна патологія реєструвалась у матерів дівчат. Виявлено значне підвищення частоти гінекологічної патології у родичок I та II ступеня спорідненості порівняно з III ступенем спорідненості у дівчат-підлітків всіх груп, що свідчить про накопичення патології у сім'ях дівчат. Передача патологічних ознак здійснюється переважно по материнській лінії в усіх групах обстежуваних хворих.

Список літератури

- Андреева В.О., Машталова А.А. Роль факторов апоптоза в патогенезе олигоменореи и маточных кровотечений пубертатного периода // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2011. – Серия 11. Медицина. – Вып.4. – С. 69–80. /Andreyeva V.O., Mashtalova A.A. Rol' faktorov apoptoza v patogeneze oligomenorei i matochnykh krvotecheniy pubertatnogo perioda // Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. – 2011. – Seriya 11. Meditsina. – Vyp.4. – S. 69–80./
- Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии: Учебник. – Горловка: ЧП «Вид-во Ліхтар», 2008. – 248с. /Atramentova L.A., Utevskaia O.M. Statisticheskiye metody v biologii: Uchebnik. – Gorlovka: ChP «Vyd-vo Likhtar», 2008. – 248s./
- Багацкая Н.В., Начетова Т.А. Особенности наследования олигоменореи у девочек–подростков // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: Збірник наук. праць. – Київ–Луганськ, 2010. – Вып.20. – С. 283–287. /Bagatskaya N.V., Nachetova T.A. Osobennosti nasledovaniya oligomenorei u devochek–podrostkov // Aktual'ni problemy akusherstva i ginekologiyi, klinichnoyi imunologiyi ta medychnoyi genetyky: Zbirnyk nauk. prats'. – Kyiyv–Lugans'k, 2010. – Vyp.20. – S. 283–287./
- Багацька Н.В., Диннік О.О. Аналіз родоводів у сім'ях дівчат–підлітків із пубертатними матковими кровотечами // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: Збірник наук. праць. – Київ–Луганськ, 2012. – Вып.24. – С. 398–404. /Bagats'ka N.V., Dynnik O.O. Analiz rodovodiv u sim'yakh divchat–pidlitkiv iz pubertatnymy matkovymy krvotechamy // Aktual'ni problemy akusherstva i ginekologiyi, klinichnoyi imunologiyi ta medychnoyi genetyky: Zbirnyk nauk. prats'. – Kyiyv–Lugans'k, 2012. – Vyp.24. – S. 398–404./
- Дынник В.А. Характеристика клинического течения аномальных маточных кровотечений пубертатного периода в зависимости от дебюта заболевания // Перинатология и педиатрия имени Е.М. Лукьяновой. – 2015. – №2. – С. 81–85. /Dynnik V.A. Kharakteristika klinicheskogo techeniya anomal'nykh matochnykh krvotecheniy pubertatnogo perioda v zavisimosti ot debyuta zabolevaniya // Perinatologiya i pediatriya imeni Ye.M. Luk'yanovoy. – 2015. – №2. – S. 81–85./
- Дубоссарская З.М. Генетические нарушения гипоталамо-гипофизарной регуляции репродуктивной системы // Репродуктивная эндокринология. – 2012. – №4. – С. 16–21. /Dubossarskaya Z.M. Geneticheskiye narusheniya gipotalamo-gipofizarnoy regulyatsii reproduktivnoy sistemy // Reprodukivnaya endokrinologiya. – 2012. – №4. – S. 16–21./
- Кудинова Е.Г. Семейный анамнез в выявлении факторов риска нарушений менструальной функции у девушек–подростков // Современные наукоемкие технологии. – 2007. – №12. – С. 76–78. /Kudinova Ye.G. Semeynyy anamnez v vyyavlenii faktorov riska narusheniy menstrual'noy funktsii u devushek–podrostkov // Sovremennyye naukoeyemkiye tekhnologii. – 2007. – №12. – S. 76–78./

- Михеенко Г.А., Баженова Л.Г. Условия формирования первичной дисменореи у подростков // *Акушерство и гинекология*. – 2006. – №3. – С. 23–26. /Mikheyenko G.A., Bazhenova L.G. Usloviya formirovaniya pervichnoy dismenorei u podrostkov // *Akusherstvo i ginekologiya*. – 2006. – №3. – S. 23–26./
- Начетова Т.А. Патогенетические механизмы формирования различных клинических вариантов вторичной аменореи у девочек–подростков // *Здоровье женщины*. – 2014а. – №8 (94). – С. 138–142. /Nachetova T.A. Patogeneticheskiye mekhanizmy formirovaniya razlichnykh klinicheskikh variantov vtorichnoy amenorei u devochek–podrostkov // *Zdorov'ye zhenshchiny*. – 2014a. – №8 (94). – S. 138–142./
- Начетова Т.А. Перинатальный анамнез и особенности функции репродуктивной системы матерей девочек–подростков с вторичной аменореей // *Здоровье ребенка*. – 2014б. – №2 (53). – С. 50–53. /Nachetova T.A. Perinatal'nyy anamnez i osobennosti funktsii reproduktivnoy sistemy materey devochek–podrostkov s vtorichnoy amenoreeyey // *Zdorov'ye rebenka*. – 2014b. – №2 (53). – S. 50–53./
- Сибирская Е.В. Маточное кровотечение пубертатного периода: медико-генетические аспекты клиники, диагностики, лечения и профилактики. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / 14.01.01 – акушерство и гинекология. – Москва, 2011. – 33с. /Sibirskaya Ye.V. Matochnoye krvotecheniye pubertatnogo perioda: mediko–geneticheskiye aspekty kliniki, diagnostiki, lecheniya i profilaktiki. Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk / 14.01.01 – akusherstvo i ginekologiya. – Moskva, 2011. – 33s./
- Уварова Е.В. Медико-социальные аспекты репродуктивного здоровья современных девочек России // *Вопросы современной педиатрии*. – 2006. – Т.5, прил.2. – С.87. /Uvarova Ye.V. Mediko-sotsial'nyye aspekty reproduktivnogo zdorov'ya sovremennykh devochek Rossii // *Voprosy sovremennoy pediatrii*. – 2006. – T.5, pril.2. – S.87./
- Ушакова Г.А., Елгина С.И. Репродуктивное здоровье детей и подростков. – Кемерово, 1996. – 121с. /Ushakova G.A., Yelgina S.I. Reproduktivnoye zdorov'ye detey i podrostkov. – Kemerovo, 1996. – 121s./
- Харпер П. Практическое медико-генетическое консультирование. – М.: Медицина, 1989. – 302с. /Kharper P. Prakticheskoye mediko-geneticheskoye konsul'tirovaniye. – M.: Meditsina, 1989. – 302s./
- Яковлева Э.Б., Голоденко Ю.Н. Здоровье, окружающая среда, репродуктивное здоровье молодых женщин // *Український медичний альманах*. – 2004. – Т.7, №5. – С. 191–196. /Yakovleva E.B., Golodenko Yu.N. Zdorov'ye, okruzhayushchaya sreda, reproduktivnoye zdorov'ye molodykh zhenshchin // *Ukrayins'kyy medychnyy al'manakh*. – 2004. – T.7, №5. – S. 191–196./
- Hackshaw A., Rodeck Ch., Boniface S. Maternal smoking in pregnancy and birth defects: a systematic review based on 173 687 malformed cases and 11.7 million controls // *Human Reproduction Update*. – 2011. – Vol.17, no 5. – P. 589–604.

Представлено: Л.А.Страшок / Presented by: L.A.Strashok

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 20.09.2016

УДК: 51-76 : 575.22 : 616.89

Мета-аналіз асоціації T102C поліморфізму гена HTR2A рецептора 5-HT_{2A} з шизофренією
Е.Н.Безугла*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)*
alenabezuglaia120@gmail.com

Ген *HTR2A* кодує серотоніновий рецептор 5-HT_{2A} і знаходиться на довгому плечі хромосоми 13. У мозку пацієнтів з шизофренією було відзначено помітне зменшення щільності цих рецепторів в різних зонах кори. Даний мета-аналіз підтвердив зв'язок між шизофренією і маркером на довгому плечі хромосоми 13 у вигляді С-алельної форми T102C поліморфізму гена *HTR2A*. Попередні дослідження показали, що дана асоціація більш виражена в європейських зразках, тоді як в країнах Східної Азії вона відсутня. В даному дослідженні було визначено, що найбільш сильна асоціація має місце в російських зразках, де значення відношення шансів для алеля С становить: OR=2,1; 95% ДІ 1,5–2,9; для генотипу CC OR=3,9; 95% ДІ 2,1–7,4. Для популяцій інших країн (Ізраїль, Бразилія, Фінляндія, Канада) подібної асоціації не виявлено. Те, що асоціація T102C поліморфізму з шизофренією підтверджена для російського населення, яке генетично близьке до українського, є важливою передумовою для проведення подібних досліджень в Україні з метою визначення провокативного алеля для встановлення ризику захворювання на шизофренію, проведення фармакогенетичних досліджень та ін.

Ключевые слова: *мета-аналіз, T102C поліморфізм, рецептор 5HT_{2A}, шизофренія, ген HTR2A.***Мета-аналіз асоціації T102C поліморфізму гена HTR2A рецептора 5-HT_{2A} з шизофренією**
О.М.Безугла

Ген *HTR2A* кодує серотоніновий рецептор 5-HT_{2A} і знаходиться на довгому плечі хромосоми 13. У мозку пацієнтів з шизофренією було відзначено помітне зменшення щільності цих рецепторів в різних зонах кори. Даний мета-аналіз підтвердив зв'язок між шизофренією і маркером на довгому плечі хромосоми 13 у вигляді С-алельної форми T102C поліморфізму гена *HTR2A*. Попередні дослідження показали, що дана асоціація більш виражена в європейських зразках, тоді як в країнах Східної Азії вона відсутня. В даному дослідженні було визначено, що найбільш сильна асоціація має місце в російських зразках, де значення відношення шансів для алеля С становить: OR=2,1; 95% ДІ 1,5–2,9; для генотипу CC OR=3,9; 95% ДІ 2,1–7,4. Для популяцій інших країн (Ізраїль, Бразилія, Фінляндія, Канада) подібної асоціації не виявлено. Те, що асоціація T102C поліморфізму з шизофренією підтверджена для російського населення, яке генетично близьке до українського, є важливою передумовою для проведення подібних досліджень в Україні з метою визначення провокативного алеля для встановлення ризику захворювання на шизофренію, проведення фармакогенетичних досліджень та ін.

Ключові слова: *мета-аналіз, T102C поліморфізм, рецептор 5HT_{2A}, шизофренія, ген HTR2A.***Meta-analysis of the association of T102C polymorphism in HTR2A gene of 5-HT_{2A} receptor and schizophrenia**
O. Bezuhla

HTR2A gene codes the serotonin receptor 5-HT_{2A} and is located on the long arm of chromosome 13. A marked decrease in the density of these receptors in different areas of the cortex was observed in the brains of patients with schizophrenia. This meta-analysis confirmed the connection between schizophrenia and a marker on the long arm of chromosome 13 as a C-allelic form of T102C polymorphism of *HTR2A* gene. Previous studies have shown that this association is more prominent in European samples, while in East Asia it is absent. This study defines that the strongest association takes place in the Russian samples, where the value of the odds ratio for the C allele is: OR=2,1; 95% CI 1,5–2,9; for the genotype CC OR=3,9; 95% CI 2,1–7,4. In populations of other countries (Israel, Brazil, Finland, Canada) such association was not revealed. The fact that the association of T102C polymorphism with schizophrenia has been confirmed for the Russian population that is genetically close to Ukrainian, is an important precondition for such research in Ukraine to determine provocative allele to find the risk of schizophrenia, to carry out pharmacogenetic studies etc.

Key words: *meta-analysis, T102C polymorphism, 5HT_{2A} receptor, schizophrenia, HTR2A gene.*

Введение

Шизофрения проявляется в результате взаимодействия предрасполагающих факторов наследственности и факторов окружающей среды различной природы в виде дезорганизации и диссоциации психических функций (Ягода, 2011). Распространённость шизофрении в мире оценивается в пределах 0,8–1 % (Краснов и др., 2006). Несмотря на адекватно проводимую поддерживающую терапию, 70% больных страдают от рецидивов. Лица, страдающие шизофренией, обнаруживают ту или иную степень социальной недостаточности, ограничение работоспособности или стойкую её утрату (Гуменюк, Савин, 2010).

Генетический анализ позволит врачу ориентироваться в вопросах наследования заболевания и выделять группы повышенного и наивысшего риска. Одним из направлений исследования этиологии шизофрении является анализ ассоциаций между фенотипами и генетическими полиморфизмами (Траиллин, Левада, 2012). Если частота определённого аллеля гена-кандидата в группе лиц с конкретным заболеванием выше, чем в группе контроля, данный аллель рассматривается как ассоциированный с заболеванием и становится маркером предрасположенности к нему.

Шизофрения характеризуется нарушением поведенческих и соматических функций, в осуществлении которых участвует серотонинергическая система. Ген *HTR2A*, который кодирует серотониновый рецептор 5-НТ_{2А}, находится на длинном плече хромосомы 13. Известно, что серотонин оказывает мощное модулирующее влияние на дофамин- и глутаматергическую передачу нервных импульсов, которое реализуется в том числе и через постсинаптические 5-НТ_{2А}-рецепторы, локализованные на соответствующих нейронах. Результаты физиологических тестов с различными агонистами 5-НТ-рецепторов и прямое определение (посмертно) их плотности в мозге пациентов с шизофренией показали снижение чувствительности и заметное уменьшение плотности 5-НТ_{2А}-рецепторов в разных зонах коры (Ещенко, 2004). Поэтому логичным является предположение об искажении модулирующего действия серотонина при шизофрении и о возможности использования одной из мутаций в гене *HTR2A* рецептора 5-НТ_{2А}, в частности, замены тимина на цитозин в позиции 102, в качестве маркера данного заболевания.

5-НТ_{2А}-рецепторы стали рассматривать как играющие определённую роль при шизофрении около 20 лет назад (Inayama et al., 1996). Однонуклеотидный полиморфизм *T102C* был предметом многочисленных исследований, в ходе которых ассоциация шизофрении с аллелем *C* *HTR2A* была подтверждена. Однако имела место и непрерывная дискуссия, в связи с тем, что значительными были и отрицательные результаты, причиной которых считали этнические различия между популяциями. В исследованиях 2003 г. (Abdomaleky et al., 2004) была обнаружена значительная гетерогенность между европейским и восточноазиатским населением. В странах Восточной Азии связи аллеля *C* или *CC* гомозиготности с шизофренией не обнаружено, что может указывать на генетические различия между европейскими и восточноазиатскими популяциями.

Целью данной работы стало обобщение путём мета-анализа результатов исследований, посвященных проблеме связи шизофрении с однонуклеотидным полиморфизмом гена *HTR2A*.

Материалы и методы

Поиск статей для включения в мета-анализ проводился по ключевым словам «шизофрения», «*T102C*», «*T/C102*», «*HTR2A*» и «5-НТ_{2А}». Поиск статей проведён в онлайн-библиотеках PubMed, а также в русско- и украиноязычных журналах по психиатрии. Критериями отбора статей были следующие показатели: публикация в рецензируемом журнале, язык статьи английский, русский, украинский, наличие исходной информации для расчётов частот аллелей и генотипов по данному полиморфизму. Первичный поиск выявил информацию о 16 исследованиях из различных стран, среди которых отобраны пять статей, посвящённых исследованию ассоциации полиморфизма *T102C* гена *HTR2A* рецептора 5-НТ_{2А} с шизофренией у представителей неазиатских стран. Исследования проводилось по схеме опыт-контроль, на лицах, не состоящих в родстве.

На материале, представленном в статьях, были сформированы основная и контрольная группы, включающие соответственно 654 больных шизофренией и 773 здоровых участника.

Частоты аллелей (p_c и q_T) рассчитаны по формулам:

$$p_c = \frac{2CC + CT}{2N}, \quad q_T = \frac{2TT + CT}{2N}.$$

Вычислен показатель отношения шансов (*OR* – odds ratio) и статистическая ошибка натурального логарифма этого показателя:

$$OR = \frac{ad}{bc}, \quad s_{\ln OR} = \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}},$$

где *a*, *b*, *c*, *d* – числа в клетках таблицы сопряжённости.

Доверительный интервал $\ln OR$ найден с использованием формулы:

$$ДИ = \ln OR \pm t s_{\ln OR},$$

где *t* – коэффициент Стьюдента (*t*=2 для 95% ДИ).

Границы доверительного интервала $\ln OR$ использованы для нахождения границ доверительного интервала *OR*.

Для установления размера эффекта была использована модель случайных эффектов (random effects). Это вызвано тем, что результаты, полученные из разных стран, различались по размеру, поэтому стояла цель обобщить разнородный материал. Математический аппарат этой модели был использован для оценки гетерогенности. Расчёты выполнены при помощи программного обеспечения CMA software.

Результаты и обсуждение

С учётом того, что шизофрения в разных странах встречается примерно у 1% населения, группа здоровых людей может рассматриваться как близкая к репрезентативной выборке населения, а распределение генотипов и аллелей можно считать адекватной оценкой соответствующих популяционных параметров.

Частоты аллелей *C* и *T* полиморфизма *T102C* гена *HTR2A* в населении изученных стран варьируют в широком пределе. Так, частота аллеля *C* в Израиле составляет 0,46, а в Финляндии 0,65. Соответственно частота аллеля *T* в этих популяциях составляет 0,54 и 0,35 (табл. 1).

Таблица 1.

Распределение генотипов и частоты аллелей в *T102C* полиморфизме гена *HTR2A* в населении разных стран

Страна	Группа	N	Генотипы, n (%)			Частоты аллелей	
			CC	CT	TT	p _c	q _t
Израиль	Здоровые	96	20 (20,8)	48 (50,0)	28 (29,2)	0,46	0,54
	Больные	121	35 (28,9)	55 (45,5)	31 (25,6)	0,52	0,48
Бразилия	Здоровые	85	23 (27,1)	40 (47,0)	22 (25,9)	0,51	0,49
	Больные	129	32 (24,8)	62 (48,1)	35 (27,1)	0,49	0,51
Финляндия	Здоровые	386	166 (43,0)	176 (45,6)	44 (11,4)	0,65	0,35
	Больные	93	44 (47,3)	42 (45,2)	7 (7,5)	0,69	0,31
Канада	Здоровые	90	30 (33,3)	47 (52,2)	13 (14,5)	0,59	0,41
	Больные	102	47 (46,1)	41 (40,2)	14 (13,7)	0,66	0,34
Россия	Здоровые	116	31 (26,7)	47 (40,5)	38 (32,8)	0,47	0,53
	Больные	209	89 (42,6)	92 (44,0)	28 (13,4)	0,65	0,35

Примечание: N – объём выборки

У больных по сравнению со здоровыми людьми повышена частота аллеля *C* во всех популяциях, кроме бразильской, однако статистически значимая ассоциация этого аллеля с заболеванием выявлена только в российской популяции. В четырёх из пяти исследований аллель *C* встречается чаще в группе больных и может считаться провокативным. По данным исследований из Израиля, Канады и Финляндии риск заболевания увеличивается на треть, если человек является носителем аллеля *C* (*OR* составляет 1,3, 1,2 и 1,3 соответственно). По данным российского исследования – риск при наличии аллеля *C* увеличивается в два раза (*OR*=2,1). При увеличении дозы аллеля (гомозигота *CC*) подверженность заболеванию становится ещё выше: для населения Израиля *OR*=1,6, Финляндии *OR*=1,7, Канады *OR*=1,5, России *OR*=3,9. Мета-анализ подтвердил наличие этой связи на требуемом уровне значимости (табл. 2). Наличие хотя бы

одного аллеля в генотипе увеличивает вероятность заболевания примерно на треть ($OR=1,3$; 95% ДИ 1,0–1,7; $p<0,05$). Наличие в генотипе двух прокативных аллелей – CC делает риск заболевания ещё выше ($OR=1,7$; 95% ДИ 1,0–2,9; $p<0,05$).

Таблица 2.
Результаты мета-анализа ассоциации $T102C$ полиморфизма гена $HTR2A$ рецептора 5-НТ_{2А} с шизофренией

Страна	Автор	Фактор риска							
		аллель C		генотип CC		$CC+TC$		$TT+TC$	
		OR	95% ДИ	OR	95% ДИ	OR	95% ДИ	OR	95% ДИ
Израиль	1	1,3	0,9–1,9	1,6	0,8–3,4	1,5	0,8–2,9	0,9	0,5–1,8
Бразилия	2	0,9	0,6–1,4	0,9	0,4–1,9	0,9	0,5–1,7	1,0	0,5–1,9
Финляндия	3	1,2	0,9–1,7	1,7	0,7–4	1,1	0,7–1,8	0,7	0,3–1,6
Канада	4	1,3	0,9–2,0	1,5	0,6–3,5	1,8	0,9–3,3	1,2	0,5–2,9
Россия	5	2,1	1,5–2,9	3,9	2,1–7,4	1,5	0,9–2,5	0,4	0,2–0,7
Итог		1,3	1,0–1,7	1,7	1,0–2,9	1,3	1,0–1,7	0,8	0,5–1,2

Примечание: 1 – Segman et al., 2001, 2 – Correa et al., 2007, 3 – Anttila et al., 2007, 4 – Joobert et al., 1999, 5 – Голимбет и др., 2000.

Чувствительность метода тестирования (возможность правильно выявлять предрасположенность к заболеванию) для аллеля C составляет 60%, для генотипа CC – 70%. Специфичность (возможность правильно выявлять отсутствие предрасположенности к заболеванию) по наличию аллеля C в генотипе ($CC+CT$) и по генотипу CC составляет 40%. Прогностическая ценность положительного результата, которая показывает вероятность, что человек действительно болен, если результат тестирования указывает на наличие аллеля C или генотипа CC , составляет 1%.

Прогностическая ценность отрицательного результата, которая показывает вероятность того, что у человека действительно отсутствует заболевание, если в результате тестирования обнаружен один или два аллеля T , составляет 99%.

Итак, в $T102C$ полиморфизме в положении 102 $HTR2A$ может быть тимин (T) или цитозин (C), с возможными генотипами TT , TC или CC . Этот полиморфизм не связан с изменением в аминокислотной последовательности рецептора 5-НТ_{2А}, поскольку при наличии в кодоне 34 (в третьей позиции) любого нуклеотида соответствующей аминокислотой в белке будет серин (Abdomaleky et al., 2004). Однако имеются данные о том, что уровень экспрессии аллеля C снижен у гетерозигот по сравнению с таковым аллеля T , что, по-видимому, и приводит к уменьшенному количеству рецепторов 5-НТ_{2А} в височной коре головного мозга у индивидуумов с генотипом CC (Polesskaya, Sokolov, 2002). Снижение экспрессии гена связывают с метилированием цитозина (C) в положении 102, который находится в экзоне 1 вблизи промотора гена. У пациентов с диагнозом шизофрения было отмечено гиперметилирование этого аллельного варианта гена (Abdomaleky et al., 2004).

Некоторые исследователи рассматривают C аллель как исходный, который мутировал в аллель T (Abdomaleky et al., 2004). Аллель T имеет более высокую частоту в странах Азии, особенно в Китае. Считается, что замена C на T в Восточной Азии произошла давно, поскольку китайские иммигранты по этой особенности не отличаются от коренных жителей.

В европейских популяциях активность гена изменяется в связи с метилированием аллеля C , что и является основанием его использования в выявлении ассоциации с шизофренией. Посредством метилирования аллеля C осуществляется эпигенетическая регуляция генов под действием факторов окружающей среды. Поэтому изучение метилирования ДНК $HTR2A$ является перспективным для будущих исследований.

Учитывая генетическое сходство славянских народов (Kushniarevich et al., 2015), следует ожидать, что данный полиморфизм может быть ассоциирован с шизофренией и в украинском населении, но, возможно, с иными количественными характеристиками.

Выражаю благодарность профессору Л.А.Атраментовой за руководство работой и доценту Н.Е.Волковой за помощь в проведении расчётов.

Список литературы

- Голимбет В.Е., Манандян К.К., Абрамова Л.И., Орлова В.А. и др. Аллельный полиморфизм гена серотонинового рецептора (5HTR2A) и клинико-патогенетические особенности больных шизофренией и расстройствами шизофренического спектра // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С.Корсакова. – 2000. – №2. – С. 36–39. /Golimbet V.Ye., Manandyan K.K., Abramova L.I., Orlova V.A. i dr. Allel'nyy polimorfizm gena serotoninovogo retseptora (5HTR2A) i kliniko-patogeneticheskiye osobennosti bol'nykh shizofreniyey i rasstroystvami shizofrenicheskogo spektra // Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S.Korsakova. – 2000. – №2. – S. 36–39./
- Гуменюк Л.Н., Савин А.А. Первый психотический эпизод шизофрении как медико-социальная проблема // Таврический журнал психиатрии. – 2010. – Т.14, №2 (51). – С. 27–34. /Gumenyuk L.N., Savin A.A. Pervyy psikhoticheskiy epizod shizofrenii kak medico-sotsial'naya problema // Tavricheskiy zhurnal psikiatrii. – 2010. – T.14, №2 (51). – S. 27–34./
- Ещенко Н.Д. Биохимия психических и нервных болезней. – Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2004. – 204с. /Yeshchenko N.D. Biokhimiya psikhicheskikh i nervnykh bolezney. – Sankt-Peterburg: Izd-vo SPbGU, 2004. – 204s./
- Краснов В.Н., Гурович И.Я., Мосолов С.Н. и др. Стандарты оказания помощи больным шизофренией. – Москва, 2006. (<http://www.labclinpharm.ru/35.html>). /Krasnov V.N., Gurovich I.Ya., Mosolov S.N. i dr. Standarty okazaniya pomoshchi bol'nym shizofreniyey. – Moskva, 2006./
- Траилин А.В., Левادا О.А. Генетика и эпигенетика шизофрении // Нейро news. – 2012. – Т.6, №41. (<http://neuronews.com.ua/page/genetika-i-epigenetika-shizofrenii>). /Trailin A.V., Levada O.A. Genetika i epigenetika shizofrenii // Neyro news. – 2012. – T.6, №41./
- Ягода С.А. Биомаркеры шизофрении и пути объективизации психофармакотерапии // Современная терапия психических расстройств. – 2011. – №2. – С. 2–7. /Yagoda S.A. Biomarkery shizofrenii i puti ob'yektivizatsii psikhofarmakoterapii // Sovremennaya terapiya psikhicheskikh rasstroystv. – 2011. – №2. – S. 2–7./
- Anttila S., Kampman O., Illi A. et al. Association between 5-HT_{2A}, TPH1 and GNB3 genotypes and response to typical neuroleptics: a serotonergic approach // BMC Psychiatry. – 2007. – Vol.7. – 22p.
- Borenstein M., Hedges L.V., Higgins J.P.T., Rothstein H.R. Introduction to meta-analysis. – Chichester: Wiley, 2009. – 421p.
- Correa H., De Marco L., Boson W. et al. Association study of T102C 5-HT(2A) polymorphism in schizophrenic patients: diagnosis, psychopathology, and suicidal behavior // Dialogues Clin. Neuroscience. – 2007. – Vol.9. – P. 97–101.
- Inayama Y., Yoneda H., Sakai T. et al. Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia // Am. J. Med. Genet. – 1996. – Vol.67. – P. 103–105.
- Joober R., Benkelfat C., Brisebois K. et al. T102C polymorphism in the 5HT2A gene and schizophrenia: relation to phenotype and drug response variability // Journal of Psychiatry and Neuroscience. – 1999. – Vol.24, no 2. – P. 141–146.
- Kushniarevich A., Utevska O., Chuhryaeva M. et al. Genetic heritage of the Balto-Slavic speaking populations: a synthesis of autosomal, mitochondrial and Y-chromosomal data // PLOS ONE. – 2015. (<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0135820>)
- Abdomaleky H.M., Faraone S.V., Glatt S.J., Tsuang M.T. Meta-analysis of association between the T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia // Schizophrenia Research. – 2004. – Vol.67. – P. 53–62.
- Polesskaya O.O., Sokolov B.P. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT_{2A} receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics // J. Neurosci. Res. – 2002. – Vol.67. – P. 812–822.
- Segman R.H., Heresco-Levy U., Finkel B. et al. Association between the serotonin 2A receptor gene and tardive dyskinesia in chronic schizophrenia // Molecular Psychiatry. – 2001. – Vol.6. – P. 225–229.

Представлено: І.Є.Гончарова / Presented by: I.Ye.Goncharova

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 01.10.2016

УДК: 575.2:57.04

Влияние метионина на радиобиологическую реакцию клеток корневой меристемы проростков лука *Allium cepa* L.

Е.Ю.Герман, Л.Д.Дикая, Е.Н.Эткало, Е.А.Гаркуша

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
elenagerman2009@gmail.com*

Изучена модификация метионином радиобиологической реакции клеток корневой меристемы проростков лука *Allium cepa* L. сортов Мавка и Веселка. Доза гамма-радиации 40 Гр оказывает стимулирующее действие на митотическую активность, а доза 200 Гр – угнетающее, при этом обе дозы увеличивают уровень цитогенетических повреждений. Метионин в концентрации 1 мг/мл не вызывает радиопротекторный эффект, а наоборот, достоверно снижает активность клеточных делений у обоих сортов и в контроле, и при действии радиации, а также обуславливает достоверное увеличение уровня цитогенетических повреждений. Высказано предположение, что рост уровня цитогенетических повреждений в вариантах с метионином вызван его метилирующим действием, при котором метилированию подвергаются среди прочих и гены белков репарации, что препятствует репарации потенциальных повреждений ДНК, возникших при облучении, и ведет к их преобразованию в хромосомные aberrации. Хотя метилирование ДНК является необходимым процессом для прохождения некоторых фаз онтогенеза растительного организма, в период прорастания семян, а также в условиях стресса избыток метильных групп препятствует нормальному развитию и адаптации растений.

Ключевые слова: радиомодификаторы, метионин, митотическая активность, хромосомные aberrации, малые дозы.

Вплив метіоніну на радіобіологічну реакцію клітин кореневої меристеми проростків цибулі *Allium cepa* L.

О.Ю.Герман, Л.Д.Дика, К.М.Еткало, Є.О.Гаркуша

Досліджено модифікацію метіоніном радіобіологічної реакції клітин кореневої меристеми проростків цибулі *Allium cepa* L. сортів Мавка і Веселка. Доза гамма-радіації 40 Гр стимулює митотичну активність, а доза 200 Гр – пригнічує, при цьому обидві дози збільшують рівень цитогенетичних пошкоджень. Метіонін в концентрації 1 мг/мл не спричиняє радіопротекторний ефект, а навпаки, достовірно знижує активність клітинних поділів у обох сортів і в контролі, і при дії радіації, а також обумовлює достовірне збільшення рівня цитогенетичних пошкоджень. Висловлено припущення, що зростання рівня цитогенетичних пошкоджень в варіантах з метіоніном викликано його метилуючою дією, при якій метилуванню піддаються серед інших і гени білків репарації, що перешкоджає репарації потенційних ушкоджень ДНК, що виникли при опроміненні, і веде до їх перетворення в хромосомні aberrації. Хоча метилування ДНК є необхідним процесом для проходження деяких фаз онтогенезу рослинного організму, в період проростання насіння, а також в умовах стресу надлишок метильних груп перешкоджає нормальному розвитку і адаптації рослин.

Ключові слова: радіомодифікатори, метіонін, митотична активність, хромосомні aberrації, малі дози.

Effect of methionine on the radiobiological response of root meristem cells of *Allium cepa* L. seedlings

O.Yu.German, L.D.Dyka, K.M.Etkalo, Ye.O.Garkusha

The modification of radiobiological reaction by methionine has been studied in root meristem cells of onion seedlings of varieties Mavka and Veselka. The dose of gamma radiation of 40 Gy has a stimulating effect on mitotic activity and the dose of 200 Gy – depressing; both doses increase the level of cytogenetic damages. Methionine at a concentration of 1 mg/ml does not cause radioprotective effect, but on the contrary, significantly reduces the activity of cell divisions in both varieties in the control and under the action of radiation. In addition, methionine causes a significant increase of the level of cytogenetic damages. It has been suggested, that methionine methylating action causes the methylation of reparative proteins genes, which leads to the increase of cytogenetic damages level in variants with methionine. Although DNA

methylation is a necessary process for passing of some phases of plant ontogenesis, in the period of seed germination, and in the conditions of stress excess of methyl groups inhibits normal development and adaptation of plants.

Key words: *radiomodifiers, methionine, mitotic activity, chromosomal aberrations, low doses.*

Введение

Биологические объекты – от одноклеточных до высших растений, животных и человека – реагируют по-разному на действие радиации в больших и малых дозах (Кузин, 2002). Угнетающий эффект больших доз связан с прямым или опосредованным действием радиации на ядерную ДНК, что приводит к нарушению ее целостности, возникновению разрывов цепи, появлению мутаций, изменениям генетического кода. Эти изменения угнетают деление клеток, рост и развитие организма, снижают иммунитет, плодовитость, приводят к гибели организма. Гамма-облучение, являясь при больших дозах губительным фактором для живых организмов, в малых дозах может индуцировать положительные биологические процессы и оказывать благоприятное, стимулирующее действие на организм. При облучении малыми дозами наблюдается стимуляция деления клеток, роста и развития организма, повышение плодовитости, увеличение продолжительности жизни и сопротивляемости к действию неблагоприятных факторов среды. Основным биологическим эффектом ионизирующей радиации является повреждение генетических структур, следствием которого – появление мутаций.

Известен широкий круг веществ – радиомодификаторов, способных изменять радиобиологическую реакцию организма. Одним из них являются тиозефир, способные улавливать свободные радикалы, которые образуются при автоокислении многих органических соединений. Метионин – серосодержащая α -аминокислота, тиозефир, входит в число незаменимых аминокислот, которые организм млекопитающих не способен синтезировать самостоятельно и должен получать с продуктами питания растительного происхождения. Аминокислота метионин синтезируется в растительном организме из цистеина, участвует во многих клеточных процессах, среди которых биосинтез белков и синтез этилена в растительной клетке. Являясь серосодержащим соединением, метионин может выступать в качестве радиопротектора, уменьшая негативные последствия действия ионизирующей радиации (Верещако и др., 2008).

Также метионин, выступая в качестве донора метильных групп, может повышать уровень метилирования ДНК, изменяя при этом модель генной экспрессии. Можно предположить, что избыток экзогенного метионина, добавленный в среду при проращивании семян, может изменить степень метилирования ДНК, увеличив количество метилированного цитозина, что вызовет гетерохроматинизацию эухроматиновых участков. Это приведет к торможению клеточного метаболизма, пролиферации клеток, роста растения. Известно, что избыток метионина снижает жизнеспособность дрозофилы (Волкова та ін. 2013), приводит к дефектам развития у грибов (Saint-Macary et al., 2015). Тем не менее, в низких концентрациях метионин широко используется в качестве экзогенного регулятора, улучшающего посевные качества семян и интенсифицирующего рост проростков растений (Яблонская, 2014).

Целью работы было выявить модификацию метионином радиобиологической реакции клеток корневой меристемы проростков лука *Allium cepa* L. на облучение гамма-радиацией в дозах 40 Гр и 200 Гр.

Методика

Материалом для исследования были семена лука *Allium cepa* L. сортов Мавка и Веселка, предоставленные Институтом овощеводства и бахчеводства НААН Украины, г. Харьков. Оба сорта салатного направления, среднеспелые, со сходным вегетационным периодом и урожайностью, наружные чешуи фиолетово-красного цвета.

Воздушно-сухие семена облучали гамма-радиацией Co^{60} в Харьковском национальном университете им. В.Н.Каразина в дозах 40 Гр и 200 Гр соответственно, стимулирующее и угнетающее действия которых на растительный организм было установлено в работах кафедры генетики и цитологии ХНУ ранее (Баева, 2006).

В эксперименте были выделены следующие варианты:

1. контроль – необлученные семена, проращиваемые в водопроводной воде;
2. необлученные семена, проращиваемые с добавлением метионина в концентрации 1 мг/мл;

3. 40Гр – семена, облученные гамма-радиацией в дозе 40Гр, проращиваемые в водопроводной воде;
4. 40Гр+метионин – семена, облученные гамма-радиацией в дозе 40 Гр, проращиваемые с добавлением метионина в концентрации 1 мг/мл;
5. 200Гр – семена, облученные гамма-радиацией в дозе 200Гр, проращиваемые в водопроводной воде;
6. 200Гр+метионин – семена, облученные гамма-радиацией в дозе 200Гр, проращиваемые с добавлением метионина в концентрации 1 мг/мл.

Семенной материал проращивали в рулонах фильтровальной бумаги в термостате при температуре 22°C. Для исследования отбирали семена с одинаковой скоростью прорастания, фиксировали зародышевые корешки в фиксаторе Кларка, в течение первых митотических циклов через каждые 2 часа (с 62 по 72). На давленных препаратах, окрашенных по Фельгену, учитывали митотический индекс и частоту aberrаций хромосом. Для выявления влияния метионина на ростовые процессы, полученные показатели сравнивали с контролем.

Статистический анализ проводили по стандартной методике. Для каждого времени фиксации находили среднее арифметическое значение митотического индекса и рассчитывали статистическую ошибку выборочной части для каждого из них. Достоверность различий между контролем и опытными вариантами оценивали по критерию Фишера. Для проверки нормальности распределения использовали тест Шапиро-Уилка для выборок менее 30 дат. Нормальность распределения позволила использовать параметрический двухфакторный дисперсионный анализ для анализа влияния метионина и облучения на митотическую активность клеток и уровень хромосомного мутагенеза (Атраментова, Утевська, 2007). Расчеты производили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Влияние метионина на митотическую активность. Данные учета митотической активности клеток меристемы изученных сортов были получены в период с 62 часа роста проростков, когда появлялись первые митозы, по 72 час. На рис. 1 и 2 показаны средние результаты учета митотической активности. В контрольном варианте митотическая активность находилась на уровне 5,5–6,7 % и была выше у сорта Мавка. Действие облучения в дозе 40 Гр оказало стимулирующее действие: увеличило интенсивность и количество делящихся клеток, и повысило значения митотического индекса до 6,8–8,2 %.

Достоверное ($p \leq 0,01$) снижение митотического индекса было отмечено в варианте с облучением дозой 200 Гр у обоих сортов, причем в большей степени снижалась митотическая активность у сорта Веселка.

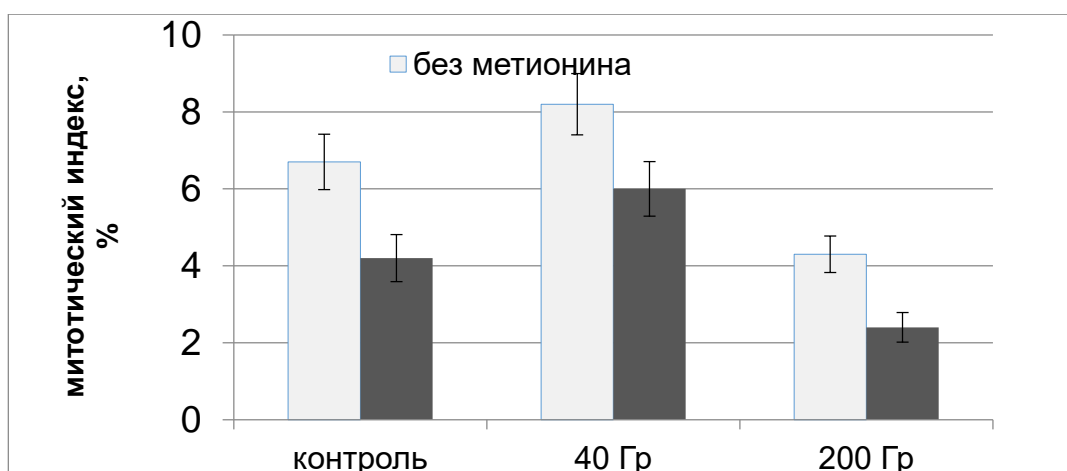


Рис. 1. Изменение митотической активности клеток меристемы проростков семян сорта Мавка при облучении и действии метионина

Полученные данные о стимулирующем действии дозы 40 Гр и угнетающем – 200 Гр согласуются с данными литературы (Гродзинский, 1989) и данными, полученными ранее на кафедре генетики и цитологии (Баева, 2006).

Различия в уровне митотической активности и чувствительности к действию радиации между исследованными сортами можно объяснить разным содержанием эндогенных радиопротекторных соединений. По вкусу сорта лука делят на острые, полуострые и сладкие. Острота лука зависит от количества летучего эфирного масла, содержащего серу. Серосодержащие соединения оказывают радиопротекторный эффект, обусловленный их способностью связывать свободные радикалы, образующиеся при радиационном воздействии. Тем самым снижается уровень цитогенетических и других повреждений в клетке. Исследованные сорта лука Веселка и Мавка относятся к полуострым сортам лука, причем вкус лука Веселка ближе к сладкому, соответственно содержание эфирного масла в нем должно быть ниже, чем у лука Мавка.

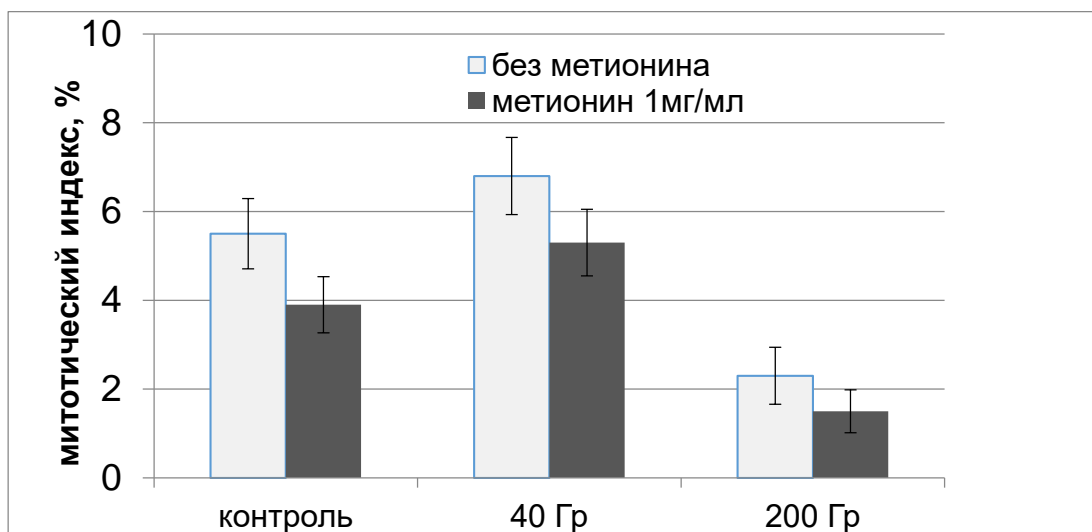


Рис. 2. Изменение митотической активности клеток меристемы проростков семян сорта Веселка при облучении и действии метионина.

Метионин в концентрации 1 мг/мл не оказал радиопротекторного эффекта, который мог бы проявиться в увеличении митотической активности в вариантах с облучением, а наоборот, достоверно ($p \leq 0,05$) снижал активность клеточных делений у обоих сортов и в контроле, и во всех опытных вариантах (рис.1 и 2, табл. 1).

Таблица 1.

Влияние метионина и облучения на митотическую активность и частоту aberrаций хромосом в меристеме проростков лука сортов Мавка и Веселка

Вариант эксперимента	Митотическая активность, %		Аберрации хромосом, %	
	без метионина	метионин 1 мг/мл	без метионина	метионин 1 мг/мл
Мавка				
контроль	6,7±0,7	4,2±0,6	1,5±1,7	17,8±5,4
40 Гр	8,2±0,8	6,0±0,7	30,2±3,7	41,5±4,9
200 Гр	4,3±0,6	2,4±0,4	29,8±5,9	57,7±3,2
Веселка				
контроль	5,5±0,7	3,9±0,6	1,0±0,8	10,6±4,3
40 Гр	6,8±0,7	5,3±0,7	30,0±2,8	38,0±2,9
200 Гр	2,3±0,4	1,5±0,3	32,0±6,0	47,4±5,3

Влияние метионина на уровень хромосомного мутагенеза. Процессы деления клеток и, следовательно, роста растений зависят от структурно-функционального состояния генетической системы клеток. Действие гамма-радиации нарушает целостность ДНК, приводит к возникновению различных типов повреждений. Количество этих повреждений зависит от ряда факторов, в том числе от величины дозы облучения и эффективности процессов репарации (Куцоконь та ін., 2003). Уровень цитогенетических повреждений является информативным показателем при изучении проявления радиационной адаптации и отражает активность защитных систем клетки.

Результаты учета клеток с абберациями хромосом представлены на рис. 3 и 4. Для лука исследуемых сортов характерен невысокий уровень спонтанного мутагенеза, всего 1,0–1,5 % клеток были с абберациями.

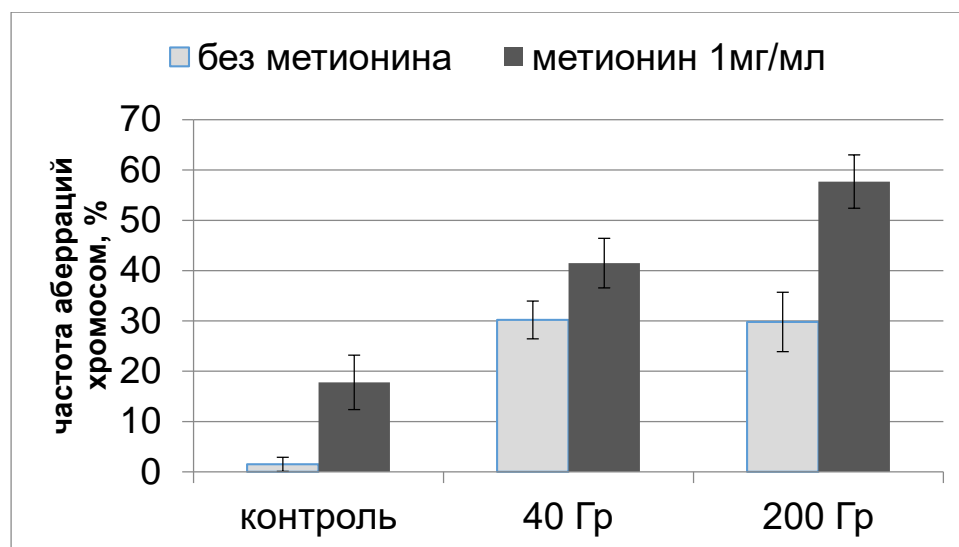


Рис. 3. Изменение уровня хромосомного мутагенеза в клетках меристемы проростков семян сорта Мавка при облучении и действии метионина

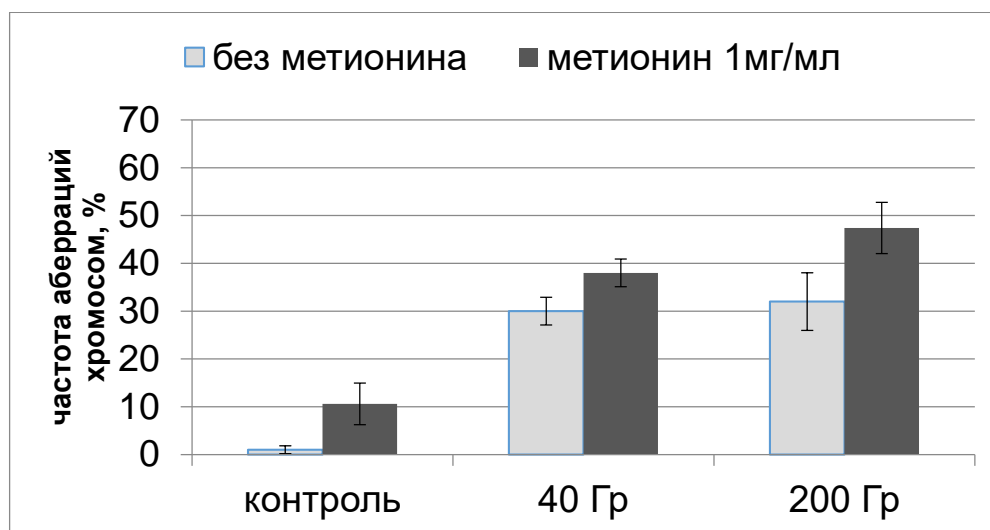


Рис. 4. Изменение уровня хромосомного мутагенеза в клетках меристемы проростков семян сорта Веселка при облучении и действии метионина

Облучение гамма-радиацией как в дозе 40 Гр, так и в дозе 200 Гр увеличило количество клеток с цитогенетическими повреждениями до 30,0–32,0 % у обоих сортов. При этом количество

делящихся клеток в варианте 200 Гр было меньше, чем в варианте 40 Гр (рис. 1 и 2). Большое количество хромосомных мутаций в сочетании с низкой митотической активностью может свидетельствовать о наступлении блока митозов, вызванного облучением.

Задержка делений клеток является проявлением биологического действия высоких доз ионизирующей радиации. Предполагают (Петин, 1987), что во время задержки пролиферации в клетке происходит восстановление повреждений.

Проращивание облученных семян с добавлением в водную среду метионина обусловило существенное и достоверное ($p < 0,05$ в варианте 40 Гр и $p < 0,001$ в вариантах контроль и 200 Гр) увеличение уровня цитогенетических повреждений.

Согласно концепции потенциальных повреждений (Демина и др., 2009) действие мутагена может вызывать как повреждение молекулы ДНК, так и образование потенциальных повреждений, которые в отсутствие репарации или под влиянием внутриклеточных условий могут реализоваться и образовать новые повреждения ДНК. Можно предположить, что рост количества aberrаций в вариантах с метионином вызван метилирующим ДНК действием метионина, при котором метилированию подверглись среди прочих и гены белков репарации (эндонуклеазы, экзонуклеазы, ДНК-полимеразы, лигазы). В отсутствие активных систем репарации произошло преобразование потенциальных повреждений в реальные разрывы хромосом, которые реализовались в хромосомные aberrации.

Дисперсионный анализ показал (табл. 2), что оба фактора – и облучение, и метионин – оказывают влияние на митотическую активность меристемы ($p \leq 0,001$) и частоту возникновения хромосомных aberrаций ($p \leq 0,01$). Различия в уровне пролиферации клеток и хромосомных aberrаций между сортами статистически недостоверны ($p \geq 0,05$).

Таблица 2.

Результаты дисперсионного анализа учета влияния облучения, метионина и сорта семян на митотическую активность и уровень хромосомного мутагенеза

Фактор	Митотическая активность			Аберрации хромосом		
	<i>F</i> эксперим.	<i>F</i> критич.	<i>p</i>	<i>F</i> эксперим.	<i>F</i> критич.	<i>p</i>
Облучение	40,0	5,0	$\leq 0,001$	20,2	5,0	$\leq 0,01$
Метионин	51,7	6,6	$\leq 0,001$	25,1	6,6	$\leq 0,01$
Сорт	0,8	4,9	$\geq 0,05$	2,4	4,9	$\geq 0,05$

Следовательно, хотя метилирование ДНК является необходимым процессом для прохождения некоторых фаз онтогенеза растительного организма (Gallusci et al., 2016; Xing et al., 2015), в период прорастания семян, а также в условиях стресса избыток метильных групп препятствует нормальному развитию и адаптации растений.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Доза гамма-радиации 40 Гр оказывает стимулирующее действие на митотическую активность, а доза 200 Гр – угнетающее, при этом обе дозы увеличивают уровень цитогенетических повреждений.
2. Метионин в концентрации 1 мг/мл не вызывает радиопротекторный эффект, а наоборот, достоверно снижает активность клеточных делений у обоих сортов и в контроле, и при действии радиации.
3. Проращивание облученных семян с добавлением в водную среду метионина обуславливает достоверное увеличение уровня цитогенетических повреждений.

Список литературы

- Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології: Підручник. – Х.: ХНУ імені В.Н.Каразіна, 2007. – 288с. /Atramentova L.O., Utevska O.M. Statystychni metody v biologiyi: Pidruchnyk. – Kh.: KhNU imeni V.N.Karazina, 2007. – 288s./
- Баева Е.Ю. Индукция и проявление радиоадаптивного ответа клеток корневой меристемы линий и гибрида подсолнечника // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2006. – Вип.3, №729. – С. 47–52. /Bayeva Ye.Yu. Induktsiya i proyavleniye radioadaptivnogo otveta kletok

kornevoy meristemy liniy i gibrida podsolnechnika // Visnyk Kharkivs'kogo natsional'nogo universytetu imeni V.N.Karazina. Seriya: biologiya. – 2006. – Vyp. , №729. – S. 47–52./

Волкова Н.Є., Філіпоненко Н.С., Красовська В.В. та ін. Вплив фолієвої кислоти і метіоніну на пристосованість *Drosophila melanogaster* // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2013. – Вип.17, №1056. – С. 69–83. /Volkova N.Ye., Filiponenko N.S., Krasovs'ka V.V. ta in. Vplyv foliyevoyi kysloty i metioninu na prystosovanist' *Drosophila melanogaster* // Visnyk Kharkivs'kogo natsional'nogo universytetu imeni V.N.Karazina. Seriya: biologiya. – 2013. – Vyp.17, №1056. – S. 69–83./

Верещако Г.Г., Ходосовская А.М., Конопля Е.Ф. Оценка радиопротекторных свойств некоторых биологически активных веществ // Радиация и экосистемы: Мат. межд. научн. конференции. – Гомель: РНИУП «Институт радиологии», 2008. – С. 277–280. /Vereshchako G.G., Khodosovskaya A.M., Konoplya Ye.F. Otsenka radioprotekturnykh svoystv nekotorykh biologicheskii aktivnykh veshchestv // Radiatsiya i ekosistemy: Mat. mezhd. nauchn. konferentsii. – Gornel: RNIUP «Institut radiologii», 2008. – S. 277–280.

Гродзинский Д.М. Радиобиология растений. – К.: Наукова думка, 1989. – 384с. /Grodzinskiy D.M. Radiobiologiya rasteniy. – K.: Naukova dumka, 1989. – 384s./

Демина Э.А., Пилинская М.А., Петунин Ю.И., Ключин Д.А. Радиационная цитогенетика. Русско-английский словарь-справочник. – К.: Здоровье, 2009. – 368с. /Demina E.A., Pilinskaya M.A., Petunin Yu.I., Klyushin D.A. Radiatsionnaya tsitogenetika. Russko-angliyskiy slovar'-spravochnik. –K.: Zdorov'ye, 2009. – 368s./

Кузин А.М. Роль природного радиоактивного фона и вторичного биогенного излучения в явлении жизни. – М.: Наука, 2002. – 79с. /Kuzin A.M. Rol' prirodnoho radioaktivnogo fona i vtorichnogo biogennoho izlucheniya v yavlenii zhizni. – M.: Nauka, 2002. – 79s./

Куцоконь Н.К., Безруков В.Ф., Лазаренко Л.М. та ін. Кількість аберацій на аберантну клітину як параметр хромосомної нестабільності. 1. Характеристика дозових залежностей // Цитологія і генетика. – 2003. – Т.37, №4. – С. 20–25. /Kutsokon' N.K., Bezrukov V.F., Lazarenko L.M. ta in. Kil'kist' aberatsiy na aberantnu klitynu yak parametr khromosomnoyi nestabil'nosti. 1. Kharakterystyka dozovykh zalezhnostey // Tsitologiya i genetyka. – 2003. – T.37, №4. – S. 20–25./

Петин В.Г. Генетический контроль модификаций радиочувствительности клеток. – М.: Энергоатомиздат, 1987. – 208с. /Petin V.G. Geneticheskii kontrol' modifikatsiy radiochuvstvitel'nosti kletok. – M.: Energoatomizdat, 1987. – 208s./

Яблонская Е.К. Изучение воздействия экзогенных регуляторов метионина, фуrolана и их композиции на посевные качества семян пшеницы // Universum: Химия и биология: эл. научн. журн. – 2014. – №9 (9). /Yablonskaya Ye.K. Izucheniye vozdeystviya ekzogennykh regul'yatorov metionina, furoлана i ikh kompozitsii na posevnyye kachestva semyan pshenitsy // Universum: Khimiya i biologiya: el. nauchn. zhurn. – 2014. – №9 (9). (<http://7universum.com/ru/nature/archive/item/1566>)

Gallusci P., Hodgman Ch., Teyssier E. et al. DNA methylation and chromatin regulation during fleshy fruit development and ripening // Front. Plant Sci. – 2016. – Vol.7, art.807. – 14p. (<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00807>)

Saint-Macary M.E., Barbisan C., Gagey M.J. et al. Methionine biosynthesis is essential for infection in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* // PLoS ONE. – 2015. – 10(4). – 22p. (<http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371/journal.pone.0111108.PDF>)

Xing M.-Q., Zhang Y.-J., Zhou S.-R. et al. Global analysis reveals the crucial roles of DNA methylation during rice seed development // Plant Physiology. – 2015. – Vol.168, no 4. – P. 1417–1432. (<http://www.plantphysiol.org/content/168/4/1417.long#fn-6>)

Представлено: Т.А.Долгова / Presented by: T.A.Dolgova

Рецензент: Н.В.Багацька / Reviewer: N.V.Bagatska

Подано до редакції / Received: 23.06.2016

УДК: 575.224.6: 631.417.2: 575.224.4

Цитогенетичний аналіз антимуутагенної дії лігногумату натрію при індукції мутацій мітоміцином С в *Allium*-тесті
В.М.Шкарупа*ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України» (Київ, Україна)*
Shkarupa_vlad@bigmir.net

Досліджено цитогенетичні ефекти лігногумату натрію щодо генотоксичності, індукованої мітоміцином С в *Allium*-тесті. Лігногумат натрію був протестований у концентрації 100 мг/л при сумісній з мітоміцином С 72-годинній експозиції. Аналіз клітин корневої меристеми проростків насіння *Allium cepa* L. проводили ана-телофазним методом. Встановлено, що лігногумат натрію проявляє антимуутагенні властивості, знижуючи частоту індукованих мітоміцином С абераційних клітин на 54,90% та аберацій хромосом на 64,51%. При цьому спостерігається повна елімінація мультиабераційних клітин. Виявлено диференційну активність препарату щодо зниження частоти аберацій хромосом різних типів. Частота всіх типів «мостів» внаслідок дії лігногумату натрію зменшувалась в 1,98 раза, а всіх типів фрагментів – в 8,03 раза. При цьому відбувалась повна елімінація парних фрагментів (хромосомного типу), частота одиночних фрагментів (хроматидного типу) зменшувалась в 8,2 раза. Ефективна елімінація мультиабераційних клітин та одиночних фрагментів свідчить про наявність не тільки десмутагенних, але й інших антимуутагенних механізмів дії лігногумату натрію. Таким чином, показана множинність механізмів реалізації антимуутагенних властивостей лігногумату натрію при індукованому мітоміцином С мутагенезі в *Allium*-тесті.

Ключові слова: антимуутагенез, лігногумат натрію, мітоміцин С, *Allium*-тест.

Cytogenetic analysis of antimutagenic action of sodium lignogumate at mutations induction by mitomycin C in *Allium*-test
V.M.Shkarupa

Cytogenetic effects of sodium lignogumate on genotoxicity induced by mitomycin C in *Allium*-test were studied. Sodium lignogumate was tested at a concentration of 100 mg/l at the joint 72-hour exposure with mitomycin C. Analysis of the root meristem cells of *Allium cepa* L. seedlings was carried by ana-telophase method. It was found that sodium lignogumate had antimutagenic properties, reducing the frequency of mitomycin C induced chromosome aberrations by 64,51%. Complete elimination of multiaberrant cells was revealed. There was observed differential activity of the drug to reduce the frequency of chromosome aberrations of different types. The frequency of all types of "bridges" at the influence of sodium lignogumate reduced by 1.98 times, and the frequency of all types of fragments – by 8.03 times. There was revealed the complete elimination of double fragments (of chromosomal type), the frequency of single fragments (of chromatid type) decreased by 8.2 times. The effective elimination of multiaberrant cells and fragments indicates the presence of not only desmutagenic but also other mechanisms of antimutagenic properties of sodium lignogumate. Therefore, multiple mechanisms were revealed for implementing antimutagenic properties of sodium lignogumate by mitomycin C induced mutagenesis in *Allium*-test.

Key words: antimutagenesis, sodium lignogumate, mitomycin C, *Allium*-test.

Цитогенетический анализ антимуутагенного действия лигногумата натрия при индукции мутаций митомцином С в *Allium*-тесте
В.Н.Шкарупа

Исследованы цитогенетические эффекты лигногумата натрия на генотоксичность, индуцированную митомцином С в *Allium*-тесте. Лигногумат натрия был протестирован в концентрации 100 мг/л при совместной с митомцином С 72-часовой экспозиции. Анализ клеток корневой меристемы проростков семян *Allium cepa* L. проводили ана-телофазным методом. Показано, что лигногумат натрия проявляет антимуутагенные свойства, снижая частоту индуцированных митомцином С аберационных клеток на 54,90% и абераций хромосом на 64,51%. При этом наблюдается полная элиминация мультиаберационных клеток. Выявлена дифференциальная активность лигногумата натрия по снижению частоты абераций разных типов. Частота всех типов «мостов» вследствие действия лигногумата натрия уменьшалась в 1,98 раза, а всех типов фрагментов – в 8,03 раза. При этом

происходила полная элиминация парных фрагментов (хромосомного типа), частота одиночных фрагментов (хроматидного типа) уменьшалась в 8,2 раза. Эффективная элиминация мультиаберантных клеток и одиночных фрагментов свидетельствует о наличии не только десмутагенных, но и других антимутагенных механизмов действия лигногумата натрия. Таким образом, показана множественность механизмов реализации антимутагенных свойств лигногумата натрия при индуцированном митомицином С мутагенезе в *Allium*-тесте.

Ключевые слова: антимутагенез, лигногумат натрия, митомицин С, *Allium*-тест.

Вступ

В умовах значного антропогенного забруднення довкілля генотоксикантами антимутагени розглядаються як фактори захисту геному людини, що здатні знижувати ризик захворювань, в етіології та патогенезі яких головну роль відіграє мутаційний компонент (Дворник та ін., 2004; Ferguson, De Flora, 2005). Важливим напрямком в дослідженнях з антимутагенезу є пошук фізіологічно активних речовин, здатних зменшувати рівень генетичних пошкоджень при застосуванні лікарських препаратів з мутагенними властивостями за життєвими показами без значного інгібування їх терапевтичних ефектів (Дурнев, 2001; Ferguson, De Flora, 2005). Однією з передумов цього є те, що для деяких антимутагенів притаманна множинність механізмів дії, адаптогенні властивості (Ślarczyńska et al., 2014).

Гумати (солі гумінових кислот) – фізіологічно активна форма гумінових речовин, природних азотовмісних поліфенольних високомолекулярних сполук змінного складу, продуктів процесів гуміфікації, що містяться в ґрунтах, торфі, бурому вугіллі, сапропелях та ін. Особливістю будови їх макромолекул є насиченість різноманітними функціональними групами. Це дозволяє їм приймати участь в різноманітних окисно-відновних реакціях, в фермент-субстратних взаємодіях, впливати на осмотичний тиск, утворювати комплексні сполуки хелатного типу, що в кінцевому рахунку і обумовлює широкий спектр їх біологічної активності (Pena-Mendez et al., 2005; Zhou et al., 2012). Показано, що гумінові речовини здатні зменшувати рівень генетичних пошкоджень, індукованих хімічними мутагенами, проте результати досліджень в цьому напрямі залишаються суперечливими, в деяких роботах повідомляється про генотоксичні ефекти гумінових речовин, незважаючи на їх низьку токсичність (Agar et al., 2014; Cozzi et al., 1993; Ferrara et al., 2006; Hseu et al., 2008; Kubešová et al., 2011).

Останнім часом проводяться інтенсивні дослідження біологічної активності не тільки природних гумінових речовин, але й їх синтетичних аналогів, зокрема лігногуматів, які є промисловими гуміновими препаратами, виготовленими на основі технології окисно-гідролітичної деструкції промислових лігносульфонатів (Бузлама, 2010; Poloskin et al., 2013).

Метою роботи було дослідження впливу лігногумату натрію на цитогенетичні ефекти, індуковані алкілувальним протипухлинним цитостатиком – митомицином С в *Allium*-тесті.

Об'єкти та методи дослідження

В якості модельної системи використовували кореневу меристему проростків насіння *Allium scera* L. Досліджували вплив лігногумату натрію (марка А, НВО РЕТ, Росія) в концентрації 100 мг/л на цитогенетичні ефекти, індуковані митомицином С (Киоуа, Японія) в концентрації 0,025 мг/л, при одночасній експозиції мутагену з модифікатором протягом 72 годин. В контролі – дистильована Н₂О. Цитогенетичні ефекти досліджували в ана-телофазі першого поділу меристематичних клітин. Для оцінки модифікації мутагенної дії використовували наступні параметри: частота аберантних ана-телофаз (ЧАА, %), частота аберацій хромосом (кількість аберацій/100 клітин), частота мультиаберантних клітин (МАК), %, поклітинний розподіл аберацій, спектр аберацій. Виділяли аберації хроматидного (одиночні «мости», одиночні фрагменти) та хромосомного типів (парні «мости», парні фрагменти). Оскільки в *Allium*-тесті важко або неможливо розрізнити типи аберацій в клітинах з більше, ніж 6-ма абераціями, до МАК відносили такі, що містять ≥ 6 аберацій хромосом (в т.ч. клітини з невизначеними множинними абераціями, в яких для розрахунку загальної частоти аберацій кількість аберацій в клітині умовно приймали за 6). Ефективність дії лігногумату натрію оцінювали за показником редукційний фактор (РФ), який характеризує ступінь пригнічення індукованого мутагенезу під впливом модифікатора. РФ розраховували за критеріями ЧАА (РФ₁) та частоти аберацій (РФ₂):

$$P\Phi = \frac{M - (AM + M)}{M} \cdot 100\%,$$

де M – ЧАА або частота аберацій (для $P\Phi_1$ і $P\Phi_2$, відповідно) за дії мутагену (мітоміцину С); $AM + M$ – ЧАА або частота аберацій (для $P\Phi_1$ і $P\Phi_2$, відповідно) за умов одночасної дії мутагену та модифікатора (лігногумату натрію). Статистичний аналіз результатів експериментальних досліджень проводили відповідно до загальноприйнятих методик, достовірність відмінностей оцінювали з використанням точного двостороннього критерію Фішера.

Результати та обговорення

Результати аналізу впливу лігногумату натрію на частоту абераційних клітин та аберацій хромосом, індуктованих мітоміцином С, представлені в табл. 1.

Дія лігногумату натрію у концентрації 100 мг/л не призводила до достовірного збільшення рівня спонтанного мутагенезу в клітинах кореневої меристеми *Allium cepa*. За умов сумісної довготривалої експозиції мітоміцину С з гуміновим препаратом проявляється виражений антимутагенний ефект останнього. Хоча повного інгібування кластогенних ефектів мітоміцину С не відбувається, частота абераційних ана-телофаз, індуктованих мутагеном, зменшується досить істотно – на 54,90% (з $20,20 \pm 2,00$ % до $8,23 \pm 1,06$ %). Ще більш ефективним є зменшення загальної частоти аберацій хромосом – на 64,51% (з $30,18 \pm 2,29$ аберацій/100 клітин до $10,71 \pm 1,48$ аберацій/100 клітин). Це свідчить про ефективну елімінацію сильно пошкоджених клітин внаслідок дії лігногумату натрію, що підтверджується аналізом поклітинного розподілу аберацій хромосом (табл. 2).

Таблиця 1.

Вплив лігногумату натрію на частоту абераційних клітин та частоту аберацій хромосом, індуктованих мітоміцином С

Мітоміцин С (мг/л)	Лігногумат натрію (мг/л)	ЧАА, %	$P\Phi_1$, %	Кількість аберацій /100 клітин	$P\Phi_2$, %
0	0	$2,11 \pm 0,54$	-	$2,25 \pm 0,56$	-
0	100	$2,50 \pm 0,64$	-	$2,50 \pm 0,64$	-
0,025	0	$20,20 \pm 2,00$	-	$30,18 \pm 2,29$	-
0,025	100	$9,11 \pm 1,37^*$	54,90	$10,71 \pm 1,48^*$	64,51

Примітка: * $p < 0,05$, порівняно з роздільною дією мутагену.

Таблиця 2.

Поклітинний розподіл аберацій хромосом при модифікації лігногуматом натрію мутагенезу, індуктованого мітоміцином С

Мітоміцин С (мг/л)	Лігногумат натрію (мг/л)	Кількість аберацій в клітині						
		0	1	2	3	4	5	≥ 6
0	0	97,89	1,97	0,14	0	0	0	0
0	100	97,50	2,50	0	0	0	0	0
0,025	0	79,80	15,46	2,49	1,00	0,25	0,25	0,75
0,025	100	90,89	7,97	0,68	0,46	0	0	0

Вплив гумінового препарату обумовлює зменшення частоти всіх типів клітин з різною кількістю аберацій, індуктованих мітоміцином С. Частка клітин з 1-єю аберацією зменшується в 1,94 раза, з 2-ма абераціями – в 3,66 раза, з 3-ма абераціями – в 2,17 раза. Привертає увагу, що антимутагенний ефект лігногумату натрію характеризується повною елімінацією МАК та клітин з 4

та 5 абераціями. Особливості спектру аберацій хромосом при індукованому мітоміцином С мутагенезі та за умов його модифікації лігногуматом натрію представлені в табл. 3.

Таблиця 3.
Спектр аберацій хромосом при модифікації лігногуматом натрію мутагенезу, індукованого мітоміцином С

Мітоміцин С, (мг/л)	Лігногумат натрію (мг/л)	Хроматидні мости/100 клітин	Хромосомні мости	Одиночні фрагменти	Парні фрагменти	МАК
0	0	1,55±0,46	0,56±0,28	0,14±0,14	–	–
0	100	2,00±0,57	–	0,33±0,23	0,17±0,17	–
0,025 мг/л	0	17,96±1,92	0,50±0,25	11,22±1,58	0,50±0,25	0,75±0,43
0,025 мг/л	100	9,11±1,37	0,23±0,22	1,37±0,55	–	–

В усіх варіантах експерименту в спектрі аберацій хромосом переважали аберації хроматидного типу. В контролі частка аберацій цього типу складала 75%. Мутагенна дія мітоміцину С, поряд із збільшенням частоти аберацій, призводила до зміни їх спектру – частка аберацій хроматидного типу збільшувалася до 97%. Антимутагенна дія лігногумату натрію була більш ефективною щодо зменшення частоти аберацій хромосомного типу, ніж хроматидного – в 4,35 та 2,78 рази відповідно. Проте це не обумовило достовірних змін в спектрі аберацій за показником співвідношення аберацій хроматидного та хромосомного типів (98% та 2% відповідно), що пояснюється низькою частотою останніх. Привертає увагу диференційована антимутагенна ефективність гумінового препарату щодо таких типів аберацій, як «мости» та фрагменти. Як видно з табл. 3, більш ефективним є зменшення частоти фрагментів. Так, загальна частота всіх типів «мостів» внаслідок дії лігногумату натрію зменшувалась в 1,98 рази, а всіх типів фрагментів – в 8,03 рази. При цьому відбувалась повна елімінація парних фрагментів, частота одиночних фрагментів зменшувалась в 8,20 рази. Частота хроматидних «мостів» зменшувалась в 1,97 рази, зменшення частоти хромосомних мостів в 2,17 рази мало недостатній рівень статистичної значущості.

Порівнюючи отримані результати з даними літератури, слід зазначити наступне. В цитогенетичних дослідженнях на клітинах тварин було показано інгібування гуміновими речовинами мутагенності мітоміцину С (Cozzi et al., 1993). Зокрема, зменшення частоти сестринських хроматидних обмінів (СХО), індукованих мітоміцином С, внаслідок дії гуматів різного походження (в діапазоні діючих концентрацій препаратів від 30 до 700 мг/л), на 12–73 %. Величина антимутагенного ефекту в цих дослідженнях більшою мірою залежала від виду гумінових речовин, ніж від їх концентрації. При цьому автори вказують на десмутагенний механізм дії гуматів за рахунок їх зв'язування з молекулами мутагену. Разом з тим, антимутагенні ефекти лігногумату натрію неможливо звести виключно до десмутагенних механізмів, оскільки було показано його ефективність щодо зниження частоти аберацій хромосом за умов радіаційно-індукованого мутагенезу (Shkarupa et al., 2014). Використання в даній роботі комплексу таких цитогенетичних критеріїв, як частота абераційних клітин і аберацій, частота МАК, спектр аберацій та їх поклітинний розподіл дозволило збільшити інформативність аналізу і вийти за рамки спрощеного висновку так/ні щодо наявності антимутагенних властивостей. Зокрема, ефективна елімінація МАК та одиночних фрагментів внаслідок дії лігногумату натрію свідчить про наявність не тільки десмутагенних, але й інших антимутагенних механізмів. Про можливу наявність біоантимутагенних механізмів впливу гумінових речовин щодо мутагенності мітоміцину С вказують дослідження Ferraga та ін. (Ferraga et al., 2006). Зокрема, в мікроядерному тесті в клітинній культурі ТК6 лімфобластів людини леонардитові гумінові кислоти проявляли антимутагенний ефект щодо мітоміцину С. За умов сумісної дії мутагену та гумінового препарату у концентрації 100 мг/л антимутагенна ефективність останнього становила 61% при 2-годинній преінкубації мутагену та модифікатора та 21% без преінкубації. Проте мікроядерний тест дозволяє виявити лише наявність та ефективність антимутагенної дії без врахування цитогенетичних особливостей, які верифікуються при ана-телофазному чи метафазному аналізі.

Таким чином, встановлено, що лігногумат натрію проявляє антимутагенні властивості в *Allium*-тесті, знижуючи частоту індукованих мітоміцином С аберацій хромосом на 64,51%. При

цьому спостерігається повна елімінація мультиабераційних клітин. Виявлена диференційна активність препарату щодо зниження частоти аберацій хромосом різних типів – найбільш ефективним є зменшення частоти одиночних фрагментів.

Список літератури

- Бузлама А.В. Модулирующее влияние лигногумата на интенсивность процессов перекисного окисления и активность компонентов антиоксидантной защиты организма в экспериментальных условиях // *Фундаментальные исследования*. – 2010. – №9. – С. 36–40. /Buzlama A.V. Moduliruyushcheye vliyaniye lignogumata na intensivnost' protsessov perekisnogo okisleniya i aktivnost komponentov antioksidantnoy zashchity organizma v eksperimentalnykh usloviyakh // *Fundamentalnyye issledovaniya*. – 2010. – №9. – С. 36–40./
- Дворник А.С., Перерва Т.П., Кунах В.А. Антимутагенез як система захисту організму від ушкоджуючих факторів ендогенного та екзогенного походження // *Цитологія і генетика*. – 2004. – Т.38, №5. – С. 62–71. /Dvornik A.S., Pererva T.P., Kunakh V.A. Antimutagenez yak systema zakhystu organizmu vid ushkodzhuyuchykh faktoriv endogennoho ta ekzogennoho pokhodzhennya // *Tsitologiya i genetyka*. – 2004. – Т.38, №5. – С. 62–71./
- Дурнев А.Д. Модификация мутационного процесса в клетках человека // *Вестник РАМН*. – 2001. – №10. – С. 70–76. /Durnev A.D. Modifikatsiya mutatsionnogo protsessa v kletkah cheloveka // *Vestnik RAMN*. – 2001. – №10. – С. 70–76./
- Agar G., Taspinar M.S., Turan M. et al. Protective role of humic acids against dicamba-induced genotoxicity and DNA methylation in *Phaseolus vulgaris* L. // *Acta Agriculturae Scandinavica*. – Section B – Soil & Plant Science. – 2014. – Vol.64, no 2. – P. 141–148.
- Cozzi R., Nicolai M., Petricone P. et al. Desmutagenic activity of natural humic acids: Inhibition of mitomycin C and maleic hydrazide mutagenicity // *Mutat. Res.* – 1993. – Vol.299. – P.37–44.
- Ferguson L.R., De Flora S. Multiple drug resistance, antimutagenesis and anticarcinogenesis // *Mutat. Res.* – 2005. – Vol.591, no 1–2. – P. 24–33.
- Ferrara G., Loffredo E., Senesi N., Marcos R. Humic acids reduce the genotoxicity of mitomycin C in the human lymphoblastoid cell line TK6 // *Mutat. Res.* – 2006. – Vol.603, no 1. – P. 27–32.
- Hseu Y.-Ch., Chen S.-Ch., Chen Y.-L. et al. Humic acid induced genotoxicity in human peripheral blood lymphocytes using comet and sister chromatid exchange assay // *Journal of Hazardous Materials*. – 2008. – Vol.153. – P. 784–791.
- Kubešová J., Turková V., Mikulcová A. et al. Antimutagenic and/or genotoxic effects of processed humic acids as tested upon *S. cerevisiae* D7 // *Environ. Chem. Lett.* – 2011. – Vol.9, iss.2. – P. 229–233.
- Pena-Mendez E.M., Havel J., Patočka J. Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine // *J. Appl. Biomed.* – 2005. – No 3. – P. 13–24.
- Poloskin R.B., Gladkov O.A., Osipova O.A., Yakimenko O.S. Comparable evaluation of biological activity of new liquid and dry modifications of the humic product “Lignohumate” // *Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment* / Eds. J.Xu, Y.He, J.Wu. – Vol.I. – Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. – P. 1095–1110.
- Shkarupa V.M., Klymenko S.V., Talko V.V. Cytogenetic analysis of radioprotective properties of sodium lignogumate after γ -exposure in *Allium-test* // *Problems of Radiation Medicine and Radiobiology*. – 2014. – Vol.19. – P. 490–508.
- Śloczyńska K., Powroźnik B., Pēkala E., Waszkielewicz A.M. Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action // *J. Appl. Genetics*. – 2014. – Vol.55. – P. 273–285.
- Zhou X.P., Zhang Y.Ch., Zhang Sh.W. et al. New progress in medical research of Bio-humic acid // *Applied Mechanics and Materials*. – 2012. – Vol. 138–139. – P. 1228–1233.

Представлено: Р.П.Піскун / Presented by: R.P.Piskun

Рецензент: Н.В.Багацька / Reviewer: N.V.Bagatska

Подано до редакції / Received: 22.09.2016

••• ЗООЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ ••• ZOOLOGY AND ECOLOGY •••

УДК: 574.21: 574.22

Пространственная организация сообщества мезопедобионтов дерново-боровой почвы на арене р. Днепр **А.В.Жуков, О.Н.Кунах, В.А.Новикова**

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара (Днепропетровск, Украина)
zhukov_dnepr@rambler.ru

Исследовано соотношение эдафических факторов и пространственных переменных в структурировании сообщества почвенных мезопедобионтов дерново-боровой почвы на арене р. Днепр в пределах природного заповедника «Днепровско-Орельский». Исследовательский полигон состоит из 7 трансект; каждая трансекта составлена из 15 пробных точек. Расстояние между рядами в полигоне составляет 3 м. В каждой точке были сделаны почвенно-зоологические пробы для количественного учета почвенной мезофауны, описана растительность, измерена твердость, плотность, влажность и температура почвы и установлен её фракционный состав. Установлено, что мезопедобионты песчаной степи на арене р. Днепр находятся в экстремальных условиях, что отражается в низком уровне численности и видового богатства сообщества почвенной мезофауны. Статистически значимыми предикторами структуры сообщества почвенных животных являются шесть главных компонент, из которых одна относится к категории растительных факторов, одна – к категории твердости почвы и пять – к эдафическим факторам. Пространственные PCNM-переменные обладают значительно большей предсказательной способностью для описания структуры сообщества мезопедобионтов, чем эдафические факторы. Значительная компонента варьирования эдафических переменных также является пространственно структурированной. Пространственные PCNM-переменные представляют различные иерархические уровни пространственной организации сообщества мезопедобионтов. Широкомасштабная и в меньшей степени – среднемасштабная компоненты отражают варьирование пространственно структурированных факторов среды. Детальномасштабная компонента отражает нейтральный аспект структурирования сообщества.

Ключевые слова: почвенная мезофауна, эдафические факторы, пространственные переменные, теория ниши, теория нейтрального разнообразия.

Просторова організація угруповання мезопедобіонтів дерново-борового ґрунту на арені р. Дніпро **О.В.Жуков, О.М.Кунах, В.О.Новікова**

Досліджено співвідношення едафічних факторів і просторових змінних у структуруванні угруповання ґрунтових мезопедобіонтів дерново-борового ґрунту на арені р. Дніпро в межах природного заповіднику «Дніпровсько-Орільський». Дослідницький полігон складається з 7 трансект; кожна трансекта складена з 15 пробних точок. Відстань між рядами в полігоні становить 3 м. У кожній точці були зроблені ґрунтово-зоологічні проби для кількісного обліку ґрунтової мезофауни, описана рослинність, виміряна твердість, щільність, вологість і температура ґрунту та визначено його фракційний склад. Установлено, що мезопедобіонти піщаного степу на арені р. Дніпро перебувають в екстремальних умовах, що відбивається у низькому рівні чисельності та видового багатства угруповання ґрунтової мезофауни. Статистично значущими предикторами структури угруповання ґрунтових тварин є шість головних компонент, з яких одна належить до категорії рослинних факторів, одна – до категорії твердості ґрунту та п'ять – до едафічних факторів. Просторові PCNM-змінні демонструють значно більшу прогностичну цінність для описання структури угруповання мезопедобіонтів, ніж едафічні фактори. Значна компонента варіювання едафічних змінних також є просторово структурованою. Просторові PCNM-змінні представляють різні ієрархічні рівні просторової організації угруповання мезопедобіонтів. Широкомасштабна та у меншому ступені – середньомасштабна компоненти відбивають варіювання просторово структурованих факторів середовища. Детальномасштабна компонента відбиває нейтральний аспект структуривання угруповання.

Ключові слова: ґрунтова мезофауна, едафічні фактори, просторові змінні, теорія ніші, теорія нейтрального різноманіття.

The spatial organization of mesopedobionts community of sod pinewood soils on the arena of the river Dnepr

A.V.Zhukov, O.N.Kunah, V.A.Novikova

The role of the edaphic factors and spatial variables in structuration of mesopedobionts community of sod pinewood soils on the arena of the river Dnepr within natural reserve "Dneprovsko-Orelsky" has been investigated. The research range consists of 7 transects, and each is made of 15 sample points. The distance between numbers in range makes 3 m. In each point soil-zoological tests for the quantitative account of soil mesofauna have been made, the vegetation has been described, penetration resistance, density, humidity and temperature of soil have been measured and its fractional structure has been established. Mesopedobionts of sandy steppe on the arena of the river Dnepr have been established to be in extreme conditions that is reflected by low level of abundance and species richness of the community of soil mesofauna. Six principal components have been found to be significant predictors of the mesopedobionts community structure from which one concerns a category of vegetative factors, one – to a category of soil penetration resistance and five – edaphic factors. Spatial PCNM-variables have been revealed as being much more predictive for the description of mesopedobionts community structure than edaphic factors. Considerable component of edaphic variables variation also is spatially structured. Spatial PCNM-variables represent various hierarchical levels of the spatial organization of mesopedobionts community. Broad-scale and to a lesser degree – medium-scale components reflect a variation of spatially structured factors of environment. Fine-scale component reflects neutral aspect of community structuration.

Key words: soil mesofauna, edaphic factors, spatial variables, niche theory, neutral diversity theory.

Введение

Пространственные и экологические градиенты оказывают влияние на пространственную вариацию видового богатства и структуры сообщества (Hubbell, 2001; Lawton, 1999). Оценка роли каждого из этих факторов находит свое выражение в дебатах между сторонниками теории экологической ниши и теории нейтрального разнообразия (Adler et al., 2007; Clark, 2012; Hubbell, 2001). Разделение переменных среды и пространственных дескрипторов, полученных на основании географических координат, на индивидуальные и комбинированные компоненты, а затем выяснение, как эти данные коррелируют с изменчивостью состава сообщества или его разнообразием (так называемое фракционирование вариации, Borcard et al., 1992; Legendre et al., 2009), позволяет выявить роль нейтральных и ниша-зависимых механизмов (Murphy et al., 2015). Пространственная автокорреляция не может быть объяснена факторами среды и рассматривается как результат действия нейтральных механизмов, таких как специфичное ограничение дисперсии (Hu et al., 2013; Legendre et al., 2009; Siefert et al., 2013). Следует отметить, что полное отнесение вариации, объясненной с помощью пространственных дескрипторов, к нейтральным механизмам не является оправданным, так как эта компонента не может быть отделена от не измеренных пространственно структурированных переменных. Также вариация, которая полностью отнесена только лишь к переменным среды, может случайно отражать паттерны, действительно возникающие вследствие нейтральных процессов (Anderson, 2011; Murphy et al., 2015).

Экологические процессы определяются воздействиями на различных масштабных уровнях, которые находятся в диапазоне от локального до глобального (Жуков и др., 2013а; Legendre, 1993). В естественных сообществах наблюдаемые пространственные паттерны являются результатом действия факторов окружающей среды, определяются биологическими и/или историческими причинами (Жуков и др., 2013б; Dray et al., 2006). Действие этих причин не является взаимоисключающим, а скорее является комплементарным (Jiménez et al., 2014). Существование пространственных структур сообществ видов предполагает действие, по меньшей мере, одного из структурирующих факторов. К числу таких факторов можно отнести пространственно распределенные факторы среды, которые приводят к структурированию сообщества в соответствии с теорией экологической ниши (Hutchinson, 1957, 1965). Также важно отметить, что виды группируются на некоторых пространственных уровнях в результате межвидовых взаимодействий (Жуков, Губанова, 2015; Belyea, Lancaster, 1999; Schoener, 1974; Wilson, Habiba, 1995). Межвидовые взаимодействия могут привести к двум противоположным типам динамики. Сильные взаимодействия могут сделать сообщество либо детерминистским, либо исторически обусловленным (Chase, 2003). Исторические обстоятельства в соответствии с

теорией нейтральности (Ellwood et al., 2009) или стохастические вариации в истории появления видов в сообществе (Drake, 1990, Weslien et al., 2011) могут оказать существенное влияние на сообщество. Однако идиосинкратичность исторических эффектов представляет значительное препятствие для предсказания динамики экосистемных функций (Fukami et al., 2010). Очень важно оценить, вклад какого из процессов является наибольшим, особенно с учетом того, что исторические процессы и история перемещения видов в данный момент времени не наблюдаемы (Fukami, 2010; Jiménez et al., 2014). Решение этой проблемы может находиться в исследовании пространственных масштабов, в пределах которых имеет значение история формирования комплексов живых организмов. В соответствии с детерминистской точкой зрения, условия окружающей среды определяют то, какой из видов регионального пула останется в сообществе в результате видовых взаимодействий. В этом случае история иммиграции не влияет на финальную композицию видов. Если же сообщество является исторически обусловленным, то условия среды не определяют единственное климаксовое сообщество (Fukami, 2010). Роль для сообщества таких пространственных характеристик, как размер пятен, где сообщество представлено, уровень их изоляции и пространственная гетерогенность, зависит от пространственного масштаба способности видов к перемещению (Cadotte, Fukami, 2005).

Геостатистика дает возможность оценить пространственное варьирование свойств среды и почвенных организмов (Rossi, 2003; Rossi et al., 1996). Однако для моделирования пространственных структур на различных масштабных уровнях необходимы другие статистические инструменты, к числу которых относится анализ главных координат матрицы соседства (principal coordinates of neighbor matrices – PCNM) (Borcard, Legendre, 1994; Borcard et al., 2004; Dray et al., 2006). Этот подход позволяет связать варьирование свойств среды со структурой сообщества на различных пространственных уровнях (Borcard, Legendre, 1994; Rossi et al., 1996).

Сообщества почвенных организмов структурированы в силу их ответа на пространственную изменчивость почвенных ресурсов (Blanchet et al., 2013; Decaëns et al., 2009; Drake, 1990; Jiménez et al., 2012), что позволяет сосуществовать конкурирующим видам в пределах некоторого участка пространственно гетерогенной среды (Amarasekare, 2003; Jiménez et al., 2012). Показано, что почвенные беспозвоночные формируют пространственные паттерны, которые изменяются в диапазоне от размеров отдельных агрегатов (Ettema, Yeates, 2003) до размеров отдельных растений (Rossi et al., 1996), сельскохозяйственных полей и естественных экосистем (Decaëns, Rossi, 2001; Rossi, 2003; Whalen, 2004). Отдельные виды различаются по степени агрегации (McArdle et al., 2004), поэтому нейтральные процессы могут наблюдаться на различных масштабных уровнях для различных видов (Anderson, 2011).

Была оценена взаимосвязь свойств среды и сообществ дождевых червей с учетом многомасштабного взаимодействия (Jiménez et al., 2014). Показано, что отношения между пространственной организацией сообщества дождевых червей и почвенных свойств демонстрируют многоуровневый характер. Среди почвенных свойств, которые описывают вложенную структуру популяций в пределах многоуровневого градиента, можно выделить детальномасштабную (<10 м) и среднемасштабную (10–20 м) компоненты. Почвенные свойства описывают 1–48 % изменчивости пространственной вариации сообществ дождевых червей (Jiménez et al., 2014).

Изучение функциональной структуры сообщества мезопедобионтов дерново-боровой почвы арены р. Днепр позволило установить, что этот экотоп представляет собой экстремальное местообитание для почвенных животных в сравнении с другими почвами арены (Жуков и др., 2016). Преобладающий экологический облик сообщества охарактеризован как степной, ксерофильный, олиготрофоценоморфический. В топоморфической структуре отсутствуют норники, а в трофоморфической – сапрофаги. Ключевым аспектом структурирования сообщества почвенной мезофауны является дифференцирование по трофическому признаку.

Целью настоящего исследования является установить соотношение эдафических факторов и пространственных переменных в структурировании сообщества почвенных мезопедобионтов дерново-боровой почвы на арене р. Днепр в пределах природного заповедника «Днепро-Орельский».

Матеріал і методи

Исследования проведены в апреле-мае 2014 г. в природном заповеднике «Днепровско-Орельский». Исследуемый полигон заложен на участке, который находится на арене р. Днепр (48°30'47.26"С, 34°49'36.49"В). Полигон состоит из 7 трансект. Каждая трансекта составлена из 15 пробных точек. Расстояние между рядами в полигоне составляет 3 м. Полигон расположен в направлении с юга на север. Начальные пробные точки полигона находятся у основания дюнного всхолмления. Полигон своей правой частью заходит на дюну, а его левая часть эту дюну огибаёт. На вершине дюны находится чернокленовый кустарник. У основания дюны расположены несколько отдельно стоящих сосен. Преобладающий тип растительности – песчаная степь.

В каждой точке были сделаны почвенно-зоологические пробы размером 0,25×0,25 м для количественного учета почвенной мезофауны. Для уточнения видового списка сообщества проведены сборы животных альтернативными способами. В центральной части полигона были размещены ловушки Барбера (три стеклянных банки 0,5 л были расставлены на вершинах равностороннего треугольника с величиной стороны 3 м, фиксатор – концентрированный раствор соли и этиленгликоль). Также проведено обследование скоплений подстилки и других растительных остатков.

В пределах каждого квадрата размером 3×3 м было проведено описание растительности. Измерение твердости почв производилось в полевых условиях с помощью ручного пенетрометра Eijkelkamp на глубину до 50 см с интервалом 5 см. Средняя погрешность результатов измерений прибора составляет ±8 %. Измерения производились конусом с размером поперечного сечения 2 см². В пределах каждой точки измерения твердости почвы производились в однократной повторности. Почвенную температуру измеряли в период с 13 до 14 часов цифровыми термометрами WT-1 (ПАО «Стеклоприбор», <http://bit.steklopribor.com>, точность – 0,1°C) на глубине 5–7 см. Измерения температуры сделаны в трехкратной повторности в каждой пробной точке. Фракционную структуру оценили методом сухого просеивания по Савинову, плотность почвы – по Качинскому, влажность почвы – весовым методом (Вадюнина, Корчагина, 1986).

Прямой выбор переменных среды или пространственных переменных выполнен с помощью функции `forward.sel` в пакете `Packfor` (доступен по адресу <http://www.bio.umontreal.ca/legendre/>). Процедура прямого выбора позволяет отобрать переменные со значимым ($p < 0,05$ после 999 пермутаций) вкладом в объясненную вариацию сообщества почвенных животных (Blanchet et al., 2008). Только отобранные переменные использовались для дальнейшего анализа.

Фракционирование вариации (Borcard et al., 1992) выполнено для количественной оценки пропорций вариации композиции сообщества, которые объясняются совокупностью переменных среды или пространственных переменных. Откорректированные значения R^2 позволили вычислить чистую компоненту окружающей среды, чистую пространственную компоненту и смешанную пространственную и средовую компоненты варьирования сообщества.

Статистические расчеты проведены с помощью программы Statistica 7.0 и программной оболочки Project R "R: A Language and Environment for Statistical Computing" (<http://www.R-project.org/>). Оценивание доверительных интервалов и стандартного отклонения численности почвенных животных было произведено с помощью бутстреп-подхода и выполнено средствами пакета `bootES` (Kirby, Gerlanc, 2013). Процедура анализа избыточности, PCNM-анализа и процедура прямого выбора (функция `forward.sel`) выполнены с помощью пакета `vegan` (Oksanen et al., 2011).

Фитоиндикационные шкалы приведены по Я.П.Дидуку (Didukh, 2011). К эдафическим фитоиндикационным шкалам относятся показатели гидроморф (Hd), переменности увлажнения (fH), аэрации (Ae), режима кислотности (Rc), солевого режима (Sl), содержания карбонатных солей (Ca), содержания усвояемых форм азота (Nt). К климатическим шкалам относят показатели терморезима (Tm), омброрезима (Om), криорезима (Cr) и континентальности климата (Kn). Помимо указанных, выделяется ещё шкала освещения (Lc), которую характеризуют как микроклиматическую шкалу. Экоморфы растений приведены по А.Л.Бельгарду (1950) и В.В.Тарасову (2012). Ценоморфы представлены степантами, пратантами, псаммофитами, сальвантами и рудерантами. Степанты и сальванты составляют основную часть растительного покрова (76,51 и 16,39% соответственно), поэтому именно эти экоморфы использованы как предикторы твердости почвы (переменные St и Pr – проективное покрытие соответствующих экоморф в %). Гигроморфы представлены ксерофитами (уровень влажности 1), мезоксерофитами

(уровень влажности 2), ксеромезофитами (уровень влажности 3), мезофитами (уровень влажности 4), гигромезофитами (уровень влажности 5). Уровень влажности по гигроморфической структуре (*Hygr*) оценен как:

$$Troph_B = \frac{\sum_{j=1}^{j=N} (j \times P_j)}{100},$$

где *i* – уровень влажности; *P_i* – проективное покрытие растений соответствующей гигроморфы.

Трофоморфы представлены олиготрофами (уровень трофности 1), мезотрофами (уровень трофности 2) и мегатрофами (уровень трофности 3). Уровень трофности по трофоморфической структуре (*Troph_B*) оценен как:

$$Troph_B = \frac{\sum_{j=1}^{j=N} (j \times P_j)}{100},$$

где *j* – уровень трофности; *P_j* – проективное покрытие растений соответствующей трофоморфы.

Гелиоморфы представлены гелиосциофитами (уровень освещения 2), сциогелиофитами (уровень освещения 3), гелиофитами (уровень освещения 4). Уровень освещения по гелиоморфической структуре (*Hel*) оценен как:

$$Hel = \frac{\sum_{z=1}^{z=N} (z \times P_z)}{100},$$

где *z* – уровень освещения; *P_z* – проективное покрытие растений соответствующей гелиоморфы.

Результаты и обсуждение

Характеристика таксономического разнообразия сообщества мезопедобионтов изучаемого полигона представлена в табл. 1.

В почве исследуемого полигона при ручной разборке проб было обнаружено 29 видов почвенных животных. Дополнительные способы отлова (ловушки Барбера, осмотр разлагающихся остатков деревьев, коры, подстилки) позволили установить список животных из 40 видов. Плотность почвенной мезофауны изученного полигона составляет $68,86 \pm 14,62$ экз./м².

Доминирующей группой по численности и самой разнообразной являются насекомые – личинки и имаго, которые в среднем составили 79,01% от суммарной численности сообщества. Следующей по значимости в сообществе группой являются пауки, которые составляют 17,92% от суммарной численности сообщества. Значительно реже встречаются губоногие многоножки, представленные собственно почвенным видом *Pachymerium ferrugineum* (составляют 2,21% от численности сообщества) и подстилочным видом *Lithobius forficatus*, который был обнаружен с помощью ловушек Барбера. Моллюски, которые представлены *Cochlicopa lubrica* и *Succinella oblonga*, составляют 0,87% от численности сообщества.

Среди всего сообщества почвенных животных личиночные стадии составляют 40,06%. Личинки (ювенильные формы) были установлены только для насекомых, среди которых эта возрастная стадия составляет 73,64%.

Наиболее разнообразной и обильной группой насекомых являются чернотелки. Они представлены 9 видами, среди которых наиболее многочисленными являются имаго *Tentyria nomas* и личинки *Podonta daghestanica*. Суммарная численность Tenebrionidae составляет $12,04 \pm 3,07$ экз./м². Среди чернотелок личинки составляют 40,45% по численности.

Семейству Tenebrionidae в сообществе немного уступает семейство Melolonthidae, которое представлено только личиночной фазой *Anoxia pilosa* с численностью $8,53 \pm 1,41$ экз./м².

Важным компонентом сообщества мезопедобионтов являются жуужелицы, которые представлены 7 видами. В сборах установлены личиночные и имагинальные стадии *Calathus ambiguus*. Численность жуужелиц составляет $7,02 \pm 1,34$ экз./м², среди которых 2,14% составляют личинки. Дополнительными способами лова установлены *Calosoma inquisitor* и вид, который включен в Красную книгу Украины, – *Carabus hungaricus*.

Семейство Elateridae представлено двома видами на личиночній фазі – *Selatosomus aeneus* и *Cardiophorus cinereus*. Численність проволочників становить $5,94 \pm 1,39$ экз./м². С допомогою ловушек Барбера установлен имаго *Prosternon tessellatum*. Також с допомогою ловушек Барбера установлены два представителя семейства Dermestidae – *Dermestes lanarius* и *D. undulates* и два представителя семейства Silphidae – *Nicrophorus investigator* и *N. vespillo*.

Одним видом представлены семейства Byrrhidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Staphylinidae, Lucanidae, Scarabaeidae, Asilidae, Tabanidae. До уровня семейства определены личинки семейства Noctuidae.

Также следует отметить наличие в сообществе представителя позвоночных, который по формальным признакам может быть отнесен к мезопедобионтам – чесночницу обыкновенную (*Pelobates fuscus*).

Таблица 1.

Видовой состав и обилие почвенной мезофауны

Таксоны	Численность		
	Среднее \pm ст. ошибка	Доверительный интервал	
		-95%	+ 95%
Тип Arthropoda			
Класс Arachnida			
Отряд Araneae			
Семейство Lycosidae			
Lycosidae spp.	12,34 \pm 1,21	10,21	14,93
Класс Chilopoda			
Отряд Geophilomorpha			
Семейство Geophilidae			
<i>Pachymerium ferrugineum</i> (C.L.Koch 1835)	1,52 \pm 0,55	0,61	2,74
<i>Lithobius (Lithobius) forficatus</i> (Linnaeus 1758)	+		
Класс Insecta			
Отряд Coleoptera			
Семейство Byrrhidae			
<i>Byrrhus (Byrrhus) pilula</i> (Linnaeus 1758) (larv.)	1,83 \pm 0,56	0,91	3,05
Семейство Carabidae			
<i>Amara</i> sp.	0,39 \pm 0,07	0,27	0,55
<i>Calathus (Calathus) ambiguus</i> (Paykull, 1790)	2,59 \pm 0,45	1,78	3,68
<i>Calathus (Neocalathus) melanocephalus</i> (Linnaeus, 1758)	0,13 \pm 0,02	0,09	0,18
<i>Calosoma (Calosoma) inquisitor</i> (Linne 1758)	3,11 \pm 0,54	2,14	4,42
<i>Carabus (Pachystus) hungaricus scythus</i> Motschulsky, 1847	0,65 \pm 0,11	0,45	0,92
<i>Calathus (Calathus) ambiguus</i> (Paykull, 1790) (larv.)	0,15 \pm 0,15	0,00	0,46
<i>Calosoma (Calosoma) inquisitor</i> (Linne 1758)	+		
Семейство Chrysomelidae			
Chrysomelidae spp. (larv.)	3,20 \pm 0,91	1,68	5,18
Семейство Curculionidae			
Otiorrhynchus sp. (larv.)	4,11 \pm 0,81	2,44	5,79
Семейство Dermestidae			
<i>Dermestes (Dermestinus) lanarius</i> Illiger 1801	+		
<i>Dermestes (Dermestinus) undulatus</i> Brahm, 1790	+		
Семейство Elateridae			
<i>Selatosomus (Selatosomus) aeneus</i> (Linnaeus 1758) (larv.)	1,22 \pm 0,41	0,46	1,98
<i>Cardiophorus (Dicronychus) cinereus</i> (Herbst, 1784)(larv.)	4,72 \pm 0,98	3,05	6,86
<i>Prosternon tessellatum</i> (Linnaeus 1758)	+		

Семейство Lucanidae			
<i>Dorcus parallelipedus</i> (Linnaeus, 1758) (im.)	+		
Семейство Staphylinidae			
Staphylinidae spp. (im.)	0,30±0,21	0,00	0,76
Семейство Tenebrionidae			
<i>Podonta daghestanica</i> Reitter 1885 (larv.)	3,35±0,86	1,83	5,18
<i>Anatolica eremita</i> (Steven, 1829) (im.)	1,83±0,49	0,91	2,90
<i>Anatolica eremita</i> (Steven, 1829) (larv.)	0,54±0,27	0,15	1,10
<i>Crypticus quisquilius</i> (Linnaeus 1761) (larv.)	1,22±0,42	0,46	1,98
<i>Blaps halophila</i> Fischer, 1822	0,06±0,01	0,04	0,08
<i>Pimelia subglobosa</i> (Pallas 1781)	0,30±0,06	0,19	0,42
<i>Platyscelis polita</i> (Sturm 1807)	0,41±0,08	0,26	0,59
<i>Prosodes obtusa</i> (Fabricius 1798)	0,36±0,07	0,22	0,51
<i>Tentyria nomas</i> (Pallas 1781)	3,97±0,81	2,49	5,67
Семейство Melolonthidae			
<i>Anoxia pilosa</i> (Fabricius 1792) (larv.)	8,53±1,41	6,10	11,58
Семейство Scarabaeidae			
<i>Onthophagus (Palaeonthophagus) ovatus</i> (Linnaeus, 1767)	+		
Семейство Silphidae			
<i>Nicrophorus investigator</i> (Zetterstedt, 1824)	+		
<i>Nicrophorus vespillo</i> (Linnaeus 1758)	+		
Отряд Diptera			
Семейство Therevidae			
<i>Thereva</i> sp. (larv.)	1,07±0,37	0,30	1,68
Семейство Asilidae			
<i>Cyrtopogon lateralis</i> (Fallen 1814) (larv.)	1,22±0,52	0,30	2,44
Семейство Tabanidae			
<i>Tabanus</i> sp. (larv.)	2,74±0,75	1,52	4,55
Отряд Lepidoptera			
Семейство Noctuidae			
<i>Agrotis</i> sp. (larv.)	6,40±1,00	4,57	8,53
Тип Mollusca			
Класс Gastropoda			
Отряд Pulmonata			
Семейство Cochlicopidae			
<i>Cochlicopa lubrica</i> (O.F. Muller 1774)	0,30±0,22	0,00	0,76
Семейство Succineidae			
<i>Succinella oblonga</i> (Draparnaud 1801)	0,30±0,30	0,00	0,91
Тип Chordata			
Класс Amphibia			
Отряд Anura			
Семейство Pelobatidae			
<i>Pelobates fuscus</i> (Laurenti 1768)	+		

Примечание: + – альтернативный способ лова.

Параметры среды обитания почвенных животных представлены 54 переменными: 35 эдафических показателей и 19 показателей растительного покрова. Большое число переменных и их взаимная корреляция делает обоснованным проведение анализа главных компонент как процедуры снижения размерности признакового пространства. Следует отметить, что полученные новые переменные являются ортогональными, т.е. статистически независимыми (табл. 2).

В результаті аналізу виділено 13 головних компонент, власні числа яких перевищують 1. Головні компоненти були віднесені до однієї з трьох категорій: твердість ґрунту (Imp), едафічні фактори (Ed) і рослинні фактори (Ph). Рішення про віднесення головної компоненти до тієї чи іншої категорії приймалося на основі відносного переобладання первинних ознак при визначенні головної компоненти. Для цього розраховувалися частки статистично значимих ознак в межах груп первинних ознак, тобто твердість ґрунту, едафічні ознаки і рослинні ознаки. Слід зазначити, що віднесення головної компоненти до тієї чи іншої категорії має умовний характер, так як практично завжди поряд з переобладаючим значенням однієї групи первинних показників при визначенні головної компоненти також важливу роль грають ознаки з інших груп. До категорії твердості ґрунту віднесені головні компоненти 1, 5 і 13. До категорії едафічних факторів віднесені головні компоненти 2, 4, 5, 7, 8 і 12. До категорії рослинних факторів віднесені головні компоненти 3, 9, 10 і 11.

Аналіз надлишковості свідчить про те, що фактори середовища, представлені за допомогою головних компонент, описують 14,2% варіабельності спільноти. Процедура прямого вибору дозволила встановити, що статистично значиме вплив на структуру спільноти здійснюють головні компоненти 1, 2, 3, 7, 8 і 12. Ці головні компоненти описують 12,3% варіабельності спільноти ($F=2,33$, $p=0,001$). Фактори середовища були розділені на дві групи. Група ґрунтових факторів об'єднує головні компоненти 1, 2, 7, 8 і 12, а властивості рослинного покриву представлені тільки головною компонентою 3. Група ґрунтових факторів описує 10,0% варіації спільноти ($F=3,32$, $p=0,001$). Унікальний внесок головних компонентів у варіацію спільноти змінюється від 0,72 до 5,36% (табл. 2). Порядок головних компонентів відображає їх відносний внесок у варіювання ознакового простору показників середовища. Отримані результати свідчать про те, що внесок головних компонентів у варіювання спільноти ґрунтових тварин відрізняється від рівня варіювання самої головної компоненти. Ця особливість відображає чутливість спільноти мезопедобіонтів до дії головних компонентів, оцінена як відношення унікального внеску головної компоненти у варіювання спільноти до описуваної компоненти дисперсії ознакового простору. За цим показником спільнота мезопедобіонтів найбільш чутлива до головної компоненти 12 (чутливість 0,70), а найменш – до головної компоненти 1 (чутливість 0,04).

Таблиця 2.

Аналіз головних компонент показників середовища (представлені статистично значимі коефіцієнти кореляції, $p<0,05$)

Показатель	Головні компоненти												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Твердість (в МПа) на глибині</i>													
0–5 см	0,39	–	–	–	–	0,38	0,36	–	0,37	–	0,28	–	–
5–10 см	0,60	–	–	–	–	0,43	0,24	–	–	–	–	–	0,22
10–15 см	0,58	–	–	–	–	0,49	–	–	–	–	–	–	0,29
15–20 см	0,71	–	–	–	–	0,40	–	–	–	–	–	–	–
20–25 см	0,79	–	–	–	0,22	0,31	–	–	–	–	–	–	–
25–30 см	0,85	–	–	–	0,22	0,21	–	–	–	–	–	–	–
30–35 см	0,89	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35–40 см	0,92	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,21
40–45 см	0,88	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,20
45–50 см	0,88	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
50–55 см	0,83	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
55–60 см	0,88	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

60–65 см	0,86	– 0,28	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
65–70 см	0,81	– 0,39	–	–	–	– 0,19	–	–	–	–	–	–	–
70–75 см	0,79	– 0,40	–	–	–	– 0,27	–	–	–	–	–	–	–
75–80 см	0,83	– 0,39	–	–	–	– 0,26	–	–	–	–	–	–	–
80–85 см	0,77	– 0,21	–	0,30	– 0,22	– 0,34	–	–	–	–	–	–	–
85–90 см	0,80	– 0,41	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
90–95 см	0,76	– 0,22	–	0,31	–	– 0,33	–	–	–	–	–	–	0,23
95–100 см	0,87	–	–	0,23	–	– 0,23	–	–	–	–	–	–	–
Доля	1,00	0,60	0,15	0,15	0,15	0,60	0,10	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,25
<i>Эдафические характеристики</i>													
Temp 1	0,54	0,66	0,24	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Temp 2	0,51	0,60	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Temp 3	0,54	0,59	0,32	–	–	–	–	–	–	–	–	0,31	–
St_Temp	0,37	0,33	0,31	–	–	–	–	–	0,24	–	–	0,51	–
Moisture	– 0,36	– 0,76	–	–	–	–	–	– 0,20	–	–	–	–	–
Density	0,28	0,68	–	– 0,23	–	–	–	–	–	–	–	– 0,21	–
Фракции, >7 мм	–	– 0,30	– 0,37	– 0,39	– 0,40	–	– 0,36	– 0,22	–	–	–	–	–
5–7 мм	–	– 0,29	– 0,35	– 0,44	– 0,55	–	– 0,35	–	–	– 0,20	–	–	–
3,25–5 мм	–	– 0,24	–	– 0,42	– 0,58	–	–	– 0,20	–	–	–	–	–
2–3,25 мм	–	– 0,24	–	– 0,37	– 0,36	–	–	– 0,50	–	–	– 0,23	–	– 0,22
1–2 мм	–	–	–	– 0,58	– 0,38	–	– 0,26	–	–	– 0,29	– 0,27	–	– 0,20
0,5–1 мм	–	– 0,25	–	–	– 0,21	–	– 0,36	– 0,20	–	–	–	– 0,47	–
0,25–1 мм	0,39	0,48	0,24	0,23	–	–	–	– 0,20	–	– 0,27	– 0,26	– 0,22	–
< 0,25 мм	– 0,21	–	–	– 0,65	–	–	– 0,44	– 0,25	– 0,22	–	–	–	– 0,24
Корни, %	– 0,21	– 0,39	– 0,41	–	– 0,53	– 0,25	–	–	–	–	–	–	–
Доля	0,60	0,87	0,47	0,53	0,47	0,07	0,33	0,47	0,13	0,20	0,20	0,33	0,20
<i>Характеристики растительности</i>													
Hd	– 0,30	– 0,35	– 0,41	–	– 0,29	– 0,28	– 0,31	–	– 0,23	–	–	–	–
ffl	–	– 0,30	– 0,48	–	–	– 0,20	– 0,40	– 0,22	–	–	–	–	–
Rc	– 0,39	– 0,53	–	–	– 0,28	–	–	– 0,38	–	–	–	–	–
Sl	–	–	– 0,33	– 0,38	– 0,38	– 0,23	– 0,47	–	–	–	– 0,31	–	–
Ca	– 0,28	–	–	– 0,20	– 0,30	– 0,19	–	–	– 0,55	– 0,26	–	–	– 0,25
Nt	–	– 0,42	– 0,48	–	– 0,21	–	– 0,37	–	– 0,20	– 0,22	–	–	–
Ae	–	– 0,59	– 0,26	–	–	–	–	– 0,35	–	– 0,32	– 0,20	–	– 0,23

Tm	–	–	–	0,38	–	–	–	–	–	0,44	0,31	0,50	–	–
Om	0,25	–	0,63	–	–	0,26	0,24	–	–	0,26	–	–	–	–
Kn	0,20	0,49	–	–	–	–	–	–	–	0,22	–	–	0,41	–
Cr	–	–	–	–	0,33	–	0,49	0,32	–	–	–	–	0,21	–
Lc	–	–	0,52	–	–	–	–	–	–	–	0,43	–	–	0,22
Troph_B	–	–	0,64	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Hygr_B	–	–	0,62	–	–	–	–	0,34	–	–	–	–	–	–
Hel_B	–	0,46	–	0,44	–	0,31	–	–	0,42	–	–	–	–	–
Pr	–	–	–	–	–	–	–	0,61	–	–	–	–	–	–
Ps	0,42	0,73	–	–	–	0,25	–	–	–	0,26	–	–	–	–
Sil	–	–	–	0,22	–	0,31	–	–	–	–	–	–	–	–
St	–	0,37	–	–	0,21	–	–	–	–	0,40	–	0,30	–	–
Доля	0,47	0,68	0,63	0,47	0,42	0,42	0,32	0,37	0,32	0,42	0,21	0,16	0,16	0,16
Категорія	Imp	Ed	Ph	Ed	Ed	Imp	Ed	Ed	Ph	Ph	Ph	Ed	Imp	Imp
% дисперсії	27,7 4	13,1 6	7,25	5,56	4,95	4,19	3,64	3,39	2,73	2,53	2,34	2,25	2,19	2,19
% C	1,12	5,36	2,07	–	–	–	0,72	0,85	–	–	–	–	1,58	–
S	0,04	0,41	0,29	–	–	–	0,20	0,25	–	–	–	–	0,70	–

Условные обозначения. Доля – отношение числа статистически значимых коэффициентов к общему числу по главной компоненте; Temp1 – температура слоя почвы 5–7 см, °C, 2/07/14 в 9 ч 15 мин; Temp2 – 8/07/14 в 9 ч 45 мин; Temp 3 – 8/07/14 в 11 ч 15 мин; St_Temp – стандартное отклонение температуры; Moisture – влажность почвы, %; Density – плотность почв, г/см³; % C – уникальный вклад в вариацию сообщества; S – чувствительность сообщества (C/дисперсию компоненты).

Растительная компонента описывает 2,1% вариации сообщества ($F=3,20$, $p=0,003$). Чувствительность сообщества к растительному покрову составляет 0,29, что соответствует уровню чувствительности к главным компонентам 7 и 8 (чувствительность 0,20 и 0,25 соответственно).

Выделено 55 пространственных переменных PCNM, которые описывают 33,1% вариабельности сообщества. Процедура прямого выбора позволила выделить 22 переменные, которые описывают 31,5% вариабельности сообщества ($F=3,17$, $p=0,001$).

Фракционирование вариации сообщества мезопедобіонтів з урахуванням комбінації параметрів середовища та просторових змінних представлено на рис. 1.

Почвенные факторы среды после выделения условного эффекта растительных факторов и пространственных переменных описывают 2,22% вариабельности сообщества ($F=1,47$, $p=0,039$). Если рассматривать ситуацию с учетом влияния пространственных и почвенных переменных, то растительные факторы не определяют варьирование сообщества мезопедобіонтів ($F=0,81$, $p=0,59$). Влияние растительности обусловлено её взаимодействием с пространственными факторами, которое описывает 2,22% вариации сообщества. Пространственные переменные описывают 21,16% варьирования сообщества. Взаимодействие пространственных переменных и почвенных факторов описывает 8,01% изменчивости сообщества.

Пространственное и совместное средовое и пространственное влияние было разделено на три компоненты: детальномасштабную (PCNM-переменные 34, 38, 39, 41, 42, 54), среднemasштабную (PCNM-переменные 12, 13, 15, 17, 20, 22, 23, 27, 28, 29) и широкомасштабную

(PCNM-переменные 2, 5, 6, 8, 9). Детальномасштабная компонента характеризуется длиной волны 6,36–8,67 м, среднемасштабная – 12,00–15,60 м, широкомасштабная – 15,6–44,55 м.

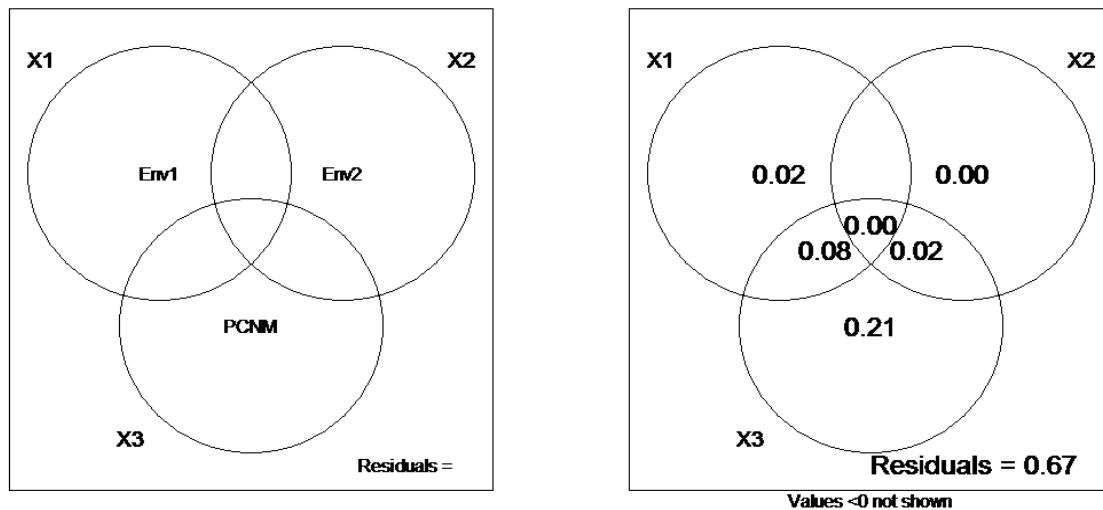


Рис. 1. Фракционирование вариации сообщества мезопедобионтов

Условные обозначения: слева – схема размещения факторов вариации, справа – оценки объясненной вариации; Env1 – почвенные факторы среды (главные компоненты 1, 2, 3, 7, 8 и 12); Env2 – растительная компонента (главная компонента 3).

Пространственное варьирование канонических осей, которые получены в результате анализа избыточности для различных по масштабности пространственных компонент варьирования сообщества почвенных животных, представлено на рис. 2.

Маркерами осей являются 15 видов почвенных беспозвоночных (табл. 3).

Таблица 3.

Виды с наибольшими показателями канонических осей по модулю*

Знак	Широкомасштабная компонента			Среднемасштабная компонента			Детальномасштабная компонента		
	RDA1	RDA2	RDA3	RDA1	RDA2	RDA3	RDA1	RDA2	RDA3
+	Lycosidae sp.	Otiorrhynchus sp.	Lycosidae sp.	Cardiophorus equiseti	Tenebrioninae	Lycosidae sp.	Lycosidae sp.	Carabidae_im	Otiorrhynchus sp.
+	Tabanus sp.	Carabidae_im	Agrotis sp.	Tenebrioninae	Lycosidae sp.	Anatolica angustata	Agrotis sp.	Tenebrioninae	Thereva sp.
+	Podonta daghestanica	Anoxia pilosa	Tenebrioninae	Podonta daghestanica	Carabidae_im	Podonta daghestanica	Carabidae_im	Chrysomelidae sp.	Anoxia pilosa
-	Tenebrioninae	Cardiophorus equiseti	Cyrtopogon lateralis	Selatossomus aenus	Otiorrhynchus sp.	Thereva sp.	Anatolica angustata	Anoxia pilosa	Agrotis sp.
-	Anoxia pilosa	Podonta daghestanica	Pachymerium ferrugineum	Anoxia pilosa	Chrysomelidae sp.	Selatossomus aenus	Anoxia pilosa	Tabanus sp.	Tenebrioninae
-	Agrotis sp.	Agrotis sp.	Carabidae_im	Agrotis sp.	Podonta daghestanica	Cardiophorus equiseti	Tenebrioninae	Agrotis sp.	Cyrtopogon lateralis

Примечание: * – представлены три вида с наибольшим (+) и три вида с наименьшим (-) значением.

Широкомасштабна компонента просторової змінливості спільноти описує 13,0% варіації, середньомасштабна компонента – 7,3%, детальномасштабна – 5,5%.

Серед них 2 види маркують 7 осей (*Agrotis* sp. і личинки Tenebrionidae), 1 вид маркує 6 осей (*Anoxia pilosa*), 3 види маркують 5 осей (имаго Carabidae, Lycosidae sp., личинки *Podonta daghestanica*), 6 видів маркують 2 осі (*Anatolica angustata*, Chrysomelidae sp., *Cyrtopogon lateralis*, *Selatosomus aenus*, Tabanus sp., Thereva sp.) і 1 вид маркує 1 ось (*Pachymerium ferrugineum*).

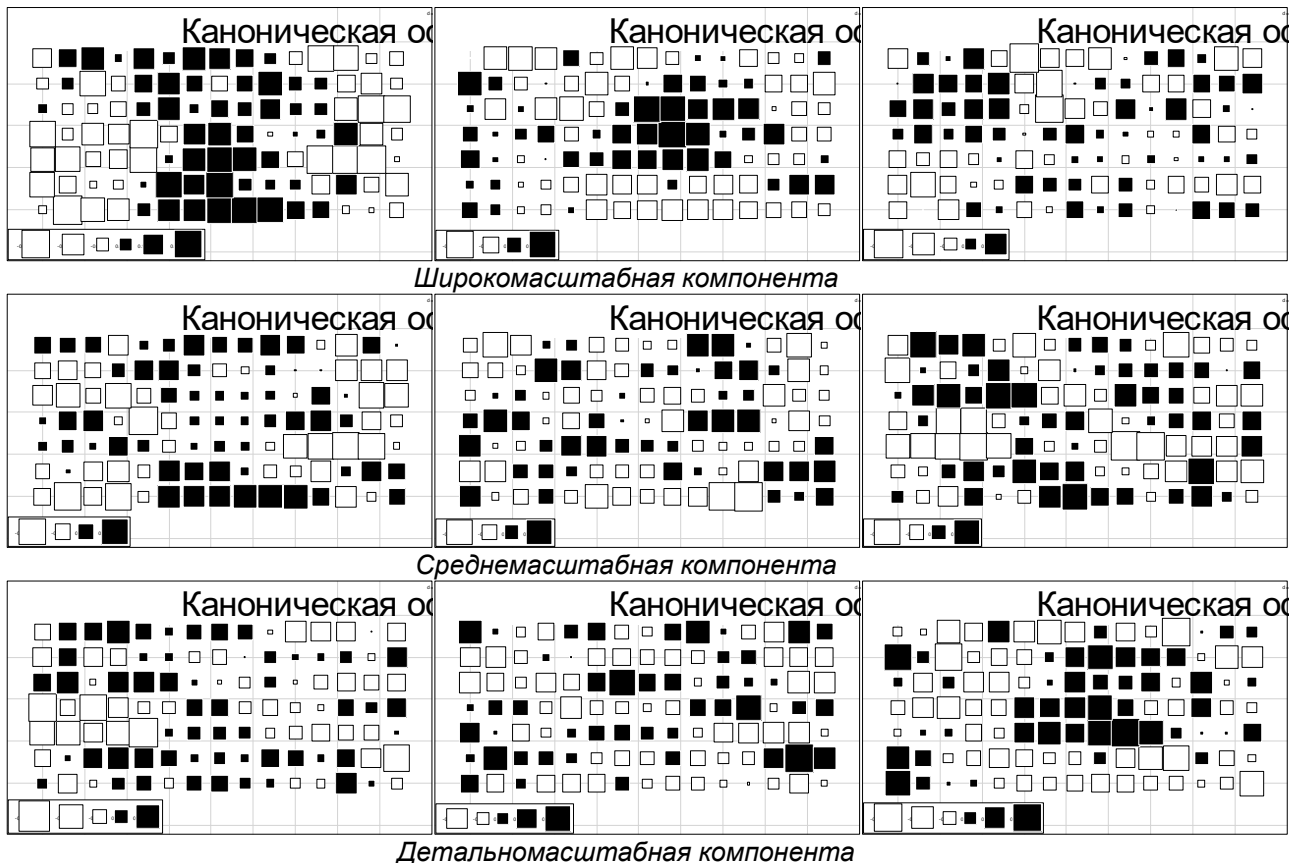


Рис. 2. Просторове варіювання канонічних осей, які описують різні масштабові рівні просторової залежності ґрунтового мезофауни

Просторові компоненти варіювання спільноти несуть інформацію як о просторовому аспекті, так і о середовищному аспекті реагування спільноти мезопедобіонтів. Регресійний аналіз дозволив виявити ті головні компоненти, які характеризуються статистично значимими регресійними коефіцієнтами (табл. 4).

Установлено, що регресійна модель впливу параметрів середовища на просторові компоненти варіювання спільноти мезопедобіонтів може пояснити 8–42 % її змінливості. При цьому найбільша роль середовищних факторів характерна для широкомасштабної компоненти (14–42 %), трохи менша – для середньомасштабної (8–26 %) і найменша – для детальномасштабної (8–16 %). Статистична значимість однієї регресійної моделі для середньомасштабної компоненти і двох – для детальномасштабної вище критичного рівня $p=0,05$. Таким чином, можна призначити, що середньомасштабна ось RDA3 і детальномасштабні осі RDA2 і RDA3 в основному несуть інформацію о просторовому варіюванні спільноти.

Таблица 4.
Результаты регрессионного анализа влияния параметров среды на пространственные компоненты варьирования сообщества мезопедобинтов (представлены статистически значимые предикторы)

Параметры регрессионных моделей	Широкомасштабная компонента			Среднемасштабная компонента			Детальномасштабная компонента		
	RDA1	RDA2	RDA3	RDA1	RDA2	RDA3	RDA1	RDA2	RDA3
Главные компоненты	1, 2, 7	2, 3, 8, 12	4, 6, 12	1, 2, 7, 12	2, 13	8	2, 12	12, 13	3, 11
R^2_a	0,42	0,36	0,14	0,26	0,11	0,08	0,08	0,08	0,16
p -уровень	0,00	0,00	0,01	0,00	0,03	0,07	0,08	0,07	0,001

Обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что плотность населения мезопедобинтов в песчаной степи составила $68,86 \pm 14,62$ экз./м², а видовое богатство представлено 29 видами. Дополнительные способы учета позволили установить список животных, состоящий из 40 видов. Сравнение с другими биотопами арены р. Днепр свидетельствует о крайне экстремальных условиях для почвенных животных в почве песчаной степи, так как видовое богатство и численность в данном биотопе находится на очень низких уровнях. Так, сбор данных по однотипной методике показал, что мезопедобинты широколиственного леса на арене р. Днепр представлены 45 видами с численностью 305,37 экз./м² (Жуков и др., 2015), луга – 47 видов с численностью 254,63 экз./м², болота – 59 видов с численностью 197,49 экз./м² (неопубликованные данные). Экстремальность местообитания проявляет себя в низком уровне численности и видового богатства сообщества, что является результатом действия лимитирующего (или лимитирующих) фактора. Для выявления природы лимитирующих факторов нами изучены эдафические свойства и проведена синфитоиндикация экологических факторов в тех же точках, где изучены почвенные животные.

Общий список обнаруженных сосудистых растений в пределах изученного полигона составляет 36 видов (альфа-разнообразие – 8,29 видов в среднем на одной пробной площадке) (Ганжа и др., 2015; Жуков и др., 2015). И. А. Цаценкин (1970) считает, что для надежной синфитоиндикации достаточно 5 видов растений в описании. Таким образом, видовое богатство растительного покрова характеризуется достаточным уровнем для того, чтобы использовать фитоиндикационное оценивание для описания пространственного варьирования эдафических и климатических свойств местообитания.

Фитоиндикационные оценки интегрируют вариабельность режимов в профиле почве на значительную глубину, которая определяется глубиной проникновения корневых систем растений. Кроме того, интеграция происходит в пределах площадки, в пределах которой сделано каждое геоботаническое описание, так как её размер значительно превосходит размеры почвенно-зоологической пробы. Размеры «точки» для сообщества почвенных животных (0,25×0,25 м) и растительного сообщества (3×3 м) различны. Следует также указать интеграцию динамики почвенных свойств во времени в фитоиндикационных оценках.

Трудоемкость проведения почвоведческих измерений вызывает определенные сложности для изучения их пространственного варьирования, так как для решения этой задачи требует их значительной повторности. Нами измерена твердость почвы в каждой точке отбора почвенно-зоологических проб на глубину 1 м. Также в каждой точке в поверхностном слое почвы измерены температура, влажность, плотность и фракционный состав. Проведенный анализ главных компонент свидетельствует о том, что как эдафические свойства, измеренные на глубину почвенного слоя, так и те, которые измерены только в поверхностном слое, характеризуются высокой степенью корреляции с общими главными компонентами. Это позволяет утверждать, что выбранная модель измерения эдафических показателей дает оценку варьирования свойств почвы как целого образования.

В результате анализа почвенных показателей и показателей растительности выявлены 13 главных компонент, собственные числа которых превышают 1. Процедура анализа главных компонент позволяет решить несколько задач. Это снижение размерности признакового

пространства, с помощью которого характеризуются экологические свойства среды. А также решение проблемы мультиколлинеарности – взаимной корреляции большинства эдафических свойств. Полученные главные компоненты являются ортогональными и в этом смысле полностью соответствуют требованиям для дальнейшего регрессионного анализа.

По преобладающим корреляционным связям эти компоненты были отнесены к трем категориям: твердость почвы (3 компоненты, 34,12% суммарной дисперсии, более чувствительны к профильному распределению почвенных свойств), прочие эдафические признаки (6 компонент, 28,00% суммарной дисперсии, разнообразие свойств верхнего почвенного слоя) и растительность (4 компоненты, 12,32% суммарной дисперсии).

В отношении влияния на структуру сообщества роль факторов среды различна и не соотносится с их относительной вариабельностью. Процедура прямого выбора позволила установить, что из 13 главных компонент значимыми предикторами структуры сообщества почвенных животных являются только 6. В свою очередь, среди этих шести главных компонент одна относится к категории растительных факторов, одна – к категории твердости почвы и пять – к категории эдафических факторов. Следует отметить, что именно к вариации эдафических главных компонент сообщество является наиболее чувствительным, а наименее чувствительно к главной компоненте, которая отражает твердость почвы.

Помимо факторов среды для описания организации сообщества почвенных животных использовались пространственные переменные, или PCNM-переменные. Их исходное число и свойства определяются взаимной конфигурацией в пространстве точек отбора проб. Наша модель отбора проб порождает 55 PCNM-переменных. Из них с помощью процедуры прямого выбора производятся селекция тех, которые наилучшим образом описывают структуру сообщества мезопедобіонтов. Таких переменных установлено 22. Следует отметить, что пространственные PCNM-переменные описывают значительно больше вариации сообщества (33,1%), чем факторы среды (12,3%). При этом для факторов среды характерна значительная пространственная структурированность. Из 10,0% вариабельности сообщества почвенных животных, обусловленных почвенными факторами, к индивидуальной компоненте относится 2,2%, а 7,8% описывается пространственно структурированными почвенными факторами. Вся растительная компонента, определяющая структуру сообщества, является пространственно структурированной. Для сообщества дождевых червей наблюдалась несколько иная картина: 33,0% вариации сообщества описывалось факторами среды и только 1,8% – пространственной компонентой (Jiménez et al., 2014). Авторы считают, что такой результат находится в соответствии с моделью Хатчинсона контроля сообщества факторами среды. Можно предположить, что изученное нами сообщество организовано в большей степени под воздействием факторов нейтральной природы. Однако пространственную компоненту варьирования в полной мере нельзя отождествлять с нейтральной компонентой структурирования сообщества. Так, включение в рассмотрение почвенных данных существенно снижало количество вариации структуры сообщества, объясненное пространством, таким образом, снижая важность «нейтральной» компоненты (Baldeck et al., 2013; Chang et al., 2013).

В свою очередь, пространственная компонента варьирования сообщества была фракционирована на три масштабных компоненты: детальномасштабную, среднемасштабную и широкомасштабную. В результате проведенного регрессионного анализа установлено, что объясненная дисперсия значительно снижается от широкомасштабной компоненты к детальномасштабной. Таким образом, широкомасштабная компонента и в меньшей степени – среднемасштабная компонента отражают варьирование пространственно структурированных факторов среды, тогда как детальномасштабная компонента в наибольшей степени может быть интерпретирована как та, которая отражает нейтральный аспект структурирования сообщества.

Выводы

1. Мезопедобіонты песчаной степи на арене р. Днепр находятся в экстремальных условиях, что отражается в низком уровне численности и видового богатства сообщества почвенной мезофауны.
2. Статистически значимыми предикторами структуры сообщества почвенных животных являются шесть главных компонент, из которых одна относится к категории растительных факторов, одна – к категории твердости почвы и пять – эдафических факторов.

3. Пространственные PCNM-переменные обладают значительно большей предсказательной способностью для описания структуры сообщества мезопедобионтов, чем эдафические факторы. Значительная компонента варьирования эдафических переменных также является пространственно структурированной.
4. Пространственные PCNM-переменные представляют различные иерархические уровни пространственной организации сообщества мезопедобионтов. Широкомасштабная и в меньшей степени среднemasштабная компоненты отражают варьирование пространственно структурированных факторов среды. Детальномасштабная компонента отражает нейтральный аспект структурирования сообщества.

Список литературы

- Бельгард А.Л. Лесная растительность юго-востока УССР. – Киев: Изд-во КГУ, 1950. – 263с. /Belgard A.L. Lesnaya rastitelnost yugo-vostoka USSR. – Kiyev: Izd-vo KGU, 1950. – 263s./
- Вадюнина А.Ф., Корчагина З.А. Методы исследования физических свойств почв. – М.: Агропромиздат, 1986. – 416с. /Vadyunina A.F., Korchagina Z.A. Metody issledovaniya fizicheskikh svoystv pochv. – M.: Agropromizdat, 1986. – 416s./
- Ганжа Д.С., Кунах О.Н., Жуков А.В., Новикова В.А. Экоморфическая организация чернокленовников в псамофильной степи на арене р. Днепр // Питання степового лісознавства та лісової рекультивациі земель. – Д. – 2015. – Вип.44. – С. 110–126. /Ganzha D.S., Kunakh O.N., Zhukov A.V., Novikova V.A. Ekomorficheskaya organizatsiya chernoklenovnikov v psamofilnoy stepi na arene r. Dnepr // Pytannya stepovogo lisoznastva ta lisovoyi rekul'tyvatsiyi zemel. – D. – 2015. – Vyp.44. – S. 110–126./
- Жуков А.В., Кунах О.Н., Новикова В.А. Экоморфическая организация сообществ мезопедобионтов дубняка со свежим разнотравьем на арене р. Днепр // Известия Харьковского энтомологического общества. – 2015. – Т. XXIII, вып.2. – С. 39–53. /Zhukov A.V., Kunakh O.N., Novikova V.A. Ekomorficheskaya organizatsiya soobshchestv mezopedobiontov dubnyaka so svezhim raznotrav'yem na arene r. Dnepr // Izvestiya Kharkovskogo entomologicheskogo obshchestva. – 2015. – T. XXIII, vyp. 2. – S. 39–53./
- Жуков А.В., Кунах О.Н., Задорожная Г.А., Андрусевич Е.В. Ландшафтная экология как основа пространственного анализа продуктивности агроценозов // Экологія та ноосферологія. – 2013а. – Т.24, №1–2. – С. 68–80. /Zhukov A.V., Kunakh O.N., Zadorozhnaya G.A., Andrusovich Ye.V. Landshaftnaya ekologiya kak osnova prostranstvennogo analiza produktivnosti agrotsenozov // Ekologiya ta noosferologiya. – 2013a. – T.24, № 1–2. – S. 68–80./
- Жуков А.В., Штирц А.Д., Задорожная Г.А., Кунах О.Н. Фракционирование пространственной вариации сообщества панцирных клещей (Acari: Oribatida) в почве сельскохозяйственного поля в условиях степной зоны Украины // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2013б. – №1 (13). – С. 87–105. /Zhukov A.V., Shtirts A.D., Zadorozhnaya G.A., Kunakh O.N. Fraktsionirovaniye prostranstvennoy variatsii soobshchestva pantsimykhn kleshchey (Acari: Oribatida) v pochve selskokhozyaystvennogo polya v usloviyakh stepnoy zony Ukrainy // Problemy ekologiyi ta okhorony pryrody tekhnogennogo regionu. – 2013b. – №1 (13). – S. 87–105./
- Жуков О.В., Губанова Н.Л. Динамічна стійкість угруповання земноводних короткозаплавних лісових екосистем // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. – 2015. – №23 (2). – С. 161–171. /Zhukov O.V., Gubanova N.L. Dynamichna stiykist ugrupovannya zemnovodnykh korotkozaplavnykh lisovykh ekosystem // Visnyk Dnipropetrovskogo universytetu. Bioloiya, ekologiya. – 2015. – №23 (2). – S. 161–171./
- Жуков О.В., Кунах О.Н., Новикова В.А. Функциональная структура сообщества мезопедобионтов дерново-боровой почвы арены р. Днепр // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. – 2016. – №24 (1). – С. 26–39. /Zhukov O.V., Kunakh O.N., Novikova V.A. Funktsionalnaya struktura soobshchestva mezopedobiontov dervno-borovoy pochvy areny r. Dnepr // Visnyk Dnipropetrovskogo universytetu. Biologiya, ekologiya. – 2016. – №24 (1). – S. 26–39./
- Тарасов В.В. Флора Дніпропетровської і Запорізької областей. – Д.: «Ліра», 2012. – 296с. /Tarasov V.V. Flora Dnipropetrovskoyi i Zaporizkoi oblastey. – D.: «Lira», 2012. – 296s./
- Цаценкин И.А. Экологическая оценка кормовых угодий Карпат и Балкан по растительному покрову. – М.: ВНИИ кормов, 1970. – 192с. /Tsatsenkin I.A. Ekologicheskaya otsenka kormovykh ugodiy Karpat i Balkan po rastitelnomu pokrovu. – M.: VNIi kormov, 1970. – 192s./
- Adler P.B., Hillerislambers J., Levine J.M. A niche for neutrality // Ecology Letters. – 2007. – Vol.10. – P. 95–104.
- Amarasekare P. Competitive coexistence in spatially structured environments: a synthesis // Ecology Letters. – 2003. – Vol.6. – P. 1109–1122.
- Anderson M.J. Navigating the multiple meanings of b diversity: a roadmap for the practicing ecologist // Ecology Letters. – 2011. – Vol.14. – P. 19–28.

- Baldeck C.A., Harms K.E., Yavitt J.B. et al. Soil resources and topography shape local tree community structure in tropical forests // *Proceedings of the Royal Society*. – 2013. – B.280. – P. 2012–2032.
- Belyea L.R., Lancaster J. Assembly rules within a contingent ecology // *Oikos*. – 1999. – Vol.86 (3). – P. 402–416.
- Blanchet F.G., Bergeron J.A.C., Spence J.R., He F. Landscape effects of disturbance, habitat heterogeneity and spatial autocorrelation for a ground beetle (Carabidae) assemblage in mature boreal forest // *Ecography*. – 2013. – Vol.36. – P. 636–647.
- Blanchet F.G., Legendre P., Borcard D. Forward selection of explanatory variables // *Ecology*. – 2008. – Vol.89 (9). – P. 2623–2632.
- Borcard D., Legendre P., Avois-Jacquet C., Tuosimoto H. Dissecting the spatial structure of ecological data at multiple scales // *Ecology*. – 2004. – Vol.85. – P. 1826–1832.
- Borcard D., Legendre P. Environmental control and spatial structure in ecological communities: an example using Oribatid mites (Acari, Oribatei) // *Environmental and Ecological Statistics*. – 1994. – Vol.1. – P. 37–61.
- Borcard D., Legendre P., Drapeau P. Partialling out the spatial component of ecological variation // *Ecology*. – 1992. – Vol.73. – P. 1045–1055.
- Cadotte M.W., Fukami T. Dispersal, spatial scale and species diversity in a hierarchically structured experimental landscape // *Ecology Letters*. – 2005. – Vol.8. – P. 548–557.
- Chang L., Zeleny D., Li C. et al. Better environmental data may reverse conclusions about niche- and dispersal-based processes in community assembly // *Ecology*. – 2013. – Vol.94. – P. 2145–2151.
- Chase J.M. Community assembly: when should history matter? // *Oecologia*. – 2003. – Vol.136. – P. 489–498.
- Clark J.S. The coherence problem with the unified neutral theory of biodiversity // *Trends in Ecology and Evolution*. – 2012. – Vol.27. – P. 199–203.
- Decaëns T., Rossi J.P. Spatio-temporal structure of earthworm community and soil heterogeneity in a tropical pasture // *Ecography*. – 2001. – Vol.24 (6). – P. 671–682.
- Decaëns T., Jiménez J.J., Rossi J.P. A null-model analysis of the spatio-temporal distribution of earthworm species assemblages in Colombian grasslands // *Journal of Tropical Ecology*. – 2009. – Vol.25 (4). – P. 415–427.
- Didukh Ya.P. The ecological scales for the species of Ukrainian flora and their use in synphytoindication. – Kyiv: Phytosociocentre, 2011. – 176p.
- Drake J.A. Communities as assembled structures: do rules govern pattern? // *TREE* 1990. – Vol.5. – P. 159–164.
- Dray S., Legendre P., Peres-Neto P. Spatial modelling: a comprehensive framework for principal coordinate analysis of neighbors matrices (PCNM) // *Ecological Modelling*. – 2006. – Vol.196. – P. 483–493.
- Ellwood M.D.F., Manica A., Foster W.A. Stochastic and deterministic processes jointly structure tropical arthropod communities // *Ecology Letters*. – 2009. – Vol.12. – P. 277–284.
- Ettema C.H., Yeates G.W. Nested spatial biodiversity patterns of nematode genera in a New Zealand forest and pasture soil // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2003. – Vol.35 (2). – P. 339–342.
- Fukami T. Community assembly dynamics in space // *Community Ecology: Processes, Models, and Applications*. Eds. H.A.Verhoef, P.J.Morin. – Oxford: Oxford University Press, 2010. – P. 45–54.
- Fukami T., Dickie I.A., Wilkie P. et al. Assembly history dictates ecosystem functioning: evidence from wood decomposer communities // *Ecology Letters*. – 2010. – Vol.13. – P. 675–684.
- Hu Y.-H., Sheng D.-Y., Xiang Y.-Z. et al. The environment, not space, dominantly structures the landscape patterns of the richness and composition of the tropical understory vegetation // *PLoS ONE*. – 2013. – 8:e81308.
- Hubbell S.P. The unified neutral theory of biodiversity and biogeography. – Princeton, NJ: Princeton University Press, 2001. – 540p.
- Hutchinson G.E. Concluding remarks // *Cold Spring Harbour Symposium on Quantitative Biology*. – 1957. – Vol.22. – P. 415–427.
- Hutchinson G.E. The niche: an abstractly inhabited hypervolume // *The ecological theatre and the evolutionary play*. – New Haven: Yale Univ. Press, 1965. – P. 26–78.
- Jiménez J.J., Decaëns T., Lavelle P., Rossi J.-P. Dissecting the multi-scale spatial relationship of earthworm assemblages with soil environmental variability // *BMC Ecology*. – 2014. – Vol.14 (26).

(<http://www.biomedcentral.com/1472-6785/14/26>)

Jiménez J.J., Decaëns T., Rossi J.-P. Soil environmental heterogeneity allows spatial co-occurrence of competitor earthworm species in a gallery forest of the Colombian “Llanos” // *Oikos*. – 2012. – Vol.121. – P. 915–926.

Kirby K.N., Gerlanc D. BootES: An R package for bootstrap confidence intervals on effect sizes // *Behavior Research Methods*. – 2013. – Vol.45. – P. 905–927.

Lawton J. Are there general laws in ecology? // *Oikos*. – 1999. – Vol.84. – P. 177–192.

Legendre P. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? // *Ecology*. – 1993. – Vol.74 (6). – P. 1659–1673.

Legendre P., Mi X., Ren H. et al. Partitioning beta diversity in a subtropical broadleaved forest of China // *Ecology*. – 2009. – Vol.90. – P. 663–674.

McArdle B.H., Anderson M.J., Can. J. Variance heterogeneity, transformations and models of species abundance: a cautionary tale // *Fish. Aquat. Sci.* – 2004. – Vol.61. – P. 1294–1302.

Murphy S.J., Audino L.D., Whitacre J. et al. Species associations structured by environment and land-use history promote beta-diversity in a temperate forest // *Ecology*. – 2015. – Vol.96 (3). – P. 705–715.

Oksanen J., Blanchet F.G., Kindt R. et al. Community ecology package. R package version 2.0-2. – 2011. (<http://CRAN.R-project.org/package=vegan>)

Rossi J.P. Clusters in earthworm spatial distribution // *Pedobiologia*. – 2003. – Vol.47 (5–6). – P. 490–496.

Rossi J.-P., Delaville L., Quénehervé P. Microspatial structure of a plant- parasitic nematode community in a sugarcane field in Martinique // *Applied Soil Ecology*. – 1996. – Vol.3. – P. 17–26.

Schoener T.W. Resource partitioning in ecological communities // *Science*. – 1974. – Vol.185 (4145). – P. 27–39.

Siefert A., Ravenscroft C., Weiser M.D., Swenson N.G. Functional beta-diversity patterns reveal deterministic community assembly processes in eastern North American trees // *Global Ecology and Biogeography*. – 2013. – Vol.6. – P. 682–691.

Weslien J., Djupström L.B., Schroeder M., Widenfalk O. Long-term priority effects among insects and fungi colonizing decaying wood // *Journal of Animal Ecology*. – 2011. – Vol.80. – P. 1155–1162.

Whalen J.K. Spatial and temporal distribution of earthworm patches in corn field, hayfield and forest systems of southwestern Quebec, Canada // *Applied Soil Ecology*. – 2004. – Vol.27 (2). – P. 143–151.

Wilson J.B., Habiba G. Limitation to species coexistence: evidence for competition from field observations, using a patch model // *Journal of Vegetation Science*. – 1995. – Vol.6. – P. 369–376.

Представлено: О.Л.Пономаренко / Presented by: O.L.Ponomarenko

Рецензент: Д.А.Шабанов / Reviewer: D.A.Shabanov

Подано до редакції / Received: 15.05.2016

УДК: 599.742.1:591.471.44

Особенности биологии и морфологии обыкновенной лисицы *Vulpes vulpes* L. (1758) в Харьковской области
В.А.Токарский, В.В.Грубник, Н.В.Токарская*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)*
V.Tokarsky@mail.ru

Проанализированы динамика численности обыкновенной лисицы на территории Харьковской области и факторы, влияющие на нее. В последние годы отмечается увеличение численности, что может свидетельствовать о том, что охота на территории исследуемого региона не имеет решающего влияния на состояние популяции. Были получены данные морфометрии и краниологических особенностей лисицы. У более чем 50% особей морфометрические показатели стабильны независимо от пола. Из 28 краниометрических признаков наиболее вариативным является ширина надглазничных отростков у самок ($Cv=10,54$); высока вариативность таких признаков, как ширина хоан и ширина верхнего клыка у основания; ширина рострума и длина носовых костей, ширина слуховой капсулы и длина мозгового отдела. Вариативность 19 признаков черепа у самцов выше, чем у самок. Наименее вариативны ширина мозговой капсулы (как у самцов, так и у самок), длина верхнего хищнического зуба и ширина между слуховыми отверстиями (у самцов). Различия краниометрических признаков самцов и самок достоверны по 6 параметрам ($p<0,05$). Полученная выборка в основном соответствует данным Л.С.Шевченко (1987 г.) по степной зоне, что согласуется с зонированием Харьковской области. Проанализированы особенности зимнего питания: к основной группе кормов можно отнести: мышевидных грызунов, сурков, птиц и растительную пищу (плоды и семена). Приведены материалы по зараженности лисиц северо-востока Украины. У добытых животных были обнаружены паразиты: *Toxocara* spp. (Ascaridida, Nematoda) – 14 взрослых особей, в кишечнике у 10 самцов и 4 самок; 3 взрослых особи в желудке у 2 самок и 1 самца. Кроме того, добытые в 2013–2015 гг. в Великобурлукском районе лисицы были заражены блохами: барсучьими, *Paraceras melis* (самец), лисьими, *Chaetopsylla globiceps* (2 самки).

Ключевые слова: *Vulpes vulpes*, морфометрия, краниологические показатели, динамика численности, питание, эпизоотии.

Особливості біології та морфології звичайної лисиці *Vulpes vulpes* L. (1758) в Харківській області
В.А.Токарський, В.В.Грубник, Н.В.Токарська

Проаналізовано динаміку чисельності звичайної лисиці на території Харківської області і фактори, що впливають на неї. В останні роки відзначається збільшення чисельності, що може свідчити про те, що полювання на території досліджуваного регіону не має вирішального впливу на стан популяції. Були отримані дані морфометрії та краніологічних особливостей лисиці. Більш як у 50% досліджених особин морфометричні показники є стабільними незалежно від статі. З 28 краніометричних ознак найбільш варіативною є ширина надочномкових відростків у самок ($Cv=10,54$); висока варіативність таких ознак, як ширина хоан і ширина верхнього ікла біля основи; ширина роструму і довжина носових кісток, ширина слухової капсули і довжина мозкового відділу. Варіативність 19 ознак черепа у самців вище, ніж у самок. Найменш варіативні ширина мозкової капсули (як у самців, так і у самок), довжина верхнього хижацького зуба і ширина між слуховими отворами (у самців). Відмінності краніометричних ознак самців і самок достовірні за 6 параметрами ($p<0,05$). Отримана вибірка в основному відповідає даним Л.С.Шевченко (1987 р.) по степовій зоні, що узгоджується із зонуванням Харківської області. Проаналізовано особливості зимового харчування: до основної групи кормів можна віднести: мишоподібних гризунів, бабаків, птахів і рослинну їжу (плоди і насіння). Наведено матеріали по зараженості лисиць північного сходу України. У добутих тварин були виявлені паразити: *Toxocara* spp. (Ascaridida, Nematoda) – 14 дорослих особин, в кишечнику у 10 самців і 4 самок; 3 дорослих особини в шлунку у 2 самок і 1 самця. Крім того, здобуті в 2013–2015 рр. у Великобурлуцькому районі лисиці були заражені блохами: борсуковими, *Paraceras melis* (самець), лисячими, *Chaetopsylla globiceps* (2 самки).

Ключові слова: *Vulpes vulpes*, морфометрія, краніологічні показники, динаміка чисельності, живлення, епізоотії.

Features of biology and morphology of common fox *Vulpes vulpes* L. (1758) in the Kharkiv Region

V.A.Tokarsky, V.V.Grubnik, N.V.Tokarskaya

The dynamics of number of common fox in the territory of the Kharkiv region and factors influencing it have been analyzed. In recent years, there has been an increase in the number, which may indicate that hunting in this territory has no decisive influence on the population state. Morphometric data and cranial indices of foxes have been obtained. In more than 50% of the individuals morphometric parameters are stable, in the both sexes. Of the 28 craniometric parameters the width of supraorbital processes in females is the most variable ($C_v=10,54$); highly variable are the width of choanae and the width of the upper canine tooth at the base; the width of the rostrum and the length of nasal bones, the width of the auditory capsule and the length of the brain department. Variability of 19 skull characteristics in males is higher than that of females. Less variable are the width of the brain capsule (both in males and females), the length of the upper carnassial and the width between auditory foramina (in males). The differences between craniometric parameters of males and females are valid for 6 parameters ($p<0.05$). The sample is largely corresponds to the data of L.S.Shevchenko (1987) in the steppe zone, which is consistent with zoning of the Kharkiv region. Winter feeding habits have been analyzed: feed of the main group includes: mouse-like rodents, marmots, birds and plant food (fruits and seeds). Materials on the infestation of foxes of the north-east of Ukraine have been presented. In the trapped animals there have been found parasites: *Toxocara* spp. (Ascaridida, Nematoda) – 14 adults, in the intestine of 10 males and 4 females; 3 adult individuals in the stomach of 2 females and 1 male. Moreover, the foxes obtained in Velikiy Burluk District in 2013–2015 were infected by fleas: badger, *Paraceras melis* (male), and fox, *Chaetopsylla globiceps* (2 females).

Key words: *Vulpes vulpes*, morphometry, craniometric parameters, dynamics of number, nutrition, epizooties.

Введение

Лиса обыкновенная (*Vulpes vulpes* L., 1758) является одним из важных видов охотничьей фауны Украины. Ареал очень широкий: вся Европа, о. Кипр, Северная Африка, большая часть Азии; обычна на Камчатке, населяет Сахалин и почти все Курильские о-ва. Этот вид имеет самое широкое распространение среди псовых. Способность вида к адаптации определяет возможность в использовании разнообразных кормовых ресурсов и биотопов. Однако лисица наиболее часто встречается в зоне смешанных лесов, лесостепи и степи. Четко прослеживается сезонность в биотопическом распределении хищника, что определяется доступностью кормов и защитными условиями местообитаний (Вайсфельд, 1985; Мигулін, 1938).

Данные по биотопическому распределению и численности лисицы на территории степной зоны касаются в основном заповедников и других охраняемых территорий (Роженко, 2002; Антоненко, 2009; Лиманський, Кондратенко, 2002; Тимошенко, 2002; Пахомов, Рева, 1998 и др.). Оценка биотопического распределения лисицы в Харьковской области на границе степной и лесостепной зон (Змиевской район) была проведена в 2006 г (Банник и др., 2009). Авторами были выделены два наиболее часто используемые лисами биотопа: сельскохозяйственные угодья (плотность 11,6 ос./1000 га) – поля в окружении лесозащитных полос и перелесков, и опушки крупных лиственных лесов (5,10 ос./1000 га), граничащие с сельскохозяйственными угодьями. Отмечается также, что лесные угодья (сосновый бор, дубрава) и сельскохозяйственные угодья в степи используются лисицей в равной степени (2,85–2,90 ос./1000 га).

Проблемы, связанные с лисицей, многогранны. С одной стороны, это самый распространенный пушной зверь и популярнейший объект охоты, а с другой стороны – хищник, который существенно влияет на численность грызунов и другую дичь, а также связан с распространением бешенства, коросты и других заболеваний. Поэтому во множестве стран Европы реализуются специальные программы управления популяцией лисицы в нужном для человека направлении.

Разработка подобных программ должна опираться на достоверные данные о численности и плотности популяции. Широко используются три метода учета, каждый из которых имеет свои недостатки: метод прогона, учет следов на маршруте и учет по выводковым норам. Первый приводит к большому недоучету вследствие особенностей использования лисицей территорий на юге Украины (Роженко, 2002); второй мало применим из-за неустойчивого снежного покрова в ряде районов (Шейгас, 2002). Поиски нор лисицы – трудное занятие, особенно в урбанизированных ландшафтах (Легайда, 2002). В Харьковской области в 2006 г. был апробирован метод

итальянского исследователя П.Каваллини, который предложил использовать для оценки численности лисы учет экскрементов на маршруте (Cavallini, 1994). Он дал оценку плотности лисицы для Змиевского района, сравнимую с оценкой, полученной методом поиска жилых нор (Банник и др., 2009).

В большинстве масштабных работ для общей оценки динамики численности за основу берется отчетная документация формы «2ТП-Охота», которая самими же авторами обзоров признается не совсем адекватно отражающей реальную численность. Однако на ее основе были получены обобщенные данные, позволяющие определить годы подъема и спада численности лисиц в Украине, объем и соотношение доли учтенных и добываемых лисиц в различных природных зонах нашей страны (Домнич, 2010).

В систематике лисицы характерно отсутствие единого мнения не только относительно числа подвидов какого-либо региона, но и числа видов в составе рода *Vulpes*, что обусловлено сложной географической изменчивостью ее признаков (Лебедева, 2000). Л.С.Шевченко и Б.Э.Борисовец (1990), основываясь на материалах морфо-краниологического анализа, установили, что на территории Украины обитает два подвида: *V. v. crucigera* Bechst., 1789 (вся территория, кроме Горного Крыма); *V. v. kryteamontana* Brauner, 1914 (Горный Крым).

Целью настоящей работы было выявить морфологические и краниологические особенности, спектр питания и зараженность обыкновенной лисицы в условиях восточных степей Украины.

Исследования проводились в восточной части Харьковской области, которая расположена в степной зоне Украины.

Материалы и методы

Материалы собраны на территории регионального ландшафтного парка (РЛП) «Великобурлукская степь» в 2012–2013 гг. Общая площадь РЛП составляет 28373,5 га. В работе также проанализирована коллекция черепов кафедры Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина; данные учетов Харьковского областного управления лесного и охотничьего хозяйства (форма «2ТП-охота»), Центральной меховой базы (Киев), Харьковской санитарно-эпидемиологической станции и лаборатории ветеринарной медицины. Краниологические показатели получены от 40 особей (27М; 13F). Промеры проводились штангенциркулем с точностью до 0,01 мм. Измерения морфологических показателей проводились по общепринятым методикам (Шевченко, 1987). Расчеты сделаны с помощью программы Excel 2003 и пакета программ STATISTICA 6.0. При статистической обработке выборка не делилась по возрасту, так как в литературе имеются данные о возможности сравнения разновозрастных выборок, при условии, что они представлены промысловыми пробами или не проводился преднамеренный отбор данных по наиболее крупным особям (Королев, 2004). Кроме того, возрастная изменчивость линейных размеров черепа у половозрелых лисиц выражена слабо. Изучение спектра питания лисицы обыкновенной проводилось на добытых животных путем обследования содержимого желудка и кишечника. Одновременно определяли состав эндопаразитов (по: Атлас..., 2001). Всего обработано 16 особей.

Результаты и обсуждение

Лисица – обычный охотничий вид фауны Харьковской области. Первые упоминания мы находим в работах А.Чернай «Фауна Харьковской губ. и прилежащих к ней местности (1853) и «Обозрение фауны Харьковской губ.» (1867). В дальнейшем к биологии лисицы обращались многие исследователи, но из работ начала XX ст. необходимо отметить работы В.Г.Аверина (1915, 1918 и др.).

В настоящее время численность данного вида в Харьковской области стабильна и составляет около 4–5 тыс. особей. За последние десятилетия наблюдалось несколько подъемов численности. Так, в начале 1970-х она сохранялась на уровне 9–10 тыс., затем наблюдался спад, и в 1986 г. ее запасы снова составили 9332 особи. О сравнительной стабильности численности лисицы говорят некоторые показатели добычи. Так, в 1926 г. лисицы, в целом по Харьковской области, было добыто 861 голову, а в 1996 г. – 1076. Приведем несколько цифр отдельно по некоторым районам. В Купянском р-не в 1926 г. добыто 167 особей, а в 1996 г. – 189; в Изюмском районе в 1926 г. добыто 114, а в 1996 г. – 65 особей; в Первомайском в 1926 г. добыто 242, а в 1996 г. – 250 особей лисицы.

За период с 1970 по 2012 г. динамика численности лисицы в Харьковской области характеризуется общей тенденцией стабильности, хотя в последние годы численность увеличивается.

Подобные тенденции изменения численности лисицы в Харьковской области свойственны и для Украины в целом: за исследуемый период (1970–2012 гг.) численность хищника в Украине увеличилась. Несмотря на определенные изменения общей картины размещения лисицы, плотность ее населения всегда была выше в Центральной, Западной и Юго-Западной Украине. Анализ пространственно-временной динамики плотности позволяет сделать вывод, что за период 1970–2012 гг. наибольшая плотность наблюдалась в лесостепной зоне и на западе степной зоны Украины. Сейчас лисица распределена по территории Украины относительно равномерно, популяция ее стабильная. В Харьковской области (общая площадь охотничьих территорий составляет 2639,5 тыс. га), за 25-летний период, минимум численности лисицы приходился на 2006 г. (1,9 тыс. ос.), а максимум – на 1990 г. (5,2 тыс. ос.). Диапазон изменения численности (от min до max) составляет 16 лет (Домнич, 2010).

Согласно учетным данным 2ТП-охота, численность лисицы варьировала в период с 1998 г. по 2009 г. от 1916 до 6415 в 2002 г. По данным Харьковского областного управления лесного и охотничьего хозяйства, в некоторые годы численность добытых лисиц в два раза превышает численность уценных, что говорит о недостоверности данных, отраженных в 2ТП-охота (табл. 1, 2).

Таблица 1.

Численность лисицы и добыто ее в Украине («2ТП-охота»)

Год	Численность	Добыто
2004	84293	63817
2005	87810	73362
2006	85641	66475
2007	80336	74317
2008	77784	69328
2009	75312	76863
2010	80261	80843
2011	76460	81713

Таблица 2.

Динамика численности лисицы в Харьковской области (2639,6 тыс. га) по данным «2ТП-охота»

Год	Численность	Добыто	Плотность особ./1000 га
1998	4798	2545	1,8
1999	4320	2092	1,6
2000	3483	3560	1,31
2001	3464	4073	1,3
2002	2253	6415	0,9
2003	2045	4426	0,7
2004	2213	4605	0,8
2005	2213	4711	0,83
2006	1916	4111	0,72
2007	2422	5560	0,91
2008	2903	4919	1,09
2009	3291	5883	1,2

Сейчас состояние популяции лисицы на территории исследуемого региона можно оценить как удовлетворительное, поскольку в последние годы наблюдается определенный рост численности лисицы. С одной стороны, это явление может считаться позитивным для охотничьего хозяйства; с другой стороны, сохранение этой тенденции и в дальнейшем, на наш взгляд, может

вызвать значительное ухудшение санитарно-эпидемиологического состояния в регионе. Можно считать, что охота на территории исследуемого региона не осуществляет решающего влияния на состояние популяции хищника.

Морфометрические и краниологические характеристики

Оценены морфометрические показатели тела лисицы в Харьковской области. Длина тела 60–90 см, хвоста – 40–60 см; вес самцов 6–10 кг, самок – 5–8 кг (табл. 3). Окраска в большинстве случаев сверху ярко-рыжая, с неясным темным узором, грудь белая, брюхо обычно белое, иногда черное. Тыльная сторона ушей черная. Конец хвоста, хотя бы самый копчик, белый. Подпушь на верхней стороне туловища серая. Встречаются также экземпляры с более или менее выраженным меланизмом (сивошубки, крестовки, чернобурые).

Таблица 3.

Морфометрические показатели лисиц

Экз.	Дата, район добычи	Пол	Вес (кг)	Длина тела (см)	Длина хвоста (см)	Длина ступни (см)	Высота уха (см)
1	7.09.09. Червона Хвыля	М	5,50	69,00	38,00	5,00	9,00
2	7.09.09. Червона Хвыля	М	6,10	74,00	40,00	5,00	9,50
3	7.09.09. Червона Хвыля	Ф	5,90	69,00	42,00	5,00	10,00
4	17.09.11. Нестеривка	М	6,50	69,00	39,00	5,00	9,50
5	1.09.13. В. Бурлук	Ф	5,80	68,00	44,00	5,00	10,00
6	7.12.11. Червона Хвыля	М	7,50	81,00	44,00	5,20	9,80
7	7.12.11. Червона Хвыля	М	8,10	85,00	45,00	5,00	9,50
8	7.12.11. Червона Хвыля	Ф	5,80	75,00	39,00	5,30	9,10
9	15.10.14. Нестеривка	Ф	6,30	71,00	43,00	5,10	9,30
10	15.10.14. Нестеривка	М	7,30	75,00	43,00	5,00	9,00

Череп стройный, сильно вытянутый, невысокий. Кондилобазальная длина его у самцов 125–160 мм, у самок 115–145 мм; скуловая ширина у самцов 64–87 мм, у самок 64–80 мм. Лобный отдел слабо приподнят над носовым. Длина мозговой коробки приблизительно равна лицевой длине. Лицевой отдел узкий и длинный. Клыки очень длинные. Наибольший диаметр верхнего клыка в 2 раза меньше наружной длины коронки верхнего хищнического зуба.

Из 28 краниометрических признаков черепа у самцов и самок наиболее вариативны: ширина надглазничных отростков (у самок выше, $C_v=10,54$); ширина хоан и ширина верхнего клыка у основания; ширина роstrума (у самок выше, чем у самцов); длина носовых костей. По 19 признакам вариативность черепа самцов выше, чем самок. К наиболее изменчивым признакам черепа самцов, кроме упомянутых, можно отнести также ширину слуховой капсулы, длину мозгового отдела (табл. 4? 5). Наименее вариативными признаками являются ширина мозговой капсулы (как у самцов, так и у самок), длина верхнего хищнического зуба и ширина между слуховыми отверстиями (у самцов).

Анализ полученных нами данных показывает, что наша выборка соответствует данным Л.С.Шевченко (1987 г.) по степной зоне, что согласуется с зонированием Харьковской области.

По 6 параметрам: основная длина, длина нижней челюсти, длина верхнего хищного зуба, ширина между слуховыми отверстиями, ширина хоан, длина слуховой капсулы – различия черепов самцов и самок достоверны ($p<0,05$).

Таблица 4.

Морфологические показатели черепа лисиц (самцы, мм)

Показатели	РЛП «Великобурлукская степь»				Лесостепь (Шевченко, 1987)	Степь (Шевченко, 1987)
	М	±m	Cv	lim.	lim.	lim.
общая длина	143,63	1,12	4,06	136,00–158,00	133,00–152,50	132,00–153,00
кондилобазальная длина	150,30	1,32	4,56	141,00–170,00	134,00–162,00	137,00–160,00
основная длина	137,33	1,14	4,31	129,00–153,00	128,00–146,00	126,00–146,00
длина лицевого отдела	88,93	0,79	4,63	83,00–102,00	73,00–101,00	72,00–103,00
длина мозгового отдела	61,52	0,73	6,19	54,00–68,00	56,00–82,00	56,00–70,00
длина носовых костей	54,41	0,78	7,45	48,00–67,00	43,00–61,00	47,20–70,00
длина твердого неба	73,24	0,70	4,98	67,00–83,00	61,00–78,00	64,00–77,00
ширина роострума	23,08	0,26	5,86	20,00–25,20	21,00–27,00	21,00–27,00
ширина в области верхнего хищнического зуба	38,25	0,35	4,74	35,30–41,50	36,00–45,00	35,00–43,00
скуловая ширина	79,15	0,74	4,87	71,40–85,50	68,00–87,00	71,00–87,00
межглазничная ширина	28,79	0,44	7,86	23,40–33,30	25,00–33,00	25,00–33,00
заглазничная ширина	22,38	0,05	5,00	20,00–24,50	19,00–25,00	20,00–25,00
мастоидная ширина	48,29	0,64	6,90	40,00–61,00	45,00–51,00	44,00–50,00
ширина мозговой капсулы	48,55	0,24	2,60	46,00–50,90	45,00–50,50	46,00–51,00
длина нижней челюсти	110,33	1,01	4,77	102,00–120,00	98,50–118,50	101,00–117,00
высота нижней челюсти	38,32	0,47	6,40	33,00–42,40	35,00–44,00	35,50–42,00
длина верхнего зубного ряда	76,98	0,68	4,59	71,20–86,00	67,00–85,00	71,00–83,00
длина верхнего зубного ряда от клыка	48,29	0,64	4,74	59,00–72,80	61,00–72,00	59,00–71,00
длины нижнего зубного ряда	75,64	0,60	4,16	70,00–82,90	71,00–89,00	70,00–83,00
длина верхнего хищного зуба	14,66	0,11	3,95	13,00–15,80	11,00–15,00	11,00–15,00
ширина верхнего клыка у основания	6,94	0,12	8,73	6,00–8,00	6,00–9,00	5,00–9,00
ширина между слуховыми отверстиями	47,28	0,33	3,65	43,20–50,10	41,50–47,00	41,00–48,00
ширина хоан	16,34	0,19	6,02	14,90–18,40	12,00–15,00	12,00–15,50
длина слуховой капсулы	21,10	0,21	5,18	19,00–23,00	21,00–25,00	20,00–25,00
ширина слуховой капсулы	12,23	0,18	7,50	11,00–15,00	13,00–16,20	11,00–17,00
высота черепа в области слуховой капсулы	51,83	0,44	4,46	47,20–55,70	46,00–54,00	48,00–54,00
ширина надглазничных отростков	37,07	0,64	8,92	29,90–45,10	31,30–44,00	32,50–41,00
ширина между подглазничными отверстиями	31,01	0,53	8,90	23,00–35,50	26,00–32,30	25,50–32,20

Таблица 5.

Морфологические показатели черепа лисиц (самки, мм)

Показатели	РЛП «Великобурлукская степь»				Лесостепь (Шевченко, 1987)	Степь (Шевченко, 1987)
	М	±m	Cv	lim.	Lim.	lim.
общая длина	86,87	1,27	3,74	134,00–151,00	130,0–147,0	124,0–157,5
кондилобазальная длина	90,25	1,37	3,87	140,00–157,00	135,0–153,0	135,0–156,0
основная длина	83,03	1,17	3,61	126,00–143,30	124,0–142,0	122,0–143,0
длина лицевого отдела	53,78	0,94	4,46	80,00–90,00	81,0–95,0	81,0–96,0
длина мозгового отдела	31,75	0,60	4,15	56,00–63,00	57,0–64,0	55,0–64,2
длина носовых костей	32,64	0,93	7,25	47,60–58,30	44,0–58,0	46,0–57,6
длина твердого неба	44,65	0,68	3,92	67,00–76,30	65,0–75,0	64,0–76,5
ширина роострума	14,67	0,39	7,16	20,00–26,00	20,0–25,0	21,0–26,0
ширина в области верхнего хищнического зуба	23,34	0,47	5,13	34,00–40,10	35,0–48,5	35,0–43,0
скуловая ширина	48,01	0,88	4,71	71,00–84,00	68,0–79,0	68,0–81,0
межглазничная ширина	18,19	0,48	6,91	24,60–32,00	24,0–31,0	25,0–31,0
заглазничная ширина	14,38	0,37	6,77	19,70–25,00	21,0–26,0	18,7–25,2
мастоидная ширина	29,44	0,51	4,47	42,00–49,50	43,0–50,5	43,0–51,0
ширина мозговой капсулы	29,76	0,35	3,04	45,00–50,00	46,0–51,0	45,0–53,0
длина нижней челюсти	65,92	0,89	3,46	99,00–112,70	99,0–117,0	96,5–116,0
высота нижней челюсти	23,83	0,50	5,40	35,00–42,00	35,0–42,0	30,0–41,0

Показатели	РЛП «Великобурлукская степь»				Лесостепь (Шевченко, 1987)	Степь (Шевченко, 1987)
	М	±m	Cv	lim.	Lim.	lim.
длина верхнего зубного ряда	46,73	0,87	4,75	67,00–80,50	70,0–82,0	71,0–81,0
длина верхнего зубного ряда от клыка	39,61	0,67	4,33	58,00–68,20	61,0–69,0	56,0–68,0
длины нижнего зубного ряда	45,99	0,72	4,00	67,00–78,30	69,5–81,0	67,0–80,0
длина верхнего хищного зуба	9,32	0,19	5,52	13,00–16,00	11,0–14,0	11,0–14,0
ширина верхнего клыка у основания	4,86	0,14	8,39	6,40–8,10	6,0–9,0	6,0–9,0
ширина между слуховыми отверстиями	28,50	0,81	7,42	35,00–48,50	39,0–46,0	40,0–47,5
ширина хоан	10,09	0,34	8,92	13,00–18,00	11,0–15,3	12,0–16,0
длина слуховой капсулы	12,88	0,21	4,20	19,00–22,00	20,0–24,0	20,0–25,5
ширина слуховой капсулы	7,76	0,18	6,15	10,50–13,00	11,0–16,0	11,0–16,3
высота черепа в области слуховой капсулы	30,85	0,49	4,04	46,30–53,40	47,0–51,0	46,0–53,0
ширина надглазничных отростков	24,35	0,95	10,54	31,40–46,00	31,0–45,0	30,0–43,0
ширина между подглазничными отверстиями	19,38	0,43	5,68	27,00–33,00	27,0–31,0	26,5–38,6

Питание лисицы в Харьковской области

Спектр питания лисицы обыкновенной на территории Харьковской области имеет широкий диапазон. Его основу повсеместно составляет группа млекопитающих, в которой преобладают мышевидные грызуны. Ловит она также различных птиц, в том числе охотничье-промысловых, чем влияет определенным образом на охотничью фауну. Влияние лисицы обыкновенной на орнитокомплекс Азово-Сивашского природного национального парка изучали В.И.Домнич и др. (1995). В Харьковской области птицы в питании лисы встречаются реже.

Таблица 6.

Пищевые остатки в желудке и кишечнике лисицы в Великобурлукском р-не Харьковской области (зима 2012 г.).

Экз	Желудок	Кишечник
1	Семена подсолнечника	Rodentia sp.
2	Косточки груши	Rodentia sp. (шерсть, кости), полевка восточно-европейская (фрагмент черепа)
3	Полевка серая (шерсть)	Полевка восточно-европейская (фрагмент черепа)
4	Полевка восточно-европейская, 17 экз., Rodentia sp.	Rodentia sp. (шерсть, кости), полевка восточно-европейская
5	Aves (коготь), полевка серая (шерсть)	Aves (кости), семена подсолнечника, КРС (шерсть l=10 см), серая полевка.
6	Семена подсолнечника	Семена подсолнечника
7	Rodentia sp., растительные остатки	Rodentia sp., растительные остатки
8	Rodentia sp.	Rodentia sp.
9	Еж европейский, Rodentia sp., косточки боярышника	Rodentia sp., косточки груши, Aves (Passeriformes)
10	Полевка серая (хвост)	Carnivora sp. (2 зуба)
11	Полевка серая	Rodentia sp.
12	Rodentia sp.	Rodentia sp.
13	Кости птицы	Кости птицы
14	Rodentia sp.	Rodentia sp.

В теплый период года лисица активно потребляет пресмыкающихся, насекомых и другие виды сезонных кормов, т.е. в рационе могут преобладать доминирующие по разным периодам года виды животных. Количество и разнообразие растительных кормов, которые она употребляет, зависит от сезона года и района проживания. Лисица изымает, в первую очередь, больных, слабых и погибших животных, что предотвращает распространение заболеваний и повышает жизнеспособность популяций ее жертв. В кормовой рацион лисицы могут входить корма, которые

являются характерными только для определенной территории. Поэтому он имеет сезонный характер (табл. 6).

В Харьковской области хищник уничтожает большое количество вредителей сельского и лесного хозяйства, а в охотничьем хозяйстве еще выполняет и роль санитаря. К основным кормам относятся мышевидные грызуны, сурки, зайцы, птицы, растительные корма, к второстепенным – копытные, рыбы, пресмыкающиеся, насекомые. В рационе преимущественно встречаются мышевидные грызуны. Роль зайцев в питании не столь велика, хотя в некоторых районах лисица истребляет их довольно интенсивно. Нападает также на молодых косуль. Систематически поедает насекомых и плоды. В период бескормицы питается падалью, отбросами и пр. Иногда нападает на домашнюю птицу.

Зараженность лисиц особо опасными инфекциями

За счет высокой численности и значительной подвижности лисица может считаться главным природным источником бешенства в Харьковской области. К тому же ее санитарно-эпидемиологическое значение усиливается возможностью постоянных контактов с домашними животными. Так, в регионе исследований постоянно регистрируются нападения больных лисиц на крупный и мелкий рогатый скот, собак. Дальнейший рост численности хищника, который наблюдается в последние годы, может привести к ухудшению санитарно-эпидемиологического состояния в регионе.

По данным отдела особо опасных инфекций ОблСЭС, удельный вес заболевания лисиц бешенством в 1985–2010 годах на территории области составлял в среднем 0,32% (от 0,02% до 1,45%) (рис. 1).

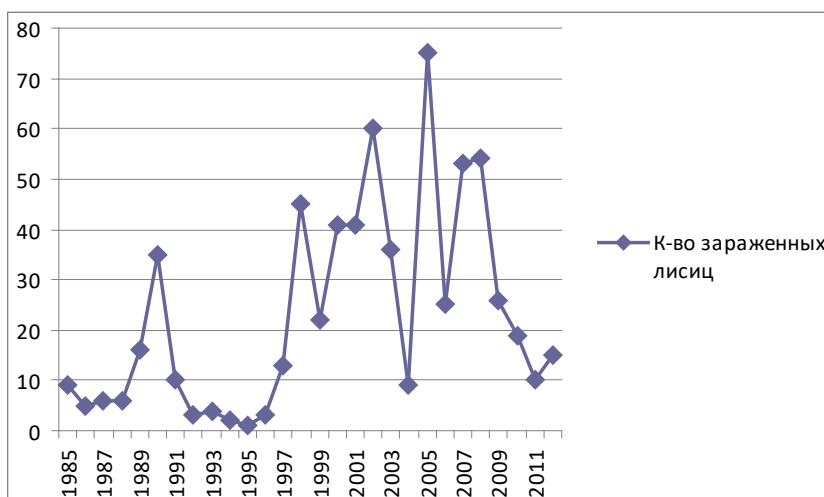


Рис. 1. Зараженность лисицы бешенством на территории Харьковской области (Наглов, Обоскалова, 2005)

На территории Харьковской области лисица также является носителем туляремии, лептоспироза, иерсиниоза – за период 1999–2012 гг. удельный вес заболевших животных составлял в среднем 25 % (табл. 7). Заболевание лисицы, на наш взгляд, связано с тем, что основные корма хищника – мышевидные грызуны – являются главными носителями инфекции. Хищник на территории региона также является носителем возбудителей заболеваний, вредных для человека и домашних животных, таких как токсокароз, спироцеркоз, аскаридоз и мезоцестоидоз (Наглов, Обоскалова, 2005).

Польза, которую приносит этот вид уничтожением вредных грызунов и насекомых, а также как поставщик мехового сырья, значительно перекрывает вред, который он наносит. Негативная роль лисицы заключается, в первую очередь, в обеспечении циркуляции возбудителей болезней, которые являются угрожающими для человека и домашних животных.

Также у добытых животных были обнаружены паразиты: *Toxocara* spp. (Ascaridida, Nematoda) – 14 взрослых особей, в кишечнике у 10 самцов и 4 самок; 3 взрослых особи в желудке

у 2 самок и 1 самца). Кроме того, добытые в 2013–2015 гг. в Великобурлукском районе лисицы были заражены блохами: барсучьими, *Paraceras melis* (самец), лисьими, *Chaetopsylla globiceps* (2 самки).

Таблица 7.

Результаты анализа добытых лисиц на зараженность эпидемиологически опасными заболеваниями

№ п/п	Пол	Возраст	Туляремия	РНАт	РНГА	Лептоспироз (серол.)	Иерсиниоз (бак. посев)	РНГА
1	М	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
2	F	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
3	М	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
4	F	rog	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
5	М	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
6	М	ad	отр.	отр.	отр.	1;160 Ромона	отр.	отр.
7	F	yal	отр.	отр.	отр.	1;320 Ромона	отр.	отр.
8	М	ad	отр.	отр.	отр.	1;20 Ромона	отр.	отр.
9	F	yal	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
10	М	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
11	М	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
12	М	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
13	F	yal	отр.	1;80	отр.	1;320	отр.	отр.
14	F	yal	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
15	F	rog	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
16	М	ad	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.

В последнее время отмечено появление лисиц в окрестностях городов. Несмотря на неполные данные, за последние 37 лет появление лисиц отмечено в 56,8% лет периода проведения наблюдений (21 год). Обычно, хотя и не всегда, бешеные лисицы появлялись в городах в периоды высокой эпизоотической активности природных очагов. 32 из 36 случаев выявления бешеных лисиц в городах были отмечены именно в эти периоды (84,2%) (Наглов, Обоскалова, 2005).

В 2016 г. появление животных в черте г. Харькова приобрело обычный характер.

Выводы

1. Из 28 краниометрических признаков черепа наиболее вариативным является ширина надглазничных отростков у самок ($Cv=10,54$); высока вариативность таких признаков, как ширина хоан и ширина верхнего клыка у основания; ширина роострума и длина носовых костей, ширина слуховой капсулы и длина мозгового отдела. Вариативность 19 признаков черепа у самцов выше, чем у самок. Наименее вариативны ширина мозговой капсулы (как у самцов, так и у самок), длина верхнего хищнического зуба и ширина между слуховыми отверстиями (у самцов). Различия краниометрических признаков самцов и самок достоверны по 6 параметрам ($p<0,05$). Полученная выборка в основном соответствует данным Л.С.Шевченко (1987 г.) по степной зоне, что согласуется с зонированием Харьковской области.

2. На территории Харьковской области в последнее время прослеживается тенденция к увеличению численности лисицы. Популяция ее стабильна. Выяснено, что антропогенная нагрузка на уголья, в первую очередь хозяйственная деятельность и интенсивность охоты на исследуемой территории, существенно не влияет на численность вида.

3. Кормовой рацион лисицы в Харьковской области включает 22 вида позвоночных, 13 видов беспозвоночных животных и 10 видов растений. Рацион лисицы имеет сезонные различия. Повсеместно основными кормами, с которыми у лисицы существуют жизненно необходимые связи

в исследуемом регионе, являются мышевидные грызуны, зайцы, сурки, растительные корма. Второстепенные корма – пресмыкающиеся, насекомые.

4. Лисица – почти единственный крупный массовый хищник в Харьковской области, который является последним звеном цепи питания. Наибольшее практическое значение приобретают отношения «хищник–жертва», которые определяют ее роль в регуляции численности отдельных видов и значение этого вида как носителя эпидемиологически опасных болезней.

Список литературы

- Аверин В.Г. Краткий обзор вредных и полезных млекопитающих Харьковской губернии // Бюлл. ВСХ. – 1915. – №1. – 15с. /Averin V.G. Kratkiy obzor vrednykh i poleznykh mlekopitayushchikh Khar'kovskoy gubernii // Byull. VSKh. – 1915. – №1. – 15s./
- Аверин В.Г. Животный мир (Харьковская губерния) // Природа и население Слободской Украины: Харьковская губерния. Пособие по родиноведению. – Харьков: Изд-во «Союз», 1918. – С. 155–212. /Averin V.G. Zhivotnyy mir (Khar'kovskaya guberniya) // Priroda i naseleniye Slobodskoy Ukrainy: Khar'kovskaya guberniya. Posobiye po rodinovedeniyu. – Khar'kov: Izd-vo «Soyuz», 1918. – S. 155–212./
- Антонец Н.В. Руда лисиця (*Vulpes vulpes* L.) у Дніпровсько-Орільському природному заповіднику // Матер. міжнар. конф. «Фальцфейнівські читання». – Херсон: ХДУ, 2009. – С. 4–9. /Antonets' N.V. Ruda lisytsya (*Vulpes vulpes* L.) u Dniprovs'ko-Oriil's'komu pryrodnomu zapovidnyku // Mater. mizhnar. konf. «Fal'tsfeynivs'ki chytannya». – Kherson: KhDU, 2009. – S. 4–9./
- Атлас гелмінтів тварин / І.С.Дахно, А.В.Березовський, В.Д.Галат та ін. – К.: Ветінформ, 2001. – 118с. /Atlas gel'mintiv tvaryn / I.S.Dakhno, A.V.Berezovs'kiy, V.D.Galat ta in. – K.: Vetinform, 2001. – 118s./
- Баник М.В., Скоробогатов Е.В., Атемасов А.А. Особенности биотопического распределения обыкновенной лисицы (*Vulpes vulpes* L.) в Украине // Чтения памяти А.П.Крапивного. Материалы междунар. науч. конф., посвящённой 80-летию профессора А.П.Крапивного. – Харьков: Изд-во ХНУ имени В.Н.Каразина, 2009. – С. 117–128. /Banik M.V., Skorobogatov Ye.V., Atemasov A.A. Osobennosti biotopicheskogo raspredeleniya obyknovennoy lisitsy (*Vulpes vulpes* L.) v Ukraine // Chteniya pamyati A.P.Krapivnogo. Materialy mezhdun. nauch. konf., posvyashchyonnoy 80-letiyu professora A.P.Krapivnogo. – Khar'kov: Izd-vo KhNU imeni V.N.Karazina, 2009. – S. 117–128./
- Вайсфельд М.А. Красная лисица // Промысловые животные СССР и среда их обитания. Песец, лисица, енотовидная собака. – М.: Наука, 1985. – С. 116–145. /Vaysfel'd M.A. Krasnaya lisitsa // Promyslovyye zhivotnyye SSSR i sreda ikh obitaniya. Pesets, lisitsa, yenotovidnaya sobaka. – M.: Nauka, 1985. – S. 116–145./
- Домнич В.И. Динамика численности популяции лисицы в Украине // Науковий вісник НЛТУ України. – 2010. – Вип.2014. – С. 22–32. /Domnich V.I. Dinamika chislennosti populyatsii lisitsy v Ukraine // Naukovyy visnyk NLTU Ukrainy. – 2010. – Vyp.2014. – S. 22–32./
- Домнич В.И., Лебедева Н.И., Вовченко В.Е., Стрельченко В.И. Влияние лисицы обыкновенной (*Vulpes vulpes*) на орнитокомплекс Азово-Сивашского Природного Национального парка // Тези доповідей наукових конференцій викладачів і студентів університету. – Запоріжжя, 1995. – Вип.V, частина I. – С. 93–94. /Domnich V.I., Lebedeva N.I., Vovchenko V.Ye., Strel'chenko V.I. Vliyaniye lisitsy obyknovennoy (*Vulpes vulpes*) na ornitokompleks Azovo-Sivashskogo Prirodnogo Natsional'nogo parka // Tezy dopovidey naukovykh konferentsiy vykladachiv i studentiv universytetu. – Zaporizhzhya, 1995. – Vyp.V, chastyna I. – S. 93–94./
- Королев А. К морфологии и экологии обыкновенной лисицы таежной зоны европейского северо-востока // Вестник института биологии Коми НЦ УрО РАН. – 2004. – №8 (82). – С. 20–27. /Korolev A. K morfologii i ekologii obyknovennoy lisitsy tayezhnoy zony yevropeyskogo severo-vostoka // Vestnik instituta biologii Komi NC UrO RAN. – 2004. – №8 (82). – S. 20–27./
- Лебедева Н.И. Морфологические особенности обыкновенной лисицы (*Vulpes vulpes* L., 1758) Нижнего Приднепровья // Вісник Запорізького держ. ун-ту. – 2000. – №2. – С. 210–215. /Lebedeva N.I. Morfologicheskiye osobennosti obyknovennoy lisitsy (*Vulpes vulpes* L., 1758) Nizhnego Pridneprov'ya // Visnyk Zaporiz'kogo derzh. un-tu. – 2000. – №2. – S. 210–215./
- Легейда И.С. Близость водоема как фактор пространственного распределения лисьих нор // Вісн. Луганського держ. пед. ун-ту ім. Т.Г.Шевченка. Біол. науки. – 2002. – №1. – С. 178–183. /Legeyda I.S. Blizost' vodoyema kak faktor prostranstvennogo raspredeleniya lis'ikh nor // Visn. Lugans'kogo derzh. ped. un-tu im. T.G.Shevchenka. Biol. nauky. – 2002. – №1. – S. 178–183./
- Лиманский С.В., Кондратенко А.В. Современное состояние териофауны заповедника «Меловая флора» // Вісн. Луганського держ. пед. ун-ту ім. Т.Г.Шевченка. Біол. науки. – 2002. – №1. – С. 25–28. /Limanskiy S.V., Kondratenko A.V. Sovremennoye sostoyaniye teriofauny zapovednika «Melovaya flora» // Visn. Lugans'kogo derzh. ped. un-tu im. T.G.Shevchenka. Biol. nauky. – 2002. – №1. – S. 25–28./
- Мигулін О.О. Лисиця звичайна // Звірі УРСР. – Київ: АН УРСР, 1938. – С. 143–153. /Migulin O.O. Lisytsya zvychayna // Zviri URSR. – Kyiv: AN URSR, 1938. – S. 143–153./

- Наглов В., Обоскалова Д. Особливості циркуляції сказу тварин у містах Харківської області // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. – 2005. – Вип.17. – С.67. /Naglov V., Oboskalova D. Osoblyvosti tsyrkulyatsii skazu tvaryn u mistakh Kharkivs'koi oblasti // Naukovyy visnyk Uzhgorods'kogo universytetu. Seriya Biologiya. – 2005. – Vyp.17. – S.67./
- Пахомов А.Е., Рева А.А. Значение байрачных дубрав в сохранении видового разнообразия и функционального потенциала териофауны плакорных местообитаний Степного Приднепровья // Актуальні питання збереження і відновлення степових екосистем: матеріали міжнар. наук. конф., присв. 100-річчю заповідання асканійського степу. – Асканія-Нова, 1998. – С. 81–84. /Pakhomov A.Ye., Reva A.A. Znachenije bayrachnykh dubrav v sokhranenii vidovogo raznobraziya i funktsional'nogo potentsiala teriofauny plakornykh mestoobitaniy Stepnogo Pridneprov'ya // Aktual'ni pytannya zberezheniya i vidnovlennya stepovykh ekosystem: materialy mizhnar. nauk. konf., prysv. 100-richchyu zapovidannya askaniys'kogo stepu. – Askaniya-Nova, 1998. – S. 81–84./
- Роженко Н.В. Деякі результати дослідження екології лисиці звичайної у Причорномор'ї // Вісн. Луганського держ. пед. ун-ту ім. Т.Г.Шевченка. Біол. науки. – 2002. – №1. – С. 84–89. /Rozenko N.V. Deyaki rezul'taty doslidzhennya ekologii lysytsi zvychnoyi u Prychornomor'ji // Visn. Lugans'kogo derzh. ped. un-tu im. T.G.Shevchenka. Biol. nauky. – 2002. – №1. – S. 84–89./
- Тимошенко В.А. Хищные млекопитающие заповедника «Хомутовская степь» // Вісн. Луганського держ. пед. ун-ту ім. Т.Г.Шевченка. Біол. науки. – 2002. – №1. – С. 192–194. /Timoshenkov V.A. Khishhnyye mlekopitayushchiye zapovednika «Khomutovskaya step'» // Visn. Lugans'kogo derzh. ped. un-tu im. T.G.Shevchenka. Biol. nauky. – 2002. – №1. – S. 192–194./
- Шевченко Л.С. Краниометрические показатели обыкновенной лисицы Европейской части СССР // Вестник зоологии. – 1987. – №3. – С. 63–71. /Shevchenko L.S. Kраниometricheskiye pokazateli obyknovennoy lisitsy Yevropeyskoy chasti SSSR // Vestnik zoologii. – 1987. – №3. – S. 63–71./
- Шевченко Л.С., Борисовец Б.Э. Внутривидовая структура хищных млекопитающих Европейской части СССР (с использованием многомерного анализа). Сообщение 2. Лисица обыкновенная // Вестник зоологии. – 1990. – №4. – С. 46–57. /Shevchenko L.S., Borisovets B.E. Vnutrividovaya struktura khishhnykh mlekopitayushchikh Yevropeyskoy chasti SSSR (s ispol'zovaniyem mnogomernogo analiza). Soobshcheniye 2. Lisitsa obyknovennaya // Vestnik zoologii. – 1990. – №4. – S. 46–57./
- Шейгас І.М. Регіональні особливості обліків чисельності основних видів мисливських тварин у загальній системі інвентаризації териофауни // Лісівництво і агролісомеліорація. – 2002. – Вип.102. – С. 106–112. /Sheygas I.M. Regional'ni osoblyvosti oblikiv chysel'nosti osnovnykh vydiv myslivs'kykh tvaryn u zagal'niy systemi inventaryzatsii teriofauny // Lisivnytstvo i agrolisomeliyatsiya. – 2002. – Vyp.102. – S. 106–112./
- Cavallini P. Ranging behaviour of red foxes during the mating and breeding seasons // Ethol. Ecol. & Evol. – 1996. – Vol.8. – P. 57–65.

Представлено: Й.В.Царик / Presented by: I.V.Tsaryk
Рецензент: Т.А.Атемасова / Reviewer: T.A.Atemasova
Подано до редакції / Received: 05.09.2016

••• КРІОБІОЛОГІЯ ••• CRYOBIOLOGY •••

УДК: 591.111.1-975:547.422:611.651.1.08

Значение эмбриональной телячьей сыворотки в составе гиперосмолярных растворов 1,2-пропандиола для сохранения морфологической целостности овариальной ткани И.А.Трутаева, В.В.Кірошка, А.А.Гавас, В.А.Бондаренко

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (Харьков, Украина)
irynatrutaieva@gmail.com*

Для оптимизации криоконсервирования овариальной ткани с целью ее использования в клинической практике был проведен сравнительный анализ динамики объемной и морфологической трансформации ткани яичника при поэтапном насыщении (1,5–3 М) 1,2-пропандиолом (1,2-ПД) в средах различного состава. Показано, что сохранность структуры овариальной ткани и объемные изменения в условиях действия гиперосмолярного раствора проникающего криопротектора (КП) определяются композиционным составом среды насыщения и временем экспозиции. При 10 мин инкубации ткани во всех исследуемых случаях не отмечалось морфологических и объемных изменений в структуре ткани на этапе насыщения в растворах 1,2-ПД. Увеличение времени экспозиции до 30 мин выявило сжатие клеток в среде насыщения, содержащей 230 мМ NaCl, до 40% в 3 М 1,2-ПД. Присутствие эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) в аналогичных условиях приводило к набуханию клеток как в 1,5 М концентрации 1,2-ПД, так и в 3 М. Объем ооцитов при увеличении концентрации 1,2-ПД оставался в пределах физиологических значений при использовании исходной изотонической среды. Экспериментально доказано, что максимальная морфологическая сохранность овариальной ткани после насыщения/удаления КП достигалась при введении 10% ЭТС в гиперосмолярные растворы.

Ключевые слова: овариальная ткань, 1,2-пропандиол, объем ооцитов, морфологическая структура.

Значення ембріональної телячої сироватки в складі гіперосмолярних розчинів 1,2-пропандіолу для збереження морфологічної цілісності оваріальної тканини

И.А.Трутаєва, В.В.Кірошка, А.А.Гавас, В.А.Бондаренко

Для оптимізації криоконсервування оваріальної тканини з метою її використання у клінічній практиці було проведено порівняльний аналіз динаміки об'ємної і морфологічної трансформації тканини яєчника при поетапному насиченні (1,5–3 М) 1,2-пропандіолом (1,2-ПД) в середовищах різного складу. Показано, що збереження структури оваріальної тканини і об'ємні зміни в умовах дії гіперосмолярного розчину проникаючого криопротектора (КП) визначаються композиційним складом середовища насичення і часом експозиції. При 10 хв інкубації тканини у всіх досліджуваних випадках не відзначалося морфологічних і об'ємних змін в структурі тканини на етапі насичення в розчинах 1,2-ПД. Збільшення часу експозиції до 30 хв виявило стиснення клітин в середовищі насичення, яке містить 230 мМ NaCl, до 40% в 3 М 1,2-ПД. Присутність ембріональної телячої сироватки (ЕТС) в аналогічних умовах приводило до набухання клітин як в 1,5 М концентрації 1,2-ПД, так і в 3 М. Об'єм ооцитів при збільшенні концентрації 1,2-ПД залишався в межах фізіологічних значень при використанні вихідного ізотонічного середовища. Експериментально доведено, що максимальне морфологічне збереження оваріальної тканини після насичення/видалення КП досягалася при введенні 10% ЕТС в гіперосмолярні розчини КП.

Ключові слова: оваріальна тканина, 1,2-пропандіол, об'єм ооцитів, морфологічна структура.

Importance of fetal bovine serum introduction in hyperosmolar solutions of 1,2-propanediol for preserving morphological integrity of ovarian tissue

I.A.Trutaieva, V.V.Kiroshka, A.A.Gawas, V.A.Bondarenko

For the optimization of cryopreservation of ovarian tissue with the purpose of its using in clinical practice there have been carried out comparative analysis of the dynamics of volume and morphological transformation of the tissue at stepwise adding (1,5–3 M) of 1,2-propanediol (PROH) in various media. It has been shown that

preservation of ovarian tissue structure and volume changes in the conditions of action of hyperosmolar solution of penetrating cryoprotective agent (CPA) are defined by the composition of the saturation solution and exposure time. At 10 minutes of tissues incubation in all studied cases there were observed no morphological changes in the volume and structure of tissue on the stage of saturation in PROH solutions. Increasing exposure time to 30 minutes led to cell compression to 40% in saturation medium containing 230 mM NaCl in 3 M PROH. The presence of fetal bovine serum (FBS) in similar conditions caused cells swelling both in 1.5 M concentration of PROH and 3 M. Oocytes volume remained within physiological values when using initial isotonic medium with increasing PROH concentration. It has been experimentally proved that the maximum morphological preservation of ovarian tissue after CPA saturation/removal is achieved at introduction of 10% FBS in hyperosmolar solutions of CPA.

Key words: *ovarian tissue, 1,2-propanediol, volume of oocytes, morphological structure.*

Введение

В настоящее время трансплантация криоконсервированной овариальной ткани является одним из наиболее перспективных методов сохранения фертильности у женщин после курсов химио- и радиотерапии, а также при различных патологиях яичников (Demeestere et al., 2006b). Преимущества криоконсервирования овариальной ткани заключаются в отсутствии процедуры предварительной гормональной стимуляции, возможности забора различных слоев ткани в любое удобное время, достаточного фолликулярного запаса (Demeestere et al., 2009). В клинической практике, в основном, применяется протокол медленного замораживания овариальной ткани, разработанный (Newton, Aubard, 1996) и модифицированный (Demirci et al., 2001), однако эффективность его остается достаточно низкой (Andersen et al., 2008; Demeestere et al., 2006a; Donnez et al., 2004). Сложность криоконсервирования овариальной ткани вызывает трудности уже на первом этапе, а именно при экспозиции ее фрагментов в растворах криопротекторов (КП). Наличие плотных межклеточных контактов в структуре ткани, приводящих к неравномерной динамике проникновения КП и ограничению движения жидкости в межклеточном пространстве, вызывает объемные изменения и повреждение соматических клеток и ооцита (Woods et al., 2004). Осмотические эффекты проникающих КП при взаимодействии с ооцитами контролируются различными вариациями электролитного состава сред инкубации, а также временем и температурой экспозиции. Для фрагментов овариальной ткани подбор композиционного состава среды инкубации, времени и температуры осуществляется эмпирически на основании экспериментальных данных, полученных для ооцитов и эмбрионов (Amorim et al., 2004; Santos et al., 2007).

До настоящего времени вопросы, связанные с осмотической чувствительностью ооцитов в структуре ткани яичника при инкубации в растворах, содержащих КП, остаются открытыми. Повышение осмотической устойчивости и сохранности ткани яичника достигается при ступенчатом добавлении/удалении проникающих КП (Mazur, Schneider, 1986; Newton et al., 1999), а также введением в состав криозащитных сред непроникающих белковых компонентов (эмбриональная телячья сыворотка – ЭТС, человеческий альбумин, аутологичная сыворотка) (Hreinsson et al., 2003) либо же осмотически активных сахаров (сахароза, трегалоза и раффиноза) (Neto et al., 2008; Schubert et al., 2005).

Цель работы – исследовать сохранность морфологической структуры овариальной ткани и динамику объемных изменений ооцитов в зависимости от времени инкубации в криозащитных средах различного состава.

Материалы и методы

Эксперименты проведены в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными V Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013) и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Объектом исследования служили фрагменты (0,5–1 мм³) овариальной ткани крыс линии Вистар, которые содержались в стандартных условиях вивария ИПКиК НАН Украины.

Для изучения осмотической чувствительности насыщение фрагментов овариальной ткани проводили в средах различного электролитного состава: среда 1 – 130 mM NaCl, 20 mM KCl, 200 mM сахарозы, 10 mM фосфатного буфера при pH=7,4 (490 мОсмоль/л); среда 2 – 230 mM NaCl, 20 mM KCl, 10 mM фосфатного буфера при pH=7,4 (490 мОсмоль/л); среда 3 – 230 mM NaCl, 20 mM

KCl, 10 мМ фосфатного буфера, 10% ЭТС, рН=7,4 (490 мОсмоль/л). Осмотическое давление исходных растворов определяли с помощью осмометра.

В качестве КП использовали 1,2-ПД. Фрагменты овариальной ткани помещали в 1 мл раствора. Добавление КП осуществляли в два этапа (0 М → 1,5 М → 3 М 1,2-ПД), каждый длительностью в 10 и 30 мин (в разных группах). Как насыщение, так и отмывание фрагментов овариальной ткани проводилось при комнатной температуре (20–22°C). Удаление КП осуществляли 3-кратным добавлением отмывочной среды (130 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 10 мМ фосфатного буфера, 250 мМ маннита, 10% ЭТС, рН=7,4 (540 мОсм)). Следует отметить, что при первом добавлении (отмывании) отмывочный раствор дополнительно содержал 1,5 М 1,2-ПД. Время инкубации составляло 10 минут на каждом этапе.

Для морфологических исследований ткань фиксировали 2%-м раствором глutarового альдегида на 150 мМ фосфатном буфере на каждом этапе насыщения и на последней ступени отмывания во всех исследуемых средах. После чего готовили полутонкие срезы по стандартной методике (Уикли, 1975). С каждого образца делали серийные срезы толщиной 5 мкм. Каждый третий срез окрашивали толуидиновым синим. Анализировали только фолликулы с видимым ядром для исключения повторного счета одного и того же фолликула в срезе. Сохранность фолликулов была оценена как отношение количества нормальных фолликулов к их общему числу, выраженное в процентах. Деструктивные изменения фолликулов (рис. 1) были оценены по следующей классификации (Gougeon, 1986; Paynter et al., 1999): нормальные – ооцит целостный с круглым ядром и ядрышком, окруженный хорошо организованными клетками гранулезы и целостной базальной мембраной (рис. 1, А); дегенеративный тип 1 – уменьшенный в объеме ооцит, содержащий пикнотическое ядро и хорошо организованные клетки гранулезы (рис. 1, Б) и дегенеративный тип 2 – ооцит сжат, клетки гранулезы дезорганизованы и набухшие (рис. 1, В).

Исследования гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа со встроенной камерой “Axio Observer Z1” (“Carl Zeiss”, Германия) с объективом “Plan Fluor” ×20 и ×40.

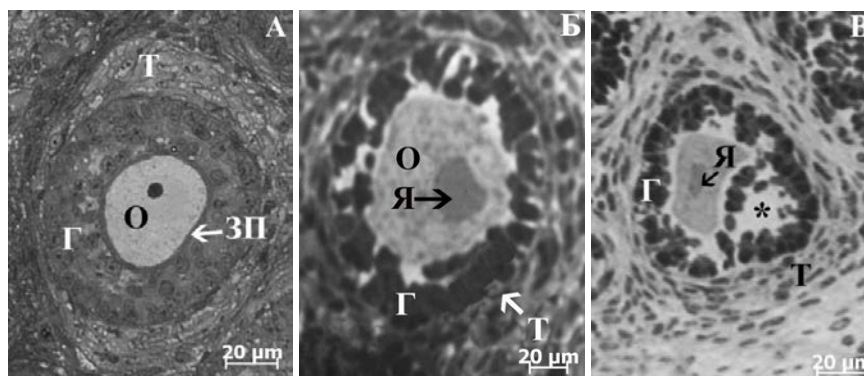


Рис. 1. Гистопрепарат неонатальной овариальной ткани после окрашивания толуидиновым синим: А – нормальный фолликул; Б – дегенеративный тип 1; В – дегенеративный тип 2; О – ооцит, Г – клетки гранулезы, Я – ядро, ЗП – зона пеллюцида, Т – клетки теки, * – аккумуляция жидкости.

Размер ооцитов анализировали с использованием компьютерной программы “Axio Vision 4.7”, объем клеток рассчитывали согласно формуле (Wang et al., 2011): $V=0,75225(A)^{1,5}$, где А – площадь поперечного сечения ооцита. Изменения объема ооцита в растворах, содержащих 1,2-ПД, определяли как $V_{\text{опыт}}/V_{\text{контроль}}$, где $V_{\text{опыт}}$ – объем ооцита в опытной группе, $V_{\text{контроль}}$ – объем интактного ооцита. При статистической обработке результатов использовали многофакторный дисперсионный анализ и t-критерий Стьюдента в пакете программы Excel. Данные представлены в виде $M \pm m$, уровень достоверности различий – $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На рис. 2 представлены объемные изменения ооцитов (среда 1, среда 2, среда 3) в структуре овариальной ткани в условиях поэтапного увеличения осмолярности (1,5 → 3 М 1,2-ПД)

при разном времени экспозиции (10 мин – рис. 2, А и 30 мин – рис. 2, Б). Видно, что при времени экспозиции 10 мин объем ооцитов достоверно не отличался от контрольных значений ($K=1$) независимо от концентрации 1,2-ПД и состава исходной среды инкубации. Увеличение времени инкубации до 30 мин выявило различные объемные изменения ооцитов в зависимости от состава среды и концентрации 1,2-ПД. Так, при инкубации фрагментов ткани в среде 1 не наблюдалось достоверных изменений объема ооцитов в 1,5 и 3 М концентрации КП (рис. 2, Б). В случае использования среды 2 происходило незначительное уменьшение объема клеток при инкубации в 1,5 М 1,2-ПД и сжатие клеток на 35% относительно контроля в 3 М концентрации КП. Введение 10% ЭТС в состав среды насыщения вызывало увеличение объема ооцитов на 20% при данном времени экспозиции как в 1,5 М, так и в 3 М 1,2-ПД (рис. 2, Б).

Как следует из рис. 3, А, количество нормальных фолликулов было в пределах 80–95 % при времени экспозиции фрагментов ткани в течение 10 мин независимо от состава исходной среды инкубации и конечной концентрации КП. Увеличение времени инкубации (рис. 3, Б) показало снижение уровня сохранности фолликулов до 60–70 % при использовании исходных сред 1 и 2 как в случае 1,5 М концентрации КП, так и 3 М. Наличие в составе исходной среды белкового компонента (10% ЭТС, среда 3) приводило к повышению данного показателя до 90%.

Анализ сохранности фолликулов проводили только в случае удаления 3 М раствора КП. Так, снижение уровня сохранности фолликулов до 30–50 % было независимо от времени инкубации после насыщения изотонической средой 1 (рис. 3, В). Аналогичный результат был получен при экспозиции ткани в течение 10 мин в случае использования раствора 2 для насыщения. Максимальный уровень сохранности фолликулов после удаления КП был отмечен при введении в исходную среду насыщения белкового компонента (исходная среда 3). При этом уровень сохранности фолликулов на этапе удаления КП составлял 80–90 % как при 10, так и при 30 мин экспозиции.

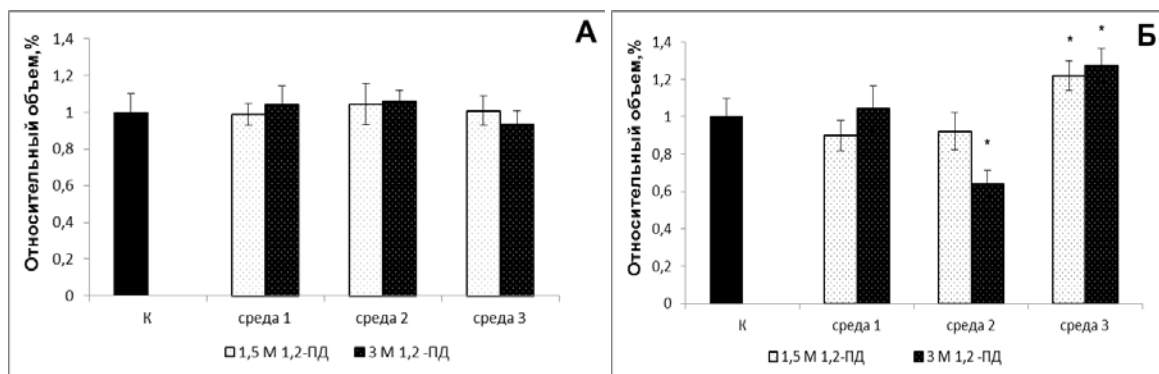


Рис. 2. Объемные изменения ооцитов при насыщении 1,2-ПД в течение 10 мин (А) и 30 мин (Б)

На рис. 4, 5 показана морфологическая структура овариальной ткани после удаления 3М 1,2-ПД. Видно, что уровень структурных повреждений в ткани определялся временем экспозиции и составом исходной среды насыщения. В случае применения исходной среды 1 (130 NaCl) на гистологических препаратах (рис. 4, А) отмечался выраженный отек стромы овариальной ткани, сжатие ооцита и клеток гранулезы, а также нарушение межклеточных контактов. При этом ооплазма имела мелкозернистую структуру, ядро было слегка деформировано. Использование среды 2 (230 NaCl) приводило к сохранению межклеточных контактов в структуре фолликула. В этом случае наблюдалось уменьшение размеров ооцитов, причем более значительное в антральных и преантральных фолликулах. При этом структура примордиальных фолликулов оставалась в пределах физиологической нормы. Минимальные деструктивные повреждения морфологии овариальной ткани после удаления КП отмечались при введении в исходный раствор насыщения белкового компонента ЭТС (среда 3). Видно (рис. 4, В), что структура фолликулов всех стадий фолликулогенеза была сохранена, отмечались только незначительные структурные изменения в строме ткани.

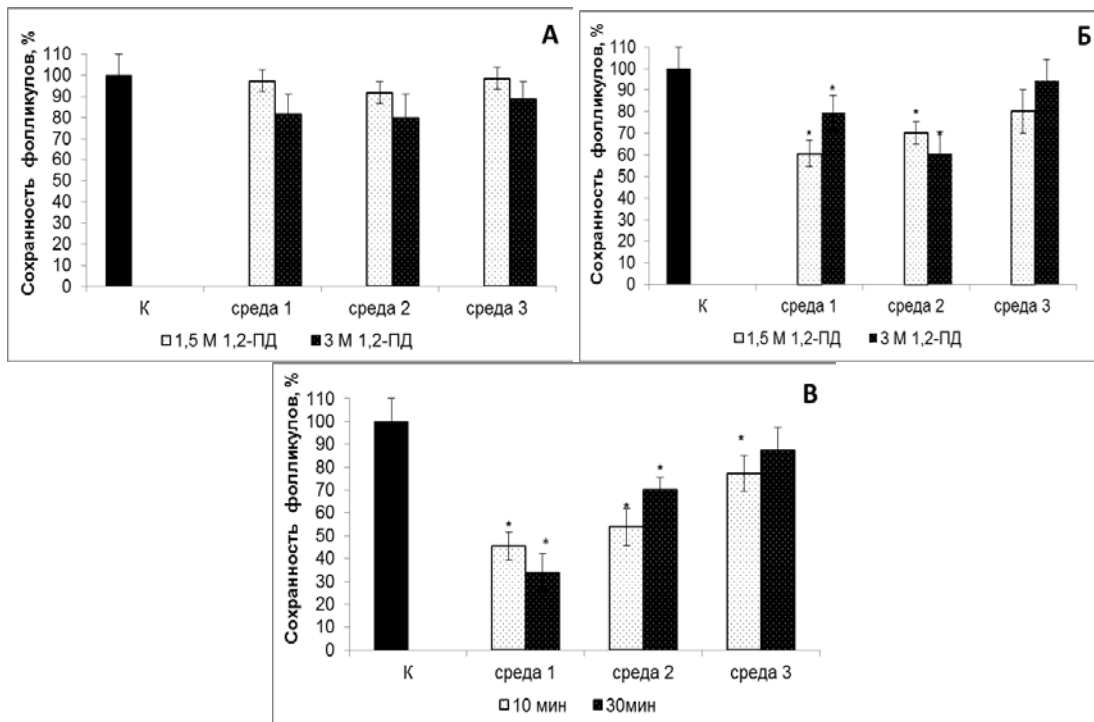


Рис. 3. Уровень сохранности фолликулов при насыщении при времени экспозиции 10 мин (А) и 30 мин (Б) и после отмывания от 3 М 1,2-ПД (В)

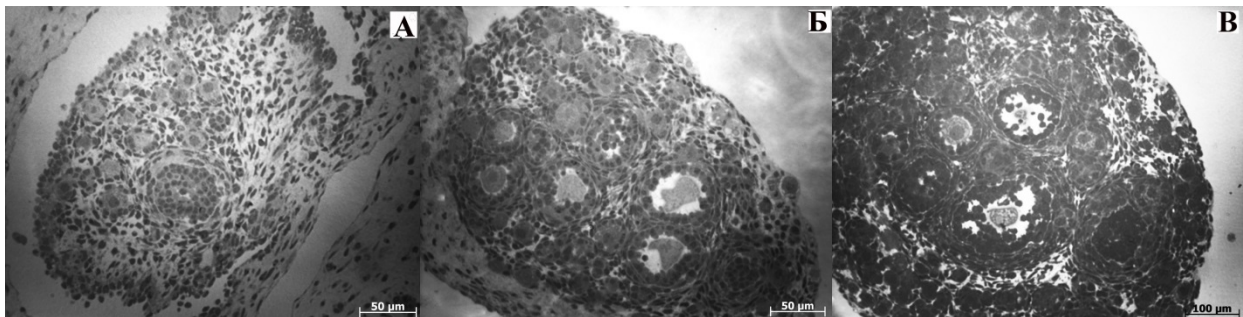


Рис. 4. Морфологические изменения овариальной ткани при 10 мин экспозиции, А – экспозиция в среде 1, Б – среде 2, В – среде 3

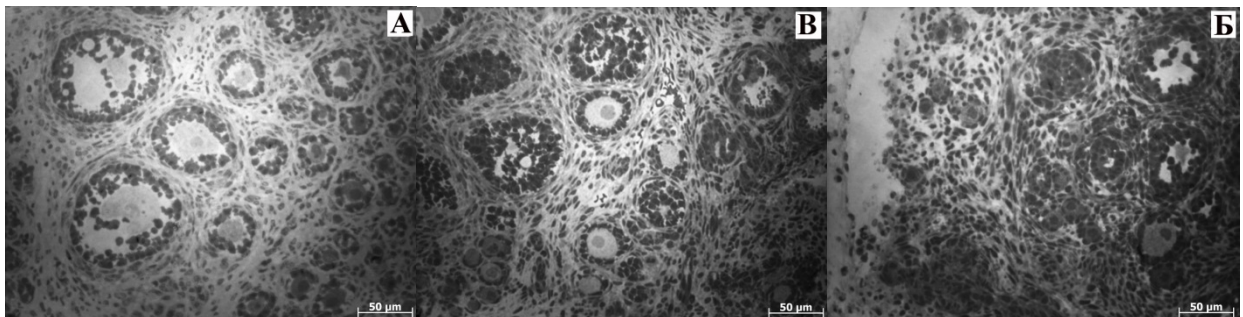


Рис. 5. Морфологические изменения овариальной ткани при 30 мин экспозиции, А – экспозиция в среде 1, Б – среде 2, В – среде 3

Как следует из гистологических препаратов, представленных на рис. 5 А, Б, В, увеличение времени экспозиции с КП до 30 мин приводило к деструкции ткани после удаления КП. Во всех случаях наблюдалась аккумуляция жидкости в строме, которая приводила к различным нарушениям сложной архитектоники овариальной ткани в зависимости от исходной среды насыщения.

Так, использование исходной среды 1 (рис. 5, А) вызывало сильное сжатие ооцита и клеток гранулезы, а также нарушение межклеточных контактов. При насыщении фрагментов в среде 2 (рис. 5, Б) ооцит сохранял свою округлую форму, тогда как клетки гранулезы были уменьшены в объеме. В случае среды 3 (рис. 5, В) наряду с набуханием ооцитов и клеток гранулезы отмечалось сохранение плотных контактов между ними, несмотря на аккумуляцию жидкости в межтканевом пространстве.

Экспериментальные данные, приведенные выше, однозначно указывают на то, что сохранность структуры овариальной ткани и объемные изменения в условиях действия гиперосмолярного раствора проникающего КП, определяются композиционным составом среды насыщения и временем экспозиции. При 10 мин инкубации ткани в гиперосмолярных растворах 1,2-ПД не отмечалось морфологических и объемных изменений в структуре ткани на этапе насыщения во всех исследуемых случаях. Увеличение времени экспозиции до 30 мин выявило качественные отличия в зависимости от состава исходной среды насыщения. Так, при использовании исходной изотонической среды (среда 1) объем ооцитов при увеличении концентрации 1,2-ПД оставался в пределах физиологических значений. Повышение концентрации NaCl (среда 2) и введение белкового компонента – ЭТС (среда 3) вызывало разнонаправленный ответ морфологических и объемных изменений овариальной ткани при 30 мин экспозиции. Насыщение ткани средой 2 вызывало незначительное сжатие клеток в 1,5 М концентрации КП и дальнейшее уменьшение объема на 40% в 3 М 1,2-ПД. Тогда как применение среды 3 приводило к набуханию клеток как в 1,5 М концентрации 1,2-ПД, так и в 3М.

Несмотря на указанный выше различный осмотический ответ клеток при насыщении ткани средами различного состава, не было выявлено корреляции между объемными изменениями ооцитов и морфологической целостностью ткани в условиях насыщения/удаления КП. Максимальный уровень сохранности фолликулов после удаления КП был отмечен при использовании исходной среды 3. Этот факт, по всей видимости, связан со снижением осмотической чувствительности клеток за счет введения белкового компонента в состав гиперосмолярных сред.

J.M.Shepard и соавт. (Shepard et al., 1987) было показано, что присутствие альбумина в гипертонической среде приводило к нарушению работы адаптационного механизма поддержания постоянства клеточного объема RVI (regulatory volume increase). При этом не наблюдалось первоначальное сжатие клеток при повышении осмолярности внеклеточной среды, что, вероятно, связано с проникновением альбумина внутрь клетки. Экспериментально было доказано, что происходит увеличение количества внутриклеточного ¹²⁵I-альбумина в эндотелиальных клетках при их культивировании в гипертонических средах. В работах (Ghinea et al., 1988; Ghinea et al., 1989; Siflinger-Birnboim, Malik, 1993; Schnitzer, Bravo, 1993) установлено, что на поверхности мембран фибробластов, эндотелиальных клеток и клеток гладкой мускулатуры существуют специфические рецепторы для связывания альбумина и его последующего трансцитоза.

Согласно нашим данным (рис. 2, Б), увеличение объема ооцитов в гипертонических средах КП в присутствии 10% ЭТС, по всей видимости, можно объяснить сочетанным проникновением в клетку 1,2-ПД и альбумина. В настоящее время установлено, что для ооцитов коэффициент проницаемости мембраны для молекул воды выше, чем для КП (ДМСО, ЭГ, 1,2-ПД), и динамика объемных изменений клеток при экспозиции в гиперосмолярных растворах КП носит двухфазный характер (Le Gal et al., 1994; Wang et al., 2011). Показано, что в течение первых минут экспозиции ооцитов в 1,5 М КП (ДМСО, ЭГ, 1,2-ПД) происходит первоначальное сжатие клеток, связанное с выходом осмотически активной воды, после чего следует восстановление их объема до 90–95 % за счет диффузии молекул воды и КП внутрь клетки по градиенту концентрации (Songsasen et al., 2002). При введении белкового компонента, в наших экспериментальных условиях, трансцитоз альбумина, очевидно, компенсировал первоначальное сжатие клеток в гиперосмолярных растворах КП. Это изменяло осмотическую чувствительность клеток и определяло максимальную

морфологическую сохранность (рис. 3 А, Б, В) после насыщения/удаления КП средами, содержащими 10% ЭТС.

Представленные выше результаты позволяют сделать заключение, что введение белкового компонента не только на этапе удаления КП из ткани, а и на этапе насыщения оказывало существенное влияние на сохранность морфологической структуры и динамику объемных изменений в условиях действия гиперосмолярных растворов КП.

Список литературы

- Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих – М.: Мир, 1975. – 324с. /Uikli B. Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh– М.: Mir, 1975. – 324 s./
- Amorim C.A., Rondina D., Rodrigues A. P.R. et al. Cryopreservation of isolated ovine primordial follicles with propylene glycol and glycerol // *Fertility and Sterility*. – 2004. – Vol.81, no 1. – P. 735–740.
- Andersen C.Y., Rosendahl M., Byskov A.G. et al. Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue // *Hum. Reprod.* – 2008. – Vol.23, no 10. – P. 2266–2272.
- Demeestere I., Simon P., Buxant F. et al. Ovarian function and spontaneous pregnancy after combined heterotopic and orthotopic cryopreserved ovarian tissue transplantation in a patient previously treated with bone marrow transplantation: case report // *Hum. Reprod.* – 2006a. – Vol.21. – P. 2010–2014.
- Demeestere I., Simon P., Emiliani S. et al. Options to preserve fertility before oncological treatment: cryopreservation of ovarian tissue and its clinical application // *Acta Clin. Belg.* – 2006b. – Vol.61, no 5. – P. 259–263.
- Demeestere I., Simon P., Emiliani S. et al. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation // *Hum. Reprod. Update*. – 2009. – Vol.15, no 6. – P. 649–665.
- Demirci B., Lornage J., Salle B. et al. Follicular viability and morphology of sheep ovaries after exposure to cryoprotectant and cryopreservation with different freezing protocols // *Fertility and Sterility*. – 2001. – Vol.75. – P. 754–762.
- Donnez J., Dolmans M.M., Demylle D. et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue // *Lancet*. – 2004. – Vol.364. – P. 1405–1410.
- Ghinea N., Fixman A., Alexandru D. et al. Identification of albumin-binding proteins in capillary endothelial cells // *J. Cell Biol.* – 1988. – Vol. 107, no 1. – P. 231–239.
- Ghinea N., Eskenasy M., Simionescu M., Simionescu N. Endothelial albumin binding proteins are membrane-associated components exposed on the cell surface // *J. Cell Biol.* – 1989. – Vol.264. – P. 4755–4758.
- Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results // *Hum. Reprod.* – 1986. – No 1. – P. 81–87.
- Hreinsson J., Zhang P., Swahn M.L. et al. Cryopreservation of follicles in human ovarian cortical tissue. Comparison of serum and human serum albumin in the cryoprotectant solutions // *Hum. Reprod.* – 2003. – Vol.18. – P. 2420–2428.
- Le Gal F., Gasqui P., Renard J.P. Differential osmotic behavior of mammalian oocytes before and after maturation: a quantitative analysis using goat oocytes as a model // *Cryobiology*. – 1994. – Vol.31. – P. 154–170.
- Mazur P., Schneider U. Osmotic responses of preimplantation mouse and bovine embryos and their cryobiological implications // *Cell Biophys.* – 1986. – Vol.8. – P. 259–285.
- Siflinger-Birnboim A., Malik A.B. Neutrophil adhesion to endothelial cells impairs the effects of catalase and glutathione in preventing endothelial injury // *J. Cell Physiol.* – 1993. – Vol.155, no 2. – P. 234–239.
- Neto V., Buff S., Lornage J., Bottollier B. Effects of different freezing parameters on the morphology and viability of preantral follicles after cryopreservation of doe rabbit ovarian tissue // *Fertil. Steril.* – 2008. – Vol.89, no 5. – P. 1348–1356.
- Newton H., Aubard Y., Rutherford A. et al. Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue // *Hum. Reprod.* – 1996. – Vol.11. – P. 1487–1491.
- Newton H., Pegg D.E., Barrass R., Gosden R.G. Osmotically inactive volume, hydraulic conductivity and permeability to dimethyl sulphoxide of human mature oocytes // *Journal of Reproduction and Fertility*. – 1999. – Vol.117. – P. 27–23.
- Paynter S.J., Cooper A., Fuller B.J., Shaw R.W. Cryopreservation of bovine ovarian tissue: structural normality of follicles after thawing and culture in Vitro // *Cryobiology*. – 1999. – Vol.38. – P. 301–309.

Santos R.R., Hurk R.v.d., Rodrigues A.P.R. et al. Effect of cryopreservation on viability, activation and growth of in situ and isolated ovine early-stage follicles // *Animal Reproduction Science*. – 2007. – Vol.99. – P. 53–64.

Schnitzer J.E., Bravo J. High affinity binding, endocytosis and degradation of conformationally-modified albumins: Potential role of gp30 and gp18 as novel scavenger receptors // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol.268. – P. 7562–7570.

Schubert B., Canis M., Darcha C. et al. Human ovarian tissue from cortex surrounding benign cysts: a model to study ovarian tissue cryopreservation // *Human Reproduction*. – 2005. – Vol.20, no 7. – P. 1786–1792.

Shepard J.M., Goderie S.K., Brzyski N. et al. Effects of alterations in endothelial cell volume on transendothelial albumin permeability // *Journal of Cellular Physiology*. – 1987. – Vol.133. – P. 389–394.

Songsasen N., Ratterree M.S., VandeVoort C.A. et al. Permeability characteristics and osmotic sensitivity of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) oocytes // *Human Reproduction*. – 2002. – Vol.17, no 7. – P. 1875–1884.

Wang L., Liu J., Zhou G.-B. et al. Quantitative Investigations on the effects of exposure durations to the combined cryoprotective agents on mouse oocyte vitrification procedures // *Biology of Reproduction*. – 2011. – Vol.85. – P. 884–894.

Woods E.J., Benson J.D., Agca Y., Critser J.K. Fundamental cryobiology of reproductive cells and tissues // *Cryobiology*. – 2004. – Vol.48. – P. 146–156.

Представлено: Г.А.Семко / Presented by: G.A.Semko

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 11.07.2016

••• ФІЗИОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ••• ••• PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS •••

УДК: 616.2-022

Этиология и факторы риска внебольничной пневмонии **О.С.Бильченко, Т.С.Оспанова, О.В.Веремееенко, Е.А.Красовская, А.А.Бильченко**

Харьковский национальный медицинский университет (Харьков, Украина)
oksveremeenko@gmail.com

Среди всех инфекционных заболеваний внебольничные пневмонии (ВП) в среднем составляют 25%. При этом 5% пневмоний имеют затяжной характер, а у 30% наблюдаются осложнения, т.к. терапия остается во многих случаях малоэффективной. Это обусловлено тем, что у 30–40% больных этиология ВП остается неизвестной, а идентификация бактериальных возбудителей в большинстве случаев безуспешна, этиология же ВП у людей с ослабленным иммунитетом и лиц пожилого возраста изучена недостаточно. До сих пор ощущается потребность в знании этиологии при выборе лучшей стратегии эмпирической терапии, а также определении оптимальных сроков терапии и роли вспомогательного лечения кортикостероидами. В связи с зависимостью частоты выявления различных возбудителей ВП от факторов риска, изучение последних несомненно играет большую роль в выборе стратегии эмпирической терапии ВП. Мы наблюдали 76 больных ВП с тяжелым течением. Заболевание особенно тяжело протекало у пожилых людей на фоне сопутствующей патологии. У всех больных пневмонией с тяжелым течением выявили не менее 4 факторов риска. У больных до 60 лет к ним относятся: вредные привычки, тяжелый социальный статус, поздняя обращаемость, отсутствие лечения на догоспитальном этапе. Количество факторов риска пневмонии прогрессивно увеличивается каждые последующие 10 лет жизни больного.

Ключевые слова: *внебольничная пневмония, этиология, факторы риска, сопутствующая патология, причины смерти.*

Етіологія і фактори ризику позалікарняної пневмонії **О.С.Більченко, Т.С.Оспанова, О.В.Веремєєнко, Є.А.Красовська, А.О.Більченко**

Серед усіх інфекційних захворювань позалікарняні пневмонії (ПП) в середньому складають 25%. При цьому 5% пневмоній мають затяжний характер, а у 30% спостерігаються ускладнення, тому що терапія залишається в багатьох випадках малоефективною. Це обумовлено тим, що у 30–40% хворих етіологія ПП залишається невідомою, а ідентифікація бактеріальних збудників в більшості випадків безуспішна, етіологія ж ПП у людей з ослабленим імунітетом і осіб похилого віку вивчена недостатньо. Досі відчувається потреба в знаннях етіології при виборі кращої стратегії емпіричної терапії, а також визначенні оптимальних термінів терапії та ролі допоміжного лікування кортикостероїдами. У зв'язку із залежністю частоти виявлення різних збудників ПП від факторів ризику, вивчення останніх безсумнівно відіграє велику роль у виборі стратегії емпіричної терапії ПП. Ми вивчали 76 хворих ПП з важким перебігом. Захворювання особливо важко протікало у літніх людей на тлі супутньої патології. У всіх хворих на пневмонію з тяжким перебігом виявлено не менше 4 факторів ризику. У хворих до 60 років до них належать: шкідливі звички, несприятливий соціальний статус, пізні звернення, відсутність лікування на догоспітальному етапі. Кількість факторів ризику пневмонії прогресивно збільшується кожні наступні 10 років життя хворого.

Ключові слова: *позалікарняна пневмонія, етіологія, фактори ризику, супутня патологія, причини смерті.*

Etiology and risk factors of community-acquired pneumonia **O.S.Bilchenko, T.S.Ospanova, O.V.Veremeyenko, Ye.A.Krasovskaya, A.A.Bilchenko**

Among the infectious diseases community-acquired pneumonia (CAP) is on average 25%. 5% of pneumonias are protracted, and in 30% cases complications are observed as therapy is often ineffective. This is due to the fact that in 30–40% of patients the etiology of CAP remains unknown, and the identification of bacterial pathogens in most cases is unsuccessful, and the etiology of CAP in people with weakened immune system

and in elderly persons has been studied insufficiently. We still need to investigate the etiology in choosing the best empirical treatment strategies, as well as determining the optimal timing of therapy and the role of adjuvant treatment with corticosteroids. Due to the dependence of the frequency of detection of various pathogens of CAP on risk factors, the study of these factors undoubtedly plays an important role in the choice of the strategy of empirical treatment of CAP. We observed 76 patients with severe CAP. The disease is especially severe in elderly patients with concomitant pathology. In all patients with severe pneumonia at least four risk factors have been identified. In patients up to 60 years they are: bad habits, unfavorable social status, late access to a doctor, lack of treatment before hospitalization. Number of pneumonia risk factors increases progressively each following 10 years of life of the patient.

Key words: *community-acquired pneumonia, etiology, risk factors, concomitant pathology, causes of death.*

Введение

Внебольничная пневмония (ВП) является причиной значительной заболеваемости и смертности среди взрослого населения в развитых странах мира и, как правило, отличается тяжелым течением (Алексамян и др., 2001).

Общая ежегодная заболеваемость ВП у взрослых колеблется от 1,07 до 1,2 случаев на 1000 человек, прогрессивно увеличиваясь с возрастом. Болеют чаще мужчины, чем женщины (Woodhead, 2002).

Показатели заболеваемости в большинстве европейских стран отсутствуют. Имеются данные частоты случаев ВП на 1000 населения в Испании, Финляндии, Англии. Так, в Финляндии в возрастной группе 15–29 лет зарегистрировано 4,4 на 1000, а у лиц 74 лет этот показатель значительно возрастает до 34,2 на 1000 населения, из них 8–51 % госпитализируются, 4–15 % таких пациентов умирает. В Азии ВП является основной причиной смертности взрослого населения.

В 2010 году ВП стала одной из основных причин смерти во всем мире, уступая лишь ишемической болезни сердца, инсульту и хроническому обструктивному заболеванию легких (Kumarasamy et al., 2010).

В Европе ВП является ведущей причиной смерти среди инфекционных заболеваний, около 90% случаев смерти от пневмонии происходит у людей в возрасте более 65 лет. Расходы здравоохранения в Европе на лечение ВП оцениваются примерно в 10 млрд. евро в год, что обусловлено госпитализацией и потерянными рабочими днями.

Среди всех инфекционных заболеваний пневмонии в среднем составляют 25%. При этом 5% пневмоний имеют затяжной характер, а у 30% наблюдаются осложнения, т.к. терапия остается во многих случаях малоэффективной (Brown, 2009). Это обусловлено тем, что у 30–40 % больных этиология ВП остается неизвестной, а идентификация бактериальных возбудителей в большинстве случаев безуспешна, этиология же ВП у людей с ослабленным иммунитетом и лиц пожилого возраста изучена недостаточно (Новиков, 2000).

До сих пор ощущается потребность в знаниях этиологии при выборе лучшей стратегии эмпирической терапии, а также определении оптимальных сроков терапии и роли вспомогательного лечения кортикостероидами. В связи с зависимостью частоты выявления различных возбудителей ВП от факторов риска, изучение последних несомненно играет большую роль в выборе стратегии эмпирической терапии ВП.

Лидирующим возбудителем ВП в Европе остается *Streptococcus pneumoniae*, являясь ведущей причиной внебольничных пневмоний среди больных как с легкой, так и с тяжелой пневмонией (около 20%). Среди больных пневмонией с бактериемией на долю *S. pneumoniae* приходится до двух третей всех причин заболевания.

Второе место по значению среди причин внебольничных пневмоний занимают «атипичные» микроорганизмы – *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* (до 10–20 %), распространенность данных возбудителей зависит от сезона, возраста больных, географического региона. В 3–40 % случаев определяется сочетание типичных и атипичных возбудителей.

Staphylococcus aureus, *Legionella pneumophila* и грамотрицательные бактерии (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и др.) играют более скромную роль в генезе внебольничных пневмоний, однако их роль увеличивается по мере нарастания степени тяжести заболевания. Инфекции *Legionella* spp. встречаются в основном в регионах с теплым климатом (страны Средиземноморья) и довольно редко – в странах Северной Европы (Карбон, Пул, 2000).

Роль анаэробных микроорганизмов в генезе внебольничных пневмоний небольшая, но значительно возрастает при аспирационных пневмониях – до 50% всех причин. Вирусные инфекции являются причиной 5–15 % всех внебольничных пневмоний, при этом основное значение имеет вирус гриппа (8%), меньшее – вирусы парагриппа, аденовирусы, респираторно-синтициальный вирус. Вирусные пневмонии имеют сезонное колебание заболеваемости, преимущественно в осенне-зимнее время.

Знание эпидемиологических факторов и географической ситуации может помочь в предположении этиологии негоспитальной пневмонии.

С момента установления клинико-рентгенологического диагноза ВП следует сосредоточить усилия на этиологической диагностике заболевания. Для установления этиологии ВП стандартными методами являются бактериоскопия окрашенного по Граму мазка мокроты и бактериологическое исследование мокроты. Такое исследование является обязательным в стационаре и не обязательным в амбулаторных условиях. Однако никакое диагностическое исследование не должно быть причиной задержки назначения антибактериальной терапии.

Подходящим для проведения анализа считается образец мокроты, собранный до начала антибиотикотерапии, полученный при глубоком откашливании и удовлетворяющий следующим критериям: менее 10 эпителиальных клеток и более 25 нейтрофилов в поле зрения (малое увеличение), исследования мокроты должно быть выполнено не позднее 2 ч после ее получения (Bruns et al., 2008).

Диагностическая ценность бактериоскопии при окраске по Граму и бактериологического исследования мокроты является предметом дискуссий. Отрицательные результаты при использовании данных методов получают в 30–65 % всех случаев, определенные проблемы связаны с тем, что у 10–30 % больных пневмонией отсутствует мокрота, а до 15–30 % больных уже получали антибиотики до получения мокроты для исследования. После инициации антимикробной терапии вероятность выявления *S. pneumoniae* и *H. influenzae* приближается практически к нулю. У больных с пневмококковой пневмонией, доказанной на основании выделения *S. pneumoniae* из крови (бактериемия), пневмококк обнаруживают в мокроте лишь в 50% случаев (Jokinen et al., 2001). Еще одной проблемой интерпретации результатов анализа мокроты является разграничение колонизации от инфекции. С полной уверенностью о наличии инфекции можно говорить лишь в том случае, когда в мокроте находят возбудителей, не участвующих в колонизации, – *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella* spp., *Coxiella burnetti*, *Pneumocystis carinii*.

Всем больным с пневмонией, госпитализированным в стационар, рекомендовано проведение бактериологического исследования крови (забор крови проводится из двух разных вен до начала антимикробной терапии). В общей сложности положительную культуру крови обнаруживают в 11% случаев, причем основным патогеном является *S. pneumoniae*.

Серологические методы не помогают в начальной оценке этиологического фактора пневмоний и обычно не рекомендуются для рутинного использования, но могут иметь большое значение для ретроспективного анализа, эпидемиологических исследований. Серологические тесты обычно проводятся с целью выявления атипичных возбудителей и включают оценку уровня антител IgG в парных сыворотках (с интервалом в несколько недель). Повышение титра холодовых гемагглютининов более 1:64 наблюдается у 30–60 % больных с инфекцией *M. pneumoniae*, однако данный тест становится положительным только через неделю после начала заболевания. Для достижения диагностического титра IgM к *M. pneumoniae* также требуется около недели, а для достижения диагностического титра IgM к *S. pneumoniae* – около 3 недель (Синопальников, Сидоренко, 1999). Обнаружение единичного титра IgG к *Legionella* spp. более 1:256 считается достаточным для выявления острой легионеллезной инфекции, однако чувствительность метода небольшая – лишь 15%.

Несмотря на широкий спектр диагностических тестов, точная идентификация возбудителей ВП по-прежнему остается значимой проблемой, как для врачей-клиницистов, так и для микробиологов. Установить этиологический диагноз заболевания, по данным разных авторов, не представляется возможным в 40–60 % случаев. Особенно большие трудности при микробиологической верификации ВП возникают у лиц старших возрастных групп. Этиология пневмонии хорошо документирована в развитых странах (Европа, Северная Америка, Япония, Австралия), содержит около 10 видов бактерий, регулярно идентифицируемых как патогены у

іммунокомпетентних пацієнтів. В обзорі 41 європейських досліджень було встановлено, що пневмококк був, безумовно, найбільш розповсюдженою бактеріальною причиною ВП, а також зустрічалися *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella* spp. і *Haemophilus influenzae*. В Азії ВП стала причиною майже 1 млн. смертей серед дорослого населення в рік. Багато з цих випадків смерті відбулися у літніх людей, але велика кількість смертних випадків від пневмонії (160 000) відзначалася серед осіб у віці 15–59 років. Однак ВП у дорослих в країнах Азії вивчалася дуже погано до сучасного моменту (El-Solh et al., 2001).

Інфікування нетипичними бактеріями (*Mycoplasma*, *Chlamydia* і *Legionella* spp.) можна ретроспективно оцінити серологічно. Інтерпретація ПЦР ускладнюється через контамінацію ротоглотки і побічних ефектів. Тестування антигену в сечі широко використовується для двох організмів: *Streptococcus pneumoniae*, де тест добре працює у дорослих, і *L. pneumophila*, де тест є специфічним і результати отримують значно швидше, ніж при посіві культури.

S. pneumoniae є одним з провідних збудителів ВП в Азії (13,3%). Рівень *S. pneumoniae* досягав 24% в Японії, 14% в Південній Кореї і на Тайвані, 12% на Філіппінах, 8–9% в Таїланді, Китаї і Індії, і 4–5% в Малайзії і Сінгапурі.

Загальний показник *H. influenzae* для Азії склав 6,9% і коливався між азійськими країнами. Найвищі показники були на Філіппінах (19%), далі йдуть Японія (10%) і Китай (9%). Найнижчі показники були знайдені в Індії і Південній Кореї (близько 1%). На Філіппінах *H. influenzae* був виявлений частіше, ніж пневмококк. Микоплазми пневмонії і хламідії були виявлені в 8,3% і 6,9% випадків від загальної кількості госпіталізованих хворих відповідно, *Legionella* spp. – в 3,0%.

Грамотрицателі бактерії були виявлені у 13,0% госпіталізованих хворих.

Найнижчий рівень відзначався в Східній Азії, більше число збудителів спостерігалося в Південно-Східній Азії і Індії. *Klebsiella pneumoniae* (6,3%), виділялася в основному з мокроты. На півночі Таїланду *Burkholderia pseudomallei* був найпоширенішим патогеном (15% на 367 випадків). При обстеженні пацієнтів з ВП в Малайзії і Сінгапурі *B. pseudomallei* визначали в 1–2% випадків, хоча частота була значно вище серед пацієнтів, госпіталізованих в відділення інтенсивної терапії в Сінгапурі (9,2%). *Staphylococcus aureus* виділені у 4,0% пацієнтів, з підвищенням до 5,1% у хворих з важкою ВП.

Moraxella catarrhalis був виділений у 1% госпіталізованих пацієнтів.

Терміном «атипічні пневмонії» з кінця 30-х років ХХ століття в клінічній медицині стали називати інтерстиціальні пневмонії, викликані нехарактерними збудителями, які мають особливості клінічного перебігу, діагностики і лікування. В відмінність від «типичних» пневмоній, викликаних бактеріальною кокковою флорою, випадки атипічного запалення можуть бути пов'язані з микоплазмами, хламідіями, коксиеллами, клебсієлами, сальмонеллами, а також вірусами.

Пандемія атипічної пневмонії, вибухнула в світі в 2002–2003 рр., була викликана коронавірусом і охопила КНР, В'єтнам, Гонконг, США, Канаду і ще 30 країн світу. Тоді жертвами епідемії стали 8,5 тис. хворих і понад 900 померлих людей. Для позначення даного виду атипічної пневмонії в пульмонології був введений термін «синдром гострого респіраторного захворювання (SARS) і «важкий гострий респіраторний синдром» (ТОРС). Складність пошуку етіотропної терапії і профілактики атипічної пневмонії полягає в постійній мутації коронавірусу, що не вирішує проблему актуальності SARS і в наші дні (Plouffe, 2000).

На сучасний день до так званих атипічних мікроорганізмів – збудителів атипічної пневмонії належить численна група інфекційних агентів. Атипічні пневмонії можуть викликатися микоплазмовою (*Mycoplasma pneumoniae*) і хламідійною (*Chlamydia pneumoniae*) інфекцією, легионеллою (*Legionella* spp.), коксиеллою (*Coxiella burnetii*), вірусами (респіраторними вірусами парагриппу 1, 2 і 3; гриппу А і В; вірусом Epstein–Barr, респіраторним синцитіальним вірусом), збудителями лептоспирозу (*Leptospira* spp.), туляремії (*Francisella tularensis*), хантавірусами, коронавірусом ТОРС (SARS-CoV) і др. Незважаючи на значні відмінності епідеміологічної і мікробіологічної характеристики

возбудителей, а также патоморфологической картины инфекционного процесса, данные микроорганизмы объединены устойчивостью к антибиотикам пенициллинового ряда и другим β-лактамам, а также общими подходами к лабораторной верификации (El-Solh et al., 2001).

Заражение атипичной пневмонией происходит обычно при тесном контакте в коллективах; путь передачи – воздушно-капельный. Восприимчивость к SARS высокая вне зависимости от возраста: среди болеющих атипичной пневмонией преобладают люди моложе 40 лет, обладающие крепким здоровьем. Инкубационный период при атипичной пневмонии длится от 3-х до 10 дней.

В зависимости от возбудителя выделяют следующие основные формы атипичной пневмонии: микоплазменную пневмонию, лихорадку Q, легионеллезную пневмонию, хламидийную пневмонию, тяжелый острый респираторный синдром и др.

Возбудитель SARS является мутантом из второй группы коронавирусов. Вирус найден во многих органах и секретах людей, погибших от SARS: легких, почках, мокроте, мазках из верхних дыхательных путей.

Болезнь передается воздушно-капельным и воздушно-пылевым путем. Чтобы вирус мог попасть в организм, нужно оказался на расстоянии не более 10 см от его носителя. Кроме того, вирус может жить вне носителя около 3–6 часов, поэтому возможно заражение через выделения больного, а также предметы, которыми он пользовался.

Коронавирус, обнаруженный у больных атипичной азиатской вирусной пневмонией, ни на один из известных коронавирусов не похож – обычные вирусы этого семейства вызывают 20% случаев так называемого «простудного насморка», а также разные по своим проявлениям заболевания домашних животных и птиц.

Эпидемиологи установили, что источником распространения инфекции оказались летучие мыши. Вспышка заболевания наблюдалась в тех местах, где этих грызунов употребляют в пищу. А все случаи заболеваний были связаны с бытовыми контактами с этими зверьками – уходом за ними, забоем, готовкой и т.д. (Mandell et al., 2000).

Как и любой вирус, возбудитель ТОРС обладает способностью мутировать, в этом заключается сложность подбора средств лечения. Представляет интерес этиология ВП в Азии, которая существенно отличается от таковой в Европе.

На протяжении последних лет во всем мире наблюдается стремительный рост резистентности возбудителей пневмонии к применяемым антибактериальным препаратам. Поскольку пневмококк является самым частым возбудителем НП, то особое значение приобретает распространение среди *S. pneumoniae* штаммов со сниженной чувствительностью к пенициллину и другим антибиотикам. Причем соотношение резистентных штаммов значительно варьирует как между странами, так и между регионами в пределах одной страны.

Факторы риска пенициллинорезистентности *S. pneumoniae*: возраст больного младше 7 и старше 60 лет, наличие тяжелых соматических заболеваний, частое и длительное лечение антибиотиками, проживание в домах престарелых.

Часть штаммов *S. pneumoniae*, резистентных к пенициллину, варьирует от менее 5% до более 50%, что зависит от географического региона, популяции (чаще у детей), выбора материала для анализа (чаще в назофарингеальном секрете) и клинического окружения (чаще в стационаре).

По данным мировой литературы, частота инфицирования резистентными штаммами *S. pneumoniae* оказалась наибольшей в Саудовской Аравии – 55,4% (умеренно резистентные – 35,7%, высокорезистентные – 19,7%). Высокий уровень резистентности зарегистрирован в странах Азии (Китай, Гонконг, Южная Корея, Таиланд) – 44,1%. Меньший уровень резистентности *S. pneumoniae* отмечается в странах Европы (Франция, Германия, Италия, Испания) – 11,1%, в Южной Африке – 7,9%. В странах Южной Америки: в Мексике резистентные штаммы *S. pneumoniae* выделены в 26%, в Бразилии – в 7,9% случаев (Клебановская, 2000).

Значительную роль в этиологии ВП играют факторы риска, такие как наличие сопутствующей патологии, – такой, как хроническое обструктивное заболевание легких, сердечно-сосудистые заболевания, заболевания сосудов головного мозга, сахарный диабет, болезнь Паркинсона, ВИЧ-инфекция, эпилепсия и слабоумие. Роль же факторов риска в этиологии тяжелой пневмонии изучена до настоящего времени недостаточно.

Матеріали і методи

Ми наблюдали 76 больных ВП с тяжелым течением. При поступлении в клинику 25 (32%) были госпитализированы в ОРИТ и палаты интенсивной терапии, т.к. их состояние было тяжелым, и они имели осложнения в виде острой дыхательной недостаточности, кровохарканья, нарушения общей гемодинамики, отека легких. 6 больных нуждались в ИВЛ.

У многих больных было отмечено позднее обращение к врачу. Так, до 1 суток болезни в клинику обратились всего лишь 4% больных, до 7 дней болезни 34%, а 20% спустя 1 месяц болезни.

До поступления в ОКБ 82% больных антибиотики не принимали. Возраст больных колебался от 26 до 78 лет, из них 65% больных было старше 60 лет. У 33 больных выявлен отягощенный социальный статус. Многие больные имели вредные привычки: 38% больных были курильщиками, 28% злоупотребляли спиртными напитками, 24% больных курили и злоупотребляли спиртными напитками одновременно. У многих больных (77%) отмечено наличие сопутствующей патологии: хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), ишемической болезни сердца (ИБС), гипертонической болезни (ГБ), бронхиальной астмы (БА), сахарного диабета (СД), СПИДа, заболеваний печени.

Состояние у всех больных было тяжелым: интоксикация, лихорадка, дыхательная и сердечная недостаточность. Физикальные данные свидетельствовали о наличии одно- или двустороннего инфильтрата в легких, что подтверждено рентгенологическим исследованием.

Результаты

При исследовании крови: ускоренное СОЭ констатировано у 96% больных, лейкоцитоз с палочкоядерным сдвигом – у 78%, токсическая зернистость нейтрофилов, анемия – у 27%. У больных с крайне тяжелым течением болезни отсутствовал лейкоцитоз, была выражена лейкопения, лимфопения, моноцитопения, гипергаммаглобулинемия.

У 20 больных было сделано микробиологическое исследование мокроты, из них у 30% больных выявлен *S. pneumoniae*, у 21% аэробные грамотрицательные микроорганизмы. При серологическом исследовании выявили *Mycoplasma pneumoniae* у 12% больных. У остальных больных установить этиологический фактор не удалось.

У 45 больных был исследован уровень С-реактивного белка (СРБ), т.к. в последние годы он широко используется как маркер активности воспалительного процесса и неэффективности антибактериальной терапии при инфекционных заболеваниях. У всех больных показатели СРБ были значительно выше нормы и составляли $69,0 \pm 0,3$ мг/мл, при норме 6,0 мг/мл. Наиболее высокие показатели отмечались у лиц пожилого возраста.

У всех больных пневмонией с тяжелым течением выявили не менее 4 факторов риска. У больных до 60 лет к ним относятся: вредные привычки, тяжелый социальный статус, поздняя обращаемость, отсутствие лечения на догоспитальном этапе.

По данным литературы (Новиков, 2000), хронический алкоголизм является фактором риска у 35–75 % больных пневмонией с тяжелым течением, курение табака также угнетает мукоцилиарный клиренс и является самостоятельным фактором риска инвазивной пневмококковой инфекции. Кроме того, курение сопряжено с повышенным риском пневмококковой бактериемии и рассматривается как самостоятельный фактор риска легионеллезной инфекции.

Количество факторов риска пневмонии прогрессивно увеличивается каждые последующие 10 лет жизни больного.

Больным были назначены антибиотики согласно приказу 128 МОЗ Украины.

Несмотря на проводимое лечение, у ряда больных течение болезни оставалось тяжелым и приняло затяжной характер.

Заболевание особенно тяжело протекало у пожилых людей на фоне сопутствующей патологии и осложнилось у 14 больных множественной деструкцией легкого, эмпиемой плевры у 1 больного, бронхообструктивным синдромом у 23 больных, парапневмоническим плевритом у 8, осумкованным плевритом у 5 больных, у 10 больных анемией, гнойным бронхитом у 15 больных, легочной недостаточностью у 57 больных.

К ранним факторам риска неэффективности антибактериальной терапии ВП следует отнести мультилобарную инфильтрацию легких, а также грамотрицательную бактериальную инфекцию, как

причину. Ранняя неэффективность лечения ВП нами отмечена у 9 больных, у которых присутствовали все предыдущие факторы риска.

Список литературы

- Алексанян Л.А., Верткин А.Л., Шамуилова М.М. Принципы антибактериальной терапии пневмонии // Лечащий врач. – 2001. – №1. – С. 20–24. /Aleksanyan L.A., Vertkin A.L., Shamuilova M.M. Printsypy antibakterial'noy terapii pnevmonii // Lechashchiy vrach. – 2001. – №1. – S. 20–24./
- Карбон К., Пул М.Д. Значение новых макролидов при лечении внебольничных инфекций дыхательных путей: обзор экспериментальных и клинических данных // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – Т.2, №1. – С. 47–58. /Karbon K., Pul M.D. Znachenie novykh makrolidov pri lechenii vnebol'nichnykh infektsiy dykhatel'nykh putey: obzor eksperimental'nykh i klinicheskikh dannykh // Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya. – 2000. – T.2, №1. – S. 47–58./
- Клебановская Е.В. Ретроспективное фармакоэпидемиологическое исследование антибиотикотерапии внебольничной пневмонии // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2000. – №3. – С. 36–38. /Klebanovskaya Ye.V. Retrospektivnoye farmakoepidemiologicheskoye issledovaniye antibiotikoterapii vnebol'nichnoy pnevmonii // Ukrayins'kyu khimioterapevtychnyy zhurnal. – 2000. – №3. – S. 36–38./
- Новиков В.Е. Внебольничные пневмонии // Consilium medicum. – 2000. – Т.2, №10. – С. 396–400. /Nonikov V.Ye. Vnebol'nichnyye pnevmonii // Consilium medicum. – 2000. – T.2, №10. – S. 396–400./
- Синопальников А.И., Сидоренко С.В. Внебольничная пневмония: стандарты эмпирической антибактериальной терапии // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – №5. – С. 22–28. /Sinopal'nikov A.I., Sidorenko S.V. Vnebol'nichnaya pnevmoniya: standarty empiricheskoy antibakterial'noy terapii // Antibiotiki i khimioterapiya. – 1999. – №5. – S. 22–28./
- Brown J.S. Geography and the etiology of community-acquired pneumonia // Respirology. – 2009. – Vol.14. – P. 1068–1071.
- Bruns A., Oosterheert J., Hak E., Hoepelman A. Usefulness of consecutive C-reactive protein measurements in follow-up of severe community-acquired pneumonia // Eur. Respir. J. – 2008. – Vol.32. – P. 726–732.
- El-Solh A.A., Ramadan F., Sikka P., Davies J. Etiology of severe pneumonia in the very elderly // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – Vol.163, No 3. – P. 645–651.
- Jokinen C., Heiskanen L., Juvonen H. et al. Microbial etiology of community-acquired pneumonia in the adult population of 4 municipalities in eastern Finland // Clin. Infect. Dis. – 2001. – Vol.32, no 8. – P. 1141–1154.
- Kumarasamy K.K., Toleman M.A., Walsh T.R. et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study // Lancet Infect. Dis. – 2010. – Vol.10. – P. 597–602.
- Mandell L.A., Marrie T.J., Grossman R.F. et al. Canadian guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia: an evidence based update by the Canadian Infectious Disease Society and Canadian Thoracic Society // Clinical Infectious Diseases. – 2000. – Vol.31. – P. 383–421.
- Plouffe J. F. Importance of atypical pathogenesis of community-acquired pneumonia // Clinical Infectious Diseases. – 2000. – No 31. – S. 35–39.
- Van Metre T.E. Pneumococcal pneumonia treated with antibiotics. The prognostic significance of certain clinical findings // N. Engl. J. Med. – 1954. – Vol.251. – P. 1048–1052.
- Woodhead M. Community-acquired pneumonia in Europe: causative pathogens and resistance patterns // Eur. Respir. J. Suppl. – 2002. – Vol.36. – P. 20–27.

Представлено: О.П.Білозоров / Presented by: A.P.Belozorov

Рецензент: Н.І.Буланкіна / Reviewer: N.I.Bulankina

Подано до редакції / Received: 04.11.2016

УДК: 591.4:591.441

Морфологічні зміни селезінки під впливом різноманітних чинників О.Ф.Дунаєвська

*Житомирський національний агроєкологічний університет (Житомир, Україна)
Oksana_Fd@ukr.net*

Селезінка – важливий периферичний орган кровотворення та імунного захисту. Під впливом біотичних і абіотичних чинників природного середовища, умов утримання, антропогенного навантаження відбуваються морфологічні зміни в органі. Враховуючи чутливість селезінки до дії чинників різного генезису, систематизованих на основі літературних джерел, доцільно використовувати її морфологічні показники у якості біомаркерів методу біоіндикації. Даний метод дозволяє охарактеризувати інтегральний вплив навколишнього середовища на організм, надає можливість екстраполяції реакцій на людину. Ступінь та зворотність змін залежать від природи фактору впливу, дози, тривалості дії, віку, виду організму. Розглянуто особливості морфологічних змін селезінки при травмах, під впливом різних видів електромагнітного випромінювання, хімічних сполук, металів, токсикантів, дії екстремальних факторів, при стресі, застосуванні фармакологічних препаратів, біологічно активних речовин, імуномодуляторів, особливостях способу життя та харчування, інфекційних захворюваннях. Вони відбуваються на макро- і мікроскопічному рівнях. Найтиповіші зміни характеризуються збільшенням або зменшенням таких показників: абсолютна та відносна маси органу, відносна площа білої пульпи, площа лімфоїдних вузликів, клітинність, відносна площа трабекулярного апарату, судин. В селезінці негативні зміни проявляються порушенням мікроциркуляції, системи синтезу, появою нетипових клітин або включень, пригніченням гемопоезу тощо.

Ключові слова: селезінка, вплив, морфологія, електромагнітне випромінювання, травма, хімічні сполуки, спосіб життя.

The spleen morphological changes under the influence of various factors O.F.Dunaievskia

The spleen is an important peripheral organ of the sanguification and immune defense. Morphological changes in the organ occur under the influence of biotic and abiotic factors of the environment, living conditions, anthropogenic loading. Considering the sensitivity of the spleen to the action of various factors, which have been systemized based on literature data, it is appropriate to use its morphological parameters as biomarkers for the method of biological indication. This method allows characterizing integrated environmental impact on the organism, the possibility of extrapolating the reactions to human. The extent and reversibility of changes depend on the nature of the impact factor, dose, duration, age, type of organism. The features of morphological changes of the spleen have been considered at injuries, impact of different types of electromagnetic radiation, chemicals, metals, toxicants, action of extreme factors, at stress, use of pharmacological agents, biologically active agents, immunomodulators, peculiarities of lifestyle and nutrition, infectious diseases. They occur at the macro- and microscopic levels. The most common changes are characterized by an increase or decrease of such indices: the absolute and relative weight of the organ, relative area of white pulp, area of lymphoid nodules, number of cells, relative area of trabecular system, blood vessels. In the spleen adverse changes manifest in violation of the microcirculation, system of synthesis, appearance of atypical cells or particles, inhibition of hematopoiesis etc.

Key words: spleen, impact, morphology, electromagnetic radiation, injury, chemicals, lifestyle.

Морфологические изменения селезенки под воздействием разнообразных факторов О.Ф.Дунаевская

Селезенка – важный периферический орган кроветворения и иммунной защиты. Под воздействием биотических и абиотических факторов естественной среды, условий содержания, антропогенной нагрузки происходят морфологические изменения в органе. Учитывая чувствительность селезенки к действию факторов разного генезиса, систематизированных на основе литературных источников, целесообразно использовать ее морфологические показатели в качестве биомаркеров метода

биоиндикации. Данный метод позволяет охарактеризовать интегральное влияние окружающей среды на организм, предоставляет возможность экстраполяции реакций на человека. Степень и обратимость изменений зависят от природы фактора влияния, дозы, длительности действия, возраста, вида организма. Рассмотрены особенности морфологических изменений селезенки при травмах, под воздействием разных видов электромагнитного излучения, химических соединений, металлов, токсикантов, экстремальных факторов при стрессе, применении фармакологических препаратов, биологически активных веществ, иммуномодуляторов, особенностях образа жизни и питания, инфекционных заболеваниях. Они происходят на макро- и микроскопическом уровнях. Самые типичные изменения характеризуются увеличением или уменьшением таких показателей: абсолютная и относительная массы органа, относительная площадь белой пульпы, площадь лимфоидных фолликулов, количество клеток, относительная площадь трабекулярного аппарата, сосудов. В селезенке негативные изменения проявляются нарушением микроциркуляции, системы синтеза, появлением нетипичных клеток или включений, угнетением гемопоэза и т. п.

Ключевые слова: селезенка, влияние, морфология, электромагнитное излучение, травма, химические соединения, образ жизни.

Селезінка належить до периферичних органів імунотенезу та кровотворення. Під дією різних несприятливих факторів порушується будова органів імунної системи, змінюється взаємозв'язок імунотенезних клітин, вміст в них біогенних амінів та інших біологічно активних речовин (Волкова, 1996; Волошин, 2011; Нарвыш, 2006). З функціонально-морфологічними особливостями селезінки пов'язано різноманіття її структурних змін під впливом біотичних і абіотичних чинників природного середовища (Григорьев, 2006), при багатьох патологічних процесах (Кацай, Шепітько, 2013; Рикало та ін., 2013). Морфологічний стан селезінки залежить від метаболічних порушень в організмі, дії антропогенних факторів: фізичних (Vriend, Lauber, 1973), екологічних (John, 1994), хімічних (Basim, 2008; Kumar, Kumar, 2013; Obidike et al., 2010; Tomova et al., 2008; Voloshin et al., 2014). Селезінка безпосередньо бере участь у формуванні реакції організму на патологічні впливи (Абрамян, 1975).

З'ясуванням морфологічних змін в селезінці під впливом різноманітних чинників займалась велика кількість дослідників, що знайшло відображення в численній науковій літературі. Метою статті було систематизувати та описати основні результати проведених досліджень. Виявлення морфологічних змін в селезінці є складовою сучасного методу біоіндикації, який дозволяє охарактеризувати інтегральний вплив навколишнього середовища на організм, часто такі реакції можуть бути екстрапольовані на людину (Спирина, 2007). Описані зміни можуть бути використані для інтерпретації гістологічних досліджень. Морфологічні показники селезінки, такі як відносна маса, відносна площа та характеристика структурних компонентів, клітинність тощо доцільно використовувати у якості біомаркерів, оскільки селезінка чутлива до чинників різного генезису.

На морфофункціональний стан селезінки впливають різні фізичні чинники: механічні, термічні, електромагнітне випромінювання тощо. У відповідь на пошкодження селезінки відбувається швидка активація тромбоцитарно-судинного гемостазу, зокрема фібриногенезу (Польовий, 2005), помірне збільшення протеолітичного розпаду білків (Польовий, Каратаєва, 2008). Водночас у старих тварин колагенолітична активність селезінкової тканини надмірно і тривало підвищується (Польовий, 2005). При Краш-синдромі в селезінці на 24-у годину змінюється клітинний склад в центрах розмноження лімфоїдних вузликів (ЛВ) та на їх периферії, з'являється багато лімфобластів (Петросян, 1995). Резекція половини селезінки в перші доби супроводжується порушенням мікроциркуляції в залишковій частині, нерівномірним розширенням венозних синусів, агрегацією формених елементів крові, а у віддалені терміни – збільшенням площі ЛВ, ваги органу, в плазматичних і фагоцитуючих ретикулярних клітинах з'являються щільні включення, що разом вказує на збереження функціональної активності органу (Аминаридзе, 1989). При термічній травмі розвиваються деструктивні зміни всіх структур органу, гіперплазія білої пульпи (БП), судинні розлади (Гаврилюк-Скиба, 2013), пригнічення синтезу білків (Овчаренко, 2011).

Актуальним питанням сьогодення є вплив електромагнітного, зокрема іонізуючого випромінювання на живі організми. Біологічна дія іонізуючої радіації може викликати не лише патологічні зміни органів і систем організму, а й призвести до загибелі, і чим більша разова доза, тим швидше настає смерть. Для усіх радіонуклідів критичними є органи імунної і кровотворної системи, статеві залози. Радіочутливі лімфоцитарні клітини при цьому є основним тестом ураження

імунної системи, а сама імунна система стає маркером променевого ураження організму. При гострому променевому ураженні спостерігаються зменшення маси і об'єму селезінки, на 7-му добу відбувається розпад лімфоцитів, збідніння пульпи клітинними елементами лімфоїдного ряду, в периваскулярних просторах виявляються накопичення серозної рідини, в пульпі – атипові і гігантські клітини (Константинова, 2004), апоптоз (Takahashi et al., 2001). Одноразове тотальне рентгенівське опромінювання викликає порушення систем синтезу, репарації, процесів проліферації диференціювання лімфоцитів, що призводить до стійких депопуляційних змін у селезінці (Торяник, 1995), викликає зміни в пульпі (Евлахова и др., 2013). Тотальне одноразове опромінення тварин за доз 1,0 та 7,78 Гр через 30 хв і 3 год. після рентгенівського опромінювання призводить до запуску каспазного каскаду, який або включає механізм захисту, або загибель імунокомпетентних клітин (Драган, 2011). При опроміненні у дозі 50 Р спостерігається незначний розвиток ЛВ селезінки, посилена вираженість трабекулярного апарату і різке потовщення капсули. У деяких випадках це настільки виражено, що вказує на заміщення функціональної тканини стромою. Має місце і надзвичайно сильне розростання судин. У тварин, що опромінювались в дозі 180 Р, БП селезінки слабо виражена, зустрічаються лише невеликі периартеріальні скупчення лімфоцитів, представлених у більшій мірі Т-клітинами, спостерігається гемосидероз. Середня площа ЛВ зменшується в 1,7 раза, кількість бластів в них зменшується в 1,7 раза, зменшується кількість середніх та малих лімфоцитів, збільшується кількість ретикулярних клітин, процентна доля макрофагів та зруйнованих клітин збільшується в 4 і 6,8 раза. На іонізуюче опромінення в першу чергу реагують клітини селезінки, спостерігається чітка макрофагальна реакція, цитоплазма окремих макрофагів містить в собі залишки зруйнованих клітин. Їх кількість в реактивних центрах збільшується в 2,5 раза, в маргінальній зоні – в 2,2 раза. Процентний вміст середніх лімфоцитів в реактивному центрі знижується з $21,0 \pm 2,52$ % до $16,3 \pm 1,68$ %, а в маргінальній зоні збільшується і становить $22,3 \pm 2,6$ %, у контролі – $17,3 \pm 2,09$ %. Кількість зруйнованих клітин різко збільшується в три рази в реактивних центрах і в 4,5 раза в маргінальній зоні (Горальський, 2000).

При впливі хронічного іонізуючого опромінення малими дозами проліферативна активність Т-лімфоцитів селезінки пригнічується (Дяків, 2000). Хронічне гамма-опромінення у сумарній дозі 1,5 Гр призводить до пригнічення функціональної активності глутатіонової ланки антиоксидантної системи організму (Терещенко, 2014). Дія низькоінтенсивного гамма-випромінення пригнічує гемопоез (Горячева, 2013); призводить до зменшення відносної площі БП, зниження лімфопоетичної активності (Горальський, 2000; Дунаєвська, 2007). Доведено, що радіоактивні речовини накопичуються переважно в червоній пульпі (ЧП) (Melis, 2016).

Під впливом електромагнітного випромінювання надвисокого діапазону маса селезінки збільшується та виявляються ознаки порушення її функцій (Селюк та ін., 2012), поєднання цього випромінювання з низькими температурами призводить до ознак антигенної стимуляції (Завгородній та ін., 2014). Щодобове зональне лазерне опромінювання організму сприяє розвитку гіперплазії лімфоїдного компоненту селезінки, інтенсивному формуванню гермінативних центрів, посиленню процесів проліферації та диференціації лімфоцитарних клітин, що розглядається як імуноіндукуючий ефект (Торяник, 1995). Трьохдобовий курс зонального (у тому числі післяпроменевого) лазерного опромінювання з експозицією в 30 с та інтервалом 24 години призводить до найбільш вираженої стимуляції імунопоезу. Посилена проліферація активованих лімфоцитів та їх подальше диференціювання у плазматичні клітини є морфологічною передумовою підвищення синтезу імуноглобулінів (Торяник, 1995). Вплив електромагнітного поля частотою 900 МГц в пренатальному періоді викликає патологічні (в морфології клітин селезінки і тканин новонароджених щурів) та біохімічні зміни (збільшення малонового діальдегіду і глутатіону, значне зменшення супероксиддисмутази) в селезінковій тканині, які можуть вплинути на розвиток селезінки (Hanc et al., 2015). Еритроцитарна ланка гемопоезу на дію променевих факторів відповідає динамічними змінами архітектоники, характер та глибина яких залежить від типу випромінювання, його тривалості, вихідного стану клітин (Драган, 2011; Торяник, 1995).

В теперішній час значний інтерес представляє вивчення особливостей будови регуляторних систем організму при тривалій дії екстремальних факторів. Одним з них є перевантаження внаслідок висотного і космічного польоту, яке призводить до збільшення відносної маси селезінки майже на 12,2 % (гіпергравітаційна дія впродовж 30 днів) (Мороз, 2009), змінюються міграційні та адгезивні властивості лімфоцитів селезінки (Мороз, 2011). Умови невагомості після космічного

польоту призводять до зменшення маси селезінки, різкого збільшення ЧП, появи ділянок розростання фіброзної тканини, крововиливів, зникають ЛВ із світлим центром, різко посилюється деструкція клітин, пригнічення лімфоцитопоезу (Григоренко, Сапин, 2012). Тривала дії гіпоксії середнього ступеня супроводжується активацією катаболізму нуклеотидів, що відображає зниження реактивності і компенсаторну економізацію метаболізму в лімфоїдній тканині (Лисенко, 1996), негативно впливає на структуру селезінки вагітних самок і плодів шурів (Балашова, 2001). Гіпобарична гіпоксія збільшує кількість гістохімічно активних волокон паренхімального сплетіння при одночасному зменшенні питомого вмісту катехоламінів у варикозно розширених периваскулярних нервових волокнах (Пуговкін, 2001). Під дією вібрації, як одноразової, так і багаторазової відбувається значна структурно-функціональна модифікація селезінки, розвивається клітинно-інволютивний тип дистрофії, що зберігається і після дії пошкоджуючого фактора. Це підтверджує глибину і стійкість патофізіологічних зсувів, гомеостатичних дизрегуляторних процесів, цитоструктурних перебудов (Кекебаєва и др., 2009).

Враховуючи тісний зв'язок між імунною, нервовою та ендокринними системами, визнано існування єдиної нейро-ендокринно-імунної системи. Порушення однієї ланки призводить до змін у всій системі. Після видалення наднирників маса тимусу і селезінки збільшується в 2,1 рази, збільшується і число спленоцитів (Гирявенко и др., 1987; Нарвыш, 2006). Застосування гідрокортизону призводить до зниження маси і об'єму селезінки у тварин (Стаценко, 2009). При застосуванні соматостатину підвищується проліферація лімфоцитів (Pawlikowski, 1985). Після кастрації в селезінці збільшується кількість В-клітин (Арсенова, 2010). Індукований гіпотиреоз викликає пошкодження клітин в селезінці (Сапо-Еурога et al., 2011).

Хімічні фактори об'єднують сполуки з різною будовою. Вагомий вплив на організм і селезінку мають фармакологічні препарати. Легкий наркоз галоманом суттєво зменшує чутливість колонієутворюючих одиниць селезінки до цитостатиків (Нарвыш, 2006). Лікування оксалиплатином та капецитабином може призвести до спленомегалії (Lee et al., 2015). Кломіпрамід як антидепресант приводить до нормалізації процесу клітинного поділу в селезінці (Кудрявцева, 2011). Тривале введення омепразолу посилює продукцію інтерферону лімфоцитами селезінки, що супроводжується зниженням активності 2,5-ОАС у цих клітинах, це, можливо, зумовлено зміною сигнальної трансдукції (Компанець та ін., 2011). При дії дапсону спостерігається зменшення маси селезінки, кількості спленоцитів, даний стан позитивно коректувався введенням антиоксиданту α -токоферолу, цій дії більше піддавалися особи старшого віку (Лужнова и др., 2014). Циклофосфан викликає довготривалий супресивний ефект, який в селезінці зникає на 7-у добу при застосуванні 4-фосфорильованих похідних 1,3-оксазолу і 1,3-тіазолу (Метелиця та ін., 2010). При застосуванні ліпосилу стимулюється морфофункціональний розвиток імунних органів, зокрема зростає маса селезінки (Зимовина и др., 2011). Глутаргін, який рекомендується використовувати з метою підвищення адаптивних можливостей селезінки при систематичному впливі гравітаційних перенавантажень, збільшує площу Т-зон селезінки, з'являються первинні ЛВ, скорочується вміст клітин з ознаками деструкції, в маргінальній зоні збільшується кількість плазматичних клітин на різних стадіях диференціювання (Мороз, 2011). Еритропоетин сприяє еритропоетичному диференціюванню клітин (Gregory et al., 1975). Вивчаються властивості летких сполук сечі як засіб для збільшення проліферативної активності лімфоїдної тканини селезінки після опромінення (Цыб, 2013). Після застосування бісфосфонату «Зомета» на фоні підвищеного вмісту в організмі тварин гідрокортизону зменшуються негативні наслідки останнього, що проявляється в збільшенні маси і об'єму селезінки (Стаценко, 2009).

Вважається, що біологічно активні речовини містяться в рослинах в оптимальних кількісно-якісних співвідношеннях. Галенові препарати мають широкий спектр застосування завдяки сумуванню і потенціюванню дії різних за хімічною будовою і фармакологічною активністю складових. При нетоксичній дозі екстрактів лікарських рослин (софори японської, арніки звичайної, перстачу прямостоячого) істотних гістологічних змін селезінки не спостерігається (Шемедюк та ін., 2010). Застосування токсичних доз препаратів спричиняє деструктивні зміни в організмі. Так, при отруєнні (чорнокорінь лікарський) відмічаються периваскулярні набряки селезінки, дрібні крововиливи (Духницький та ін., 2011). При опіятній, каннабіноїдній наркоманії і полінаркоманії розвивається вторинний імунодефіцитний синдром, спостерігається дефіцит Т-хелперів, інверсія

індексу Т-хелпери/Т-супресори, гіперплазія В-зон лімфоїдної тканини, формування ЛВ з порушеною архітектонікою, спленомегаля (Гасанов, 2010).

Окремі хімічні речовини мають потенційно шкідливий вплив на функцію імунної системи. Механізм дії токсиканта може оцінюватися в результаті його дії на сприйнятливості та тривалість інфекційних, алергічних та аутоімунних захворювань. Більшість класів хімічних речовин, які забруднюють навколишнє середовище, залучаються в модуляцію імунної функції (важкі метали, бензол, пентахлорфенол, поліциклічні ароматні вуглеводні, діоксин, пестициди). Однією з поширених в хімічній промисловості сполук, що відноситься до II класу небезпеки, є епіхлоргідрин. Інгаляційний вплив епіхлоргідрину призводить до зменшення розмірів, абсолютної маси органа і темпів його росту (Волошін, 2012). При дії на організм формальдегіду високої концентрації відбувається зменшення відносної площі всіх лімфоїдних структур селезінки, пригнічується лімфоцитопоез (Магомедова, 2011). Після 14-денного впливу PFNA (перфторнонанова кислота) в селезінці фіксується дозозалежний рівень апоптозу (Fang et al., 2010). Гостре отруєння пестицидами (маврик, фозалон) спричинює зменшення ЛВ у БП і підвищує рівень деструкції лімфоїдних клітин та їх кількість; хронічне отруєння призводить до вираженої дезорганізації і гіпоплазії структурних зон БП, зменшення клітин лімфоїдного ряду, найбільше в періартеріальних лімфоїдних піхвах (ПАЛП) (Маматназарова, 1997). При екзотоксикозі пестицидами на 15,6% знижується відносна площа мантийної зони і на 16,2% ЧП, площа ПАЛП збільшується в 11 разів, в гермінативному центрі збільшується на 56,5% кількість лімфобластів і на 42,9% ретикулярних клітин, в маргінальній зоні зменшується кількість середніх лімфоцитів на 51,8% (Жданов, 2005). Пестициди малатіон і карбосульфат індукують зниження TCD8+, виробництво і число цитокінів в клітинах селезінки (Dhouib et al., 2015). Інсектицид фенітріон-3-метил-4-нітрофенол викликає зменшення ваги селезінки (Li, 2011). Манкоцеб (фунгіцид) і метрібузін (гербіцид) при високих концентраціях (25–100 μM) виявляють дозозалежне інгібування проліферації лімфоцитів і цитокінів селезінки (Medjdoub et al., 2011). У риб, при наявності у водному середовищі пестицидів, відбувається зменшення відносної маси органу, зміна кольору, зменшення числа лімфоцитів, інколи – атрофія органу; присутність таких токсичних забруднювачів, як нафталін, кадмій викликає зниження відносної маси селезінки, кількості мієлоцитів і зменшення числа лімфоцитів (Степанова, 2003). Під впливом інсектициду перметрин відбуваються зміни у відносній масі селезінки молоді сибірського осетра (Лапирова, 2011). Використання діазинону викликає органну патологію, в тому числі некротичну дегенерацію трабекул, гіперплазію пульпи, іноді крововиливи. Вплив аніліну токсичний для селезінки, характерними проявами його дії є спленомегаля, гіперплазія (Fan et al., 2011), що пояснюється аберрантною регуляцією мікроРНК і може привести до прискореного G2/M переходу спленоцитів і, можливо, до онкогенних наслідків (Wang et al., 2015). Під дією хрому і бензолу пригнічується клітинна ланка (Т-система) імунного захисту на фоні активації В-системи, що супроводжується лімфоретикулярною гіперплазією, плазмоцитарно-макрофагальною трансформацією селезінки (Ермолина и др., 2013).

Відмічена фазність розвитку змін в органі в залежності від тривалості введення, сумарної дози металів. Так, наночастинки золота здатні впливати на баланс цитокінів в селезінці (Kingston et al., 2015), вони виводяться з органу протягом 3–4-х місяців. При введенні цинку в раціон тварин (доза 90 та 120 мг) відмічається зменшення активності каталази та глутатіонпероксидази у тканинах селезінки (Сеньків та ін., 2014). При введенні наночастинок цинку і заліза (доза 0,2 мг/кг маси тварини) спостерігається збільшення кількості ЛВ, але зменшення ЛВ із світлим центром, зменшення кількості мітозів в світлому центрі ЛВ (Златник, Передреева, 2014). При надходженні до організму наночастинок срібла збільшується відносна маса селезінки, відмічається гіперплазія лімфоїдної тканини, збільшення об'єму БП, утворення реактивних центрів ЛВ (Зайцева и др., 2015). Під впливом сполук міді в селезінці БП має вигляд неоднорідних, нечітко окреслених утворень, в великій кількості ЛВ присутні світлі центри, в ЧП крововиливи (Федорова и др., 2004); відносна маса зростає на 94% (Коваль, 2013). При тривалому споживанні кальцію з питною водою відбувається збільшення абсолютної кількості і перерозподіл за розмірами CD4-позитивних клітин. Їх загальна кількість знижується, вперше вони виявляються в ПАЛП і реактивній зоні, максимальна кількість виявлена в ЧП. Кальцій виявляє імуномодельючу дію на CD4-позитивну популяцію лімфоцитів селезінки з Т-хелперною активністю (Мельникова, Сергеева, 2015). Під впливом токсиканту нікелю в селезінці відмічається зростання кількості лімфоцитів та зменшення кількості

нейтрофільних промієлоцитів, сегментоядерних нейтрофілів, еозинофільних метамієлоцитів (Дрогомирецька, Мазепа, 2009). При накопиченні ацетату свинцю, що тривало до вагітності та протягом вагітності, в пізньому пренатальному періоді розвитку порушується ріст селезінки, різко пригнічуються процеси формування гемопоетичних клітин, затримується міграція лімфоцитів та порушується формування судин (Довгаль, 2013). Під впливом метилртуті кількість клітин селезінки зменшується на 22% (Ilback, 1991). Надходження токсикантів (солей ртуті, кадмію, міді) в сублетальних концентраціях викликає збільшення вмісту лізоциму в тканинах селезінки (Лапирова и др., 2000).

Продовжується вивчення глибоких механізмів біологічної дії на організм на субклітинному, тканинному, органному, системному й організменому рівнях хімічних забруднювачів джерел питного водопостачання. В результаті морфологічних та гістохімічних досліджень М.В.Щербанем (2012) встановлено, що під впливом детергентів у селезінці теплокровних посилюється інфільтрація лімфоїдної тканини лімфоцитами ПАП, в пульпі виявлялися ознаки застою. Відмічаються повнокров'я синусоїдних капілярів і ряд деструктивних змін в ультраструктурній організації ретикулярних клітин селезінки. Ядра ретикулярних клітин мають дещо витягнуту форму, оболонка ядра не має звичайної для даних клітин покресленості. Хроматин концентрується широким кільцем уздовж каріолеми і має гомогенну структуру. Визначається порушення активності ферментів лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, моноаміноксидази, а-гліцерофосфатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, що виникали під впливом речовин у дозі 1/100 ДЛ50 (Щербань, 2012).

При несприятливій ситуації в морській екосистемі в селезінці риб спостерігали патологічні зміни: неспецифічне запалення з переважанням дистрофічних і некротичних явищ, порушення кровообігу, руйнування стінок судин, набряк тканин, порушення обміну білків і ліпопротеїнів, надлишковий розвиток сполучної тканини (Іванов, 2011). При забрудненні водойм сполуками неорганічного азоту в селезінці дворічок коропа та білого амура збільшувався вміст аміаку (Красюк, 2011).

Найважливішою функцією селезінки є імунна, яка полягає в захопленні та знешкодженні макрофагами шкідливих речовин, очищення крові від чужорідних агентів (бактерій, вірусів тощо). При будь-якому інфекційному захворюванні виникають морфологічні зміни в селезінці: гіперплазія світлих центрів у ЛВ, підвищення мітотичної активності бластних клітин, бласттрансформація лімфоцитів, плазматизація клітинного складу, набухання ендотелію кровеносних судин (Поройская, 2004; Ротар, 2008), підвищується експресія цитокінів (Kim et al., 1998). Наприклад, при хламідійній інфекції потовщується капсула і трабекули, розвивається підкапсулярний набряк, клітини строми гіпертрофовані, рееструються явища дезінтеграції на периферії органу, інколи відмічається скупчення дендриту, в ЧП застій крові, в тяжках – скупчення нейтрофілів, моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, еритроцитів, плазматичних клітин, синуси розширені, в БП навколо Т-зони набряк, центральна артерія потовщена, ендотелій гіпертрофований, його клітини не утворюють щільного кільця навколо судини, а лежать розрізано, маргінальна зона розширена, в трабекулах явище деволокнізації, стінки кровеносних судин потовщені, розростаються колагенові волокна в пульпі і стромі (Штенцова, 2009). При гострому асептичному запаленні черевної порожнини у тварин відмічались процеси антигензалежної проліферації, кількість середніх лімфоцитів збільшувалась, малих – була мінімальною, діаметр ЛВ збільшувався як за рахунок периферичних відділів ЛВ, так і внаслідок збільшення діаметру гермінативних центрів (Кацай, Шепітько, 2013). На тлі хронічного медикаментозного гепатиту зменшується кількість лімфоїдних елементів БП, оголення ретикулярної строми маргінальної зони, ПАП ЛВ із зростанням кількості макрофагів у цих зонах; зменшення кількості плазмоцитів, лімфобластів, зниження кількості мегакаріоцитів; у ретикулярних клітинах відмічаються явища гідропічної дистрофії (Рикало та ін., 2013). При вірусному гепатиті Е відбувається апоптоз лімфоцитів, амілоїдоз, некроз ЛВ, активна плазматизація ЧП, стінки кровеносних судин частково лізовані (Токарев, 2012). При псевдомонозній інфекції відносна маса селезінки збільшується на 113%, відмічається її набряклість (Зон, Ващик, 2011). При бабезіозі у собак лімфоїдна тканина нерівномірно локалізована з вираженим розрядженням, ЛВ відсутні, навколо судин виявляються вільні простори, що містять фрагменти гомогенізованої маси (Калиманов и др., 2015). При псевдотуберкульозі птахів спостерігається гіперплазія селезінки, виявляються ділянки некрозу, сильне повнокров'я, пікноз, каріорексис лімфоцитів, збільшення

кількості гемосидерину, збільшення ЛВ (Ибрагимова, 2013). При колідиареї у поросят-сосунів кількість імуноглобулінівмісних клітин селезінки збільшується втричі, проявляються ознаки супресії, затримки клітинної диференціації (Масьянов, 1992).

Розвиток пухлин призводить до збільшення загальної активності матриксних металопротеаз в селезінці (Кисарова, 2012). При новоутвореннях в печінці в селезінці майже не розрізняються БП і ЧП, вся тканина заповнюється метастазованими інсуломами (Федорова и др., 2014).

На селезінку все менше впливають біотичні і абіотичні чинники природного середовища, роль штучно створених умов утримання зростає. При згодовуванні низькокалорійного корму куркам 40-недільного віку протягом 20 тижнів з обмінною енергією в 2600, 2400, 2200, 2000 ккал на 1 кг корму відмічають крововиливи, застійну гіперемію, кількість глікопротеїнів знижується, зменшується основний білок у всіх структурах органу, нейтральний жир міститься тільки навколо кровонесних судин портальної частини органу (Бодрова, 2004). При згодовуванні високобілкових кормів відбувається зменшення діаметру ЛВ, розростання сполучної тканини в селезінці (Остапів та ін., 2012). При пренатальній дієті з низьким вмістом білка у нащадків збільшується апоптоз лімфоцитів селезінки (Senna et al., 2015). Короткі пептиди виявляють тканинспецифічну стимулюючу дію на імуногенез при старінні (Дудков, 2011). При незбалансованому харчуванні і відсутності моціону спостерігають достовірне зменшення лімфоцитів, огрубіння ретикулярних волокон строми селезінки, мукоїдне набухання стінок судин мікроциркуляторного русла (Гатин, 1990). При згодовуванні сої генетично модифікованих сортів суттєві відхилення в структурі селезінки відсутні, відмічається незначне збільшення ЛВ та маси органу (Долайчук та ін., 2012). На стан апоптозу лімфоцитів в селезінці впливає корм з високим вмістом молібдену (Yang et al., 2011) та селену, який призводить до відставання в розвитку селезінки (Peng et al., 2011). Надлишок харчових ненасичених жирних кислот в діапазоні 800–1200 мг/кг викликає явний окислювальний стрес, який забезпечує можливий шлях для апоптозу спленоцитів у курчат (Chen et al., 2011). В клітинах селезінки збільшується кількість мРНК при дії лектину часнику (Dong et al., 2011). Надмірна кількість марганцю в раціоні впливає на експресію мРНК цитокінів і викликає пригнічення імунної відповіді в селезінці (Lu et al., 2015). При застосуванні пробіотичних препаратів збільшується клітинність селезінки (Путніков та ін., 2014). Високі дози поліцукрів викликають ознаки активації і альтерації імунної системи, що призводить до спустошення БП, посилення загибелі лімфоцитів світлих центрів ЛВ (Яблонская, 2009). При дегідратації відбуваються порушення функціональної активності органу (Григоренко и др., 2007). При додатковому введенні L-глутамінової кислоти у тканинах селезінки спостерігається зниження вмісту гідропероксидів ліпідів (Салига, 2013). При залізодефіцитній анемії у поросят зменшуються Т-зони селезінки, площа БП і ЧП, В-залежні гермінативні центри, сильно зменшується площа ЛВ (Антипов, 2013). В₁₂-анемія призводить до збіднення лімфоїдної тканини у ЛВ, більшість ядер мегакаріоцитів має підвищену схильність до пікнозу і рексису, кількість еритроцитів в ЧП, як правило, зменшується (Жаров, 1964). Позбавлення сну викликає скорочення кількості В-лімфоцитів і їх попередників, тобто збій в В-лімфопоезі (Lungato et al., 2016). Голкотерапія та акупунктура позитивно впливає на селезінку, збільшується число мегакаріоцитів в ЧП, вміст катехоламінів і серотоніну в гранулярних клітинах, здатних до люмінесценції, навколо світлого центру різко зростає, активується адренергічна іннервація ЛВ, проявляється імуностимулююча дія (Кроткова и др., 2014). Пероральне споживання мінеральної води «Карачинська» посилює кровообіг і лімфопоез в селезінці (збільшуються розміри центральної артерії, В-залежної зони), бальнеопроцедури з ропою озера Карачі призводять до збільшення кількості ЛВ, маргінальної зони на фоні повнокров'я органу (Жданов, 2005). Трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку позитивно впливає на відновлення загальної кількості клітин селезінки після опромінення, цей процес залежить від віку тварин (Кирик, Родніченко, 2008).

Структурні перетворення селезінки відбуваються під впливом посиленої м'язової діяльності (Груздева, 2000). При застої крові (недостатній оксигенації) селезінка гіпертрофується (Frangioni, Borgioli, 1989). Систематичні фізичні навантаження збільшують відносну площу сполучнотканинних утворень і знижують відносну площу БП (Груздева, 2000). При гіпокінезії в селезінці збільшується вміст карбоксильованих білків (Тимофеева, 2012). В умовах експериментальної портальної гіпертензії в селезінці виникають значні альтернативні та компенсаторно-приспосувальні зміни: розширення внутрішньоорганних судин селезінки, геморагічна та лімфоїдно-гістіоцитарна

інфільтрація, набряк структурних компонентів, через 90 діб – фіброз строми і паренхіми органу, зменшення відносної площі ЛВ (Прокопець, 2011). Абсолютна маса, лінійні розміри, об'єм селезінки коропа збільшуються в кінці вегетативного періоду, що свідчить про депонування крові внаслідок зменшення температури води по закінченню вегетаційного періоду (Клименко та ін., 2013).

У зв'язку з постійним прискоренням темпу життя, комп'ютеризацією, збільшенням комунікативних зв'язків все більше значення в розвитку стресових реакцій набуває інформаційний вплив. Інформаційний стрес викликає зміни функціонального стану організму, що розвивається в умовах несприятливого поєднання чинників інформаційної тріади: об'єму інформації, належній обробці з метою ухвалення рішень; чинника часу (дефіцит часу); високою мотивацією ухвалення оптимального рішення (Яблонская, 2009). Проте вплив інформаційного стресу на селезінку вивчений недостатньо. У роботі А.М.Яблонської продемонстровано, що інформаційне навантаження викликає активацію імунної системи переважно по Тх1 (клітинному типу), призводить до гіперплазії БП селезінки з розширенням світлих центрів, збільшення індексів співвідношення БП/ЧП. У тварин, не здатних до навчання, активація імунної системи характеризується лише збільшенням індексу відносної густини БП/ЧП (Яблонская, 2009).

При емоційному стресі у щурів вміст компонентів БП знижується на 7,8–8,3 % (Бахмет, 2010). При больовому стресі в поєднанні з дією електромагнітного поля дуже високої частоти у щурів підвищується рівень вмісту біогенних амінів і серотоніновий індекс в клітинах селезінки; вплив цих факторів на рівень катехоламінів, серотоніну залежить від сезону року (Бочкарева, 2002). Хронічний соціальний стрес викликає зміни клітинної проліферації і апоптозу в селезінці (Кудрявцева и др., 2011). Хронічний стрес стійко пригнічує міграцію Т-лімфоцитів в Т-зони селезінки зі зменшенням їх частки в структурі селезінки (Краюшкин и др., 2010); призводить до ознак імуносупресії, звуження Т-зони, стирання її меж з ЧП, зменшення та розмивання контурів маргінальної зони, перебудови в В-зоні (посилення апоптозів, зниження клітинності, руйнування строми) (Орлова, 2000). При пролонгованому стресі спостерігається зниження клітинності селезінки (Нікольський та ін., 2012). Порушення в В-зоні були більше вираженими в групі інфантичного віку. Через 2 тижні після перенесеного стресу зміни суттєво зменшувалися (Шефер и др., 2011).

На морфологію селезінки курчат впливає вік курки, від якої отримане яйце. Так, у добових курчат, отриманих в третю фазу продуктивного циклу (від 450 діб), спостерігається розростання сполучної тканини, атрофія ЛВ; у добових курчат, отриманих в другу фазу продуктивного періоду курей (346–420 діб), патологічних змін не виявлено; морфологія селезінки курчат, отриманих в першу і третю фази продуктивного періоду, свідчить про патологічні процеси в органі (потовщення капсули, периваскулярні набряки, вакуолізація судинних стінок, застійна гіперемія судин мікроциркуляторного русла) (Женихова, 2006).

Інтенсивний розвиток молекулярної імунофармакології зумовлює створення нових препаратів з імуномодельючими властивостями. Питання імуномодуляції набуває все більшого значення для профілактики і корекції вторинних імунодефіцитних станів. Імуностимуляція в ранні терміни вагітності впливає на розвиток селезінки нащадків (Яглова, Обернихин, 2013). Відмічається позитивний вплив на селезінку імуномодуляторів: мелатоніну (Труфакин и др., 2014), лигфолу, лигавіріну, селеданту (Масьянов, 2009). Препарати ехінацеї пурпурової збільшують кількість спленоцитів (Яковлева та ін., 2012). При введенні лікарських речовин у вигляді тіотриазоліну та настоянки ехінацеї після впливу толуюлу відбувається зменшення відсоткового вмісту БП, площі світлих центрів ЛВ, маргінальної зони. (Волошин, 2011). Імунофан та гамавіт призводять до збільшення відносної площі БП (Дунаєвська, 2007). У нащадків від самок, яким вводили гумінові сполуки, спостерігається активація гемопоезу і посилення мітотичної активності в селезінці, збільшення судинної компоненти (Сарыева, 2006).

На теперішній час спостерігається погіршення екологічних умов, поява нових білкових та синтетичних полімерів, які широко застосовуються в різних сферах життєдіяльності людини і тварин та сприяють збільшенню навантаження на імунну систему, як у після-, так і пренатальному періодах розвитку організму. Спостерігається прогресивне зростання інфекційних та алергічних захворювань, тому виникає необхідність розробки нових парентеральних, пероральних вакцин та вивчення їх впливу на імунну систему. При введенні антигену під час пренатального періоду у тварин спостерігається спленомегалія, до 5-ої доби післянатального періоду зберігаються зміни морфофункціональних зон, а з 7-ої доби розбіжності у темпах формування ЛВ, маргінальної зони,

ПАЛП та динаміки їхнього клітинного складу (Волошин, Таланова, 2011; Новосьолова, 1996). У процесі імунізації тварин глікопептидною протипухлинною вакциною та полісахаридом відбуваються зміни клітинного складу та активності органів імунної системи, зокрема збільшення розмірів та маси селезінки з розвитком спленомегалії (Артамонова та ін., 2009). Вакцинація призводить до гістологічних змін селезінки, які проявляються в залежності від віку та періоду поствакцинації. Так, у добових курчат спостерігали потовщення капсули, набряк крайової пульпи, переповнення всіх зон органу клітинами крові, маргінальний синус розширений, стінки судин потовщені, ендотелій набряклий. На 5-у добу в ЧП спостерігали ділянки скупчення лімфоцитів, схожі на формування гранульом, формувалися активні ЛВ, такі зміни відмічали до 27-ої доби росту (Татарникова і др., 2010).

Морфофункціональні зміни в селезінці відбуваються відповідно до інфрадіанних ритмів. Встановлений синхронний 4-добовий період коливань об'ємної густини ЛВ, кількості мононуклеарів в селезінці (Диатроптов і др., 2013).

Таким чином, селезінка чутлива до впливу різноманітних чинників. Морфологічні зміни та ступінь їх прояву залежать від природи фактору впливу, дози, тривалості дії, віку, виду організму. Відбуваються вони на макро- і мікроскопічному рівнях, можуть носити зворотній і незворотній характер.

Список літератури

- Абрамян А.К. О функциональной роли селезёнки в формировании реакции организма на некоторые патологические воздействия (ионизирующее излучение, острая кровопотеря, денервация селезёнки). Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.00.13 – патологическая физиология животных. – Ереван, 1975. – 22с. /Abramyan A.K. O funktsyonalnoy roli selezyonky v formirovani reaksii organizma na nekotoryye patologicheskiye vozdeystviya (ioniziruyushcheye izlucheniye, ostraya krvopoterya, denervatsyya selezyonki). Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.13 – patologicheskaya fiziologiya zhyvotnykh. – Yerevan, 1975. – 22s./
- Аминаридзе М.В. Морфологическая характеристика селезёнки и печени после резекции части селезёнки и спленэктомии (экспериментальное исследование). Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 14.00.02 – анатомия человека. – К., 1989. – 23с. /Aminaridze M.V. Morfologicheskaya kharakteristika selezyonki i pečeni posle rezeksii chasti selezyonki i splenektomii (eksperimentalnoye issledovaniye). Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 14.00.02 – anatomiya cheloveka. – K., 1989. – 23s./
- Антипов А.А. Патогенетические механизмы развития, диагностика и профилактика алиментарной железодефицитной анемии поросят. Автореф. дис. ... канд. вет. наук / 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных. – М., 2013 – 24с. /Antipov A.A. Patogeneticheskiye mekhanizmy razvitiya, diagnostika i profilaktika alimentarnoy zhelezodefitsitnoy anemii porosyat. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / 06.02.01 – diagnostika bolezney i terapiya zhyvotnykh, patologiya, onkologiya i morfologiya zhyvotnykh. – M., 2013 – 24s./
- Арсёнова С.А. Изменение гуморального и клеточного иммунитета у мышей гибридов F1 после кастрации. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.03.01 – физиология. – Новосибирск, 2010. – 23с. /Arsyonova S.A. Izmeneniye gumoralnogo i kletochnogo immuniteta u myshey gibridov F1 posle kastratsii. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.03.01 – fiziologiya. – Novosibirsk, 2010. – 23s./
- Артамонова Г.Б., Діденко Г.В., Дворщенко О.С. та ін. Вплив глікопептидної вакцини на деякі показники імунної системи у інтактних тварин // Український медичний альманах. – 2009. – Т.12, №2. – С. 19–21. /Artamonova G.B., Didenko G.V., Dvorshchenko O.S. ta in. Vplyv glikopeptydnoyi vaktyny na deyaki pokaznyky immunnoi systemy u intaktnykh tvaryn // Ukrainytskyy medychnyy almanakh. – 2009. – T.12, №2. – S. 19–21./
- Балашова М.О. Структурно-функциональные перестройки в плаценте, тимусе и селезёнке при хронической гипоксии и ее коррекции низкоинтенсивным инфракрасным излучением. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.00.13 – физиология. – Иваново, 2001. – 14с. /Balashova M.O. Strukturno-funktsyonalnyye perestroyky v platsente, timuse i selezyonke pri khronicheskoy gipoksii i yeye korrektsyyu nizkointensivnym infrakrasnym izlucheniyyem. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.13 – fzyolohyia. – Ivanovo, 2001. – 14s./
- Бахмет А.А. Морфологическая характеристика селезёнки, паховых лимфатических узлов и лимфоидных бляшек тонкой кишки крыс при эмоциональном стрессе, а также в условиях воздействия некоторых олигопептидов. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / 14.03.01 – анатомия человека. – Москва, 2010. – 44с. /Bakhmet A.A. Morfologicheskaya kharakteristika selezyonki, pakhovykh limfaticeskikh uzlov i limfoidnykh blyashkek tonkoy kishki krysv pri emotsionalnom stresse, a takzhe v usloviyakh vozdeystviya nekotorykh oligopeptidov. Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk / 14.03.01 – anatomiya cheloveka. – Moskva, 2010. – 44s./
- Бодрова Л.Ф. Влияние низкокалорийного корма на морфофункциональное состояние желудка, двенадцатиперстной кишки, печени и селезёнки у кур. Автореф. дис. ... канд. вет. наук / 16.00.02 –

патология, онкология и морфология животных. – Омск, 2004. – 20с. /Bodrova L.F. Vliyaniye nizkokaloriynogo korma na morfofunktsionalnoye sostoyaniye zheludka, dvenadsatiperstnoy kishki, pecheni i selezyonki u kur. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya zhyvotnykh. – Omsk, 2004. – 20s./

Бочкарева А.Г. Влияние болевого стресса на морфофункциональное состояние селезёнки крыс. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.00.25 – гистология, цитология и клеточная биология. – Чебоксары, 2002. – 17с. /Bochkareva A.G. Vliyaniye boleвого stressa na morfofunktsionalnoye sostoyaniye selezyonki kryс. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.25 – gistologiya, tsitologiya i kletochnaya biologiya. – Cheboksary, 2002. – 17s./

Волкова Л.В. Морфофункциональные изменения в тимусе и селезёнке при стрессовых воздействиях. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / 14.00.02 – анатомия человека. – М., 1996. – 42с. /Volkova L.V. Morfofunktsionalnyye izmeneniya v timuse i selezyonke pri stressovykh vozdeystviyakh. Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk / 14.00.02 – anatomiya cheloveka. – M., 1996. – 42s./

Волошин В.М., Таланова О.С. Вплив внутрішньоутробного антигенного навантаження на формування маси селезінки щурів лінії Вістар // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип.3, Т.2 (88). – С. 32–33. /Voloshyn V.M., Talanova O.S. Vplyv vnutrishnyoutrobnogo antygenного navantazhennya na formuvannya masy selezinky shchuriv liniyi Vistar // Visnyk problem biologiyi i medytsyny. – 2011. – Vyp.3, T.2 (88). – S. 32–33./

Волошин В.М. Эффекты тиотриазолину та настоянки ехінацеї на гістоморфометричні показники селезінки щурів, які зазнавали інгаляційного впливу толуолу // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т.9, №3. – С. 59–61. /Voloshyn V.M. Efekty tiotryazolinu ta nastoyanky ekhinatseyi na gistomorfometrychni pokaznyky selezinky shchuriv, yaki zaznavaly ingyalyatsiyного vplyvu toluolu // Ukrayinskyy morfologichnyy almanakh. – 2011. – T.9, №3. – S. 59–61./

Волошин В.М. Вивчення інгаляційного впливу епіхлоргідрину на органометричні показники селезінки статевозрілих щурів // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15, №1 (57). – С. 54–57. /Voloshyn V.M. Vyvchennya ingyalyatsiyного vplyvu epikhlorgidrynu na organometrychni pokaznyky selezinky statevozrylykh shchuriv // Tavricheskiy mediko-biologicheskyy vestnik. – 2012. – T.15, №1 (57). – S. 54–57./

Гаврилюк-Скиба Г.О., Волков К.С., Небесна З.М. Динаміка змін мікрометричних та морфометричних показників селезінки після експериментальної термічної травми // Biomedical and biosocial antropology. – 2013. – №20. – С. 45–48. /Gavrylyuk-Skyba G.O., Volkov K.S., Nebesna Z.M. Dynamika zmin mikrometrychnykh ta morfometrychnykh pokaznykiv selezinky pislya eksperymentalnoy termichnoy travmy // Biomedical and biosocial antropology. – 2013. – №20. – S. 45–48./

Гасанов А.Б. Функциональная морфология органов иммунной системы при хронической наркотической зависимости. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / 14.03.02 – патологическая анатомия, 14.03.05 – судебная медицина. – Москва, 2010. – 40с. /Gasanov A.B. Funktsionalnaya morfologiya organov immunoynoy sistemy pri khronicheskoy narkoticheskoy zavisimosti. Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk / 14.03.02 – patologicheskaya anatomiya, 14.03.05 – sudеbnaya meditsina. – Moskva, 2010. – 40s./

Гатин И.М. Биоморфология тимуса и селезёнки КРС при откормке. Автореф. дис. ... канд. вет. наук / 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных. – Казань, 1990. – 23с. /Gatin I.M. Biomorfologiya timusa i selezyonki KRS pri otkormke. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya zhyvotnykh. – Kazan, 1990. – 23s./

Гирявенко Е.Я., Лукашова Р.Г., Алябьева В.М. Гормональная активнсьоть тимуса и гуморальный иммунный ответ у мышей при отсутствии надпочечников или щитовидной железы // Республиканский межведомственный сборник. – К., 1987. – Вып.21. – С. 119–121. /Giryavenko Ye.Ya., Lukashova R.G., Alyab'yeva V.M. Gormonalnaya aktivnsot timusa i gumoralnyy immunnyy otvet u myshey pri otsutstviy nadpochechnikov ili shchitovidnoy zhelezy // Respublikanskiy mezhvedomstvennyy sbornik. – K., 1987. – Vyp.21. – S. 119–121./

Горальський Л.П. Гістоморфологія і гістохімія окремих імунних та некровотворних органів при ретровірусних інфекціях (дослідження експериментального лейкозу рогатої худоби та інфекційної анемії коней). Автореф. дис. ... д-ра вет. наук / 16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин. – Біла Церква, 2000. – 36с. /Goralskiy L.P. Gistomorfologiya i gistokhimiya okremykh imunykh ta nekrovotvornykh organiv pry retrovirusnykh infektsiyakh (doslidzhennya eksperymentalного leykozu roगतoй khudoby ta infektsiynoi anemiyi koney). Avtoref. dys. ... d-ra vet. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya tvaryn. – Bila Tserkva, 2000. – 36s./

Горячева А.С. Влияние трипептидов семейства Glu-Trp (EW) и их циклических аналогов на основе 2,5-дикетопиперазина на систему кроветворения интактных и облучённых животных. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.01.01 – радиобиология. – Обнинск, 2013. – 19с. /Goryacheva A.S. Vliyaniye tripeptidov semeystva Glu-Trp (EW) i ikh tsiklicheskiikh analogov na osnove 2,5-diketopiperazina na sistemu krovetvoreniya intaktnykh i obluchyonnykh zhyvotnykh. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.01.01 – radiobiologiya. – Obninsk, 2013. – 19s./

Григоренко Д.Е., Гусейнов Т.С., Омарова Н.Г., Сапин М.Р. Динамика структурной организации лимфоидной ткани селезенки после действия дегидратации // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – №1. – С. 173–175. /Grigorenko D.Ye., Guseynov T.S., Omarova N.G., Sapin M.R. Dinamika

strukturnoy organizatsii limfoidnoy tkani selezenki posle deystviya degidratatsii // Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. – 2007. – №1. – S. 173–175./

Григоренко Д.Е., Сапин М.Р. Перестройка лимфоидных структур селезёнки у песчанок после космического полёта. – Морфология. – 2012. – №4. – С.67–71. /Grigorenko D.Ye., Sapin M.R. Perestroyka limfoidnykh struktur selezyonki u peschanok posle kosmicheskogo polyota. – Morfologiya. – 2012. – №4. – S.67–71./

Григорьев В.С. Становление и развитие органов и факторов резистентности у свиней и крупного рогатого скота в онтогенезе. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук / 03.00.13 – физиология. – М., 2006. – 42с. /Grigor'yev V.S. Stanovleniye i razvitiye organov i faktorov rezistentnosti u sviney i krupnogo rogatogo skota v ontogeneze. Avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk / 03.00.13 – fiziologiya. – M., 2006. – 42s./

Груздева О.Н. Морфологические изменения селезёнки под влиянием физических нагрузок и иммунокорекции. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 14.00.02 – анатомия человека. – СПб., 2000. – 21с. /Gruzdeva O.N. Morfologicheskiye izmeneniya selezyonki pod vliyaniyem fizicheskikh nagruzok i immunokorektsii. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 14.00.02 – anatomiya cheloveka. – SPb., 2000. – 21s./

Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А., Макарова О.В. Инфраниантные ритмы морфофункциональных изменений селезёнки у крыс-самцов линии Вистар // Иммунология. – 2013. – №4. – С. 185–188. /Diatroptov M.Ye., Diatroptova M.A., Makarova O.V. Infradiannye ritmy morfofunksionalnykh izmeneniy selezyonki u krys-samtsov linii Vistar // Immunologiya. – 2013. – №4. – S. 185–188./

Довгаль Г.В. Розвиток селезінки щурів в пізньому пренатальному періоді під впливом ацетату свинцю та за умов корекції // Морфологія. – 2013. – Вип.4. – Т.2 (105). – С. 197–199. /Dovgal' G.V. Rozvytok selezinky shchuriv v piznyomu prenatalnomu periodi pid vplyvom atsetatu svyntsyu ta za umov korektsiyi // Morfologiya. – 2013. – Vyp.4. – T.2 (105). – S. 197–199./

Долайчук О., Федорук Р., Мартин Ю. Гістологічна структура і масометричні коефіцієнти внутрішніх органів щурів за згодовування сої натурального та генетично модифікованих сортів // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. – 2012. – Вип.59. – С. 235–241. /Dolaychuk O., Fedoruk R., Martyn Yu. Gistologichna struktura i masometrychni koefitsienty vnutrishnikh organiv shchuriv za zgodovuvannya soi naturalnogo ta genetychno modyfikovanykh sortiv // Visnyk Lvivskogo un-tu. Seriya biologichna. – 2012. – Vyp.59. – S. 235–241./

Драган Л.П. Стан каспазного каскаду в клітинах селезінки щурів за радіаційно–індукованого апоптозу // Медична і клінічна хімія. – 2011. – Т.13, №4. – С. 29–32. /Dragan L.P. Stan kaspaznoho kaskadu v klitynakh selezinky shchuriv za radiatsiyno–indukovanogo apoptozu // Medychna i klinichna khimiya. – 2011. – T.13, №4. – S. 29–32./

Дрогомирецька І.З., Мазепа М.А. Особливості лейкоцитарної формули крові та кровотворних органів *Cyprinus Carpio L.* за дії токсичних концентрацій іонів нікелю // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2009. – Т.22 (61), №1. – С. 9–15. /Drogomyretska I.Z., Mazepa M.A. Osoblyvosti leykotsitarnoyi formuly krovii ta krovotvornykh organiv *Cyprinus Carpio L.* za diyi toksychnykh kontsentratsiy ioniv nikelyu // Uchenyye zapiski Tavricheskogo nats. un-ta im. V.I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya, khimiya». – 2009. – T.22 (61), №1. – S. 9–15./

Дудков А.В. Пептиды восстанавливают численность субпопуляции клеток CD8+ в селезенке при старении // Российский семейный врач. – 2011. – Т.15, №4. – С. 91–92. /Dudkov A.V. Peptidy vosstanavlivayut chislennost subpopulyatsii kletok CD8+ v selezenke pri starenii // Rossiyskiy semeynny vrach. – 2011. – T.15, №4. – S. 91–92./

Дунаєвська О.Ф. Вплив імуностимуляторів на імунні органи собак в умовах радіаційного забруднення. Автореф. дис. ... канд. біол. наук / 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія. – К., 2007. – 22с. /Dunayevska O.F. Vplyv imunostymulyatoriv na imunni organy sobak v umovakh radiatsiynogo zabrudnennya. Avtoref. dys. ... kand. biol. nauk / 03.00.11 – tsytologiya, klitynna biologiya, gistologiya. – K., 2007. – 22s./

Духницький В.Б., Колич Н.Б., Бруско Є.П. Патоморфологічні зміни в організмі коней при отруєнні чорнокоренем лікарським /Dukhnytsky V.B., Kolych N.B., Brusko Ye.P. Patomorfolozhichni zminy v organizmi koney pry otruyenni chornokorenem likarskym/ (<http://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/nppdaa-vet/2011/2/22.pdf>)

Дяків В.В. Особливості імунних порушень у віддалений період легкої закритої черепно–мозкової травми на фоні впливу хронічного іонізуючого опромінення в експерименті // Український нейрохірургічний журнал. – 2000. – №2. – С. 130–133. /Dyakiv V.V. Osoblyvosti imunnykh porushen u viddalennyi period legkoyi zakrytoyi cherepno–mozkovoyi travmy na foni vplyvu khronichnogo ionizuyuchogo oprominennya v eksperymentі // Ukrainyyu neyrokhirurgichnyy zhurnal. – 2000. – №2. – S. 130–133./

Евлахова Л.А., Чавва С.В., Акыева Н.К. Структурные особенности белой пульпы селезёнки у мышей после радиационного воздействия низкой интенсивности // Морфологические ведомости. – 2013. – №2. – С. 98–100. /Yevlakhova L.A., Chava S.V., Akyyeva N.K. Strukturnyye osobennosti beloy pulpy selezyonki u myshey posle radiatsionnogo vozdeystviya nizkoy intensivnosti // Morfologicheskiye vedomosti. – 2013. – №2. – S. 98–100./

Ермолина Е.В., Митрофанова И.С., Стадников А.А. и др. Структурные преобразования органов гипоталамо–гипофизарно–адренкортикальной и иммунной систем крыс при воздействии хрома и бензола // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – №1. – С. 80–83. /Yermolina Ye.V., Mitrofanova I.S.,

Stadnikov A.A. i dr. Strukturnyye preobrazovaniya organov gipotalamo–gipofizarno–adrenokortikalnoy i immunnoy sistem kryis pri vozdeystvii khroma i benzola // Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal. – 2013. – №1. – S. 80–83./

Жаров А.В. Патоморфологические изменения у норок при алиментарной В₁₂(фолиево)-дефицитной анемии. Автореф. дис. ... канд. вет. наук / ветеринарная патология. – К., 1964. – 22с. /Zharov A.V. Patomorfologicheskiye izmeneniya u norok pri alimentarnoy В₁₂(foliyevo)-defitsitnoy anemii. Avtoref. dis. ...kand. vet. nauk / veterinarnaya patologiya. – К., 1964. – 22s./

Жданов А.П. Лимфоидные органы в условиях нормы и дестабилизации хлорорганическими пестицидами с последующей коррекцией. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / 14.00.02 – анатомия человека, 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология. – М., 2005. – 41с. /Zhdanov A.P. Limfoidnyye organy v usloviyakh normy i destabilizatsii khlororganicheskimi pestitsidami s posleduyushchey korrektsiyey. Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk / 14.00.02 – anatomiya cheloveka, 03.00.25 – gistologiya, tsitologiya, kletochnaya biologiya. – М., 2005. – 41s./

Женихова Н.И. Морфология и морфометрия органов иммунной системы суточных цыплят, полученных от разновозрастной птицы. Автореф. дис. ... канд. вет. наук / 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных. – Екатеринбург, 2006. – 28с. /Zhenikhova N.I. Morfologiya i morfometriya organov immunnoy sistemy sutochnykh tsyplyat, poluchennykh ot raznovozrastnoy ptitsy. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya zhivotnykh. – Yekaterinburg, 2006. – 28s./

Завгородній І.В., Горголь Н.І., Перцев Д.П. та ін. Патоморфологічні дослідження внутрішніх органів лабораторних тварин, які зазнали впливу електровипромінювань в умовах холодового стресу // Сб. тр. XXII Межд. научно-практ. конф. «Инновационные пути решения актуальных проблем базовых отраслей, экологии, энерго- и ресурсосбережения» – Харьков: НТМТ, 2014. – Т.1. – С. 273–275. /Zavgorodniy I.V., Gorgol' N.I., Pertsev D.P. ta in. Patomorfologichni doslidzhennya vnutrishnikh organiv laboratornykh tvaryn, yaki zaznali vplyvu elektrovyprominyuvan' v umovakh kholodovogo stresu // Sb. tr. XXII Mezhd. nauchno–prakt. konf. «Innovatsionnyye puti resheniya aktualnykh problem bazovykh otrasley, ekologii, energo- i resursosberezheniya» – Kharkov: NTMT, 2014. – T.1. – S. 273–275./

Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н. и др. Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра в экспериментах на мышах. Поведенческие реакции, морфология внутренних органов // Анализ риска здоровью. – 2015. – №2 (10). – С. 68–80. /Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N. i dr. Toksikologicheskaya otsenka nanorazmernogo kolloidnogo serebra v eksperimentakh na myshakh. Povedencheskiye reaksii, morfologiya vnutrennikh organov // Analiz riska zdorov'yu. – 2015. – №2 (10). – S. 68–80./

Зимовина Л.В., Яковлева Е.Г., Мусиенко Н.А. Динамика массы тела и внутренних органов цыплят–бройлеров, получавших в процессе выращивания липосил // Научные ведомости. Серия Естественные науки. – 2011. – №21 (116). – Вып.17. – С. 41–45. /Zimovina L.V., Yakovleva Ye.G., Musiyenko N.A. Dinamika massy tela i vnutrennikh organov tsyplyat–brojlerov, poluchavshikh v protsesse vyrashchivaniya liposil // Nauchnyye vedomosti. Seriya Yestestvennyye nauki. – 2011. – №21 (116). – Vyp.17. – S. 41–45./

Златник Е.Ю., Передреева Л.В. Дозозависимое действие наночастиц переходных металлов на морфофункциональное состояние селезёнки // Фундаментальные исследования. Медицинские науки. – 2014. – №7. – С. 282–285. /Zlatnik Ye.Yu., Peredreyeva L.V. Dozozavisimoye deystviye nanochastits perekhodnykh metallov na morfofunktionalnoye sostoyaniye selezyonki // Fundamentalnyye issledovaniya. Meditsinskiye nauki. – 2014. – №7. – S. 282–285./

Зон Г.А., Ващик Є.В. Морфологічні зміни центральних органів імунної системи курчат–бройлерів за псевдомозної інфекції // Збірник наукових праць Полтавської ДАА, серія «Ветеринарна медицина». – Полтава, 2011. – Вип.2. – С. 36–43. /Zon G.A., Vashchik Ye.V. Morfologichni zminy tsentralnykh organiv immunnoy systemy kurchat–brojleriv za psevdomonoznoyi infektsii // Zbirnyk naukovykh prats' Poltavskoyi DAA, seriya «Veterynarna medytsyna». – Poltava, 2011. – Vyp.2. – S. 36–43./

Ибрагимова К.А. Морфологическая характеристика иммунной системы птиц при заражении токсигенными бактериями Yersinia pseudotuberculosis. Автореф. дис. ... канд. вет. наук / 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология. – М., 2013. – 26с. /Ibragimova K.A. Morfologicheskaya kharakteristika immunnoy sistemy ptits pri zarazhenii toksigennymi bakteriyami Yersinia pseudotuberculosis. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / 06.02.02 – veterinarnaya mikrobiologiya, virusologiya, epizootologiya, mikologiya s mikotoksikologiyey i immunologiya. – М., 2013. – 26s./

Иванов В.П., Воронина Е.А., Федорова Н.Н. и др. Ихтиопатологическое состояние и новые заболевания анчоусовидной тюльки (Clupeonella engrauliformis Borodin, 1904) Каспийского моря // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. – 2011. – №2. – С. 7–12. /Ivanov V.P., Voronina Ye.A., Fedorova N.N. i dr. Ikhtiopatologicheskoye sostoyaniye i novyye zabolevaniya anchousovidnoy tyulki (Clupeonella engrauliformis Borodin, 1904) Kaspiyskogo morya // Vestnik AGTU. Ser.: Rybnoye khozyaystvo. – 2011. – №2. – S. 7–12./

Калиманов С.Н., Анников В.В., Ряднов А.А. и др. Гистологические изменения в некоторых паренхиматозных органах при бабезиозе собак // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса. – 2015. – №1 (37). – С. 1–6. /Kalimanov S.N., Annikov V.V., Ryadnov A.A. i dr. Gistologicheskiye

izmeneniya v nekotorykh parenkhimatoznykh organakh pri babezioze sobak // Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa. – 2015. – №1 (37). – S. 1–6./

Кацай В.В., Шепітько В.І. Характеристика структурних елементів селезінки при гострому асептичному запаленні черевної порожнини // Світ медицини та біології. – 2013. – №1. – С. 124–126. /Katsay V.V., Shepitsko V.I. Kharakterystyka strukturnykh elementiv selezinky pry gostromu aseptychnomu zapalenni cherevnoyi porozhnyny // Svit medytsyny ta biologiyi. – 2013. – №1. – S. 124–126./

Кекебаева А.М., Голубева І.А., Головнев В.А. и др. Структурно–клеточные преобразования в селезёнке и подвздошных лимфатических узлах при воздействии вибрации // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2009. – Т.7, вып.3. – С. 136–140. /Kekebayeva A.M., Golubeva I.A., Golovnev V.A. i dr. Strukturno–kletochnyye preobrazovaniya v selezyonke i podvzdoshnykh limfaticheskikh uzлах pri vozdeystvii vibratsii // Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina. – 2009. – T.7, vyp.3. – S. 136–140./

Кирик В.М., Родніченко А.Є. Оцінка впливу трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку на імунологічні показники в молодому та старому організмі в різні терміни після опромінення // Патологія. – 2008. – Т.5, №3. – С. 39. /Kyryk V.M., Rodnichenko A.Ye. Otsinka vplyvu transplantatsii gemopoetychnykh stoburovykh klityn kistkovogo mozku na imunologichni pokaznyky v molodomu ta staromu organizmi v rizni terminy pislya oprominennya // Patologiya. – 2008. – T.5, №3. – S. 39./

Кисарова Я.А. Активность матриксных металлопротеаз при развитии экспериментальных опухолей у мышей. Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 03.01.04 – биохимия. – Новосибирск, 2012. – 23с. /Kisarova Ya.A. Aktivnost' matriksnykh metalloproteaz pri razvitii eksperimentalnykh opukholey u myshey. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk / 03.01.04 – biokhimiya. – Novosibirsk, 2012. – 23s./

Клименко О.М., Куновський Ю.В., Присяжнюк Н.М. та ін. Динаміка змін фізичних параметрів кровотворних органів коропа впродовж вегетаційного періоду // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – 2013. – Вип.10 (105). – С. 44–46. /Klymenko O.M., Kunovskiy Yu.V., Prisyazhnyuk N.M. ta in. Dynamika zmin fizychnykh parametriv krovotvornykh organiv koropa vprodovzh vegetatsiyного periodu // Tekhnologiya vyrobnytstva i pererobky produktsii tvarynnytstva. – 2013. – Vyp.10 (105). – S. 44–46./

Коваль В.О. Вплив йонів міді на морфологічні показники коропа лускатого різного віку // Наукові записки Тернопільського нац. пед. ун-ту. Серія Біологія. – 2013. – №2. – С. 74–77. /Koval V.O. Vplyv yoniv midi na morfologichni pokaznyky koropa luskatoho riznoho viku // Naukovi zapysky Ternopil'skogo nats. ped. un-tu. Seriya Biologiya. – 2013. – №2. – S. 74–77./

Компанець І.В., Нікольська В.В., Остапченко Л.І. Вплив тривалого введення омепразолу на продукцію інтерферону лімфоцитами селезінки щурів та активність 2,5-олігоаденілатсинтетази // Сучасні проблеми токсикології. – 2011. – №5. – С. 88–89. /Kompanets I.V., Nikol'ska V.V., Ostapchenko L.I. Vplyv tryvalogo vvedennya omeprazolu na produktsiyu interferonu limfotsytamy selezinky shchuriv ta aktyvnist 2,5-oligoadenilatsyntetazy // Suchasni problemy toksykologiyi. – 2011. – №5. – S. 88–89./

Константинова С.А. Структурно-функциональные изменения крови, печени, селезёнки и кишечника белых крыс при остром лучевом поражении. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных. – Улан-Удэ, 2004. – 24с. /Konstantinova S.A. Strukturno–funktsionalnyye izmeneniya krovi, pecheni, selezyonki i kishchynka belykh kryс pri ostrom luchevom porazhenii. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya zhivotnykh. – Ulan-Ude, 2004. – 24s./

Красюк Ю.М. Вміст аміаку і нітритів в тканинах риб за тривалої дії сполук неорганічного азоту // Науковий записки Тернопільського нац. пед. ун-ту. Серія Біологія. – 2011. – №2 (47). – С. 198–201. /Krasyyuk Yu.M. Vmist amiaku i nitrytiv v tkanyakh ryb za tryvaloyi diyi spoluk neorganichnogo azotu // Naukovi zapysky Ternopil'skogo nats. ped. un-tu. Seriya Biologiya. – 2011. – №2 (47). – S. 198–201./

Краюшкин А.И., Шефер Е.Г., Дехтярь Ю.В. и др. Динамика клеточной популяции недавних тимусных иммигрантов в периферических лимфоидных органах у крыс различного возраста в постстрессовом периоде // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2010. – №11. – С. 41–42. /Krayushkin A.I., Shefer Ye.G., Dekhtyar' Yu.V. i dr. Dinamika kletochnoy populyatsii nedavnykh timusnykh immigrantov v perifericheskikh limfoidnykh organakh u kryс razlichnogo vozrasta v poststressovom periode // Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy. – 2010. – №11. – S. 41–42./

Кроткова О.С., Гурьянова Е.А., Николаева С.В. и др. Люминесцентно–морфологические особенности селезёнки мышей после иглоукалывания // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – 5с. /Krotkova O.S., Guryanova Ye.A., Nikolayeva S.V. i dr. Lyuminestentno–morfologicheskiye osobennosti selezyonki myshey posle igloukalyvaniya // Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsyny. – 2014. – 5s./

Кудрявцева Н.Н., Смагин Д.А., Галямина А.Г. и др. Эффекты кломипрамина на изменение субпопуляционного состава и клеточного цикла лимфоцитов тимуса и селезёнки, возникающее у тревожно–депрессивных самцов мышей под влиянием хронического социального стресса // Психофармакология и биологическая наркология. – 2011. – Т.11, вып. 1–2. – С. 2677–2687. /Kudryavtseva

- N.N., Smagin D.A., Galyamina A.G. i dr. Efekty klomipramina na izmeneniye subpopulyatsionnogo sostava i kletochnogo tsikla limfotsitov timusa i selezyonki, voznikayushcheye u trevodno-depressivnykh samtsov myshey pod vliyaniyem khronicheskogo sotsialnogo stressa // *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. – 2011. – Т.11, вып. 1–2. – С. 2677–2687./
- Лапирова Т.Б. Реакция иммунофизиологических показателей молодежи сибирского осетра (*Acipenser baerii Brandt*) на действие перметрина // *Вестник Томского гос. ун-та. Биология*. – 2011. – №4 (16). – С. 124–135. /Lapirova T.B. Reaktsiya immunofiziologicheskikh pokazateley molodi sibirskogo osetra (*Acipenser baerii Brandt*) na deystviye permetrina // *Vestnik Tomskogo gos. un-ta. Biologiya*. – 2011. – №4 (16). – С. 124–135./
- Лапирова Т.Б., Микряков В.Р., Маврин А.С. и др. Влияние сублетальных концентраций солей ртути, кадмия и меди на содержание лизоцима в тканях молодежи ленского осетра *Acipenser baerii* // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. – 2000. – №1. – С. 36–39. /Lapirova T.B., Mikryakov V.R., Mavrin A.S. i dr. Vliyaniye subletal'nykh kontsentratsiy soley rtuti, kadmiya i medi na sodержaniye lizotsima v tkanyakh molodi lenskogo osetra *Acipenser baerii* // *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. – 2000. – №1. – С. 36–39./
- Лисенко О.В. Особливості нуклеотидного обміну у лімфатичних вузлах та метаболізму у міокарді, печінці, селезінці щурів в умовах гіпоксичної гіпоксії та сенсibiliзації до цитохромоксидази. Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 14.03.05 – патологічна фізіологія. – К., 1996. – 26с. /Lysenko O.V. Osoblyvosti nukleotydnoho obminu u limfatychnykh vuzlakh ta metabolizmu u miokardi, pechintsy, selezintsi shchuriv v umovakh gipoksychnoy gipoksii ta sensybilizatsiyi do tsytokhromoksydazy. Avtoref. dys. ... kand. med. nauk / 14.03.05 – patologichna fiziologiya. – K., 1996. – 26s./
- Лужнова С.А., Ясенеvская А.Л., Самотруева М.А. Антиоксиданты как корректоры дапсон-индуцированных изменений показателей иммунореактивности // *Фундаментальные исследования. Медицинские науки*. – 2014. – №10. – С. 1138–1142. /Luzhnova S.A., Yasenevskaya A.L., Samotrueva M.A. Antioksidanty kak korrektoory dapson-indutsirovannykh izmeneniy pokazateley immunoreaktivnosti // *Fundamentalnyye issledovaniya. Meditsinskiye nauki*. – 2014. – №10. – С. 1138–1142./
- Магомедова П.Г. Структурные изменения в лимфоидной ткани селезёнки крыс при воздействии на организм паров формальдегида. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. – Москва, 2011. – 24с. /Magomedova P.G. Strukturnyye izmeneniya v limfoidnoy tkani selezyonki krysa pri vozdeystvii na organizm parov formaldegida. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.03.04 – kletochnaya biologiya, tsitologiya, gistologiya. – Moskva, 2011. – 24s./
- Маматназарова М.Ф. Структурные особенности селезёнки при воздействии пестицидов и некоторые пути её коррекции. Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 14.00.23 – гистология, цитология, эмбриология. – Ташкент, 1997. – 16с. /Mamatnazarova M.F. Strukturnyye osobennosti selezyonki pri vozdeystvii pestitsidov i nekotoryye puti yeyo korrektsii. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk / 14.00.23 – gistologiya, tsitologiya, embriologiya». – Tashkent, 1997. – 16s./
- Масьянов Ю.Н. Иммуноморфология у поросят-сосунов в норме и при экспериментальной колидиарее. Автореф. дис. ... канд. вет. наук / 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных. – Воронеж, 1992. – 26с. /Mas'yanov Yu.N. Immunomorfologiya u porosyat-sosunov v norme i pri eksperimentalnoy kolidiareye. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya zhivotnykh. – Voronezh, 1992. – 26s./
- Масьянов Ю.Н. Иммунный статус крупного рогатого скота и свиней при наиболее распространённых болезнях и его коррекция. Автореф. дис. ... д-ра вет. наук / 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных, 16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология и иммунология. – Воронеж, 2009. – 44с. /Mas'yanov Yu.N. Immunnyy status krupnogo rogatogo skota i sviney pri naiboleye rasprostranyonnykh boleznyakh i yego korrektsiya. Avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya zhivotnykh, 16.00.03 – veterinarnaya mikrobiologiya, virusologiya, epizootologiya, mikologiya i immunologiya. – Voronezh, 2009. – 44s./
- Мельникова О.В., Сергеева В.Е. Иммуногистохимическое исследование по выявлению CD4-позитивных клеток селезёнки на фоне длительного употребления кальция // *Acta Medica Eurasica*. – 2015. – С. 12–19. /Melnikova O.V., Sergeeva V. Ye. Immunogistokhimicheskoye issledovaniye po vyyavleniyu CD4-pozitivnykh kletok selezyonki na fone dlitel'nogo upotrebleniya kaltsiya // *Acta Medica Eurasica*. – 2015. – С. 12–19./
- Метелиця Л.О., Кондратюк І.М., Кондратюк К.М. та ін. Дослідження імунокорегуючих властивостей 4-фосфорильованих похідних 1,3-оксазолу і 1,3-тіазолу за умов коротко- та довготривалого супресивного ефекту циклофосфану // *Ukrainica Bioorganica Acta*. – 2010. – №2. – С. 47–51. /Metelytsya L.O., Kondratiuk I.M., Kondratiuk K.M. ta in. Doslidzhennya imunokoreguuyuchykh vlastyvostey 4-fosforylyovanykh pokhidnykh 1,3-oksazolu i 1,3-tiazolu za umov korotko- ta dovgotryvalogo supresyvnoho efektu tsyklofosfanu // *Ukrainica Bioorganica Acta*. – 2010. – №2. – С. 47–51./
- Мороз Г.О. Динаміка відносної маси надниркових залоз, тимуса і селезінки щурів під впливом гіпергравітації // *Морфологія*. – 2009. – Т.ІІІ, №2. – С. 42–46. /Moroz G.O. Dynamika vidnosnoyi masy nadnyrkovykh zaloz, tymusa i selezinky shchuriv pid vplyvom gipergravitatsiyi // *Morfologiya*. – 2009. – Т.ІІІ, №2. – С. 42–46./

- Мороз Г.А. Лектиногистохимическая характеристика лимфоцитов белой пульпы селезёнки при экспериментальной гипергравитации // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т.10, №4. – С. 69–73. /Moroz G.A. Lektinogistokhimicheskaya kharakteristika limfotsitov beloy pulpy selezyonki pri eksperimentalnoy gipergravitatsii // Klinichna anatomiya ta operativna hirurgiya. – 2011. – T.10, №4. – S. 69–73./
- Нарвыш Л.В. Организация циркадианных ритмов содержания катехоламинов в селезёнке, вилочковой железе и миелограммы при гипо- и гиперпаратиреозе. Автореф. дис. ...канд. биол. наук / 03.00.13 – физиология. – Ставрополь, 2006. – 18с. /Narvysh L.V. Organizatsiya tsirkadiannykh ritmov sodержaniya katekholaminov v selezyonke, vilochkovoy zheleze i mielogrammy pri gipo- i giperparatireoze. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.13 – fiziologiya. – Stavropol, 2006. – 18s./
- Нікольський І.С., Галицька С.М., Семенова Я.-М. О. та ін. Экспериментальне дослідження загоєння стресових виразок під впливом мультипотентних стромальних клітин кісткового мозку // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15, №3. – С. 235–238. /Nikolskiy I.S., Galytska S.M., Semenova Ya.-M.O. ta in. Eksperymentalne doslidzhennya zagoyennya stresovykh vyrazok pid vplyvom multypotentnykh stromalnykh klityn kistkovogo mozku // Tavricheskiy mediko-biologicheskii vestnik. – 2012. – T.15, №3. – S. 235–238./
- Новосолова О.А. Особенности морфогенезу білої пульпи селезінки щурів в ранньому післянатальному періоді та після внутрішньочеревного введення антигенів (анатомо-експериментальне дослідження). Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 14.03.01 – нормальна анатомія. – Сімферополь, 1996. – 24с. /Novosyolova O.A. Osoblyvosti morfogenezu biloyi pulpy selezinky shchuriv v ranniyomu pislyanatalnomu periodi ta pislya vnutrishnocherevnogo vvedennya antygeniv (anatomo-eksperymentalne doslidzhennya). Avtoref. dys. ... kand. med. nauk / 14.03.01 – normalna anatomiya. – Simferopol, 1996. – 24s./
- Овчаренко В.В. Особенности ультрамикроскопичної будови селезінки у нормі та під впливом хронічної гіпертермії значного ступеня вираженості // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т.9, №2. – С. 60–63. /Ovcharenko V.V. Osoblyvosti ultramikroskopichnoyi budovy selezinky u normi ta pid vplyvom khronichnoyi gipertermiyi znachnogo stupenya vyrazhenosti // Ukrayinskiy morfologichnyy almanakh. – 2011. – T.9, №2. – S. 60–63./
- Орлова Е.Г. Адренергическая регуляция функций фагоцитирующих клеток при остром стрессе. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 14.00.36 – аллергология и иммунология. – Пермь, 2000. – 23с. /Orlova Ye.G. Adrenergicheskaya regulyatsiya funktsiy fagotsitiruyuschikh kletok pri ostrom stresse. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 14.00.36 – allergologiya i immunologiya. – Perm, 2000. – 23s./
- Остапів Д.Д., Петрук І.М., Мартин Ю.В., Влізло В.В. Мікроструктура та вміст білків у тканинах мишей за згодовування високобілкових кормів // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин та державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок. – 2012. – Вип.13, №1/2. – С. 419–424. /Ostapiv D.D., Petruk I.M., Martyn Yu.V., Vlizlo V.V. Mikrostruktura ta vmist bilkiv u tkanyakh myshey za zgodovuvannya vysokobilkovykh kormiv // Naukovo-tekhnichnyy byuleten instytutu biologiyi tvaryn ta derzhavnogo naukovo-doslidnogo kontrolnogo instytutu veterynarykh preparativ ta kormovykh dobavok. – 2012. – Vyp.13, №1/2. – S. 419–424./
- Петросян Н.Р. Морфологическая характеристика реактивных изменений в почках, печени, селезёнке в ранней стадии синдрома длительного раздавливания (Краш-синдром) в эксперименте. Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 14.00.23 – гистология, цитология и эмбриология. – Ереван, 1995. – 34с. /Petrosyan N.R. Morfologicheskaya kharakteristika reaktivnykh izmeneniy v pochках, pecheni, selezyonke v ranney stadii sindroma dlitel'nogo razdavlivaniya (Krash-sindrom) v eksperimente. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk / 14.00.23 – gistologiya, tsitologiya i embriologiya. – Yerevan, 1995. – 34s./
- Польовий В.П. Особенности динаміки функціональної активності тромбоцитів, протизгортаючого потенціалу крові та вмісту в крові фібриногену в старих щурів після травми селезінки // Науковий вісник Ужгородського ун-ту, серія «Медицина». – 2005. – Вип.25. – С. 44–48. /Polyovyy V.P. Osoblyvosti dynamiky funktsionalnoyi aktyvnosti trombotsytiv, protygzortayuchogo potentsialu krovi ta vmistu v krovi fibrynogenu v starykh shchuriv pislya travmy selezinky // Naukovyy visnyk Uzhgorodskogo un-tu, seriya «Medytsyna». – 2005. – Vyp.25. – S. 44–48./
- Польовий В.П., Каратаєва С.Ю. Зміни тканинного протеолізу у щурів різного віку після травми селезінки // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. – Т.7, №3. – С. 1–8. /Polyovyy V.P., Karatayeva S.Yu. Zminy tkanyynogo proteolizu u shchuriv riznogo viku pislya travmy selezinky // Klinichna ta eksperymentalna patologiya. – 2008. – T.7, №3. – S. 1–8./
- Поройская А.В. Морфофункциональная характеристика селезёнки и лимфатических узлов при экспериментальном воспроизведении лихорадки западного Нила. Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 14.03.02 – патологическая анатомия. – Волгоград, 2004. – 24с. /Poroyanskaya A.V. Morfofunktsionalnaya kharakteristika selezyonki i limfaticheskikh uzlov pri eksperimentalnom vosproizvedenii likhoradki zapadnogo Nila. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk / 14.03.02 – patologicheskaya anatomiya. – Volgograd, 2004. – 24s./
- Прокопєць Т.О. Моделювання портальної гіпертензії на лабораторних щурах // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т.10, №1. – С. 101–104. /Prokopets' T.O. Modelyuvannya portalnoyi gipertenzii na laboratornykh shchurakh // Klinichna anatomiya ta operativna khirurgiya. – 2011. – T.10, №1. – S. 101–104./

- Пуговкин А.П. Функциональная морфология адренергирующего нервного аппарата артериальных сосудов. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук / 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология. – СПб., 2001. – 39с. /Pugovkin A.P. Funktsionalnaya morfologiya adrenergiruyushchego nervnogo apparata arterialnykh sosudov. Avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk / 03.00.25 – gistologiya, tsitologiya, kletochnaya biologiya. – SPb., 2001. – 39s./
- Путніков А., Позур В., Святецька В., Загордонець Л. Реакція імунної системи щурів на введення мультипробіотика «Симбітер» на фоні курсового застосування цефтриаксону // Біологія. – 2014. – №1 (66). – С. 69–72. /Putnikov A., Pozur V., Svyatetska V., Zakordonets L. Reaktsiya immunoyi systemy shchuriv na vvedennya multyprobiotyka «Symbiter» na foni kursovogo zastosuvannya tseftryaksonu // Biologiya. – 2014. – №1 (66). – S. 69–72./
- Рикало Н.А., Гумінська О.Ю., Тереховська О.І. Особливості морфологічної будови селезінки статевозрілих щурів на тлі хронічного медикаментозного гепатиту // Вісник наукових досліджень. – 2013. – №3. – С. 95–96. /Rykalo N.A., Guminska O.Yu., Terekhovska O.I. Osoblyvosti morfologichnoyi budovy selezinky statevozrilykh shchuriv na tli khronichnogo medykamentoznogo gepatytu // Visnyk naukovykh doslidzhen. – 2013. – №3. – S. 95–96./
- Ротар Д.В. Бактеріальна контамінація внутрішніх органів при експериментальному гострому панкреатиті // Український журнал хірургії. – 2008. – №2. – С. 78–83. /Rotar D.V. Bakterialna kontaminatsiya vnutrishnikh organiv pry eksperymentalnomu gostromu pankreatyti // Ukrainskyi zhurnal khirurgiyi. – 2008. – №2. – S. 78–83./
- Салига Н.О. Активність глутатинової системи антиоксидантного захисту в щурів за дії L-глутамінової кислоти // Український біохімічний журнал. – 2013. – Т.85, №4. – С. 248–249. /Salyga N.O. Aktyvnist glutationovoyi systemy antyoksydantnogo zakhystu v shchuriv za diyi L-glutaminovoyi kysloty // Ukrayinskyi biokhimichnyy zhurnal. – 2013. – T.85, №4. – S. 248–249./
- Сарыева О.П. Морфология тимуса, селезёнки, надпочечников и особенности физического развития крыс под влиянием гуминовых соединений. Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 03.00.25 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных. – М., 2006. – 19с. /Saryyeva O.P. Morfologiya timusa, selezyonki, nadpochechnikov i osobennosti fizicheskogo razvitiya krys pod vliyaniem guminovykh soyedineniy. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk / 03.00.25 – diagnostika bolezney i terapiya zhivotnykh, patologiya, onkologiya i morfologiya zhivotnykh. – M., 2006. – 19s./
- Селюк М.М., Хайтович М.В., Потаскалова В.С. та ін. Зміни внутрішніх органів експериментальних щурів під впливом електромагнітного випромінювання надвисокочастотного діапазону // Ліки України. – 2012. – № 1–2 (9–10). – С. 92–95. /Selyuk M.M., Khaytovych M.V., Potaskalova V.S. ta in. Zminy vnutrishnikh organiv eksperymentalnykh shchuriv pid vplyvom elektromagnitnogo vyprominyuvannya nadvysokochastotnogo diapazonu // Liky Ukrayiny. – 2012. – № 1–2 (9–10). – S. 92–95./
- Сеньків О.М., Іскра Р.Я., Мартинишин І.М. та ін. Активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах поросят за різного рівня цинку в раціоні // Біологія тварин. – 2014. – Т.16, №1. – С. 133–139. /Sen'kiv O.M., Iskra R.Ya., Martynishyn I.M. ta in. Aktyvnist enzymiv antyoksydantnogo zakhystu v tkanynakh porosyat za riznogo rivnya tsynku v ratsioni // Biologiya tvaryn. – 2014. – T.16, №1. – S. 133–139./
- Спирина Е.В. Амфибии как биоиндикационная тест-система для экологической оценки водной среды обитания. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.00.16 – экология. – Ульяновск, 2007. – 28с. /Spirina Ye.V. Amfibii kak bioindikatsionnaya test-sistema dlya ekologicheskoy otsenki vodnoy sredy obitaniya. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.16 – ekologiya. – Ul'yanovsk, 2007. – 28s./
- Стаценко Е.А. Органометрические показатели строения селезёнки крыс при введении им гидрокортизона и бисфосфоната «Зомета» в различные возрастные периоды // Український морфологічний альманах. – 2009. – Т.7, №10. – С. 84–87. /Statsenko Ye.A. Organometricheskiye pokazateli stroeniya selezyonki krys pri vvedenii im gidrokortizona i bisf fonata «Zometa» v razlichnyye vozrastnyye periody // Ukrayinskyi morfologichnyy almanakh. – 2009. – T.7, №10. – S. 84–87./
- Степанова В.М. Влияние экологических факторов различной природы на клеточное звено иммунной системы рыб. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.02.16 – экология». – Борок, 2003. – 21с. /Stepanova V.M. Vliyaniye ekologicheskikh faktorov razlichnoy prirody na kletochnoye zveno immunnoy systemy ryb. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.02.16 – ekologiya. – Borok, 2003. – 21s./
- Татарникова Н.А., Лапшина Г.В., Гуляева О.Г. Морфологическая картина селезёнки кур кросса «Хайсек коричневый» на птицефабрике «Платошинская» Пермского края // Аграрный вестник Урала. – 2010. – №3. – С. 83–85. /Tatarnikova N.A., Lapshina G.V., Gulyayeva O.G. Morfologicheskaya kartina selezyonki kur krossa «Khaysek korichnevyuy» na ptitsefabrike «Platoshinskaya» Permsogo kraya // Agrarnyy vestnik Urals. – 2010. – №3. – S. 83–85./
- Терещенко Л.О. Патогенетичне обґрунтування фармакологічного захисту антиоксидантної системи у тканинах опромінених щурів // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – №3 (37). – С. 155–159. /Tereshchenko L.O. Patogenetychne obgruntuvannya farmakologichnogo zakhystu antyoksydantnoyi systemy u tkanynakh oprominenykh shchuriv // Aktualnyye problemy transportnoy meditsyny. – 2014. – №3 (37). – S. 155–159./
- Тимофеева Т.Г. Соотношение между перекисным окислением липидов и окислительной модификацией белков во внутренних органах в динамике тридцатисуточной гипокинезии. Автореф.

- дис. ... канд. мед. наук / 03.01.04 – биохимия. – Челябинск, 2012. – 23с. /Timofeyeva T.G. Sootnosheniye mezhdru perekinsnym okisleniyem lipidov i okislitelnoy modifikatsiyey belkov vo vnutrennikh organakh v dinamike tridtsatisutochnoy gipokinezii. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk / 03.01.04 – biokhimiya. – Chelyabinsk, 2012. – 23s./
- Токарев О.И. Патоморфологическая характеристика тимуса и селезёнки кур при вирусном гепатите Е. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных. – Воронеж, 2012. – 23с. /Tokarev O.I. Patomorfologicheskaya kharakteristika timusa i selezyonki kur pri virusnom gepatite E. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 06.02.01 – diagnostika bolezney i terapiya zhyvotnykh, patologiya, onkologiya i morfologiya zhyvotnykh. – Voronezh, 2012. – 23s./
- Торяник І.І. Морфофункціональні зміни селезінки під впливом лазерного та рентгенівського опромінювань. Автореф. дис. ... канд. мед. наук / 14.03.01 – нормальна анатомія. – Харків, 1995. – 21с. /Toryanyk I.I. Morfofunktsionalni zminy selezinky pid vplyvom lazernogo ta rentgenivskogo oprominyuvan'. Avtoref. dys. ... kand. med. nauk / 14.03.01 – normalna anatomiya. – Kharkiv, 1995. – 21s./
- Труфакин В.А., Шурлыгина А.В., Душкин М.И. и др. Влияние мелатонина на клеточный состав селезёнки и показатели липидного обмена у крыс с алиментарным ожирением // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – №7. – С. 49–52. /Trufakin V.A., Shurlygina A.V., Dushkin A.V. i dr. Vliyanie melatonina na kletochnyy sostav selezyonki i pokazateli lipidnogo obmena u kryс s alimentarnym ozhireniyem // Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny. – 2014. – №7. – S. 49–52./
- Федорова Н.Н., Воронина Е.А., Дубовская А.В. и др. Морфологические изменения внутренних органов каспийской тюльки (*Clupeonella cultriventris caspia*) // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер.: Рыбное хозяйство. – 2014. – №1. – С. 84–88. /Fedorova N.N., Voronina Ye.A., Dubovskaya A.V. i dr. Morfologicheskiye izmeneniya vnutrennikh organov kaspiyskoy tyul'ki (*Clupeonella cultriventris caspia*) // Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Ser.: Rybnoye khozyaystvo. – 2014. – №1. – S. 84–88./
- Федорова Н.Н., Журавлева Г.Ф., Земков Г.В. Развитие патологии внутренних органов карпа в зависимости от концентрации сульфата меди // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2004. – №2 (21). – С. 156–162. /Fedorova N.N., Zhuravleva G.F., Zemkov G.V. Razvitiye patologii vnutrennikh organov karpa v zavisimosti ot kontsentratsii sulfata medi // Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. – 2004. – №2 (21). – S. 156–162./
- Цыб А.Ф., Суринов Б.П., Южаков В.В. и др. Стимулирующее влияние летучих выделений мочи интактных мышей на пролиферативную активность лимфоидной ткани селезёнки облучённых особей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – №5. – С. 644–646. /Tsyb A.F., Surinov B.P., Yuzhakov V.V. i dr. Stimuliruyushcheye vliyanie letuchikh vydeleniy mochi intaknykh myshhey na proliferativnyuyu aktivnost limfoidnoy tkani selezyonki obluchennykh osobey // Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny. – 2013. – №5. – S. 644–646./
- Шемедюк Н.П., Зайцев О.О., Буцяк В.І. Гістологічні зміни селезінки, печінки, нирок тварин за дії біоактивних комплексів // Современные проблемы токсикологии. – 2010. – № 2–3. – С. 54–57. /Shemediyuk N.P., Zaytsev O.O., Butsyak V.I. Gistologichni zminy selezinky, pechinky, nyrok tvaryn za diyi bioaktyvnykh kompleksiv // Sovremennyye problemy toksykologii. – 2010. – №2–3. – S. 54–57./
- Шефер Е.Г., Фокина Е.Н., Дегтярь Ю.В. и др. Иммуноморфология центральных и периферических лимфоидных органов в постстрессовом периоде // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – №8. – С. 66–67. /Shefer Ye.G., Fokina Ye.N., Degtyar Yu.V. i dr. Immunomorfologiya tsentralnykh i perifericheskikh limfoidnykh organov v poststressovom periode // Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy. – 2011. – №8. – S. 66–67./
- Штенцова И.В. Морфология органов иммунной системы при хламидийной инфекции у КРС корма. Автореф. дис. ...канд. вет. наук / 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных. – Пермь, 2009. – 21с. /Shtentsova I.V. Morfologiya organov immunnoy sistemyi pri khlamidiynoy infektsii u KRS korma. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / 16.00.02 – patologiya, onkologiya i morfologiya zhyvotnykh. – Perm, 2009. – 21s./
- Щербань М.Г. Морфологічні та гістохімічні дослідження органів теплокровних тварин під дією детергентів // Світ медицини та біології. – 2012. – Т.8, №8. – С. 118–120. /Shcherban M.G. Morfologichni ta gistokhimichni doslidzhennya organiv teplokvovnykh tvaryn pid diyeyu detergentiv // Svit medytsyny ta biologiyi. – 2012. – T.8, №8. – S. 118–120./
- Яблонская А.М. Индивидуальные морфофункциональные различия реакции иммунной системы крыс востар при воздействии информационной нагрузки и липополисахарида. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология. – М., 2009. – 25с. /Yablonskaya A.M. Individualnyye morfofunktsionalnyye razlichiya reaktcii immunnoy sistemy kryс vistar pri vozdeystvii informatsionnoy nagruzki i lipopolisakharida. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.25 – gistologiya, tsitologiya, kletochnaya biologiya. – M., 2009. – 25s./
- Яглова Н.В., Обернихин С.С. Морфофункциональные изменения селезёнки потомства мышей в разные периоды постнатального онтогенеза после однократного иммуностимулирующего

- воздействия на материнский организм в ранние сроки беременности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – №10. – С. 499–502. /Yaglova N.V., Obernikhin S.S. Morfofunktsionalnyye izmeneniya selezyonki potomstva myshey v raznyye periody postnatalnogo ontogeneza posle odnokratnogo immunostimuliruyushchego vozdeystviya na materinskiy organizm v ranniye sroki beremennosti // Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny. – 2013. – №10. –S. 499-502./
- Яковлева Л.В., Немятих О.Д., Кошова О.Ю. Дослідження імунотропних властивостей препарату ехінацеї пурпурової у формі желе // Медична хімія. – 2012. – Т.14, №2. – С. 54–58. /Yakovlyeva L.V., Nemyatykh O.D., Koshova O.Yu. Doslidzhennya imunotropnykh vlastyvostey preparatu ekhinatseyi purpurovoyi u formi zhele // Medychna khimiya. – 2012. – T.14, №2. – S. 54–58./
- Basim J. Effects of prolonged exposure to cadmium on the hematopoietic organs in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*, Cyprinidae) // *Basra Journal Veterinary Research*. – 2008. – Vol.7, no 2. – P. 108–120.
- Cano-Europa E., Blas-Valdivia V., Franco-Colin M. et al. Methimazole-induced hypothyroidism causes cellular damage in the spleen, heart, liver, lung and kidney // *Acta Histochemica*. – 2011. – Vol.113, no 1. – P. 1–5.
- Chen T., Cui H., Cui Y. et al. Decreased antioxidase activities and oxidative stress in the spleen of chickens fed on high-fluorine diets // *Human Experimental Toxicology*. – 2011. – Vol.30, no 9. – P. 1282–1286.
- Dhouib I. El-B., Lasram M.M., Annabi A. et al. A comparative study on toxicity induced by carbosulfan and malathion in Wistar rat liver and spleen // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 2015. – Vol.124. – P. 21–28.
- Dong Q., Sugiura T., Toyohira Y. et al. Stimulation of IFN- γ production by garlic lectin in mouse spleen cells: Involvement of IL12 via activation of p38 MAPK and ERK in macrophages // *Phytomedicine*. – 2011. – Vol.18, no 4. – P. 309–316.
- Fan X., Wang J., Soman K.V. et al. Aniline-induced nitrosative stress in rat spleen: Proteomic identification of nitrated proteins // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2011. – Vol.255, no 1. – P. 103–112.
- Fang X., Feng Y., Wang J., Dai J. Perfluorononanoic acid-induced apoptosis in rat spleen involves oxidative stress and the activation of caspase-independent death pathway // *Toxicology*. – 2010. – Vol.267, no 1. – P. 54–59.
- Frangioni G., Borgioli G. Relationships between spleen and respiration in the newt // *Journal of Experimental Zoology*. – 1989. – Vol.252, no 2. – P. 118–125.
- Gregory C.J., Culloch E.A., Till J.E. Transient erythropoietic spleen colonies. Effects of erythropoietin in normal and genetically anemic w/wv mice // *Journal of Cellular Physiology*. – 1975. – Vol.86, no 1. – P. 1–8.
- Hanc H., Turedi S., Topal Z. et al. Can prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field affect the morphology of the spleen and thymus, and alter biomarkers of oxidative damage in 21-day-old male rats? // *Biotech Histochem*. – 2015. – No 90 (7). – P. 535–543.
- Ilback N. Effects of methyl mercury exposure on spleen and blood natural killer (NK) cell activity in the mouse // *Toxicology*. – 1991. – Vol.67, no 1. – P. 117–124.
- John J. L. The avian spleen: a neglected organ // *Quarterly Review of Biology*. – 1994. – Vol.69, no 3. – P. 327–351.
- Kim I.-J., Karaca K., Pertile T.L. et al. Enhanced expression of cytokine genes in spleen macrophages during acute infection with infectious bursal disease virus in chickens // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 1998. – Vol.61, no 2. – P. 331–341.
- Kingston M., Pfau J.C., Gilmer J., Brey R. Selective inhibitory effects of 50-nm gold nanoparticles on mouse macrophage and spleen cells // *Journal of Immunotoxicology*. – 2016. – Vol.13, iss.2. – P. 198–208.
- Kumar A., Kumar S. Histopathology of spleen of rat fed on doses of sodium fluoride // *Indian J. Sci. Res*. – 2013. – No 4 (1). – P. 87–92.
- Lee V., Fang W.-J., Lam K.-O. et al. Impact of CAPOX or FOLFOX4 on spleen size, platelet count and liver function when partnered cetuximab as first-line treatment for KRAS Wild-type metastatic colorectal cancer // *Cancer Research Frontiers*. – 2015. – No 1 (1). – P. 60–74.
- Li Q., Kobayashi M., Inagaki H. et al. Effect of oral exposure to fenitrothion and 3-methyl-4-nitrophenol on splenic cell populations and histopathological alterations in spleen in Wistar rats // *Human. Experimental Toxicology*. – 2011. – Vol.30, no 7. – P. 665–674.

- Lu X., Zhu Y., Bai R. et al. The effect of manganese-induced toxicity on the cytokine mRNA expression of chicken spleen lymphocytes in vitro // *Research in Veterinary Science.* – 2015. – No 101. – P. 165–167.
- Lungato L., Nogueira-Pedro A., Dias C.C. et al. Effects of sleep deprivation on mice bone marrow and spleen B-lymphopoiesis // *Journal of cellular physiology.* – 2016. – Vol.231, iss.6. – P. 1313–1320.
- Medjdoub A., Merzouk S.A., Merzouk H. et al. Effects of mancozeb and metribuzin on in vitro proliferative responses and oxidative stress of human and rat spleen lymphocytes stimulated by mitogens // *Pesticide Biochemistry and Physiology.* – 2011. – Vol.101, no 1. – P. 27–33./
- Melis M., Kaemmerer D.K., Swart J. et al. Localization of radiolabeled somatostatin analogs in the spleen // *Clinical Nuclear Medicine.* – 2016. – Vol.41, iss.2. – P. e111–e114.
- Obidike I.R., Ezema W.S., Aka L.O. et al. Leukocytic response and spleen morphology of albino rats exposed to graded levels of lead acetate // *Macedonian Journal of Medical Sciences.* – 2010. – No 3 (4). – P. 339–343.
- Pawlikowski M. Effect of somatostatin on the proliferation of mouse spleen lymphocytes // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 1985. – Vol.129, no 1. – P. 52–55.
- Peng Xi, Cui H., Deng J. et al. Histological lesion of spleen and inhibition of splenocyte proliferation in broilers fed on diets excess in selenium // *Biological Trace Element Research.* – 2011. – Vol.140, no 1. – P. 66–72.
- Senna S.M., Torres M.K., Lopes D.A. et al. Moderate physical training attenuates perinatal low protein induced spleen lymphocyte apoptosis in endotoxemic adult offspring rats // *European Journal of Nutrition.* – 2016. – Vol.55, iss.3. – P. 1113–1122.
- Takahashi A., Ohnishi K., Asakawa I. et al. Radiation response of apoptosis in C57BL/6N mouse spleen after whole-body irradiation // *International Journal of Radiation biology.* – 2001. – Vol.77, no 9. – P. 939–945.
- Tomova E., Arnaudov A., Velcheva I. Effects of zinc on morphology of erythrocytes and spleen in *Carassius gibelio* // *Journal of Environmental Biology.* – 2008. – No 29 (6). – P. 897– 902.
- Voloshin V.N., Koveshnikov V.G., Voloshina I.S. Morphology of the spleen in adult albino rats after whole body exposure to low-level of toluene // *International Journal of Anatomy and Research.* – 2014. – Vol.2 (2). – P. 421–430.
- Vriend J., Lauber K. Effects of light intensity, wavelength and quanta on gonads and spleen of the deer mouse // *Nature.* – 1973. – Vol.244, no 5410. – P. 37–38.
- Wang J., Wang G., Khan M.F. Disorder of G2-M checkpoint control in aniline-induced cell proliferation in rat spleen // *PLOS ONE.* – 2015. – Vol.10 (7). – P. 1–14.
- Yang F., Cui H., Xiao J. et al. Increased apoptotic lymphocyte population in the spleen of young chickens fed on diets high in molybdenum // *Biological Trace Element Research.* – 2011. – Vol.140, no 3. – P. 308–316.

Представлено: Р.К.Мельниченко / Presented by: R.K.Melnichenko

Рецензент: В.В.Мартиненко / Reviewer: V.V.Martynenko

Подано до редакції / Received: 21.06.2016

УДК: 636.13.088 : 612.11

Метаболічний профіль сироватки крові спортивних коней української верхової породи в умовах фізичного та емоційного навантаження Г.Ф.Жегунов¹, Т.І.Баєва¹, К.Г.Васіліна²

¹Харківська державна зооветеринарна академія (Харків, Україна)
²Кінно-спортивний комплекс «Малинове ранчо» (с. Малинове, Україна)
Tendalsi@mail.ru

Наведені дані щодо динаміки показників метаболічного профілю сироватки крові спортивних коней української верхової породи. Об'єктом дослідження були клінічно здорові спортивні коні. У тварин проводили відбір крові з яремної вени для отримання сироватки і подальшого біохімічного дослідження. Кров брали у стані відносного спокою тварини, відразу після стандартного тренування та відразу після емоційного стресу під час розважально-показного виступу при участі великої кількості людей та впливі гучної музики. У порівнянні з контрольною групою при фізичному навантаженні вміст загального білка в сироватці крові зростає на 11,1%, а вміст сечовини не змінюється; при емоційному стресі кількість загального білка зменшується на 8,7%, рівень сечовини зменшується на 18,7%. Активність аланінамінотрансферази при фізичному навантаженні збільшується на 20,8%, при емоційному знижується на 13,8%. При фізичному навантаженні кількість креатиніну зростає на 18,6%, при емоційному не змінюється. Вміст білірубину і активність лужної фосфатази при фізичній нарузі не змінюється, при емоційній зростає на 93,1 і 24,3% відповідно. Рівень Феруму при механічному навантаженні зменшується на 10,5%, при емоційному зростає в тій же мірі. Концентрації сечової кислоти, глюкози і холестеролу при фізичній нарузі зростають на 13,7, 42,9 і 7,1%, при емоційній – на 79,4, 19,0 і 26,2% відповідно. Емоційна напруга є більш сильним стрес-фактором, що викликає негативні зміни показників метаболічного профілю коней.

Ключові слова: спортивні коні, біохімічні показники, тренування, стрес.

Метаболический профиль сыворотки крови спортивных лошадей украинской верховой породы в условиях физической и эмоциональной нагрузки Г.Ф.Жегунов, Т.И.Баева, Е.Г.Василина

Приведены данные о динамике показателей метаболического профиля сыворотки крови спортивных лошадей украинской верховой породы. Объектом исследования были клинически здоровые спортивные лошади. У животных проводили отбор крови из яремной вены для получения сыворотки и дальнейшего биохимического исследования. Кровь брали в состоянии относительного покоя животного, сразу после стандартной тренировки и сразу после эмоционального стресса во время развлекательно-показательного выступления с участием большого количества людей и влияния громкой музыки. В сравнении с контрольной группой при физической нагрузке содержание общего белка в сыворотке крови возрастает на 11,1%, а мочевины не изменяется; при эмоциональном стрессе количество общего белка уменьшается на 8,7%, уровень мочевины уменьшается на 18,7%. Активность аланинаминотрансферазы при физической нагрузке увеличивается на 20,8%, при эмоциональной снижается на 13,8%. При физической нагрузке количество креатинина растет на 18,6%, при эмоциональной не изменяется. Содержание билирубина и активность щелочной фосфатазы при физическом напряжении не изменяется, при эмоциональном возрастает на 93,1 и 24,3% соответственно. Уровень Ферума при механической нагрузке падает на 10,5%, при эмоциональной возрастает в той же степени. Концентрации мочевой кислоты, глюкозы и холестерола при физическом напряжении возрастают на 13,7, 42,9 и 7,1%, при эмоциональном – на 79,4, 19,0 и 26,2% соответственно. Эмоциональная нагрузка является более сильным стресс-фактором для лошадей, вызывающим негативные изменения показателей метаболического профиля.

Ключевые слова: спортивные лошади, биохимические показатели, тренировка, стресс.

The metabolic profile of blood serum of sport horses in the conditions of physical and emotional stress G.F.Zhegunov, T.I.Bayeva, E.G.Vasilina

The data on dynamics of metabolic parameters level in the blood serum of sport horses of the Ukrainian riding breed at physical and emotional stress conditions are presented. Clinically healthy horses were objects of the research. The samples of blood were taken from the jugular vein to get serum for further biochemical research

in the condition of relative rest, after ordinary training and after emotional stress during the entertaining performance with participation of a large number of people and loud music. In comparison with the control group, during training total protein content in blood serum increased by 11.1% and the level of urea did not change; under emotional stress total protein decreased by 8.7%, the level of urea reduced by 18.7%. Alanine aminotransferase activity during exercise increased by 20.8%, while at emotional stress decreased by 13.8%. At training creatinine increased by 18.6%, while at emotional stress it did not change. Bilirubin and alkaline phosphatase activity during physical training did not change and under emotional stress increased by 93.1 and 24.3% respectively. Ferum level fell at mechanical load by 10.5%, at emotional impact it increased in the same degree. The concentrations of uric acid, glucose, and cholesterol during training increased by 13.7, 42.9 and 7.1%, at emotional stress – by 79.4, 19.0 and 26.2% respectively. Emotional impact is a more strong stress factor that causes negative changes of metabolic profile parameters.

Key words: *sport horses, biochemical parameters, training, stress.*

Вступ

В останні роки зросла увага до кінного спорту. Перед фахівцями стають складні завдання: зберегти працездатність тварин, подовжити їх спортивне довголіття, максимально сприяти адаптації коня до умов тренувального процесу, адекватно і своєчасно коректувати його фізіологічний стан, щоб уникнути перетренованості, мінімізувати психологічний і фізіологічний стрес (Бородкина, 2008; Горбунова, 2009; Луценко, Петрушко, 2015б; Мансурова, 2009; Полозков, 1985).

Біохімічні методи дають можливість об'єктивізувати адаптаційний потенціал коня за умов різних варіантів навантаження та ефективно оцінити стан здоров'я коней та їх тренувальних спроможностей (Луценко, Петрушко, 2015а; Луценко, Петрушко, 2015в; Северина, 1989; Сергиенко, 1998; Тхинвалели, 2011).

Мета досліджень – встановити показники метаболічного профілю сироватки крові коней української верхової породи в умовах фізичного та емоційного навантаження.

Методика

Для виконання дослідження були відібрані 57 спортивних коней української верхової породи. Коні використовувалися в різних напрямках: конкур (15 голів), виїздка (9 голів), навчальна група (12 голів), кінний театр (9 голів) та коні універсального використання (12 голів). Всі коні були клінічно здорові. У тварин проводили відбір крові з яремної вени для отримання сироватки і подальшого біохімічного дослідження. Кров брали у стані відносного спокою тварини, відразу після фізичного (тренування) та емоційного (стресу) навантажень під час розважально-показного виступу за участю великої кількості людей та гучної музики.

У сироватці крові визначали такі біохімічні показники: загальний білок, сечовину, креатинін, сечову кислоту, загальний білірубін та його фракції, глюкозу, холестерол, триацилгліцероли, загальний Кальцій, Ферум, лактат, піруват, активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), гаммаглутамілтранспептидази (ГГТП), лактатдегідрогенази (ЛДГ), лужної фосфатази (ЛФ). Визначення загального білка проводили за біуретовою реакцією, сечовини – за реакцією з діацетилмонооксимом, креатиніну – за реакцією Яффе (метод Поппера), сечової кислоти – за карбонатно-фосфорно-вольфрамовим методом у модифікації Генрі; загального та кон'югованого білірубину – за методом Йендрашека, глюкози – за глюкозооксидазним методом, загального холестеролу – за методом Ілька, триацилгліцеролів – за методом Флетчера, лактату та пірувату – ензиматичним методом з використанням лактатдегідрогенази, загального Кальцію – за кольоровою реакцією з мурексидом, Феруму – за реакцією з β -фенантроліном; активність АлАТ та АсАТ – за уніфікованим динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля, ГГТП – уніфікованим методом із субстратом γ -глутаміл-*n*-нітроанлідом, ЛДГ – за уніфікованим методом за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразиним (метод Севела і Товарека), лужної фосфатази (ЛФ) – уніфікованим методом за гідролізом натрію *n*-нітрофенілфосфату.

Розрахунки отриманих результатів проводили за допомогою статистичної програми STATISTICA 7.0 (StatSoft, USA) з визначенням середньоарифметичного (M), помилки середньої (m), лімітів (Lim) і довірчих інтервалів ($DI=M\pm tm$) для $p\leq 0,05$, $\leq 0,01$, $\leq 0,001$.

Результати та обговорення

Отримані біохімічні показники сироватки крові коней за різних варіантів навантаження наведені в табл. 1–4.

Згідно даних табл. 1, спостерігається вірогідне ($p\leq 0,001$) підвищення вмісту загального білка на 11,1% за фізичного навантаження в сироватці крові коней на тлі відсутності змін концентрації

сечовини – кінцевого метаболіту білкового обміну. Це є показником посилення білоксинтезувальної функції печінки як компенсаторної реакції на фізичне навантаження і активізацію функціонування провідних систем організму з перевагою анаболічних реакцій. На відміну від цього, за емоційного стресу концентрація загального білка вірогідно знижується на 8,7% ($p \leq 0,001$), що супроводжується одночасним зниженням вмісту сечовини на 18,6% ($p \leq 0,001$) і є непрямим підтвердженням зниження біосинтетичних реакцій за емоційного стресу, викликаного негативною дією сильних звукових подразників і масової присутності людей.

Таблиця 1.
Показники обміну білків у сироватці крові спортивних коней у стані відносного спокою за фізичного та емоційного навантаження (n=57)

Показники		Відносний спокій	За фізичного навантаження	За емоційного навантаження
Загальний білок, г/л	M±m	60,6 ± 0,54	67,3 ± 1,13***	55,3 ± 0,44***
	Lim	53,2 – 70,2	53,3 – 81,6	48,4 – 61,6
Сечовина, ммоль/л	M±m	7,0 ± 0,11	7,6 ± 0,27	5,7 ± 0,05***
	Lim	4,5 – 8,2	3,0 – 10,7	5,0 – 6,7
Креатинін, ммоль/л	M±m	119,2 ± 0,98	129,8 ± 3,48*	115,9 ± 0,92
	Lim	106,5 – 148,2	59,8 – 162,8	101,3 – 131,4
Сечова кислота, мкмоль/л	M±m	38,8 ± 1,03	44,1 ± 1,08*	69,6 ± 1,70***
	Lim	25,2 – 54,1	30,6 – 61,5	30,8 – 94,5

Примітка: достовірність: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ – порівняно із станом відносного спокою.

Оскільки більша частина сироваткових білків синтезується у клітинах печінки, були досліджені показники, які є індикаторами її функціонального стану, а саме ферменти, дані щодо активності яких наведені в табл. 2.

Таблиця 2.
Активність ферментів у сироватці крові спортивних коней у стані відносного спокою за фізичного та емоційного навантаження (n=57)

Показники		Відносний спокій	За фізичного навантаження	За емоційного навантаження
Білірубін загальний, мкмоль/л	M±m	14,4 ± 0,81	14,6 ± 0,54	27,8 ± 0,80***
	Lim	6,5 – 25,0	5,7 – 23,4	12,9 – 39,8
Білірубін прямий, мкмоль/л	M±m	5,8 ± 0,43	6,9 ± 0,35	14,3 ± 0,43***
	Lim	2,1 – 13,1	2,4 – 12,4	6,1 – 20,8
Білірубін непрямий, мкмоль/л	M±m	8,6 ± 0,47	7,6 ± 0,30	13,5 ± 0,53***
	Lim	3,9 – 18,5	3,3 – 12,4	5,0 – 23,1
АлАТ, од/л	M±m	15,9 ± 0,31	19,2 ± 0,53***	13,7 ± 0,16***
	Lim	10,4 – 20,0	10,2 – 28,6	11,1 – 17,9
АсАТ, од/л	M±m	309,2 ± 5,05	334,8 ± 7,26*	345,6 ± 4,21***
	Lim	217,5 – 382,3	224,2 – 405,3	279,6 – 398,1
ЛФ, од/л	M±m	158,2 ± 5,61	171,2 ± 6,07	196,7 ± 2,36***
	Lim	96,2 – 236,3	63,9 – 258,2	143,1 – 229,6
ГГТП, од/л	M±m	50,3 ± 0,54	43,7 ± 1,80	43,0 ± 0,34***
	Lim	36,8 – 60,3	13,2 – 59,9	38,4 – 49,4

Примітка: достовірність: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ – порівняно із станом відносного спокою.

Активність АлАТ – ферменту, який у великій кількості міститься в цитоплазмі гепатоцитів, за фізичного навантаження зросла на 20,8% ($p \leq 0,001$), що корелює зі зростанням концентрації загального білка і є показником посилення процесу переамінування, внаслідок якого утворюються

нові замінні аміно- та кетокислоти. За емоційного стресу, навпаки, активність АЛАТ знижується на 13,8% ($p \leq 0,001$), що співпадає зі зниженням рівня загального білка.

Активність АсАТ – ферменту, який переважно міститься в мітохондріях гепатоцитів і в цитоплазмі кардіоміоцитів, а також в цитоплазмі клітин м'язів – за фізичного та емоційного навантажень зростає відповідно на 8,3% ($p \leq 0,05$) та 11,8% ($p \leq 0,001$), що свідчить про посилення функціонування м'язової системи і, зокрема, міокарду за обох варіантів стресу. Достовірної різниці активності АсАТ між групами «За фізичного навантаження» та «За емоційного навантаження» немає ($p \leq 0,05$).

Активність ГГТП – ферменту, що локалізується, головним чином, на мембранах клітин різних тканин, зокрема печінки, стінок протоків жовчовивідних шляхів, підшлункової залози, каналців нирок, у коней є цінним маркером внутрішньопечінкового холестази і, за даними більшості авторів, у нормі коливається в межах 4,3–25 од/л. У тварин, які були дослідженні нами, у стані відносного спокою активність цього ферменту коливалася в межах 36,8–60,3 од/л. Можливо, це є особливістю коней спортивного напрямку даної породи, бо результат одержано на великій кількості тварин із достатнім ступенем вірогідності (середній показник становить $50,3 \pm 0,54$ од/л). Є дані, що активність ГГТП зростає за підвищеного рівня кортикостероїдів, яке зазвичай має місце в коней спортивного напрямку, та за хвороб печінки. За фізичного навантаження та емоційного стресу в даному дослідженні активність ГГТП не збільшилась, а, навпаки, знизилась на 13,3% ($p \leq 0,01$) та 14,5% ($p \leq 0,001$), що не має діагностичного значення і є показником відсутності застійних явищ у внутрішньопечінкових протоках.

Білірубін також є показником як стану гепатоцитів, так і жовчовивідних шляхів. Виявилось, що за фізичного навантаження його вміст у сироватці крові коней не відрізняється від стану відносного спокою, а за емоційного навантаження – зростає на 93,1% ($p \leq 0,001$). Щоб з'ясувати причину гіпербілірубінемії, були досліджені фракції загального білірубину – кон'югована та вільна. Перша та друга за фізичного навантаження були на рівні показників у стані відносного спокою. Проте за емоційного стресу вміст прямої та непрямої фракції зріс у 2,5 та 1,6 рази ($p \leq 0,001$) відповідно. Можливо, саме за емоційного стресу порушується як процес зв'язування білірубину в гепатоцитах, так і виведення його в жовчовивідні протоки. Можливо, під час емоційного стресу стінки жовчовивідних шляхів спазмуються, що призводить до проникнення жовчі в порталні синуси і надходження білірубину в підвищеній кількості в загальний кровообіг. У той же час непідвищений рівень ГГТП не підтверджує наявності ушкоджень клітин внутрішньопечінкових ходів. Можливо, гіпербілірубінемія за емоційного стресу має функціональний характер і не є показником структурних уражень клітин печінки в коней.

У той же час активність ЛФ, яка не відрізняється за фізичного навантаження від показника у стані відносного спокою, за емоційного стресу збільшується на 24,3% ($p \leq 0,001$). Вважається, що активність ЛФ є показником холестази в більшому ступені в зовнішніх жовчовивідних шляхах. Скоріш за все, в коней за емоційного стресу холестаз спостерігається саме на цьому рівні, що й призводить до підвищення в сироватці крові концентрації обох фракцій білірубину.

У табл. 3 наведені показники стану обміну вуглеводів та ліпідів.

Концентрація глюкози за фізичного навантаження зросла незначно – на 7,1% ($p \leq 0,05$), проте за емоційного стресу на 26,2% ($p \leq 0,001$), що є типовою реакцією організму на емоційний стрес під дією контрінсулярних гормонів, зокрема адреналіну і кортикостероїдів, що посилюють глюконеогенез. Про це свідчить і зростання за емоційного навантаження концентрації лактату на 69,2% ($p \leq 0,001$), який через цикл Корі перетворюється в печінці на глюкозу. За фізичного навантаження вміст лактату зростає ще в більшому ступені – у 2,5 рази ($p \leq 0,001$) за рахунок посилення аеробного гліколізу під час інтенсивної роботи м'язів. Уміст пірувату при цьому знижується на 47,5% ($p \leq 0,001$), оскільки він перетворюється в лактат за фізичного навантаження. За емоційного стресу кількість пірувату також зменшується, але в меншому ступені – на 35% ($p \leq 0,001$).

Активність загальної ЛДГ, яка каталізує перетворення лактату в піруват і навпаки, за обох варіантів дії стрес-факторів, зростає в однаковому ступені – на 36,7% та 36,9% ($p \leq 0,001$) за рахунок ізоферменту ЛДГ-5, який міститься переважно у клітинах печінки, забезпечуючи посилене утворення лактату, особливо за фізичного навантаження.

Концентрація сироваткового холестеролу після дії обох стрес-факторів збільшилась порівняно зі станом відносного спокою тварин на 42,9% та 19,0% ($p \leq 0,001$), тобто за фізичного навантаження в більшому ступені, що потрібно для забезпечення енергією процесів синтезу в організмі коней і співпадає з динамікою вмісту триацилгліцеролів, який зростає за фізичного та емоційного напруження на 74,1% та 82,4% ($p \leq 0,001$) відповідно.

Таблиця 3.
Показники вуглеводного та ліпідного обмінів у сироватці крові спортивних коней у стані відносного спокою, за фізичного та емоційного навантаження (n=57)

Показники		Відносний спокій	За фізичного навантаження	За емоційного навантаження
Глюкоза, ммоль/л	M±m	4,2 ± 0,09	4,5 ± 0,10*	5,3 ± 0,09***
	Lim	2,8 – 5,2	3,1 – 6,2	4,0 – 6,9
ЛДГ, од/л	M±m	221,3 ± 3,17	302,5 ± 6,02***	302,9 ± 2,32***
	Lim	165,0 – 270,3	186,0 – 383,9	263,9 – 351,5
Холестерол, ммоль/л	M±m	2,1 ± 0,03	3,0 ± 0,12***	2,5 ± 0,04***
	Lim	1,6 – 2,8	1,3 – 4,9	1,9 – 3,4
Триацилгліцероли, ммоль/л	M±m	1,08 ± 0,039	1,88 ± 0,126***	1,97 ± 0,029***
	Lim	0,39 – 1,55	0,15 – 3,22	1,49 – 2,51
Лактат, ммоль/л	M±m	1,3 ± 0,02	3,3 ± 0,15***	2,2 ± 0,02***
	Lim	0,9 – 1,6	0,8 – 4,9	1,9 – 2,6
Піруват, ммоль/л	M±m	0,40 ± 0,007	0,21 ± 0,012***	0,26 ± 0,003***
	Lim	0,27 – 0,48	0,09 – 0,39	0,21 – 0,33

*Примітка: достовірність: *p≤0,05, **p≤0,01, ***p≤0,001 – порівняно із станом відносного спокою.*

За даними табл. 4, концентрація загального Кальцію в сироватці крові коней також збільшилась за фізичного навантаження та емоційного стресу на 33,3% (p≤0,001), тобто в рівному ступені, скоріш за все, за рахунок посилення дії паратгормону, концентрація якого зростає внаслідок дії стресових гормонів. Проте мінімальні і максимальні значення концентрації загального Кальцію не виходять за межі загальноприйнятих нормативних значень.

Таблиця 4.
Показники Кальцію та Феруму в сироватці крові спортивних коней у стані відносного спокою, за фізичного та емоційного навантаження (n=57)

Показники		Відносний спокій	За фізичного навантаження	За емоційного навантаження
Загальний Кальцій, ммоль/л	M±m	1,8 ± 0,04	2,4 ± 0,07***	2,4 ± 0,03***
	Lim	1,3 – 2,4	1,3 – 3,9	2,0 – 2,9
Ферум, ммоль/л	M±m	3,8 ± 0,04	3,4 ± 0,09**	4,2 ± 0,04***
	Lim	3,3 – 4,7	1,5 – 4,5	3,6 – 5,1

*Примітка: достовірність: *p≤0,05, **p≤0,01, ***p≤0,001 – порівняно із станом відносного спокою.*

Концентрація Феруму в сироватці крові коней достовірно зменшилась за фізичного навантаження (p≤0,01) та зросла за емоційного стресу (p≤0,001) на 10,5%.

Таким чином, фізичне навантаження та емоційний стрес під час випробувань у спортивних коней української верхової породи частіше викликають достовірні різноспрямовані зміни рівня біохімічних показників сироватки крові, що свідчить про напруження метаболічних процесів в організмі тварин. Короткочасове фізичне та емоційне напруження в коней спортивного напрямку призводить до змін показників метаболічного профілю різного ступеня і спрямованості в залежності від характеру діючого стресора.

За фізичного навантаження посилюється процес біосинтезу білків, про що свідчить зростання в сироватці крові коней вмісту загального білка, сечової кислоти, активності амінотрансфераз (АлАТ та АсАТ), загального Кальцію.

За емоційного стресу знижується біосинтез білків, що підтверджується зниженням концентрації загального білка, значним зростанням сечової кислоти, зниженням активності АлАТ.

За фізичного навантаження не встановлено порушень функції печінки, у той час як за емоційного стресу спостерігається гіпербілірубінемія за рахунок обох фракцій білірубину,

збільшення активності ЛФ, можливо, внаслідок спазму жовчовивідних протоків у нижніх відділах, на тлі зростання активності АсАТ і зниження активності ГГТП.

За фізичного та емоційного навантажень зростає вміст глюкози, на тлі підвищення активності ЛДГ і зниження вмісту пірувату, як показник посилення аеробного гліколізу і глюконеогенезу. За емоційного стресу ступінь зростання концентрації глюкози вищий.

За обох стресових факторів спостерігається гіперліпідемія за рахунок зростання концентрації триацилгліцеролів і холестеролу.

Список літератури

- Бородкина Е.Ю. Показатели крови племенных и спортивных лошадей в связи с функциональным состоянием. Дисс. ... канд. биол. наук / 03.00.13. – Рязань, 2008. – 170с. /Borodkina Ye.Yu. Pokazateli krovi plemennykh i sportivnykh loshadey v svyazi s funktsional'nym sostoyaniyem. Dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.13. – Ryazan', 2008. – 170s./
- Горбунова Н.Д. Влияние недопинговой микроэлементной добавки на восстановление спортивных лошадей после интенсивных физических нагрузок. Дис. ... канд. биол. наук / 03.00.13. – Рязань, 2009. – 95с. /Gorbuнова N.D. Vliyaniye nedopingovoy mikroehlementnoy dobavki na vosstanovleniye sportivnykh loshadey posle intensivnykh fizicheskikh nagruzok. Dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.13. – Ryazan', 2009. – 95s./
- Луценко М.В., Петрушко М.П. Динаміка біохімічних показників крові коней різних напрямів використання під впливом фізичного навантаження // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва». – К.: «Медінформ», 2015а. – Вип.207. – С. 168–175. /Lutsenko M.V., Petrushko M.P. Dynamika biokhimichnykh pokaznykiv krovi koney riznykh napryamiv vykorystannya pod vplyvom fizychnogo navantazhennyya // Naukovyy visnyk Natsional'nogo universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannya Ukrainy. Seriy «Tekhnologiya vyrobnyctva i pererobky produktsiyi tvarynnytstva». – K.: «Medinform», 2015a. – Vyp.207. – S. 168–175./
- Луценко М.В., Петрушко М.П. Влияние физической нагрузки на динамику показателей крови коней разного возраста // Вісник Одеського національного університету. Серія «Біологія». – Одеса, 2015б. – Т.20, вип.1 (36). – С. 178–185. /Lutsenko M.V., Petrushko M.P. Vplyv fizychnogo navantazhennyya na dynamiku pokaznykiv krovi koney ruznogo viku // Visnyk Odes'kogo natsional'nogo universytetu. Seriya «Biologiya». – Odesa, 2015b. – T.20, vyp.1 (36). – S. 178–185./
- Луценко М.В., Петрушко М.П. Динаміка показників крові коней різних типів вищої нервової діяльності під впливом стрес-факторів // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. – Харків: РВВ ХДЗВА, 2015в. – Вип.31, Ч.1, «Сільськогосподарські науки». – С. 60–68. /Lutsenko M.V., Petrushko M.P. Dynamika pokaznykiv krovi koney riznykh typiv vyshchoyi nervovoy diyal'nosti pod vplyvom stres-faktoriv // Problemy zoolzheneriyi ta veterynarnoyi medytsyny: Zbirnyk naukovykh prats' Kharkivskoyi derzhavnoyi zooveteryarnoyi akademiyi. – Kharkiv: RVV KhDZVA, 2015v. – Vyp.31, Ch.1, «Sil'skogospodars'ki nauky». – S. 60–68./
- Мансурова Л.Р. Влияние возраста и физической нагрузки на адаптационные ресурсы организма лошадей. Дис. ... канд. биол. наук / 03.00.13. – Троицк, 2009. – 142с. /Mansurova L.R. Vliyaniye vozrasta i fizicheskoy nagruzki na adaptatsionnyye resursy organizma loshadey. Dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.13. – Troitsk, 2009. – 142s./
- Полозков А.И. Влияние тренинга в среднегорье и препаратов аутогенной крови на функциональное состояние и работоспособность быстроаллюрных лошадей. Дис. ... канд. биол. наук / 03.00.13. – ВНИИ Коневодства, 1985. – 166с. /Polozkov A.I. Vliyaniye treninga v srednegor'ye i preparatov autogennoy krovi na funktsional'noye sostoyaniye i rabotosposobnost' bystroallyurnykh loshadey. Dis. ... kand. biol. nauk / 03.00.13. – VNII Konevodstva, 1985. – 166s./
- Северина С.Е. Практикум по биохимии: учебное пособие. – Москва: Изд-во МГУ, 1989. – 509с. /Severina S.Ye. Praktikum po biokhimii: uchebnoye posobiye. – Moskva: Izd-vo MGU, 1989. – 509s./
- Сергиенко Г.Ф. Физиологические и биохимические аспекты тренинга быстроаллюрных лошадей. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук / 03.00.13 – физиология человека и животных. – Дубовицы: ВНИИ Коневодства, 1998. – 36с. /Sergiyenko G.F. Fiziologicheskiye i biokhimicheskiye aspekty treninga bystroallyurnykh loshadey. Avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk / 03.00.13 – fiziologiya cheloveka i zhivotnykh. – Dubovitsy: VNII Konevodstva, 1998. – 36s./
- Тхинвалели Г.Г. Использование биодинамических, биохимических и генетических показателей в совершенствовании хозяйственно–полезных качеств лошадей русской верховой породы. Дис. ... канд. биол. наук / 06.02.10. – Москва, 2011. – 111с. /Tkhinvaleli G.G. Ispol'zovaniye biodinamicheskikh, biokhimicheskikh i geneticheskikh pokazateley v sovershenstvovanii khozyaystvenno–poleznykh kachestv loshadey russkoy verkhovoy porody. Dis. ... kand. biol. nauk / 06.02.10. – Moskva, 2011. – 111s./

Представлено: А.Л.Загайко / Presented by: A.L.Zagayko

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 25.10.2016

UDC: 612.017.11: 612.014.482.4

Dynamics of hematopoiesis regulators content in bone marrow under the poultry embryonic tissue extract usage for the radiation-caused immune damage correction

M.S.Pohorila, M.M.Popov, O.A.Romanova, O.M.Sherbak, A.V.Martinov

*SI «Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (Kharkov, Ukraine)
marionimmun@gmail.com*

The aim of our study was to examine the effect of the poultry embryonic tissue extract (PETE) application at G-CSF, Flt3-ligand and IL-6 levels in the bone marrow cells supernatant of mice with radiation-caused immune disease. The PETE usage led to G-CSF levels increasing between 1st and 3rd day of observation, on the 7th day its level was at the normal rate. The comparative drug applying led to some stimulation of G-CSF levels, but compared to the PETE usage not so prolonged. During the early hours after depressive exposure under PETE treatment there was a significant IL-6 synthesis stimulation. At comparative drug applying its significant increase was registered only in the period from 16th to 24th hour. Influenced by PETE usage the Flt3-ligand level in mice with radiation-induced immune damage did not show such increase, which was observed in control animals – since the 3rd day their values were normal. At comparative drug applying the Flt3-ligand value did not reach normal rate on the 21st day of observation. Thus, due to the stimulation of the synthesis of blood formation positive regulators, which were determined in the bone marrow cells supernatant after radiation exposure, the PETE usage promoted successful and more rapid recovery of hematopoiesis, creating in turn the preconditions for effective immunogenesis.

Key words: *poultry embryonic tissue extract, radiation-caused immune damage, bone marrow, mice, G-CSF, IL-6, Flt3-ligand, ELISA.*

Динамика содержания регуляторов кроветворения в костном мозге под влиянием экстракта из эмбриональных тканей кур для коррекции радиационно-индуцированной иммунодепрессии у мышей **М.С.Погорелая, Н.Н.Попов, Е.А.Романова, О.Н.Щербак, А.В.Мартынов**

Целью нашего исследования было изучение влияния применения экстракта из эмбриональных тканей птиц (ЭЭТП) на уровни Г-КСФ, Flt3-лиганда и ИЛ-6 в супернатанте клеток костного мозга мышей с радиационно-индуцированной иммунодепрессией. Применение ЭЭТП приводило к повышению уровня Г-КСФ в период с 1 по 3 сутки наблюдения, на 7 сутки его содержание определялось как нормальное. Применение препарата сравнения приводило к некоторой стимуляции уровня Г-КСФ, однако, в сравнении с эффектом от ЭЭТП, не столь продолжительному. В первые часы после иммунодепрессии регистрировалось значительное повышение уровня ИЛ-6 у мышей, которым вводили ЭЭТП. В случае применения препарата сравнения значительное увеличение уровня данного цитокина было зарегистрировано только в период с 16 по 24 час. Под влиянием использования ЭЭТП уровень Flt3-лиганда у мышей с радиационно-индуцированной иммунодепрессией не обнаруживал такого увеличения, которое наблюдалось у контрольных животных – с 3 дня его значения были в норме. У группы животных, которым применяли препарат сравнения, уровень Flt3-лиганда не достиг нормы на 21 день наблюдения. Таким образом, за счет стимуляции синтеза положительных регуляторов кроветворения, которые определялись в супернатанте клеток костного мозга мышей с радиационно-ассоциированной иммунодепрессией, применение ЭЭТП способствует успешному и более быстрому восстановлению кроветворения, создавая в свою очередь предпосылки для эффективного иммуногенеза.

Ключевые слова: *экстракт из эмбриональной ткани птиц, радиационно-индуцированная иммунодепрессия, костный мозг, мыши, Г-КСФ, ИЛ-6, Flt3-лиганд, ИФА.*

Динаміка вмісту регуляторів кроветворення в кістковому мозку під впливом екстракту з ембріональних тканин птахів з метою корекції радіаційно-індукованої імунодепресії у мишей **М.С.Погоріла, М.М.Попов, О.А.Романова, О.М.Щербак, А.В.Мартинов**

Метою нашого дослідження було вивчення впливу застосування екстракту з ембріональних тканин птахів (ЕЕТП) на рівні Г-КСФ, Flt3-ліганда і ІЛ-6 в супернатанті клітин кісткового мозку мишей з

радіаційно-індукованою імунодепресією. Застосування ЕЕТП призводило до підвищення рівня G-CSF в період з 1 по 3 добу спостереження, на 7 добу його вміст визначався як нормальний. Застосування препарату порівняння призводило до деякої стимуляції рівня Г-КСФ, проте, в порівнянні з ефектом від ЕЕТП, не настільки тривалого. У перші години після імунодепресуючого впливу реєструвалося значне підвищення рівня ІЛ-6 у мишей, яким вводили ЕЕТП. У разі застосування препарату порівняння значне збільшення рівня даного цитокіну було зареєстровано тільки в період з 16 по 24 годину. Під впливом використання ЕЕТП рівень Flt3-ліганда у мишей з радіаційно-індукованою імунодепресією не зазнавав такого збільшення, яке спостерігалось у контрольних тварин – з 3 доби його значення були в нормі. У групі тварин, котрим застосовували препарат порівняння, рівень Flt3-ліганда не досяг норми на 21 добу спостереження. Таким чином, за рахунок стимуляції синтезу позитивних регуляторів кровотворення, які визначалися в супернатанті клітин кісткового мозку мишей з радіаційно-асоційованою імунодепресією, застосування ЕЕТП сприяло успішному і більш швидкому відновленню кровотворення, що створює, в свою чергу, передумови для ефективного імуногенезу.

Ключові слова: екстракт з ембріональних тканин птахів, радіаційно-індукована імунодепресія, кістковий мозок, миші, Г-КСФ, ІЛ-6, Flt3-ліганд, ІФА.

Introduction

The study of hemopoietic cytokines content dynamics in the bone marrow cells supernatant allows us characterizing the state of radiation-induced hematopoiesis damage at the regulatory level and to prove the potency of the poultry embryonic tissue extract (PETE) usage. Several scientists propose monitoring of the level of the hematopoietic factors: Fms-related tyrosine kinase 3 ligand (Flt3-ligand), interleukin-6 (IL-6) and granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) as biomarkers of a hematopoietic disorders, in particular, at radiation exposure (Mickelsen, 2012; Singh et al., 2015). The dynamic changes of these biomarkers level may serve as the predictor of duration and severity of radiation-induced disorders in the hematopoiesis and immunogenesis (Ossetrova et al., 2014). The main reason for choosing the bone marrow tissue as the medium for the biomarkers level determining is that their synthesis is predominantly tissue-specific, and consequently the maximum expression of some of them will be observed in certain "targeted" tissues (Radiation Proteomics..., 2013).

It is known, that the G-CSF stimulates proliferation and differentiation of progenitor cells to mature neutrophils, increases their survival and functional activity. These properties allow its use in overcoming of chemotherapeutic neutropenia, severe chronic neutropenia, myelodysplastic syndromes, severe aplastic anemia, and for mobilization of peripheral blood progenitor cells before transplantation (Bertho et al., 2008a). A well-known is ability of G-CSF to influence formation of reactive oxygen species via reducing the free radical production by damaged cells. Also, it is known about decreasing of the apoptosis level associated with immune depression of certain genesis under the influence of G-CSF (Bendall, Bradstock, 2014; Johns, Christopher, 2012; Zhang et al., 2013). Some scientists suggest that increased synthesis of G-CSF during treatment with certain drugs is the basis for greater animal's survival in experiments of overcoming chemotherapy and other types of hematopoiesis damage factors after-effects (Kulkarni et al., 2012).

The Flt3-ligand is an early hematopoietic cytokine, which has a paramount importance for the proliferation of myeloid, B- and T-lymphoid lineages of hematopoietic progenitor cells. In synergy with other hematopoietic factors, the Flt3-Ligand is responsible for stimulation of stem cell proliferation (CD34⁺) and progenitor cells. In the experiment on the modeling of bone marrow aplasia in mice it has been shown that the changes of the Flt3-ligand concentration, that accompanies this pathological process, comes in the same way in tissues of organs such as thymus, spleen, bone marrow, liver, brain and blood. It has been also shown that the concentration of the Flt3 ligand is a clear reflection of the bone marrow functional state (Prat et al., 2006). The Flt3-ligand's level detection is used for biological indication of early bone marrow damage because it correlates with the severity of radiation-associated bone marrow aplasia, and variations of its concentration can be used as prognostic criteria of specified aplasia pathology (Prat et al., 2006; Radiation Proteomics..., 2013).

In our study, we have shown the greatest interest to basic fibroblast growth factor (FGFb) from all investigated cytokines produced in the bone marrow. The latter is due to FGFb presence in the studied chicken fetal tissue (Karabagli et al., 2002). A significant part of the processes, in which FGFb is involved, is unknown, probably, due to just recently expressed interest to it. However, the evidence of its role in the regulation of structuring, morphogenesis, differentiation, proliferation, cell survival and migration (Jung et al., 1994), inherently indicates the prospects of application of FGFb-containing substances for the purpose of correction of acquired immunosuppressive conditions, particularly affecting hematopoiesis and immunogenesis (Prat et al., 2005; Radiation Proteomics..., 2013).

Materials and methods

Animals

The cytokines level was determined in the supernatant of bone marrow mononuclear cells of mice in all experimental groups. The 10-weeks-old male mice were taken out from the experiment via cervical dislocation. The animals were kept in a vivarium of "Mechnikov institute of Microbiology and Immunology of NAMS of Ukraine" on a standard diet with specified conditions of animal management. Work with laboratory animals was performed according to the rules (European convention..., Strasburg, 1987).

Animals were divided into the following groups by 11 animal units in each one: I group – intact mice; II group – mice, which were subjected to external single total γ -radiation influence; III group – animals, which were intramuscularly administered the PETE in 0.1 mg/kg dose 5 times before and 1 time after irradiation. IV group – animals, which were intramuscularly administered the comparison drug ("Erbisol") in 0.1 mg/kg dose 5 times before and 1 time after irradiation.

Radiation-induced immune damage modeling

Animals were subjected to the single total gamma irradiation in a 5 Gy dose. The external single, general γ -irradiation was implemented with X-ray unit RUM-17 (USSR, Kyiv's Union Factory Production "Medaparatura") in a dose of 5 Gy within 12 minutes 30 seconds. The regime of radiation exposure was the next: one-focal distances – 40 cm, electric current intensity – 10 mA, tube voltage – 180 kV, Cu filter 0.5 + 1Al. The experimental irradiation of animals was implemented on the «Grigoriev Institute for Medical Radiology of NAMS of Ukraine" base.

The cytokines level determination by ELISA

The femoral and shin bone were subjected to the release from soft tissues. Epiphysis of received bones was separated. Diaphysis of femur and tibia bones was washed by medium DMEM, containing 15% fetal serum of cattle, 100 U/ml of penicillin, 100 mg/ml of streptomycin, and 12 mM of L-glutamine. Mononuclear cells were isolated from bone marrow by centrifugation, washed in 5 ml culture medium for 10 min at 400 g on density gradient Lymphoprep (Sigma, $\rho=1.077 \text{ g/cm}^3$). The supernatant was removed. The precipitate of each tube was resuspended in medium to a concentration 1×10^6 cells/ml. Then it was cultured for 24 hours at 37°C and 5% CO₂ in 96-well plates in an amount of 2×10^5 per well in RPMI-1640 medium supplemented with 10% fetal calf serum and 80 mg/ml of gentamicin. We investigated the spontaneous cytokines production in the supernatants, which were obtained by culturing bone marrow mononuclear cells in triplets. These cytokines were determined by ELISA on the reader «Stat-Fax 303 plus» (USA, Awareness Technology Inc.), according to the diagnostic kits instructions. In our study we have used a number of ELISA kits: «Quantikine Mouse Flt3-ligand ELISA» (USA, R&D systems) with sensitivity: 5 pg/ml and measuring range: 31.2–2000 pg/ml; «Quantikine Mouse G-CSF ELISA Kit» (USA, Invitrogen Thermo Scientific) with sensitivity: 0.5 pg/ml and measurement range: 0.5–150 pg/ml; «Quantikine Mouse G-CSF ELISA» (USA, R&D systems) with sensitivity: 5 pg/ml and measuring range: 14.1–900 pg/ml; «Mouse IL-6 Mouse ELISA» (USA, Avicera bioscience, Inc.) with sensitivity: 2 pg/ml and measurement range: 4.0–500 pg/ml.

Statistical analysis

During the statistical analysis of experimental data there was used the t-test with Bonferroni correction considering using Origin software (check for normal distribution) and Microsoft Office Excel 2003. Results are expressed as arithmetic mean (M) with a linear deviation (σ). Scale values in Fig. 1 and 2 are shown in logarithmic form.

Results and discussion

The experiment found that in healthy mice hematopoiesis was characterized by a low G-CSF and IL-6 level in bone marrow without hesitation and discontinuous variation in dynamics during 21 days after irradiation (Fig. 1). The levels of Flt3-ligand contrary were insignificant. That agrees with that normally the large number of Flt3-ligand soluble form are synthesized by endotheliocytes microvessels, stromal cells and other hematopoietic microenvironment cells, including fibroblasts (Bertho et al., 2008b; Gilliland, Griffin, 2002).

At applying of the PETE in normal non-damaged animals group (II group) transient induction of the G-CSF in bone marrow held, which is expressed in increasing its level during the period from the 12th to 24th hour observation, $p < 0.05$. The peak of G-CSF content came in the 20th hour, when the level of G-CSF was greater than in intact animals (control) in 8.5 times. After usage the comparison drug there was registered a slight increase of G-CSF level on the 16th, 20th and 24th hours after the last administration, $p < 0.05$. Elevated levels of IL-6 after the application of the PETE in normal control mice were recorded on the 6th to 20th hour with a peak of content on the 16th hour when excess compared to intact animals was

6.4 times. After reaching peak there was a gradual normalization of IL-6 level, and on the next time point registration (24th hour) significant increases compared to intact animals was not observed, $p > 0.05$. The level of Flt3-ligand in the supernatant of bone marrow cells of control mice after the PETE application had not undergone throughout the observation period any changes. A similar situation was observed for the comparison drug. Such stimulatory effect after PETE usage, we can observe due to the ability of its components, including FGFb, to increase proliferative and differentiation activity accompanied by activation of transcription factors of some cytokines. In particular, the works of other scientists show that the induction of osteoblasts differentiation *in vitro* in culture of bone marrow stromal cells is caused by increasing Flt3-ligand production (Bertho et al., 2008b).

Fig. 1. The PETE usage influence on G-CSF level dynamics in bone marrow of mice with radiation-induced immunodepression (data were not detected in some groups from third until 21st day after irradiation)

In the bone marrow cells supernatant of mice with radiation-induced immune depression (IV group) there was observed an undulating elevation of G-CSF during the 1st day after exposure, with a peak that accounted for the 9th hour – 1024.18 ± 51.09 pg/ml, $p < 0.05$.

Fig. 2. The PETE usage influence on IL-6 level dynamics in bone marrow of mice with radiation-induced immunodepression

The character of the G-CSF level changing over the 1st day after the radiation exposure demonstrates the organism's reaction on violation of hematopoietic homeostasis when the induced hematopoiesis was observed, the regulation of which depends mainly on the G-CSF action and action of

the others early hematopoietic factors (Driessen et al., 2003). Starting from the 3rd day after damaging influence to the end of observation levels of the G-CSF were not recorded.

The level of IL-6 in mice with radiation-induced immune damage is characterized by a gradual increase in the period from 1st to 12th hour observation, when it reached a peak and exceeded its content in intact animals bone marrow at 87.0 times. In the period from the 3rd to the 21st day IL-6 levels remained elevated (average of 5) (Fig. 2). These data agree with the experimental data obtained in other radiation aplasia animals, which exhibit increasing levels of IL-6 in serum and in supernatants of the bone marrow cells. An increased level of IL-6 in this case is associated with increasing of IL-1 and TNF- α levels (Herodin et al., 1992).

It is known, a pleiotropic action of IL-6 includes both its pro- and anti-inflammatory properties. Thus, its increase in the early stages after the damaging effects, it is considered, targets to realization of its anti-inflammatory properties that counteract the pro-inflammatory cytokines (Chen Yong Feng et al., 2013). In addition, as is well-known, IL-6 acts as a stimulator of cell proliferation and differentiation of lympho- and myelopoiesis lines, and as a promoter of mesenchymal precursors growth (Gilbert, Hemann, 2012). Prolonged hyperproduction of IL-6 mediates inflammation. Similarly, when hematopoiesis is damaged, IL-6 is considered as the intermediary of its reconstruction inhibition, which specific mechanism is not found yet (Fu et al., 2000).

The Flt3-ligand values in the supernatant of bone marrow cells in this group of mice was characterized by a gradual increase in the dynamics of the 1st day since the 1st hour of observation, when it was 367.15 ± 43.53 pg/ml compared to 301.19 ± 23.41 pg/ml in intact animals, and on the 24th hour – almost doubled and amounted to 601.23 ± 47.84 pg/ml compared to 311.98 ± 20.04 pg/ml, $p < 0.05$ (Fig. 3). These data accord with increasing of Flt3-ligand level in plasma affected by radiation-induced immune damage *in vivo* (Kim et al., 2013). Since the 3d day we observed Flt3-ligand level decreasing compared with 24 h (1.54 times), but it still outclasses the value of intact animals by 24.2%. Since the 7th day, and throughout the period of observation Flt3-ligand level of irradiated mice was significantly lower than in intact animals with a minimum at 14th day (less than 1.53 times), $p < 0.05$. As for likely explanation for changes in the level of Flt3-ligand synthesis in these conditions, in the works of some authors it has been demonstrated, that the regulation of its production is done by stimulating the synthesis of other cytokines, and not directly by ionizing radiation (Gilliland, Griffin, 2002). For example, in experiments *in vitro* TNF- α introduction to the culture of bone marrow stromal cells led to increased production of Flt3-ligand, that did not happened by the influence of independent radiation exposure.

Fig. 3. The PETE usage influence on Flt3-ligand level dynamics in bone marrow of mice with radiation-induced immunodepression

The G-CSF's level in the bone marrow of mice with radiation-induced immune damage under the PETE usage multiple increased, which was recorded at the 3rd day of experiment compared with animals that were not exposed to the PETE usage. Under the influence of PETE the enhancing of this hematopoietic factor was between 16th and 24th hour surveillance, with a peak at the 20th hour (12.4 times higher than in the comparison group). This increase was sustained and not wavy. On the 3rd day

decrease was observed in intensity of the PETE stimulating effect on the G-CSF synthesis, when its level decreased compared with the 24th-hour observation in 14.5 times and amounted to 98.09 ± 8.15 pg/ml, however, all is considerably higher than the value in the group without the PETE usage and intact animals, $p < 0.05$. On the 7th day its level was at the intact animals level. So the PETE usage leads to increasing of G-CSF levels in bone marrow between 1st and the 3rd day of observation with a maximum increase to 10.6 times at 20th hour than in the animals that did not receive the PETE. Perhaps it is due to a significant increase in early-acting hematopoietic factor to the 24th hour after radiation influence, and conservation, although to a much lesser extent, of the stimulating effect until the 7th day creates a foundation for more rapid hematopoiesis recovery.

Under the reference medicinal product influence some stimulation of the G-CSF synthesis in the bone marrow of mice with radiation-induced immune damage was also incorporated. But, compared with data that were obtained under the PETE influence, G-CSF synthesis stimulation expressed only in slight increase of its value. Thus, the maximum increasing of G-CSF in mice of this group compared to animals without the PETE usage took place at the 12th hour (in 6 times). On the 16th hour observation the gradual reduction of G-CSF level was with registration minimum on 24th hour, $p < 0.05$. Since 3rd day and by the end of the observation G-CSF level in mice of this group was not detected that reminded the group with radiation-induced immune depression without the use of medicinals. Therefore, when comparing the PETE influence and the reference medicinal product significant difference was found in their actions in terms of G-CSF in bone marrow supernatant.

Under the PETE application in mice from 1st h to the 3rd day the stimulation of IL-6 production in bone marrow was also observed. IL-6 level has fallen to 12th hour after damaging impact (exceeding 3.1 times) compared with the control group, $p < 0.05$. In the period from 12th h to the 3rd day the gradual reduction of its level in dynamics was observed, but the significant prevalence levels were preserved compared to animals that did not receive PETE. On the 3rd day and by the end of experiment the normalization of IL-6 appeared, when in a group of mice without the PETE use the similar pattern was not occurred. Thus, already during the first hours after radiation exposure under the PETE treatment there was a significant stimulation of IL-6 synthesis, resulting in a steady increase of its levels in bone marrow.

At applying of the reference medicinal product the significant increase of IL-6 levels compared to animals without any drug administration were registered in the period from 16th to 24th hour surveillance. However, the degree of IL-6 production stimulation influenced by reference medicinal product was much smaller. It was reflected both in shorter stimulation period, and in IL-6 reliably differing level in the bone marrow from groups with PETE administration. Influenced by PETE the Flt3-ligand level in mice with radiation immune suppression in the early hours of observation was not such fast increasing, comparing with animals without the drug administration. From the 3rd day of experiment Flt3-ligand value was normal, when in the comparison group it was first raised – 307.14 ± 30.70 pg/ml compared to 389.72 ± 44.71 pg/ml, and on the 7th day decreased by 1.4 times compared to intact animals – 231.28 ± 33.04 pg/ml vs 316.72 ± 22.20 pg/ml, respectively.

In applying the reference medicinal product some stimulation of G-CSF levels also occurred, but compared to the PETE in not to the same degree and not so prolonged – on the 7th day his level was not detected. Under the influence of the reference medicinal product on the Flt3-ligand level in bone marrow of immunosuppressed mice on the 21st day of experiment its normalization was not yet reached: Flt3-ligand level was significantly higher compared with intact level, however, it was also characterized by a approximation tendency to the norm compared with the group of animals with immunodepression.

Conclusions

Thus, during the first day after radiation-induced immunosuppression modeling undulation increase was observed of G-CSF, IL-6 and Flt3-ligand in the bone marrow. A variety of cytokines production intensity may be explained by both directly radiation effect influencing on the level of their synthesis and by other cytokines, which are the regulators of hematopoietic factors synthesis, that we studied. Consequently, direct or indirect cascade-rise that took place is certainly a reflection of the response to the damaging effects. It has indicated some changes in main cellular elements functional state, which ensure a normal hematopoiesis. As it is well-known, provided the normal course of the hematopoiesis process the level of G-CSF and IL-6 in the bone marrow are just a few picograms and they have, after exposure to physiological stimulus signals, the synthesis peaks – 3–4 hours.

After applying PETE to mice with immunosuppression higher level of G-CSF was detected in the bone marrow in comparison with the control group. Normalization of its level took place on the 7th day after the immunopathological influence. When the G-CSF level in mice with immunosuppression did not

show up at all by ELISA already 3 days after exposure. This fact indicates an active hematopoietic process in hemopoietic tissue, as G-CSF in a bone marrow induces granulocytes proliferation and differentiation, also stimulates regeneration following radiation-induced myelosuppression. In addition, very important is the G-CSF ability to influence the reactive oxygen species formation level, by reducing the production of free radicals, whose role in the cells damaging is well known. Also the G-CSF ability is known to reduce the radiation-induced apoptosis, to preserve mitochondrial membrane potential and to increase the number of mitochondria, which are sensitive to G-CSF during radiation damaging influence (Zhang et al., 2013).

As we know, one of hematopoiesis depression mechanisms is part of IL-6 in the proliferation inhibition and in spreading of stromal cells, which greatly disorganize necessary for normal hematopoiesis hematopoietic microenvironment. As the main component of the hemopoietic microenvironment stromal cells surrounding the hematopoietic stem cells maintain and regulate the internal environment to stabilization, differentiation, proliferation and maturation of hematopoietic precursors by secreting a variety of cytokines. Therefore, defects in bone marrow stromal cells, probably mediated by IL-6 prolonged synthesis, which starts in this case to show anti-inflammatory properties, can lead to a deepening post-radiation crisis of the bones marrow hematopoietic function (Chatterjee et al., 2002). Thus, mice that were subjected to the damaging influence observed prolonged increase of the IL-6 level in the bone marrow. In particular, its prolonged overproduction creates a base for cytokine dysregulation during hemo- and immunogenesis damage postradiation recovery. Contrary, under the PETE usage we observed increasing IL-6 level only in the dynamics of the 1st day with normalization on the 3rd day of experiment.

Increasing of Flt3-ligand level during the 1st day after radiation exposure had changed by its declining against control in the experiment end. The PETE application prevents the fluctuations of Flt3-ligand level, when for the 1st day its level significant rising was not observed. Therefore during the recovery period there was not abnormal Flt3-ligand decreasing in the bone marrow of mice with radiation-caused damage.

The events that unfolded after the PETE application in the bone marrow, including some stimulation of the G-CSF synthesis and modulation of the IL-6 synthesis at the 1st day, and preventing the wavy changes in the intensity of the Flt3-ligand synthesis, accompany the faster normalization of karyocytes total number and, in particular, lead to faster recovery of the T- and B-lymphocytes precursors.

This effect, in our opinion, can be attributed in particular to the FGFb ability, which is a part of the PETE, to regulate the activity of bone marrow stromal cells. This assumption is based on the FGFb2 ability to play a central role in cells proliferation and differentiation regulating in bone marrow *in vivo* and *in vitro* (De Haan et al., 2003). In addition, we know that FGF2 not only directly stimulates the proliferation of hematopoietic and stromal cells in the bone marrow and indirectly modulates the various stromals cytokines production in the bone marrow (Zhao et al., 2012). FGF2 also reliably shows the ability to hematopoietic tissue protection from ionizing radiation damaging effects (Eckert, Bauer, 1998).

Thus, due to the stimulation of the positive regulators of blood formation range, which levels were measured in the supernatant of bone marrow cells, in the early hours after experimental radiation exposure, the PETE usage promotes successful and more rapid hematopoiesis recovery, creating in turn the preconditions for effective immunogenesis.

References

- Bertho J.-M., Demarquay C., Douenat N. et al. Bone marrow stromal cells spontaneously produce Flt3-ligand: Influence of ionizing radiations and cytokine stimulation // *International Journal of Radiation Biology*. – 2008a. – Vol.84, issue 8. – P. 659–667.
- Bertho J.M., Prat M., Stefani J. et al. Correlation between plasma Flt3-ligand concentration and hematopoiesis during G-CSF-induced CD34⁺-cell mobilization // *Stem Cells Dev*. – 2008b. – No 17 (6). – P. 1221–1225.
- Bendall L.J., Bradstock K.F. G-CSF: From granulopoietic stimulant to bone marrow stem cell mobilizing agent // *Cytokine and growth factor reviews* – 2014. – Vol.25, issue 4. – P. 355–367.
- Chatterjee M., Osborne J., Bestetti G. et al. Viral IL-6-induced cell proliferation and immune evasion of interferon activity // *Science*. – 2002. – Vol.298, no 5597. – P. 1432–1435.
- Chen Yong Feng, Wu Zhong Min, Xie Cong et al. Expression level of IL-6 secreted by bone marrow stromal cells in mice with aplastic anemia // *SRN Hematology*. – 2013. – Vol.2013. – Article ID 986219.
- De Haan I., Weersiong E., Dontje B. et al. In vitro generation of long-term repopulating hematopoietic stem cells by fibroblast growth factor-1 // *Developmental Cell*. – 2003. – Vol.4, issue 2. – P. 241–251.

- Driessen R., Johnston H., Nisson S. Membrane bound stem cell factor is a key regulator in initial lodgment of stem cells within the endosteal marrow region // *Exp. Hematol.* – 2003. – Vol.31. – P. 1284–1291.
- Eckert S., Bauer G. TGF-beta isoforms and fibroblasts growth factor exhibit analogous indirect antioncogenic activity through triggering of intracellular induction of apoptosis // *Anticancer Res.* – 1998. – No 18 (1A). – P. 45–52.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // *Strasbourg. Council Treaty Series.* – 1987. – No 123. – 52p.
- Fu J.X., Zhang H., Yu F., Zhang X.G. Evaluation of serum and bone marrow positive- and negative-hematopoietic growth factors in patients with aplastic anemia and its implication on clinical outcome // *Archives of Surgery.* – 2000. – Vol.16. – P. 554–557.
- Gilbert L.A., Hemann M.T. Context-specific roles for paracrine IL-6 in lymphomagenesis // *Genes & Dev.* – 2012. – No 26. – P. 1758–1768.
- Gilliland D.G., Griffin J.D. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia // *Blood.* – 2002. – No 100 (5). – P. 1532–1542.
- Herodin F., Mestries J.-C., Janodet D. et al. Recombinant glycosylated human interleukin-6 accelerates peripheral blood platelet count recovery in radiation-induced bone marrow depression in baboons // *Blood.* – 1992. – Vol.80, no 3. – P. 688–695.
- Johns J.L., Christopher M.M. Extramedullary hematopoiesis: a new look at the underlying stem cell niche, theories of development, and occurrence in animals // *Veterinary Pathology.* – 2012. – Vol.49, no 3. – P. 508–523.
- Jung M., Kern F.G., Jorgensen T.J. Fibroblast growth factor-4 enhanced G₂ arrest and cell survival following ionizing radiation // *Cancer research.* – 1994. – No 54. – P. 5194–5197.
- Karabagli H., Karabagli P., Ladher R.K., Shoenwolf G.C. Survey of fibroblast growth factor expression during chick organogenesis // *The anatomical record.* – 2002. – No 268. – P. 1–6.
- Kim D., Marchetti F., Chen Z. et al. Nanosensor dosimetry of mouse blood proteins after exposure to ionizing radiation // *Sci. Rep.* – 2013. – No 3. – P. 2234.
- Kulkarni S.S., Cary L.H., Gambles K. et al. Gamma-tocotrienol, a radiation prophylaxis agent, induces high levels of granulocyte colony-stimulating factor // *Int. Immunopharmacol.* – 2012. – No 14 (4). – P. 495–503.
- Radiation Proteomics: The effects of ionizing and non-ionizing radiation on cells and tissues / Ed. D.Leszczynski // Advances in Experimental Medicine and Biology. – Springer Science & Business Media, 2013. – Vol.990. – 130p.
- Mickelsen A. Medical consequences of radiological and nuclear weapons. – Falls Church, Virginia: Office of the Surgeon General, United States Army, Washington, DC, U.S. G.P.O, 2012. – 260p.
- Ossetrova N.I., Sandgren D.J., Blakeley W.F. Protein biomarkers for enhancement of radiation dose and injury assessment in nonhuman primate total-body irradiation model // *Radiation Protection Dosimetry.* – 2014. – Vol.159, issue 1–4. – P. 61–76.
- Prat M., Demarquay C., Frick J. et al. Radiation-induced increase in plasma Flt3-Ligand concentration in mice: Evidence for the implication of several cell types // *Radiation Research.* – 2005. – No 163. – P. 408–417.
- Prat M., Demarquay C., Frick J. et al. Use of Flt3 Ligand to evaluate residual hematopoiesis after heterogeneous irradiation in mice // *Radiation Research.* – 2006. – Vol.166, no 3. – P. 504–511.
- Singh V.K., Romaine P.L.P., Seed T.M. Medical countermeasures for radiation exposure and related injuries: characterization of medicines, FDA-approval status and inclusion into the strategic national stockpile // *Health Phys.* – 2015. – No 108(6). – P. 607–630.
- Zhang Z., Zhang M., Hang L. et al. Radiation effects of responsiveness of bone marrow to G-CSF // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2013. – P. 273–280.
- Zhao M., Ross G.T., Itkin T. et al. FGF signaling facilitates postinjury recovery of mouse hematopoietic system // *Blood.* – 2012. – Vol.120, no 9. – P. 1831–1842.

Представлено: О.П.Белозоров / Presented by: A.P.Belozorov
Рецензент: Є.Е. Перський / Reviewer: Ye.E. Persky
Подано до редакції / Received: 07.10.2016

УДК: 612.32:[616.369:616.15-074]

Комплексний аналіз показників крові та кислотоутворююча функція шлунка при захворюваннях гепатобіліарної системи з супутніми патологіями

Л.Д.Скубицька, О.В.Севериновська

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара (Дніпро, Україна)
ya.luda-ya2012@yandex.ua*

Значення кислотності шлункового соку у хворих на гастрит без супутніх патологій та з супутніми ураженнями коливались у межах 2,17–3,84, які перевищують верхні межі норми і свідчать про наявність гіпоацидності шлункового соку у всіх хворих. Всі показники печінкового комплексу, загального аналізу крові та системи згортання крові у хворих на гастрит, незалежно від виявлених супутніх уражень, відповідають значенням норми, що, насамперед, свідчить про відсутність порушень синтетичної функції печінки. Вірогідне підвищення активності трансаміназ АЛТ і АСТ у осіб, хворих на гастрит із супутніми ураженнями, вказує на наявність уражень тканин печінки за рахунок виходу ферментів зі зруйнованих клітин. Найвищі показники лужної фосфатази встановлені в осіб, яким підтверджено діагноз гастрит та цукровий діабет. Показник загального та прямого білірубину підвищений у 1,5–4,2 раза у хворих на гастрит із супутнім ураженням гепатобіліарної системи, що вказує на порушення видільної функції печінки і холестатичний фактор розвитку запальних процесів в печінці. Найбільші значення показників ліпідного комплексу – в осіб з наявністю гастриту та патологій серцево-судинної системи, що може розглядатися як порушення ліпідного обміну.

Ключові слова: *гастрит, ураження печінки, серцево-судинна система, обмінні процеси, біохімічні показники крові.*

Комплексный анализ показателей крови и кислотообразующая функция желудка при заболеваниях гепатобилиарной системы с сопутствующими патологиями

Л.Д.Скубицкая, Е.В.Севериновская

Значение кислотности желудочного сока у больных гастритом без сопутствующих патологий и с сопутствующими нарушениями колебались в пределах 2,17–3,84, которые превышают верхние границы нормы и свидетельствуют о наличии гипоацидности желудочного сока у всех больных. Все показатели печеночного комплекса, общего анализа крови и свертывающей системы крови у больных гастритом, независимо от выявленных сопутствующих заболеваний, соответствуют значениям нормы, что, прежде всего, свидетельствует об отсутствии нарушений синтетической функции печени. Достоверное повышение активности трансаминаз АЛТ и АСТ у лиц, больных гастритом с сопутствующими поражениями, указывает на наличие поражений тканей печени за счет выхода ферментов из разрушенных клеток. Самые высокие показатели щелочной фосфатазы установлены у лиц с подтвержденным диагнозом сахарный диабет. Показатель общего и прямого билирубина повышен в 1,5–4,2 раз у больных гастритом с сопутствующим поражением гепатобилиарной системы, что указывает на нарушение выделительной функции печени и холестатический фактор развития воспалительных процессов в печени. Наибольшие значения показателей липидного комплекса получены у лиц с наличием гастрита и патологий сердечно-сосудистой системы, что может рассматриваться как нарушение липидного обмена.

Ключевые слова: *гастрит, поражения печени, сердечно-сосудистая система, обменные процессы, биохимические показатели крови.*

Complex analysis of blood indices and acid production function of stomach at diseases of hepatobiliary system with concomitant lesions

L.D.Skubitska, O.V.Severynovska

The value of gastric acidity in patients with gastritis without concomitant lesions and with associated pathologies ranged from 2,17–3,84 that exceed the upper limit of normal and indicate the presence of gastric hypoacidity in all patients with gastritis. All indicators of liver complex, general blood analysis and blood coagulation system in patients with gastritis, regardless of the identified associated lesions, corresponded to

the normal values, that, first of all, is an evidence of the absence of synthetic liver function violation. Significant increase in the activity of transaminases ALT and AST in patients with gastritis with concomitant lesions indicates the damage of the liver tissue due to the release of enzymes from damaged cells. The highest level of alkaline phosphatase was established in individuals with confirmed diabetes. Total and direct bilirubin increased in 1.5–4.2 times in patients with gastritis with concomitant lesions of the hepatobiliary system, which indicates the violation of liver excretory function and cholestatic factor in the development of inflammatory processes in the liver. The highest values of lipid complex indices were obtained in patients with gastritis and cardiovascular system pathologies, which can be considered as lipid metabolism violation.

Key words: *gastritis, liver diseases, cardiovascular system, metabolism, blood biochemical parameters.*

Вступ

Серед захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) 60,32% складає патологія гепатобіліарної системи (ГБС), а ураження печінки (УП) є більш поширеним у порівнянні з патологією підшлункової залози, що обумовлює важливу медико-соціальну проблему сьогодення (Рингач, 2016; Степанов, 2014). До того ж хвороби печінки практично завжди супроводжуються функціональною або/й органічною патологією жовчного міхура та підшлункової залози, оскільки мають анатомічне поєднання і нерозривно пов'язані метаболізмом й виконують загальну функцію травлення (Пархоменко та ін., 2009).

З розвитком біотехнології посилюється вплив шкідливих чинників (токсичних харчових консервантів, сполук з чужорідною ізомерною структурою, генетично модифікованих продуктів) на організм людини, з якими її адаптаційна система не може справитись. А зрив адаптаційно-компенсаторної ГБС призводить до прогресування УП (Свінціцький та ін., 2012; Шилов и др., 2015).

Всі шкідливі фактори, які впливають на функціонування основної біохімічної лабораторії організму – печінки, поділяють на вірусні (Ершова и др., 2013; Colpitts et al., 2015), токсичні (Chan, Levitsky, 2016) обмінні (метаболічні) (Звягінцева, Глуценко, 2013; Köroğlu et al., 2016) та аутоімунні (Бабак, 2013; Emmrich, Jaster, 2016).

Відмітимо, що незважаючи на велику кількість та різноманітність патологічних агентів, спроможних уразити печінку, її відповідь на агресію чинників завжди типова і стереотипна – цитоліз або холестаза. В першому випадку внаслідок посилення процесів перекисного окиснення ліпідів і зниження активності системи антиоксидантного захисту руйнуються мембрани гепатоцитів, що підвищує рівень трансаміназ у крові. Холестаза, на відміну від цитолізу, з одного боку, маючи адаптивний характер у вигляді посилення синтезу холестерину й інших ліпідів та жирних кислот, з іншого – в разі перенасичення мембран жирами, призводить до погіршення їх пористості, гіперліпідемії та гіпербілірубінемії (Белова, Алтуфьев, 2009; Лукашевич и др., 2005).

Наявність постійного запально-некротичного ураження гепатоцитів може призводити до цілого каскаду патологічних процесів: печінково-клітинної недостатності, печінкової енцефалопатії, холестатичного синдрому, цирозу, фіброзу печінки та онкологічних ускладнень. Існує ряд досліджень, які також описують зв'язок хронічних захворювань печінки з розвитком патологічних процесів в шлунка та об'єднують зміни в слизовій оболонці шлунка у синдром печінкової гастропатії (Кляритская, 2008; Gjeorgjievski, Carpell, 2016).

В багатьох працях науковці описують такі типи ускладнень, але у доступній літературі обмаль інформації щодо впливу УП на функціональні зміни в шлунка та немає посилань на результати вивчення механізмів розвитку хронічного гепатиту з іншими ускладненнями серцево-судинної системи (ССС) та обмінних процесів. За думкою Колеснікової (2014), УП можуть бути як первинними та розвиватися незалежно від інших патологій, так і вторинними (внаслідок порушення серцево-судинної системи або розвитку цукрового діабету).

Тому метою нашої роботи є дослідження кислотоутворюючої функції шлунка та аналіз показників крові при хронічному гастриті з супутнім УП, асоційованим з гіпертонічною хворобою, цукровим діабетом та патологією щитоподібної залози.

Матеріали і методи дослідження

Роботу виконано в Дніпропетровській обласній лікарні ім. І.І.Мечникова. В дослідженні прийняли участь 127 чоловіків віком 35–45 років тільки з хронічним гастритом (ХГ), або з ХГ та іншими супутніми ураженнями. У всіх хворих були відсутні *Helicobacter pylori*, вірусні гепатити В і С та аутоімунний, алкогольний, токсичний гепатити.

Залежно від попередніх діагнозів, з якими надходили хворі з районних лікарень до обласної, було сформовано шість груп (рис. 1). Першу (I) групу склали 14 осіб (11%) з хронічним гастритом; другу (II) – 28 осіб (22%), які мали ХГ з супутнім ураженням ГБС; третю (III) – 24 особи (19%) з ХГ, ураженням ГБС та патологіями серцево-судинної системи, четверту (IV) – 20 осіб (15,7%) з ХГ, ураженням ГБС, патологіями ССС та цукровим діабетом (ЦД); п'яту (V) – також 20 осіб (15,7%) з ХГ, ураженням ГБС і ЦД; і останню шосту групу (VI) – 21 особа (16,6%) з ХГ, ураженням ГБС, патологіями ССС та щитоподібної залози.

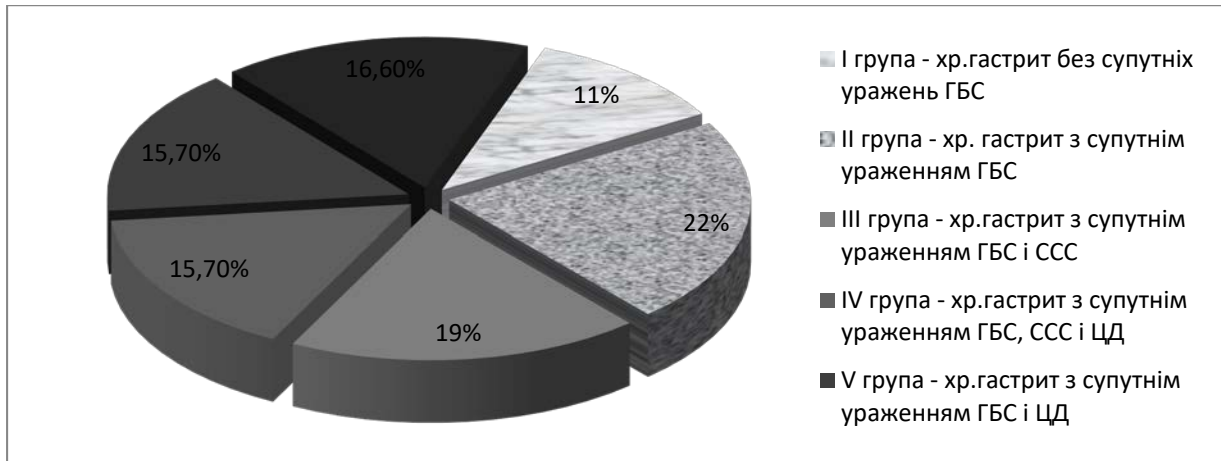


Рис. 1. Розподіл хворих в групах

У ході підтвердження діагнозу проводили езофагодуоденоскопію шлунка (апарат Olympus G:FE, Японія) з внутрішньошлунковою рН-метрією (ІКШ-2), визначаючи рівень шлункової секреції за Є.Ю.Лінаром (Гриценко и др., 1998). За загальноприйнятими клінічними методиками (глюкозооксидазний, колориметричний, кінетичний, оптимізований оптичний тест метод Райтмана-Френкеля, Вольгемута) визначали біохімічні показники крові (загальний білок, альбумін, загальний та прямий білірубін, аланінамінотрансферазу – АЛТ, аспартатамінотрансферазу – АСТ, лужну фосфатазу – ЛФ, гаммагрутанілтрансферазу – ГГТ), показники ліпідного комплексу (холестерин, тригліцериди) та згортання крові (протромбіновий індекс – ПТІ, активований час рекальцифікації – АВР), а також лейкоцитарну формулу, кількість гемоглобіну та швидкість осідання еритроцитів – ШОЕ, рівень глюкози, альфа-амілази та ліпази (Камышников, 2009; Степанов та ін., 2005).

Статистичний аналіз результатів проводили з використанням програм Microsoft Office Excel 2007, порівняння двох незалежних вибірок здійснювали за непараметричним статистичним U-критерієм Манна-Уїтні, залежність між двома змінними – за коефіцієнтом кореляції Спірмена. Отримані дані вважали статистично значущими при рівні значущості $P < 0,05$.

Результати та обговорення

Значення кислотності шлункового соку у хворих на гастрит без супутніх уражень та з супутніми ураженнями коливались у межах 2,17–3,84, які перевищують верхні межі норми і свідчать про наявність гіпоацидності шлункового соку (табл. 1) у всіх хворих на гастрит.

Рівень кислотопродукції в I-й групі складає $2,17 \pm 0,29$, що відповідає помірній гіпоацидності і співпадає із значеннями, отриманими нами в попередніх дослідженнях (Скубицька, Севериновська, 2015). В групах II, III, IV, V також відмічається зниження кислотності шлункового соку в межах помірної гіпоацидності, що можна пояснити наявністю хронічної патології підшлункової залози, жовчного міхура, порушенням моторної діяльності шлунка, дванадцятипалої кишки та ознак дуоденогастрального рефлюксу. Відомо (Коруля та ін., 2014), що попадання протеолітичних ферментів та жовчних кислот з дванадцятипалої кишки в шлунок та сумісний вплив дуоденального й шлункового соків спричиняє не лише гіпоацидність, а і може бути причиною розвитку тяжких уражень шлунка. В VI-й групі досліджених зниження кислотності шлункового соку носить вірогідний характер у порівнянні зі значеннями I групи, що свідчить про сильніший прояв гіпоацидності і,

ймовірно, обумовлено патологією щитоподібної залози. У роботі (Новикова, Бубнова, 2012) вказано гормональну та імунологічну взаємодію між шлунком та щитоподібною залозою. Відмітимо, що науковці вказують різні рівні кислотності за даних патологій, але нами зафіксовано зниження кислотопродукції шлунка до значень вираженої гіпоацидності.

Таблиця 1.

Показники кислотності шлункового соку у осіб різних груп

Показник	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
pH шлункового соку	2,17±0,29	2,4±0,24 Z (1,387) U (144) P (0,165)	2,32±0,2 Z (-1,470) U (66,00) P (0,141)	2,44±0,14 Z (0,849) U (84,50) P (1,604)	3,00±0,46 Z (-1,581) U (43,00) P (0,114)	3,84±0,40* Z (-2,874) U (24,50) P (0,004)

* вірогідно відносно контролю, при рівні статистичної значимості $P < 0,05$ за U-критерієм Манна-Уїтні; Z – нормальна апроксимація статистики Манна-Уїтні.

Отримані значення кислотності шлункового соку у осіб в групах II, III, V з менш асоційованими патологіями і IV та VI з більш асоційованими патологіями різняться та свідчать про відсутність прямої залежності впливу уражень печінки і супутнього захворювання ССС на шлункову секрецію. Стосовно супутньої ендокринної патології слід відмітити, що найбільші показники кислотності отримані саме в групах IV, V, VI із захворюванням щитоподібної залози і ЦД, тому дані супутні патології можуть розглядатися як фактори розвитку функціональних змін у шлунку.

Всі показники печінкового комплексу у хворих I групи відповідають значенням норми (табл. 2). В інших групах, незалежно від захворювання, кількість загального білку та альбуміну також знаходяться у межах норми, що говорить про відсутність порушень синтетичної функції печінки. Однак, деякі науковці (Лисенко, Виноградов, 2013) при патологіях печінки різної етіології навіть при нормальних кількісних значеннях показників відмічають функціональну неповноцінність білків.

Встановлено вірогідне підвищення активності трансаміназ АЛТ і АСТ у осіб II–VI груп, що вказує на наявність уражень тканин печінки за рахунок виходу ферментів зі зруйнованих клітин. Відмітимо, що у осіб II, III, V груп з меншою кількістю асоційованих патологій отримані вищі рівні АЛТ, АСТ порівняно з результатами IV, VI груп. Така ж закономірність простежується і стосовно кількості лужної фосфатази у крові, але значення цього біохімічного показника у досліджених з усіх груп лежать у верхніх межах контрольних цифр та вказують на відносне зниження функціональної активності мембран гепатоцитів, що є ключовим чинником регуляції жовчоутворення й відсутності застійних явищ в жовчному міхурі. Все ж таки вищі показники ЛФ встановлені в осіб IV та V груп, що часто спостерігається у хворих на ЦД.

Отримані значення печінкового ферменту ГГТ у II–VI групах вірогідно (у 2,5–8 разів) збільшені порівняно з результатами у I групі і мають найвищі рівні у хворих IV, V груп, що вказує на пошкодження клітин печінки, які викликані накопиченням продуктів обміну, активною дією жовчних кислот, токсичних речовин, в тому числі ферменту ЛФ.

Показник загального та прямого білірубину у представників I, IV та VI груп відповідає значенням норми, а у інших – підвищений в 1,5–4,2 разів та вказує на порушення видільної функції печінки і є холестатичним фактором розвитку запальних процесів в печінці.

Найвищі значення холестерину й тригліцеридів – у осіб III, IV та VI груп (табл. 3). Слід відмітити, що спільним в цих групах є наявність патологій ССС, які можуть бути причиною порушення ліпідного обміну. З літератури відомо, що ключова роль в порушенні ліпідного обміну належить печінці, так як зміни ліпідного спектру крові та порушення холестеринного обміну починаються на рівні гепатоцита. Але ми вважаємо, що питання першопричин розвитку порушень ліпідного обміну потребує подальшого дослідження через вивчення додаткових факторів та механізмів функціонування ССС та печінки.

Показники функціонування системи згортання крові у досліджених всіх груп знаходились в межах норми (табл. 4). Отже, можна припустити, що за даних патологій функція синтезу факторів комплексу гемостазу в печінці не порушена, але не виключено, що за даних умов включаються

надійні адаптаційно-компенсаторні механізми, на що вказують автори (Богушевич, Чуйкова, 2009), відмічаючи, що при хронічних захворюваннях печінки відбувається порушення рівноваги між згортаючою і протизгортаючою системами крові.

Таблиця 2.

Біохімічні показники крові у осіб досліджених груп

Показники	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
Загальний білок г/л	74,83±0,72	74,63±1,04 Z (0,507) U (215) P (1,388)	71,86±1,11 Z (-1,953) U (55,50) P (0,051)	71,74±2,89 Z (-1,874) U (38,00) P (0,061)	69,87±2,92 Z (-1,200) U (49,50) P (0,230)	71,52±1,68 Z (-1,369) U (52,00) P (0,171)
Альбумін г/л	48,99±1,77	46,4±0,87 Z (0,867) U (228,5) P (1,614)	44,96±1,18* Z (-2,366) U (46,50) P (0,018)	42,68±1,68* Z (-2,430) U (28,50) P (0,015)	44,46±1,43 Z (-1,669) U (41,50) P (0,095)	46,29±2,64 Z (-1,095) U (57,00) P (0,274)
Загальний білірубін мкмоль/л	14,08±3,33	31,65±6,87* Z (-2,802) U (91) P (0,005)	28,13±8,5* Z (-1,838) U (58,00) P (0,046)	12,11±1,51 Z (0,937) U (86,00) P (1,651)	26,89±5,15* Z (-2,284) U (31,00) P (0,022)	20,00±8,00 Z (-1,724) U (45,50) P (0,085)
Прямий білірубін мкмоль/л	3,91±0,65	14,41±5,0* Z (-2,815) U (90,5) P (0,005)	16,79±7,53* Z (-1,424) U (67,00) P (0,154)	4,43±0,55 Z (-1,610) U (42,50) P (0,107)	10,78±2,65* Z (-2,430) U (28,50) P (0,015)	5,35±1,11 Z (-1,889) U (42,50) P (0,059)
АЛТ од/л	13,11±1,2	70,28±8,69* Z (-5,230) U (0,00) P (0,000)	65±11,39* Z (-4,503) U (0,00) P (0,000)	39,91±6,47* Z (-4,040) U (1,00) P (0,000)	63,99±12,9* Z (-4,099) U (0,00) P (0,000)	33,21±5,08* Z (-3,339) U (16,00) P (0,001)
АСТ од/л	16,37±0,77	56,73±13,05* Z (-5,016) U (8,00) P (0,000)	54,19±10,02* Z (-4,411) U (2,00) P (0,000)	41,03±5,92* Z (-3,982) U (2,00) P (0,000)	50,82±8,35* Z (-3,923) U (3,00) P (0,000)	41,08±9,48* Z (-2,847) U (25,00) P (0,004)
ЛФ од/л	59,14±3,61	88±10,83* Z (-2,342) U (30,00) P (0,019)	99,14±15,74* Z (-2,114) U (52,00) P (0,035)	100,96±14,46* Z (-3,309) U (72,00) P (0,001)	122,4±10,8* Z (-3,777) U (5,50) P (0,000)	95,36±12,5* Z (-3,175) U (19,00) P (0,001)
ГГТ од/л	17,57±1,76	77,18±12,25* Z (-4,843) U (14,50) P (0,000)	44,5±6,56* Z (-4,158) U (7,50) P (0,000)	95,73±23,05* Z (-3,175) U (19,00) P (0,001)	142,7±39,26* Z (-3,952) U (2,50) P (0,000)	75,4±15,72* Z (-3,777) U (5,50) P (0,000)

*вірогідно відносно контролю, при рівні статистичної значимості $P < 0,05$ за U-критерієм Манна-Уїтні; Z – нормальна апроксимація статистики Манна-Уїтні.

Встановлений підвищений рівень глюкози лише в групах з ХГ та ЦД, що підтверджує наявність ендокринної недостатності підшлункової залози. Значення ліпази та амілази в межах норми (табл. 5).

Характеризуючи загальний аналіз крові досліджуваних всіх груп, встановили, що немає суттєвих відхилень від значень норми, хоча показник ШОЕ, кількість лімфоцитів відповідали верхній межі норми майже у всіх групах (табл. 6).

При УП найбільш змінними показниками є кількість тромбоцитів, лімфоцитів, нейтрофілів, гемоглобіну та ШОЕ. Можливі зміни також і решти показників, але це обумовлене етіологічним чинником розвитку уражень печінки, стадією та тривалістю захворювання, наявністю супутніх патологій організму (Фадеєнко и др., 2007).

Таблиця 3.

Показники ліпідного комплексу у досліджених різних груп

Показники	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
Холестерин ммоль/л	4,67±0,12	5,45±0,17* Z (-3,148) U (78,00) P (0,002)	5,48±0,36* Z (-1,953) U (55,50) P (0,051)	5,63±0,41* Z (-0,586) U (60,00) P (0,048)	5,17±0,15* Z (-2,518) U (27,00) P (0,012)	5,67±0,34* Z (-2,381) U (33,50) P (0,017)
Тригліцериди ммоль/л	1,36±0,07	1,8±0,21 Z (-1,774) U (129,50) P (0,076)	2,27±0,47 Z (-1,424) U (67,00) P (0,154)	1,96±0,22 Z (-1,698) U (41,00) P (0,089)	1,72±0,09* Z (-2,723) U (23,50) P (0,006)	2,0±0,12 Z (-1,259) U (54,00) P (0,208)

* вірогідно відносно контролю, при рівні статистичної значимості $P < 0,05$ за U-критерієм Манна-Уїтні; Z – нормальна апроксимація статистики Манна-Уїтні.

Таблиця 4.

Показники функціонування системи згортання крові у досліджених різних груп

Показники	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
ПТІ	96,86±1,59	97,25±0,94 Z (-0,187) U (189) P (0,852)	93,36 ±1,63 Z (-1,447) U (66,50) P (0,148)	97±2,10 Z (0,176) U (73,00) P (1,139)	89,80±3,41 Z (-1,757) U (40,00) P (0,079)	87,27±1,88* Z (-2,984) U (22,50) P (0,003)
АВР	59,50±1,00	58,07±0,76 Z (0,934) U (230,00) P (1,650)	59,93± 1,12 Z (-0,230) U (93,00) P (0,818)	58,7±1,68 Z (-0,410) U (63,00) P (0,682)	62,70±1,51 Z (-1,640) U (42,00) P (0,101)	60,55±1,34 Z (0,821) U (92,00) P (1,588)

* вірогідно відносно контролю, при рівні статистичної значимості $P < 0,05$ за U-критерієм Манна-Уїтні; Z – нормальна апроксимація статистики Манна-Уїтні.

Таблиця 5.

Деякі показники крові у досліджених різних груп

Показники	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
Глюкоза ммоль/л	4,6±0,08	4,9±0,12 Z (-0,907) U (162) P (0,364)	5,6±0,13* Z (-4,365) U (3,00) P (0,000)	8,2±0,94* Z (-3,923) U (3,00) P (0,000)	8,53±1,00* Z (-4,099) U (0,00) P (0,000)	5,41±0,20* Z (-2,682) U (28,00) P (0,007)
α-амілаза од/л	62,26±5,37	62,3±6,2 Z (0,947) U (231,5) P (1,656)	64,5±8,89 Z (-0,437) U (88,50) P (0,662)	59,40±4,90 Z (-0,205) U (66,50) P (0,838)	50,40±4,74 Z (-1,435) U (45,50) P (0,151)	64,55±7,95 Z (0,164) U (80,00) P (1,130)
Ліпаза од/л	32,74±2,5	38,1±2,86 Z (-1,187) U (151,5) P (0,235)	53,54±8,16* Z (-2,596) U (41,5) P (0,009)	41,13±4,49 Z (-1,522) U (44,00) P (0,128)	56,79±6,87* Z (-3,162) U (16,00) P (0,002)	54,83±9,12* Z (-2,245) U (36,00) P (0,025)

* вірогідно відносно контролю, при рівні статистичної значимості $P < 0,05$ за U-критерієм Манна-Уїтні; Z – нормальна апроксимація статистики Манна-Уїтні.

В даний час ХГ є найпоширенішим захворюванням ШКТ. Цей запальний процес не тільки вражає слизову оболонку шлунка, але і викликає загальне захворювання організму. Доведено, що визначені клініко-морфологічні форми ХГ передують або супроводжують розвиток таких прогностично несприятливих захворювань, як виразкова хвороба та рак шлунка. Таким чином, ХГ є якби сполучною ланкою між різними захворюваннями і не тільки шлунка. За даними (Бессонов и др., 2014), у осіб з ішемічною хворобою серця (ІХС) супутніми були артеріальна гіпертензія, дисциркуляторна енцефалопатія, хронічний бронхіт, пневмосклероз, захворювання нирок. У пацієнтів із захворюванням верхнього відділу ШКТ виявляли цукровий діабет, а у осіб з патологією ГБС – супутню артеріальну гіпертензію, ІХС, дисциркуляторну енцефалопатію і відповідно в біохімічних аналізах крові виявляли порушення ліпідного обміну, підвищення вмісту холестерину, ліпідів низької щільності, глюкози. Відомо, що порушення обміну холестерину може привести до розвитку холестерозу жовчного міхура, жирового гепатозу і є фактором ризику атеросклеротичного ураження судин серця, головного мозку, артеріальної гіпертензії.

Таблиця 6.

Кількість гемоглобіну, лейкоцитарна формула та ШОЕ у досліджених різних груп

Показники	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
Гемоглобін г/л	141±3,26	146±3,34 Z (-1,481) U (140,50) P (0,139)	144,5±3,97 Z (-0,597) U (85,00) P (0,550)	142,2±3,93 Z (-0,234) U (66,00) P (0,815)	134,5±6,47 Z (-0,761) U (57,00) P (0,447)	129,2±7,31 Z (-1,615) U (47,50) P (0,106)
Еритроцити Т/л	4,78±0,11	4,76±0,1 Z (-0,040) U (194,50) P (0,968)	4,79±0,10 Z (-0,092) U (96,00) P (0,927)	4,38±0,21 Z (1,405) U (46,00) P (0,160)	4,63±0,15 Z (-0,556) U (60,50) P (0,578)	4,49±0,19 Z (-1,177) U (55,50) P (0,239)
Лейкоцити г/л	6,09±0,37	6,54±0,33 Z (-0,720) U (169) P (0,471)	7,09±0,79 Z (-0,597) U (85,00) P (0,550)	6,27±0,52 Z (0,381) U (76,50) P (0,297)	6,51±0,49 Z (0,732) U (82,50) P (1,536)	6,44±0,86 Z (-0,219) U (73,00) P (0,827)
Тромбоцити г/л	246±15,28	252±13,48 Z (-0,027) U (195) P (0,979)	214±15,42 Z (-1,723) U (60,50) P (0,085)	224±15,07 Z (-0,644) U (59,00) P (0,520)	223±18,13 Z (-0,790) U (56,50) P (0,429)	217±21,3 Z (-1,588) U (48,00) P (0,112)
ШОЕ мм/год	5,14±1,13	7,75±1,38 Z (0,854) U (164,00) P (0,393)	12,21±3,07 Z (-1,953) U (55,50) P (0,051)	12,8±2,87* Z (-2,284) U (31,00) P (0,022)	15,1±3,07* Z (-3,016) U (18,50) P (0,003)	14,55±2,28* Z (-3,120) U (20,00) P (0,002)
Лімфоцити %	35,7±1,68	37±1,62 Z (-0,840) U (164,50) P (0,401)	30,84±2,63 Z (-1,057) U (75,00) P (0,291)	33,58±3,48 Z (-0,703) U (58,0) P (0,482)	33,56±3,09 Z (0,088) U (71,50) P (1,070)	33,92±3,22 Z (0,082) U (78,50) P (1,065)
Моноцити %	10,24±0,8	9,22±0,51 Z (0,880) U (229,0) P (1,621)	8,56±0,62 Z (-1,264) U (70,50) P (0,206)	7,10±1,16* Z (-2,166) U (33,00) P (0,030)	9,18±0,66 Z (-1,113) U (51,00) P (0,266)	8,9±0,75 Z (-1,095) U (57,00) P (0,274)
Нейтрофіли %	59±0,97	51±1,62 Z (-0,587) U (174,0) P (0,557)	51,7±1,6 Z (-1,264) U (70,50) P (0,206)	56,04±1,17 Z (-1,200) U (49,50) P (0,230)	59,38±1,23 Z (0,234) U (74,00) P (1,185)	57,05±1,6 Z (-0,547) U (67,00) P (0,584)

* вірогідно відносно контролю, при рівні статистичної значимості $P < 0,05$ за U-критерієм Манна-Уїтні; Z – нормальна апроксимація статистики Манна-Уїтні.

У пацієнтів з поєднаною патологією хронічного хелікобактерного гастриту з хронічним холециститом пріоритетну роль у фазі ремісії відіграють метаболічні порушення (Кнышова и др., 2012). Порушення ліпідного обміну характеризуються помірною гіперхолістеренемією, гіпертригліцеридемією, гіпербеталіпопротеїнемією, білкового – гіпербеталобулінемією, а вуглеводного – гіперінсулінемією у поєднанні з інсулінорезистентністю.

Загальновідомо, що захворювання ССС (в тому числі ІХС, інфаркт міокарда) частіше зустрічаються в осіб зрілого та похилого віку, які до цього часу вже мають супутні захворювання шлунково-кишкового тракту та ГБС, що ускладнює діагностику і потребує «корекцію» в лікуванні. Лікарі відмічають, що хворі на ІХС часто мають скарги на біль у області шлунка, подальші обстеження ШКТ підтверджують зміни функціонального стану шлунка та рН. Проте значення кислотності шлунка не корелюють з виникненням болі у грудній клітці, а зміни у функціонуванні шлунка розцінюються у якості невизначеного джерела відчуття болю (Васильев, 2006). До того ж одним з найпоширеніших препаратів, які використовуються для лікування серцево-судинних патологій, є ацетилсаліцилова кислота, і навіть швидкорозчинна форма цього препарату подразнює слизову оболонку шлунка і призводить до її порушення з утворенням ерозій та виразок й може бути причиною виникнення шлунково-кишкових кровотеч (Derry, Loke, 2000; Kelly et al., 1996). Досить часто у хворих з ІХС або інфарктом міокарду супутньою є гастроенцефалічна рефлюксна хвороба, яка поєднується з хронічним хелікобактерним гастритом. Результати дослідів (Aceti et al., 2004) свідчать про те, що активна інфекція *Helicobacter pylori* може відігравати роль тригерного фактору при гострих серцево-судинних порушеннях, але це питання потребує більш ретельного вивчення.

У наших дослідженнях ми встановили, що патології ССС є частими супутніми захворюваннями у осіб з гастритом та захворюваннями ГБС. У разі звернення до лікарні з приводу лікування гастриту це захворювання не було викликане *Helicobacter pylori*. Гіпоацидність шлункового соку супроводжувалась розладами у функціонуванні шлунка та 12-палої кишки, дуоденогастральним рефлюксом, порушенням обмінних та видільних процесів у печінці, підвищенням в крові активності трансаміназ АЛТ, АСТ. Одночасно захворювання ГБС супроводжували захворювання ССС з підвищеним рівнем холестерину та тригліцеридів, що необхідно враховувати у лікуванні пацієнтів з даною патологією. Отже, при відсутності бактеріальної інфекції питання про першопричину розвитку цих захворювань залишається відкритим і, на нашу думку, відповідь на нього слід шукати у функціонуванні системи монооксиду азоту (NO).

У деяких випадках порушення ГБС та хронічний гастрит асоціюють з розвитком ЦД та захворюванням щитоподібної залози, що характеризується вираженою гіпоацидністю, підвищеними рівнями АЛТ, АСТ, ліпідної фракції, ГГТ, холестерину й тригліцеридів та глюкози. За даними (Ахмадуллина, Курникова, 2016), у більшості обстежених пацієнтів з цукровим діабетом 1 та 2 типів також були виявлені порушення моторно-евакуаторної функції шлунка, що знаходяться у взаємозв'язку з тривалістю діабету, компенсацією вуглеводного обміну та реабілітаційними можливостями організму. Дослідники (Пархоменко, Ещенко, 2010) вказують, що одним з факторів, які впливають на особливості патології ШКТ і стан ГБС, є функціональний стан щитоподібної залози, ще у підлітковому віці. Дисфункція щитоподібної залози асоціюється з шлунково-кишковими порушеннями, гастритом, виразковою хворобою, панкреатитом, гепатитом, функціональними біліарними розладами, жовчнокам'яною хворобою, запором, проносом, дисбактеріозом – ось далеко не повний перелік станів, що мають відношення до патології щитоподібної залози (Чумак, 2004).

Таким чином, функціональний стан органів травлення тісно пов'язаний як з ендокринними патологіями, так і з основними складовими метаболічних порушень (метаболічного синдрому). Можна навіть сказати, що порушення харчової поведінки, дисбаланс гормонів травного тракту, функціональний стан печінки, підшлункової залози – ключові патогенетичні фактори розвитку метаболічного синдрому. Розвиток метаболічних порушень та атеросклероз тісно пов'язані між собою однотиповими патогенетичними механізмами. Останнім часом цю проблему частіше розглядають через призму порушення функціонального стану гепатоцита. Печінка стоїть біля витоків порушення ліпідного та вуглеводного метаболізму, що опосередковано призводить до дисфункції підшлункової залози, розвитку інсулінорезистентності (Бутрова, 2001; Егорова и др.,

2005). Органи травлення мають безпосереднє відношення до розвитку метаболічного синдрому і самі стають органами-мішенями.

Отже, знання про супутні захворювання гастроентерологічних пацієнтів не тільки допомагає лікарю в діагностиці, але і дозволяє уникнути поліпрогмазії. Застосування лікарських препаратів, що впливають на єдиний патогенетичний механізм загальносоматичних, ендокринних та гастроентерологічних захворювань, дозволяє досягти позитивного ефекту лікування при мінімальному використанні лікарської терапії (Бессонов и др., 2014).

Висновки

Значення кислотності шлункового соку у хворих на гастрит без супутніх патологій та з супутніми ураженнями перевищують верхні межі норми і свідчать про наявність гіпоацидності шлункового соку у всіх хворих на гастрит.

Всі показники печінкового комплексу, загального аналізу крові та системи згортання крові у хворих на гастрит, незалежно від виявлених супутніх уражень, відповідають значенням норми, що свідчить про відсутність порушень синтетичної функції печінки.

Вірогідне підвищення активності трансаміназ АЛТ і АСТ у осіб хворих на гастрит з супутніми ураженнями вказує на наявність уражень тканин печінки. Найвищі показники ЛФ встановлені в осіб, яким підтверджено діагноз гастрит та цукровий діабет. Показник загального та прямого білірубину підвищений в 1,5-4,2 раза у хворих на гастрит із супутнім ураженням гепатобіліарної системи, що вказує на порушення видільної функції печінки, холестатичний фактор розвитку запальних процесів в печінці. Найбільші значення показників ліпідного комплексу у осіб з наявністю гастриту та патологій ССС, що може розглядатися як метаболічні порушення.

Хронічний гастрит – запальний процес, який, вражаючи слизову оболонку шлунка, викликає загальне захворювання організму.

Список літератури

- Ахмадуллина Г.И., Курникова И.А. Морфофункциональное состояние гастродуоденальной системы и реабилитационные возможности организма у пациентов с сахарным диабетом // Журнал научных статей «Здоровье в XXI веке и образование». – 2016. – №1 (18). – С. 12–14. /Akhmadullina G.I., Kurnikova I.A. Morfofunktsional'noye sostoyaniye gastroduodenal'noy sistemy i reabilitatsionnyye vozmozhnosti organizma u patsientov s sakharnym diabetom // Zhurnal nauchnykh statey «Zdorov'ye v XXI veke i obrazovaniye». – 2016. – №1 (18). – S. 12–14./
- Бабак О.Я. Сучасна гепатологія: досягнення, проблеми та перспективи // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – №2 (70). – С. 12–18. /Babak O.Ya. Suchasna gepatologiya: dosyagnennya, problemy ta perspektyvy // Suchasna gastroenterologiya. – 2013. – №2 (70). – S. 12–18./
- Белова Я.В., Алтуфьев Ю.В. Механизмы развития патологических процессов в печени // Журнал фундаментальных и прикладных исследований. – 2009. – №3 (28). – С. 114–119. /Belova Ya.V., Altuf'yev Yu.V. Mekhanizmy razvitiya patologicheskikh protsessov v pecheni // Zhurnal fundamental'nykh i prikladnykh issledovaniy. – 2009. – №3 (28). – S. 114–119./
- Бессонов П.П., Бессонова Н.Г., Тимофеева Н.В. Гастроэнтерологическая патология и сопутствующие заболевания у пациентов в условиях севера // Наука и мир. Международный научный журнал. – 2014. – №1. – С. 5–6. /Bessonov P.P., Bessonova N.G., Timofeyeva N.V. Gastroenterologicheskaya patologiya i sopushtvuyushchiye zabolevaniya u patsientov v usloviyakh severa // Nauka i mir. Mezhdunarodnyy nauchnyy zhurnal. – 2014. – №1. – S. 5–6./
- Богусевич С.А., Чуйкова К.И. Клинико-лабораторные проявления и характеристика свертывающей системы крови у пациентов с циррозами печени, ассоциированными с вирусными гепатитами В, С, D // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – №4 (2). – С. 33–37. /Bogushevich S.A., Chuykova K.I. Kliniko-laboratornyye proyavleniya i kharakteristika svertyvayushchey sistemy krovi u patsientov s tsirrozami pecheni, assotsiirovannymi s virusnymi gepatitami B, C, D // Byulleten' sibirskoy meditsiny. – 2009. – №4 (2). – S. 33–37./
- Бутрова С.А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению // Русский медицинский журнал. – 2001. – №2. – С. 56–60. /Butrova S.A. Metabolicheskii sindrom: patogenez, klinika, diagnostika, podkhody k lecheniyu // Russkiy meditsinskiy zhurnal. – 2001. – №2. – S. 56–60./
- Егорова Е.Г., Звенигородская Л.А., Лазебник Л.Б. Метаболический синдром с позиции гастроэнтеролога // Русский медицинский журнал. – 2005. – Т.13, №26. – С. 106–112. /Yegorova Ye.G., Zvenigorodskaya L.A., Lazebnik L.B. Metabolicheskii sindrom s pozitsii gastroenterologa // Russkiy meditsinskiy zhurnal. – 2005. – T.13, №26. – S. 106–112./
- Васильев Ю.В. Кислотозависимые заболевания ЖКТ и ишемическая болезнь сердца // Лечащий врач. – 2006. – №1. – С. 50–55. /Vasil'yev Yu.V. Kislotozavisimyye zabolevaniya ZhKT i ishemicheskaya bolezni' serdtsa // Lechashchiy vrach. – 2006. – №1. – S. 50–55./

- Гриценко І.І., Степанов Ю.М., Гриценко В.І. Внутрішньошлункова рН-метрія // Методичні рекомендації для лікарів-гастроентерологів, ендоскопістів. – 1998. – С. 1–28. /Grytsenko I.I., Stepanov Yu.M., Grytsenko V.I. Metodychni rekomendatsiyi dlya likariv-gastroenterologiv, endoskopistiv. – 1998. – S. 1–28./
- Ершова І.Б., Мочалова А.А., Карпенко І.Н., Нетруненко Л.В. Философские и практические проблемы хронических вирусных гепатитов // Актуальная инфектология. – 2013. – №1 (1). – С. 21–24. /Yershova I.B., Mochalova A.A., Karpenko I.N., Netrunenko L.V. Filosofskiyе i prakticheskiyе problemy khronicheskikh virusnykh gepatitov // Aktual'naya infektologiya. – 2013. – №1 (1). – S. 21–24./
- Звягінцева Т.Д., Глуценко С.В. Неалкогольна жирова хвороба печінки: маркери ранньої діагностики фіброзу // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Т.1 (104), вип.4. – С. 132–136. /Zvyagintseva T.D., Glushchenko S.V. Nealkogol'na zhyrova khvoroba pechinky: markery rann'oyi diagnostyky fibrozu // Visnyk problem biologiyi i medytsyny. – 2013. – T.1 (104), vyp.4. – S. 132–136./
- Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс информ, 2009. – 896с. /Kamyshnikov V.S. Spravochnik po kliniko-biokhimicheskim issledovaniyam i laboratornoy diagnostike. – M.: MEDpress inform, 2009. – 896s./
- Кляритская И.Л. Портальная гипертензионная гастропатия // Крымський терапевтичний журнал. – 2008. – №2. – С. 4–9. /Klyaritskaya I.L. Portal'naya gipertenzionnaya gastropatiya // Kryms'kyyu terapevtychnyy zhurnal. – 2008. – №2. – S. 4–9./
- Колеснікова О.В. Сучасний пацієнт із захворюванням печінки та патологією серцево-судинної системи: який вибір зробити? // Сучасна гастроентерологія. – 2014. – №2 (76). – С. 85–94. /Kolesnikova O.V. Suchasnyy patsient iz zakhvoryuvanniyam pechinky ta patologiyeyu sertsevo-sudynnoyi systemy: yakyy vybir zrobyty? // Suchasna gastroenterologiya. – 2014. – №2(76). – S. 85–92./
- Коруля І.А., Марухно І.С., Герасименко О.М. Діагноз «хронічний гастрит». Проблемні питання. Сучасні підходи до діагностики та лікування // Сучасна гастроентерологія. – 2014. – №2 (76). – С. 133–138. /Korulya I.A., Marukhno I.S., Gerasymenko O.M. Diagnoz «khronichnyy gastryt». Problemni pytannya. Suchasni pidkhody do diagnostyky ta likuvannya // Suchasna gastroenterologiya. – 2014. – №2(76). – S. 133–138./
- Кнышова В.В., Юренко А.В., Шейкина А.И. Метаболические нарушения у больных с комбридным течением хронического холецистита и хронического гастрита // Сибирский научный медицинский журнал. – 2012. – Т.32, №3. – С. 62–65. /Knyshova V.V., Yurenko A.V., Sheykina A.I. Metabolicheskkiye narusheniya u bol'nykh s kombrydnyim techeniyem khronicheskogo kholetsystita i khronicheskogo gastrita // Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal. – 2012. – T.32, №3. – S. 62–65./
- Лисенко О.С., Виноградов О.А. Змінення білоксинтетичної функції печінки щурів в умовах токсичного гепатиту // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2013. – №19 (278), Ч.ІІ. – С. 116–120. /Lysenko O.S., Vynogradov O.A. Zminennya biloksyntetychnoyi funktsiyi pechinky shchuriv v umovakh toksychnoho gepatytu // Visnyk Lugans'kogo natsional'nogo universytetu imeni Tarasa Shevchenka. – 2013. – №19 (278), ch.II. – S. 116–120./
- Лукашевич И.П., Савина М.И., Иванова Г.И. Справочно-обучающая система для интерпретации биохимических данных // Информационные процессы. – 2005. – Т.5, №5. – С. 392–399. /Lukashevich I.P., Savina M.I., Ivanova G.I. Spravochno-obuchayushchaya sistema dlya interpretatsii biokhimicheskikh dannykh // Informatsionnyye protsessy. – 2005. – T.5, №5. – S. 392–399./
- Новикова В.П., Бубнова Е.А. Хронический гастрит и заболевания щитовидной железы у детей // Детская медицина Северо-Запада. – 2012. – Т.3, №1. – С. 75–84. /Novikova V.P., Bubnova Ye.A. Khronicheskyy gastrit i zabolevaniya shchitovidnoy zhelezy u detey // Detskaya meditsina Severo-Zapada. – 2012. – T.3, №1. – S. 75–84./
- Пархоменко Л.К., Рилова А.В., Будрейко Е.А. Порушення гепатобіліарної системи у підлітків, хворих на цукровий діабет 1-го типу // Гастроентерологія: Міжвідомчий збірник. – 2009. – Вип.42. – С. 126–127. /Parkhomenko L.K., Rylova A.V., Budreyko Ye.A. Porushennya gepatobiliarnoyi systemy u pidlitkiv khvorykh na tsukrovyy diabet 1-go typu // Gastroenterologiya: Mizhvidomchyy zbirnik. – 2009. – Vyp.42. – S. 126–127./
- Пархоменко Л.К., Ещенко А.В. Патология пищеварительной системы у подростков с заболеванием щитовидной железы // Журнал «Здоровье ребенка». – 2010. – №5 (26). /Parkhomenko L.K., Yeshchenko A.V. Patologiya pishchevaritel'noy sistemy u podrostkov s zabolevaniyami shchitovidnoy zhelezy // Zhurnal "Zdorov'ye rebyenka". – 2010. – №5(26)./
- Рингач Н.О. Економічний еквівалент втрат внаслідок передчасної смертності в Україні // Демографія та соціальна економіка. – 2016. – №2 (27). – С. 39–49. /Ryngach N.O. Ekonomichnyy ekvivalent vtrat vnaslidok peredchasnoyi smertnosti v Ukraini // Demografiya ta sotsial'na ekonomika. – 2016. – №2 (27). S. – 39–49./
- Свінцицький А.С., Дземан М.І., Динник Н.В. Особливості стану загальноадаптивних реакцій організму при захворюваннях печінки // Сучасна гастроентерологія. – 2012. – №4 (66). – С. 47–51. /Svintsitskiy A.S., Dzeman M.I., Dynnyk N.V. Osoblyvosti stanu zagal'noadaptivnykh reaktsiy organizmu pry zakhvoryuvannyakh pechinky // Suchasna gastroenterologiya. – 2012. – №4 (66). – S. 47–51./
- Скубицька Л.Д., Севериновська О.В. Кислотоутворююча функція шлунка при хронічному гастриті та при хронічному гастриті з супутнім ураженням підшлункової залози // Світ медицини та біології. –

2015. – №4 (54). – С. 69–73. /Skubitska L.D., Severynovska O.V. Kyslotoutvoryuyucha funktsiya shlunka pry khronichnomu gastryti ta pry khronichnomu gastryti z suputnim urazhennyam pidshlunkovoyi zalozy // Svit medytsyny ta biologiyi. – 2015. – №4 (54). – S. 69–73./
- Степанов Ю.М., Щербиніна М.Б., Кононов І.М. та ін. Сучасні методи дослідження в гастроентерології. Навчально-методичний посібник. – Дніпропетровськ: Свідлер, 2005. – 141с. /Stepanov Yu.M., Shcherbynina M.B., Kononov I.M. ta in. Suchasni metody doslidzhennya v gastroenterologiyi. Navchal'no-metodychnyy posibnyk. – Dnipropetrovs'k: Svidler., 2005 – 141s./
- Степанов Ю.М. Хвороби органів травлення та гастроентерологічна допомога населенню України: здобутки, проблеми та шляхи їх вирішення // Здоров'я України (Гастроентерологія). – 2014. – №3. – С. 10–11. /Stepanov Yu.M. Khvoroby organiv travlennya ta gastroenterologichna dopomoga naseleennyu Ukrayiny. – 2014. – №3. – S. 10–11./
- Фадеев Г.Д., Кравченко Н.А., Ярмиш Н.В. Факторы прогрессирования фиброза печени // Современная гастроэнтерология. – 2007. – №1 (33). – С. 74–78. /Fadeyenko G.D., Kravchenko N.A., Yarmysh N.V. Faktory progressirovaniya fibroza pecheni // Sovremennaya gastroenterologiya. – 2007. – №1 (33). – S. 74–78./
- Чумак С.А. Тиреопатии при соматической патологии // Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання ендокринології дітей та підлітків». – С. 100–102. /Chumak S.A. Tyreopatii pri somaticheskoy patologii // Materialy naukovo-praktychnoi konferentsii «Aktualni pytannya endokrynologii ditey ta pidlitkiv». – S. 100–102./
- Шилов С.Н., Игнатова И.А., Муллер Т.А. и др. Теория адаптации в современных представлениях «здоровье» // Фундаментальные исследования. – 2015. – №1. – С. 1275–1278. /Shilov S.N., Ignatova I.A., Muller T.A. i dr. Teoriya adaptatsii v sovremennykh predstavleniyakh «zdorov'ye» // Fundamental'nyye issledovaniya. – 2015. – №1. – S. 1275–1278./
- Aceti A., Are R., Sabino G. et al. Helicobacter pylori-active infection in patients with acute coronary heart disease // J. Infect. – 2004. – Vol.49 (1). – P. 8–12.
- Chan C., Levitsky J. Infection and alcoholic liver disease // Clinical Liver Disease. – 2016. – Vol.20 (3). – P. 595–606.
- Colpitts C.C., Verrier E.R., Baumert T.F. Targeting viral entry for treatment of hepatitis B and C virus infections // ACS Infect. Dis. – 2015. – Vol.9. – P. 420–427.
- Derry S., Loke Y.K. Risk of gastrointestinal hemorrhage with long-term use of aspirin: meta-analysis // BMJ. – 2000. – Vol.321. – P. 1183–1187.
- Emmrich J., Jaster R. Autoimmune diseases in gastroenterology // Curr. Pharm. Des. – 2016. – Vol.18 (29). – P. 4542–4545.
- Gjeorgjievski M., Cappell M.S. Portal hypertensive gastropathy: a systematic review of the pathophysiology, clinical presentation, natural history and therapy // World J. Hepatol. – 2016. – Vol.8 (4). – P. 231–262.
- Kelly J.P., Kaufman D.W., Jurgeon J.M. et al. Risk of aspirin-associated major upper-gastrointestinal bleeding with enteric-coated or buffered product // Lancet. – 1996. – Vol.348. – P. 1413–1416.
- Köroğlu E., Canbakan B., Atay K. et al. Role of oxidative stress and insulin resistance in disease severity of non-alcoholic fatty liver disease // Turk. J. Gastroenterol. – 2016. – Vol.27 (4). – P. 361–366.

Представлено: А.І.Руденко / Presented by: A.I.Rudenko

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 11.10.2016

УДК: 636.13.082:579.64:591.463.1 (477)

Вплив фізіологічної кількості кишкової палички на ефективність кріоконсервування сперми жеребців**О.В.Ткачов, В.І.Шеремета***Національний університет біоресурсів і природокористування України (Київ, Україна)*
sasha_sashaola@mail.ru

Досліджено біологічний вплив абсолютної кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної кількості сапрофітних бактерій у спермі жеребців-плідників української селекції на її фізіологічні показники до та після кріоконсервування. Уперше встановлено, що коефіцієнт кореляції кількості бактерій групи кишкової палички у нативній спермі із рухливістю відталого сперми становить $-0,54$ ($p < 0,01$), із виживаністю сперміїв при 37°C $-0,54$ ($p < 0,01$). Загальна кількість сапрофітних бактерій у спермі мала значно менший вплив на біологічні показники розмороженої сперми, ніж кишкова паличка, коефіцієнт кореляції загальної кількості сапрофітних бактерій у спермі з рухливістю відталого сперми складав лише $-0,17$ ($p < 0,01$), а з виживаністю сперміїв лише $-0,2$ ($p < 0,01$). Отримані дані уперше свідчать про те, що різні обстежені породи української селекції мають різний максимально допустимий рівень кількості колонієутворюючих одиниць кишкової палички у спермі. Тому у спермі жеребців пропонується визначати не тільки коли-титр та загальну кількість сапрофітних бактерій, а також абсолютну кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички.

Ключові слова: *фізіологічна бактеріальна контамінація, кишкова паличка, кріоконсервування, сперма, жеребці.*

Влияние физиологического количества кишечной палочки на эффективность криоконсервирования спермы жеребцов**А.В.Ткачѳв, В.И.Шеремета**

Изучено биологическое воздействие абсолютного количества колониеобразующих единиц бактерий группы кишечной палочки и общего количества сапрофитных бактерий в сперме жеребцов-производителей украинской селекции на ее физиологические показатели до и после криоконсервирования. Впервые установлено, что коэффициент корреляции количества бактерий группы кишечной палочки в нативной сперме с подвижностью оттаянной спермы составляет $-0,54$ ($p < 0,01$), с выживаемостью спермиев при 37°C $-0,54$ ($p < 0,01$). Общее количество сапрофитных бактерий в сперме имело значительно меньшее влияние на биологические показатели размороженной спермы, чем кишечная палочка, коэффициент корреляции общего количества сапрофитных бактерий в сперме с подвижностью оттаянной спермы составлял только $-0,17$ ($p < 0,01$), а с выживаемостью спермиев только $-0,2$ ($p < 0,01$). Полученные данные впервые свидетельствуют о том, что различные обследованные породы украинской селекции имеют разный максимально допустимый уровень количества колониеобразующих единиц кишечной палочки в сперме. Поэтому в сперме жеребцов предлагается определять не только коли-титр и общее количество сапрофитных бактерий, а также абсолютное количество колониеобразующих единиц бактерий группы кишечной палочки.

Ключевые слова: *физиологическая бактериальная контаминация, кишечная палочка, криоконсервирование, сперма, жеребцы.*

Impact of physiological amount of *E. coli* on the efficiency of stallion semen cryopreservation**A.V.Tkachev, V.I.Sheremeta**

The biological effect of the absolute number of colony forming units of coliform bacteria and the total number of saprophytic bacteria in the semen of the sires of Ukrainian selection on its physiological parameters before and after cryopreservation has been studied for the first time. It has been found out for the first time that the correlation coefficient of the number of coliform bacteria in the native semen with the thawed semen mobility is $-0,54$ ($p < 0,01$), with the semen survival at 37°C $-0,54$ ($p < 0,01$). The total number of saprophytic bacteria in the semen had significantly less impact on the biological indicators of the thawed semen than *E. coli* and the correlation coefficient of the total number of saprophytic bacteria in the semen with the mobility of the thawed semen was only $-0,17$ ($p < 0,01$) and with the survival of semen only $-0,2$ ($p < 0,01$). The data obtained have

proved for the first time that the examined breeds of the Ukrainian selection have different maximum permissible level of the number of colony forming units of *E. coli* in the semen. Therefore, not only the coli-titer and the total number of saprophytic bacteria but the absolute number of colony forming units of *E.coli* bacteria should be determined in the semen of stallions.

Key words: *physiological bacterial contamination, E. coli, cryopreservation, semen, stallions.*

Вступ

У світі відома проблема негативного впливу сапрофітної мікрофлори сперми тварин на ефективність її кріоконсервування, що в свою чергу впливає на результативність подальшого штучного осіменіння тварин (López-Fernández et al., 2007). Проте в Україні недостатньо досліджень, які б розкривали особливості біологічного впливу абсолютної кількості бактерій групи кишкової палички на ефективність кріоконсервування сперми жеребців української селекції. Діючи в Україні державні стандарти допускають у нативній спермі до 5000 КУО/см³ сапрофітних бактерій та колі-титр у мл сперми до 1:10. Ми звернули увагу на те, що колі-титр за визначенням не може відобразити реальну кількість кишкової палички, оскільки є «об'ємом сперми, у якому є кишкова паличка». При однаковому числовому показнику колі-титру кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички може суттєво різнитися. Крім того, якщо сумувати абсолютну кількість кишкової палички та кількість сапрофітних бактерій, загальний рівень забрудненості може бути вище максимально допустимого рівня у 5000 КУО/см³.

Звісно, що крім бактерій існує багато інших біолого-фізіологічних чинників, які можуть впливати на ефективність кріоконсервування сперми жеребців: імуногенетичні характеристики, цитогенетичний профіль, цілісність мембран сперматозоїдів, породний чинник, віковий вплив, загальний фізіологічний стан тощо (Ткачів, 2013а, б; 2015а). Раніше ми звертали увагу науковців на можливість зростання сапрофітних бактерій у спермі жеребців від моменту її отримання до розморожування (Ткачів, 2015б). Існують повідомлення про негативний вплив сапрофітної мікрофлори сперми жеребців на результативність штучного осіменіння кобил (Casey et al., 1997; Mottershead, 2000). Цікавими біологічними дослідженнями є вплив допустимих концентрацій мікотоксинів у кормах для коней на зростання кількості сапрофітних бактерій та грибів (Ткачів, 2014а, б).

Західноєвропейські та американські дослідники приділяють велику увагу результативності кріоконсервування сперми коней залежно від біологічного впливу сапрофітів, проте не досліджують кількість бактерій групи кишкової палички (Filannino et al., 2011; Graham, 1996; Katila, 2001; Magistrini et al., 1996). На наш погляд, необхідно звернути увагу на біологічний вплив бактерій групи кишкової палички на результативність кріоконсервування сперми жеребців української селекції.

Метою роботи було встановлення впливу фізіологічної кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та сапрофітних бактерій на основні фізіологічні показники сперми жеребців української селекції до та після кріоконсервування.

Об'єкти та методи дослідження

Дослідження виконували в Україні на 69 жеребцях-плідниках 9 порід, які належали кінним заводам, племрепродукторам та кінно-спортивним клубам Харківської, Полтавської, Запорізької, Луганської, Київської, Житомирської, Дніпропетровської областей впродовж 10 років (з 2005 року). Отримання та кріоконсервування сперми здійснювали за харківською технологією (спермодози у вигляді шприц-тюб) (Ткачов та ін., 2011). У розмороженій спермі жеребців загальноприйнятими методами визначали рухливість сперміїв після розморожування у балах (1 бал дорівнює 10% сперміїв з прямолінійним рухом), виживаність сперміїв у термостаті при 37°C у годинах (Ткачів, 2013б). Загальну кількість колонієутворюючих одиниць (КУО/см³) сапрофітних бактерій та абсолютну кількість бактерій групи кишкової палички у свіжеотриманій спермі коней визначали з використанням живильного середовища МПА (Sigma, США), а також живильних середовищ Буліра та Ендо (Sigma, США) з дотриманням вимог стерильності, за методиками ДСТУ 3535-97 «Сперма бугаїв нативна» та ГОСТ 20909.2-75 «Сперма быков неразбавленная. Методы микробиологических исследований» (Ткачів, 2015б).

Статистичний аналіз отриманих результатів виконували загальноприйнятими методиками варіаційної статистики за М.О.Плохінським (Плохинский, 1969). Кореляційно-дисперсійний аналіз виконували з використанням спеціалізованого пакету прикладних програм SPSS for Windows.

Результати та обговорення

Для виконання поставленої мети було проведено порівняння фізіологічних показників розмороженої сперми жеребців різних порід української селекції з одночасним встановленням абсолютної кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) та загальної кількості сапрофітних бактерій. У дослідженні використовували сперму коней із допустимим рівнем колі-титру 1:10.

Порівняльна біотехнологічна придатність сперми до охолодження у обстежених порід залежно від її мікробіологічних характеристик наведена у таблиці.

Таблиця.

Порівняльна ефективність кріоконсервування сперми жеребців-плідників залежно від мікробіологічних характеристик ($M \pm m$)

Порода (кількість голів)	Кількість еякулятів	Показники розмороженої сперми			Контамінація нативної сперми	
		рухливість сперміїв, бали	виживаність сперміїв при 37°C, годин	еякуляти, що витримали заморожування, %	кількість бактеріальних КУО/см ³	кількість кишкової палички, КУО/см ³
Українська верхова (7)	219	3,41 ±0,07	3,35 ±0,07	74,89	2735,53 ±101,49	875,90 ±95,39
Чистокровна верхова (8)	208	3,28 ±0,05	3,42 ±0,05	80,30	2512,72 ±99,79	18,32 ±0,53***
Ганноверська (7)	149	3,42 ±0,07	3,89 ±0,09***	81,21	2680,44 ±79,67	609,77 ±85,42*
Тракененська (6)	201	2,93 ±0,05***	2,50 ±0,07***	50,75	8485,77 ±822,98***	1351,78 ±99,21***
Вестфальська (9)	189	3,76 ±0,11**	4,24 ±0,13***	81,48	712,34 ±49,08***	483,55 ±41,57***
Бельгійська (8)	255	3,50 ±0,06	3,85 ±0,08***	79,22	7412,16 ±390,58***	885,27 ±79,53
Арабська (7)	210	3,61 ±0,17	2,42 ±0,10***	55,71	5968,67 ±267,61***	419,73 ±23,51***
Орловська рисиста (9)	147	2,20 ±0,11***	2,22 ±0,10***	67,35	2279,04 ±78,28***	1358,99 ±135,64**
Російська (призова) рисиста (8)	98	1,59 ±0,11***	1,73 ±0,12***	47,96	3179,29 ±56,39***	1480,26 ±138,37***

Примітка. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (порівняно до української верхової породи).

Аналіз даних таблиці демонструє цікаву біологічну міжпородну різницю жеребців за здатністю їх сперми витримувати кріоконсервування. Так, найменший відсоток еякулятів, що витримали заморожування, демонстрували обстежені жеребці російської рисистої породи, на 19,39% менше від орловських коней, на 7,75% – за арабську породу, на 31,26% – за бельгійську породу, на 33,52% – за вестфальську породу, на 2,79% – за тракененських жеребців, на 33,25% – за ганноверську породу, на 32,34% – за чистокровну верхову породу та на 26,93% менше за плідників української верхової породи. При цьому слід зазначити, що нативна сперма жеребців призової породи мала найбільшу кількість колонієутворюючих одиниць кишкової палички з обстежених нами 9 порід.

Найкращу середню біологічну рухливість розмороженої сперми демонстрували жеребці вестфальської породи, що було у середньому на 0,35 бала більше ($p < 0,01$) за українську верхову породу, на 0,48 бала ($p < 0,01$) – за чистокровну верхову породу, на 0,34 бала ($p < 0,01$) – за ганноверську породу, на 0,83 бала ($p < 0,001$) – за тракененську породу, на 0,26 бала – за бельгійську породу, на 0,15 бала за арабську породу, на 1,56 бала ($p < 0,001$) за орловську породу

та на 2,17 бала більше за російську рисисту породу. Встановлені дані чітко демонструють наявність біологічної різниці між породами за показниками розмороженої сперми.

Міжпородна біологічна різниця спостерігалась і за показниками виживаності сперми обстежених жеребців. Найкращу виживаність спермій при 37°C у термостаті після розморожування демонстрували жеребці вестфальської породи, що було у середньому на 0,89 години більше ($p < 0,01$) за жеребців української верхової породи, на 0,82 години ($p < 0,01$) – за чистокровну верхову породу, на 0,35 годин – за ганноверську породу, на 1,74 години ($p < 0,001$) – за тракененську породу, на 0,39 годин – за бельгійську породу, на 1,82 години ($p < 0,001$) – за арабську породу, на 2,02 години ($p < 0,001$) – за орловську рисисту породу та на 2,51 години більше ($p < 0,001$) за жеребців російської рисистої породи. Тобто виживаність спермій жеребців після розморожування має достовірні біологічні міжпородні відмінності.

Для встановлення наявності біологічного взаємозв'язку між показниками розмороженої сперми та фізіологічною кількістю бактерій кишкової палички було проведено кореляційний аналіз, який показав, що коефіцієнт кореляції кількості бактерій групи кишкової палички у нативній спермі становить:

- із рухливістю відталої сперми – мінус 0,54 ($p < 0,01$);
- із виживаністю спермій при 37°C – мінус 0,54 ($p < 0,01$).

Отримані дані підтверджують наявність певного взаємозв'язку між абсолютною фізіологічною кількістю бактерій групи кишкової палички і основними біологічними показниками розмороженої сперми.

Найкраща, тобто найменша кількість бактерій групи кишкової палички у нативній спермі була встановлена у обстежених жеребців чистокровної верхової породи, що у середньому на 857,58 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за українську верхову породу, на 591,45 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за ганноверську породу, на 1333,46 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за тракененську породу, на 465,23 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за вестфальську породу, на 866,95 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за бельгійську породу, на 401,41 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за арабську породу, на 1340,67 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за орловську породу та на 1461,94 КУО/см³ менше ($p < 0,001$) за російську рисисту породу. З отриманих даних можна припустити, що різні обстежені породи української селекції мають різний максимально допустимий рівень кількості КУО кишкової палички у спермі.

Цікавим із біологічної точки зору є те, що загальна кількість сапрофітних бактерій у спермі мала значно менший вплив на біологічні показники розмороженої сперми, ніж кишкова паличка, коефіцієнт кореляції складав з рухливістю відталої сперми лише мінус 0,17 ($p < 0,01$), а з виживаністю спермій лише мінус 0,2 ($p < 0,01$).

Отже, при зростанні абсолютної кількості кишкової палички достовірно ($p < 0,01$) погіршуються основні біологічні показники розмороженої сперми, такі як рухливість та виживаність спермій. При цьому абсолютна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички має суттєво більший біологічний вплив на показники сперми жеребців української селекції, ніж загальна бактеріальна забрудненість. Представлене дослідження свідчить, що для різних порід української селекції максимально допустимий фізіологічний рівень абсолютної кількості бактерій групи кишкової палички за колонієутворюючими одиницями у см³ еякулятів є різним.

Таким чином, уперше доведено вірогідний біологічний вплив абсолютної кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички на основні біологічні показники розмороженої сперми у жеребців української селекції. Встановлено, що коефіцієнт кореляції кількості бактерій групи кишкової палички у нативній спермі із рухливістю відталої сперми становить мінус 0,54 ($p < 0,01$), із виживаністю спермій при 37°C мінус 0,54 ($p < 0,01$). При цьому вплив загальної бактеріальної забрудненості сперми жеребців на показники розмороженої сперми є меншим і становить з рухливістю відталої сперми лише мінус 0,17 ($p < 0,01$), а з виживаністю спермій лише мінус 0,2 ($p < 0,01$).

Виходячи з вищевикладеного, пропонується: 1) визначати абсолютну кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців поряд із визначенням колі-титру; 2) максимально допустимий рівень бактеріальної забрудненості сперми жеребців у 5000 КУО/см³ слід визначати за сумою колонієутворюючих одиниць бактерій кишкової палички та загальної кількості сапрофітних бактерій.

Перспективою подальших досліджень є розробка способу підвищення запліднюваності кобил за абсолютною кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички.

Список літератури

- Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – Москва: Колос, 1969. – 256с. /Plokhinskiy N.A. Rukovodstvo po biometrii dlya zootekhnikov. – Moskva: Kolos, 1969. – 256s./
- Ткачѳв А.В. Влияние иммуногенетических факторов на эффективность искусственного осеменения и естественной случки лошадей на Украине // Фундаментальные исследования. – 2013а. – №10 (2). – С. 371–374. /Tkachev A.V. Vliyaniye immunogeneticheskikh faktorov na effektivnost' iskusstvennogo osemneniya i yestestvennoy sluchki loshadey na Ukraine // Fundamental'nyye issledovaniya. – 2013a. – №10(2). – S. 371–374./
- Ткачѳв А.В. Эффективность искусственного осеменения лошадей в зависимости от степени повреждения мембран сперматозоидов // Фундаментальные исследования. – 2013б. – №10 (1). – С. 145–148. /Tkachev A.V. Effektivnost' iskustvennogo osemneniya loshadey v zavisimosti ot stepeni povrezhdeniya membran spermatozoidov // Fundamental'nyye issledovaniya. – 2013b. – №10(1). – S. 145–148./
- Ткачѳв А.В. Влияние допустимых концентраций микотоксинов корма на резистентность и контаминацию спермы жеребцов–производителей в Украине // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2014а. – №3 (14). – С. 3–7. /Tkachev A.V. Vliyaniye dopustimykh kontsentratsiy mikotoksinov korma na rezistentnost' i kontaminatsiyu spermy zherebtsov–proizvoditeley v Ukraine // Zhivotnovodstvo i veterinarnaya meditsina. – 2014a. – №3(14). – S. 3–7./
- Ткачѳв А.В. Гормональный фон жеребцов под влиянием максимально допустимых уровней микотоксинов корма в Украине // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2014б. – №4 (33). – С. 115–119. /Tkachev A.V. Gormonal'nyy fon zherebtsov pod vliyaniem maksimal'no dopustimykh urovney mikotoksinov korma v Ukraine // Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2014. – №4(33). – S. 115–119./
- Ткачѳв А.В. Цитогенетический статус жеребцов под влиянием допустимых уровней микотоксинов корма // Молекулярная и прикладная генетика. – 2015а. – №19. – С. 79–84. /Tkachev A.V. Tsitogeneticheskiy status zherebtsov pod vliyaniem dopustimykh urovney mikotoksinov korma // Molekulyarnaya i prikladnaya genetika. – 2015a. – №19. – S. 79–84./
- Ткачѳв А.В. Эффективность искусственного осеменения кобыл в зависимости от схем санации жеребцов перед получением спермы // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2015б. – №4(37). – С. 95–101. /Tkachev A.V. Effektivnost' iskusstvennogo osemneniya kobyl v zavisimosti ot skhem sanatsii zherebtsov pered polucheniyem spermy // Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2015b. – №4(37). – S. 95–101./
- Ткачов О.В., Калашников В.О., Сушко О.Б. Бактеріальна забрудненість сперми жеребців–плідників на різних біотехнологічних етапах кріоконсервування // Науково–технічний бюлетень Інституту тваринництва НААН. – Харків, 2011. – №104. – С.208–212. /Tkachev A.V., Kalashnikov V.O., Sushko O.B. Bakterial'na zabrudnenist' spermy zherebtsov–plidnykiv na riznykh biotekhnologichnykh etapakh kriokonservuvannya // Naukovo–tekhnichnyy byuleten' Instytutu tvarynyystva NAAN. – Kharkiv, 2011. – № 104. – S. 208–212./
- Casey P.J., Gravance J.C., Davis R.O. Morphometric differences in sperm head dimensions of fertile and subfertile stallions // Theriogenology. – 1997. – No 47. – P. 575–582.
- Graham J.K. Cryopreservation of stallion semen and its relation to fertility // Vet. Clin. North Am. Equine Pract. – 1996. – No 12. – P. 119–130.
- Magistrini M., Vidament M., Clement F. Fertility prediction in stallions // Anim. Reprod. Sci. – 1996. – No 42. – P. 181–188.
- Filannino A., Stout T., Gadella B.M. Dose-response effects of estrogenic mycotoxins (zearalenone, alpha- and beta-zearalenol) on motility, hyperactivation and the acrosome reaction of stallion sperm // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2011. – No 9. – P. 134–140.
- Katila T. In Vitro evaluation of frozen-thawed stallion semen: a review // Acta vet. Scand. – 2001. – No 42. – P. 199–217.
- López-Fernández C., Crespo F., Arroyo F. Dynamics of sperm DNA fragmentation in domestic animals II. The stallion // Theriogenology. – 2007. – No 68(9). – P. 1240–1250.
- Mottershead J. Frozen semen preparation and use. Part 1. // Canadian Morgan Magazine. – 2000. – Nov/Dec. – P. 32–43.

Представлено: М.М.Шаран / Presented by: M.M.Sharan

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 03.10.2016

••• ФІЗИОЛОГІЯ РОСЛИН ••• PLANT PHYSIOLOGY •••

УДК. 581.192: 502.4

**Отримання культури рослин *in vitro* зникаючого виду *Crambe steveniana*
та вивчення впливу асептичних умов культивування на їх біохімічний
склад**

Н.О.Пушкарьова¹, М.С.Каліста², В.Б.Белокурова¹, М.В.Кучук¹

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України (Київ, Україна)

² Національний науково-природничий музей НАН України (Київ, Україна)
pushkarovan@mail.ua

Досліджували введення в асептичну культуру зникаючого виду *Crambe steveniana* та визначали умови його швидкого мікроклонального розмноження. Визначали та порівнювали склад жирних кислот у вегетативних органах рослин, що культивувались *in vitro* та *in vivo* та у насінні. Поверхневу стерилізацію насіння проводили за розробленим авторами методом з подальшим дослідженням морфогенної відповіді експлантів (пазушних бруньок) на наявність у живильному середовищі 6-бензиламінопурина (0,5–2 мг/л). Склад жирних кислот визначали методом газової хроматографії/мас-спектрофотометрії ефірів жирних кислот, отриманих із насіння та зеленої маси рослин дослідного виду, що культивувались *in vitro* та *in vivo*. Було отримано асептичну культуру пагонів дослідного виду та показано оптимальний вміст БАП (0,6 мг/л) у живильному середовищі для швидкого розмноження асептичних паростків. Виявили підвищення загального вмісту жирних кислот у асептичних зразках порівняно із неасептичними. Крім того, було встановлено високий вміст α -ліноленової кислоти в рослинах, вирощених як в умовах *in vitro*, так і в умовах *in vivo*. У зразках із насіння спостерігається досить високий вміст ерукової кислоти.

Ключові слова: *C. steveniana*, збереження біорізноманіття, жирні кислоти, культура *in vitro*.

**Endangered species *Crambe steveniana in vitro* plant culture obtaining
and the study of aseptic cultivation influence on its biochemistry**

N.O.Pushkarova, M.S.Kalista, V.B.Belokurova, M.V.Kuchuk

The study of endangered species *Crambe steveniana* aseptic *in vitro* culture establishing and definition of its fast microclonal propagation terms have been conducted. Fatty acid composition of vegetative parts of plants that were cultivated *in vitro* and *in vivo* along with their seeds was determined and compared. Seed surface sterilization was performed by the authors method with further morphogenic reaction of explants (lateral bud) on the presence in the medium of 6-benzylaminopurine (0,5–2 mg/L) study. Fatty acids content was determined using gas chromatography/mass spectrophotometry of fatty acid ethers obtained from seeds and green mass of plants that were cultivated *in vitro* and *in vivo*. Aseptic spouts culture of the studied species was established and optimal BA concentration (0,6 mg/L) in the medium was defined for fast multiplication of aseptic spouts. Fatty acid content increase was detected in the samples from aseptic plants compared with not aseptic ones. Also, high α -linolenic acid amount in the samples from both *in vitro* and *in vivo* grown plants was established. Significantly high erucic acid content was shown for seed samples.

Key words: *C. steveniana*, biodiversity conservation, fatty acids, *in vitro* culture.

**Получение культуры растений *in vitro* исчезающего вида *Crambe steveniana*
и изучение влияния асептических культивирования на их
биохимический состав**

Н.О.Пушкарёва, М.С.Калиста, В.Б.Белокурова, М.В.Кучук

Исследовали введение в асептическую культуру исчезающего вида *Crambe steveniana* и определяли условия его быстрого микроклонального размножения. Определяли и сравнивали состав жирных кислот вегетативных органов растений, культивируемых *in vitro* и *in vivo*, а также в семенах. Поверхностную стерилизацию семян проводили по методике, разработанной авторами с последующим исследованием морфогенного ответа эксплантов (пазушной почки) на присутствие в питательной

середі 6-бензиламінопурина (0,5–2 мг/л). Состав жирних кислот определяли методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии эфиров жирных кислот, полученных из семян и зеленой массы растений, культивируемых *in vitro* и *in vivo*. Была получена асептическая культура побегов исследуемого вида и показана оптимальная концентрация БАП в питательной среде (0,6 мг/л) для быстрого размножения асептических побегов. Было выявлено увеличение общего количества жирных кислот в асептических образцах сравнительно с неасептическими образцами. Кроме того, было установлено высокое содержание α -линоленовой кислоты в растениях, культивируемых как *in vitro*, так и *in vivo*. В образцах из семян наблюдалось относительно высокое содержание эруковой кислоты.

Ключевые слова: *C. steveniana*, сохранение биоразнообразия, жирные кислоты, культура *in vitro*.

Вступ

Рід *Crambe* включає приблизно 44 види, 8 з яких занесені до Червоної книги України з різним природоохоронним статусом: *Crambe aspera* M. Bieb. (вразливий), *Crambe grandiflora* DC. (вразливий), *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch (рідкісний), *Crambe maritima* L. (вразливий), *Crambe mitridatis* Juz. (вразливий), *Crambe pinnatifida* W.T.Aiton (вразливий), *Crambe steveniana* Rupr. (вразливий), *Crambe tataria* Sebeok (вразливий) (Червона книга України, 2009). Перераховані види рослин потребують не лише різнобічного вивчення, але і використання заходів по збереженню та відновленню чисельності. На даний час розрізняють два основні підходи до збереження різноманіття рослинного світу: *in situ* (збереження видів у природних умовах) та *ex situ* (збереження в контрольованих умовах – банках генів, ботанічних садах, за допомогою кріоконсервації). Кожен із підходів є досить результативним та має ряд переваг, однак має і ряд недоліків, тому для сповільнення темпів скорочення біорізноманіття та відновлення чисельності видів потрібен масштабний, міжгалузевий підхід. Методи біотехнології, зокрема метод культури *in vitro*, дають змогу отримати високий коефіцієнт розмноження рослин, навіть для видів, що погано піддаються розмноженню *in situ* та *ex situ* (Belokurova, 2010) та забезпечити потрібну кількість біомаси для всебічного вивчення видів рослин, що зберігаються. Отже, створення *in vitro* колекцій видів флори України, що охороняються, є важливим та актуальним завданням і не лише може зробити суттєвий внесок в природоохоронну роботу, а, можливо, поповнити списки рослин, які синтезують важливі біохімічні сполуки або є цінним генетичним матеріалом. Але для використання зазначеного методу для вивчення біохімічного складу рослин потрібно розуміти, який саме вплив чинять асептичні умови, в яких проростають рослини в культурі *in vitro*, на деякі біохімічні показники в порівнянні з рослинами того ж виду, що проростають без застосування культивування *in vitro*. Аналіз літературних джерел показав, що вивчення жирнокислотного вмісту вегетативних органів рослин, вирощених в культурі *in vitro*, для виду *C. steveniana* не проводилось, тому таке дослідження є досить актуальним.

Вивчення складу жирних кислот (ЖК) видів родини *Brassicaceae* може відкрити нові потенційні джерела виробництва біопалива, оскільки види даної родини відіграють ключову роль у системі світового виробництва біопалива та масла (Xiao-qin et al., 2011). В той же час в літературних джерелах існує велика кількість посилань на роботи по дослідженню та використанню одного із видів родини *Crambe* в якості економічно вигідного та конкурентоспроможного джерела біопалива та масла, що має широкий спектр застосування (Lazzeri et al., 1997; Prakhova, 2013), а також про застосування в якості корму при розведенні тварин та риб (Perry et al., 1979). Цікавим також є те, що представники даної родини здатні адсорбувати важкі метали із води, тобто виконувати ще й екологічну функцію (Artus, 2006). Попри широкий спектр застосування представники роду *Crambe* на території України не тільки не використовуються, а навіть не вивчаються в достатньому обсязі.

Методика

Підготовку експлантів та введення їх в культуру *in vitro* проводили в асептичних умовах згідно із загальноприйнятими рекомендаціями (Кушнір, Сарнацька, 2005) та намагались оптимізувати ці умови для обраного виду. Поверхневу стерилізацію проводили попередньо занурюючи насіння у 70% етанол на 60 сек., далі його занурювали у діюцид на 1–6 хв. Після обробки насіння стерилізуючими розчинами проводили промивання експлантів стерильною дистильованою водою тричі по 5 хв. Далі експланти культивували в чашках Петрі на агаризованому поживному середовищі MS (Murashige, Skoog, 1962) при 16-годинному фотоперіоді і температурі +24°C. Для визначення ефективності поверхневої стерилізації визначали відсоток асептичного насіння по

відношенню до загального числа вихідних експлантів та відсоток насіння, яке після обробки стерилізуючими сполуками утворювало паростки. Для мікророзмноження рослин дослідного виду використовували 1–1,5-місячні рослини, які висаджували на живильне середовище MS, доповнене 6-бензиламінопурином (БАП) в різних концентраціях. Виміри проводили через 30 днів після додавання у живильне середовище гормону. Мікроклонування проводили шляхом поділу отриманих рослин на пагони. Підраховували кількість новоутворених пагонів та наявність у них кореневої системи. Разом з тим досліджували вплив екзогенних гормонів росту на процес утворення калюсної тканини із пазушних бруньок. В якості контролю використовували тверде живильне середовище MS.

Як матеріал для аналізу хромо-мас-спектрометрією було використано насіння із колекції Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України та листя рослин, що вирощували в стерильних умовах культури *in vitro* на агаризованому живильному середовищі MS при 16-годинному фотоперіоді і температурі +24°C, та листя рослин, що культивували *in vivo* у Національному ботанічному саду імені Н.Н.Гришка НАН України (середньодобова температура +21°C) виду *C. steveniana*. Культивовані в умовах *in vivo* рослини були люб'язно надані проф. Д.Д.Рахметовим.

Газова хромато-мас-спектрометрія ефірів жирних кислот. Виділення ЖК та їх метилювання проводили одноетапно відповідно до (Garces, Mancha, 1993). Для приготування екстрактів брали 200 мг верхівкового листя рослин. Пробу подрібнювали в ступці. Перенесли рослинний матеріал у скляні пробірки із закручуваними кришками з тефлоновими прокладками і додавали спочатку 3,3 мл реакційної суміші, що містила: метанол : толуол : сірчана кислота в об'ємному співвідношенні 44 : 20 : 2, потім 1,7 мл гексану (метанол, толуол, гексан – HPLC-grade, Sigma-Aldrich, Німеччина; сірчана кислота – хч, Альфарус, Україна). Пробірки витримували на водяній бані при 80°C протягом 2 год. Після охолодження до кімнатної температури їх обережно струшували, що призводило до розділення рідини на дві фази. Відбирали верхню фазу, в якій концентрувались утворені метилові ефіри ЖК. Кислотність розчину доводили до нейтрального рН насиченням 1 М розчином фосфату натрію.

Визначення жирнокислотного складу проводили із застосуванням газової хромато-мас-спектрометричної системи Agilent 6890N/5973inert (Agilent Technologies, США) з капілярною колонкою DB-FFAP (довжина 30 м; внутрішній діаметр 0,25 мм; товщина нерухомої фази 0,25 мкм). Хроматографічне розділення відбувалось у градієнтному режимі від 150° до 220° з градієнтом температури 2°/хв. Як газ-носіє використовували гелій зі швидкістю потоку 1 мл/хв. Ідентифікацію проводили, застосовуючи бібліотеку мас-спектрів NIST 02 і стандартну суміш метилових ефірів ЖК бактерій (Supelco). В якості внутрішнього стандарту була використана гептадеканова кислота (C17:0) (хч, ABCR, Німеччина).

Статистичний аналіз результатів проводили, оцінюючи різницю середніх значень (t-критерій Стьюдента) (Лакин, 1990).

Для оцінки ступеня ненасиченості ЖК в тканинах листків використовували індекс ненасиченості (індекс подвійних зв'язків – ІПЗ):

$$\text{ІПЗ} = \sum P_j n / 100,$$

де P_j – це вага ЖК (моль%), n – кількість подвійних зв'язків в кожній ненасиченій кислоті. Також використовували коефіцієнт ненасиченості (K) – відношення суми ненасичених ЖК до суми насичених (Lyons et al., 1964).

Результати

Первинні експланти виду *C. steveniana* показали досить високий відсоток асептичності насіння – 85%, при цьому 10% з цього насіння утворило асептичні паростки. У культурі *in vitro* насіння проростало в середньому на 10-й день після стерилізації – спочатку проростав корінець, рослина укорінювалась, а потім з'являлись сім'ядольні листочки. Поява у молодих асептичних паростків першого справжнього листка відбувалась в середньому через 12–16 днів після проростання насінини. Найбільше пагонів утворилось при вмісті БАП в 0,6 мг/л середовища (5,3 шт., без утворення калюсу), а зі збільшенням концентрації гормону до 1 мг/л кількість пагонів зменшувалась та починала розвиватись калюсна тканина. При цьому отримані на середовищі (MS+1 мг/л БАП) пагони мали дуже витрифіковане листя та погано укорінювались при подальшому їх перенесенні на безгормональне середовище MS, крім того майже половина новоутворених

пагонів при подальших спробах культивування гинула. На контрольному безгормональному середовищі утворювався лише один пагін, не відбувалось утворення калюсу, а укорінення пагону відбувалось через 10–14 днів після перенесення на свіже живильне середовище.



Рис. 1. Асептичні рослини виду *Crambe steveniana*: А – проростання асептичного паростка із насінини; Б – асептична рослина, що проростає на безгормональному живильному середовищі MS

Жирні кислоти діляться на три групи згідно зі ступенем насиченості (наявності подвійних зв'язків у вуглецевих ланцюгах): насичені, мононенасичені та поліненасичені ЖК. Загальна кількість ЖК у вегетативних органах асептичних та неасептичних рослин *C. steveniana* досить відрізнялась (табл. 1). Найбільша загальна кількість жирних кислот належала насінню. Рослини, що вирощувались в умовах культури *in vitro*, містили майже втричі більшу, ніж рослини, що культивувались *in vivo*, кількість загальних ЖК. При цьому співвідношення насичених ЖК до ненасичених ЖК було більш рівнозначним, а саме – в асептичних рослинах ненасичених ЖК більше, ніж насичених, в 4 рази, а в неасептичних – в 3 рази більше ненасичених, ніж насичених. Значення індексу подвійних зв'язків, навпаки, в асептичних рослинах є меншим, ніж в неасептичних (табл. 1).

Таблиця 1.

Загальний вміст жирних кислот (ΣFA), сума насичених (ΣSFA) та ненасичених ($\Sigma USFA$) жирних кислот, індекс подвійних зв'язків (ІПЗ) та коефіцієнт ненасиченості (К) жирних кислот рослин виду *C. steveniana*, що вирощувались в умовах *in vitro* та *in vivo*

Показник	Асептичні рослини (<i>in vitro</i>)	Неасептичні рослини (<i>in vivo</i>)	Насіння
ΣFA , мг/г	5,81±0,39	1,92±0,23	787,78±3,34
ΣSFA , мг/г	1,23±0,88	0,47±0,05	20,76±0,27
$\Sigma USFA$, мг/г	4,58±1,28	1,45±0,19	767,01±3,62
К	3,71±1,23	3,07±0,17	36,94±0,67
ІПЗ	1,48±0,34	2,09±0,03	1,22±0,003

Ненасичені ЖК, що можуть бути включені до раціону людини, мають профілактичні та терапевтичні властивості при багатьох захворюваннях людини (Сахно та ін., 2012), тому дослідження вмісту та кількості насичених ЖК може показати потенційну цінність зеленої маси та насіння *C. steveniana* в якості додатку до харчового раціону людини чи для кормових цілей сільського господарства. Серед насичених жирних кислот в усіх дослідних зразках *C. steveniana* були присутні: лауринова (C12:0), пальмітинова (C16:0) та стеаринова (C18:0) кислоти. При цьому лише у зразках із насіння була наявна арахінова кислота (C20:0) і лише у зразках із вегетативних органів асептичних рослин була наявна лігноцерінова кислота (C24:0). Також до складу вегетативних органів рослин, що вирощувались в умовах *in vitro* та *in vivo*, а також насіння входили такі поліненасичені ЖК: лінолева кислота (C18:2 $\Delta 9, 12, \omega 6$) та α -лінолева кислота (C18:3 $\Delta 9, 12, 15, \omega 3$). У насінні дослідного виду були присутні такі мононенасичені ЖК – олеїнова (C18:1 $\Delta 9, \omega$

9), гондоева (C20:1 Δ 11, ω 9) та ерукова (C22:1 Δ 13, ω 9) кислоти, хоча мононенасичених ЖК не було визначено у вегетативних органах асептичних рослин. У зразках з рослин, що проростали в умовах культури *in vitro*, було визначено лише пальмітоленову кислоту (C16:1 Δ 9, ω 7), наявність якої більше не було помічено ні в зразках із насіння, ні в зразках із вегетативних органів рослин, що культивувались в умовах *in vivo*. Також лише у зразках із вегетативних органів неасептичних рослин була наявна нервонова кислота (C24:1 Δ 15, ω 9) (рис. 1).

При вивченні газ-спектрів зразків ефірів жирних кислот, які було отримано із дослідних зразків, виявилось, що серед насичених ЖК найбільший вміст належав пальмітиновій кислоті. У вегетативних органах асептичних рослин даної кислоти виявилось більше ($28,61 \pm 0,57$ моль%), ніж у рослинах, що проростали в неасептичних умовах ($22,02 \pm 0,09$ моль%). У насіння вміст C16:0 був найменшим і становив $2,12 \pm 0,01$ моль%. Найбільша серед усіх дослідних зразків кількість лауринової та стеаринової кислот містилась в екстрактах із вегетативних органів рослин, що проростали в умовах культури *in vitro* (C12:0 – $2,54 \pm 0,6$ моль% та C18:0 – $2,97 \pm 0,28$ моль%), а найменша кількість даних кислот спостерігалась у екстрактах із насіння (C12:0 – $0,24 \pm 0,005$ моль% та C18:0 – $0,47 \pm 0,05$ моль%). Зразки із неасептичних рослин містили в 4 рази меншу кількість лауринової кислоти (C12:0 – $0,63 \pm 0,08$ моль%) та майже рівну кількість стеаринової кислоти (C18:0 – $2,65 \pm 0,54$ моль%) порівняно із вмістом цих кислот у асептичних зразках. Незначна кількість арахінової кислоти була визначена лише в екстрактах із насіння *C. steveniana* (C20:0 – $0,17 \pm 0,01$ моль%) (рис. 1).

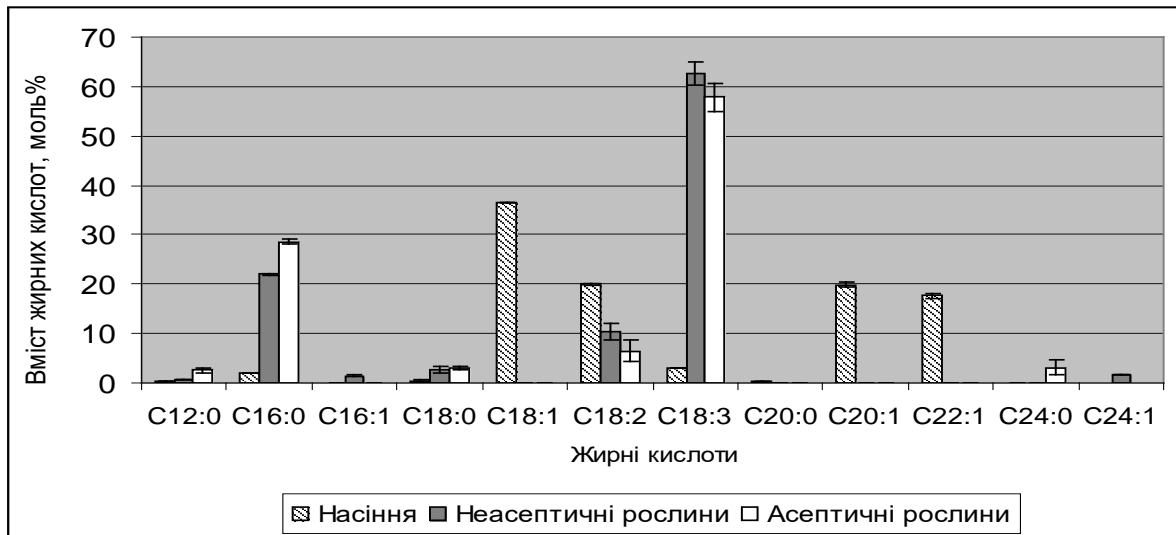


Рис. 1. Вміст жирних кислот у зразках із насіння, вегетативних органів рослин, що

В екстрактах із насіння домінуючою ЖК була лінолева кислота ($36,57 \pm 0,007$ моль%), при тому, що у зразках із вегетативних органів рослин, що культивувались *in vitro* та *in vivo*, цієї кислоти помічено не було взагалі. Незначна кількість іншої мононенасиченої ЖК – пальмітоленової, була знайдена лише у вегетативних органах рослин, що вирощувались в умовах ботанічного саду (C16:1 – $1,5 \pm 0,16$ моль%).

Лінолева та α -ліноленова кислоти не синтезуються в організмі ссавців, а потрапляють із їжею. Разом з тим, наявність поліненасичених ЖК у раціоні людини може зменшувати ризик виникнення інфекційних та неінфекційних захворювань, зокрема, α -ліноленова кислота впливає на зменшення ризику та знижує клінічні прояви деяких хронічних хвороб, таких як ревматоїдний артрит або atopічна екзема (Сахно та ін., 2012). В екстрактах із вегетативних органів рослин (як асептичних, так і неасептичних) домінуючою ЖК виявилась α -ліноленова кислота. Її вміст в асептичних рослинах (C18:3 – $57,84 \pm 2,83$ моль%) був трохи меншим, ніж в неасептичних (C18:3 – $62,69 \pm 2,38$ моль%). Згідно із літературними даними, вміст α -ліноленової кислоти (однієї з

найцінніших в харчовому раціоні людини) в найбільш вживаних видів родини Brassicaceae є нижчим за вміст даної ЖК у вегетативних органах *C. steveniana* (33,08±1,41% для рапсу, 33,79±1,53% для ріпи та 46,60±2,80% для капусти) (Imran et al., 2009), що дає можливість говорити про цінність дослідного виду у якості джерела цієї незамінної ЖК. Екстракти з насіння показали набагато менший вміст α -ліноленової кислоти (C18:3 – 2,99±0,12 моль%) в порівнянні із зеленою масою.

Найбільший вміст лінолевої кислоти було виявлено в екстрактах із насіння *C. steveniana* (C18:2 – 19,94±0,02 моль%). Серед вегетативних органів вміст даної ЖК був вищим для рослин, що вирощувались в умовах ботанічного саду (C18:2 для асептичних – 10,43±1,63 моль% та неасептичних рослин – 6,47±2,12 моль%).

Довголанцюгові мононенасичені ЖК гондоєва та ерукова були визначені лише у насінні дослідного виду. Кількість даних ЖК була майже рівною: C20:1 – 19,87±0,54 моль%, C22:1 – 17,59±0,42 моль%. В зразках, отриманих із вегетативних органів рослин, що проростали в стерильних умовах культури *in vitro*, було знайдено невелику кількість лігноцеринової кислоти (C24:0 – 3,08±1,5 моль%), а у вегетативних органах рослин, що проростали в умовах *in vivo*, знайдено її мононенасичений аналог – нервонову кислоту (C24:1 – 1,64±0,08 моль%). Нервонова кислота має широкий спектр застосування при симптоматичному лікуванні розсіяного склерозу, хвороби Паркінсона, шизофренії, хвороб, пов'язаних із неврологічними розладами (хвороба Альцгеймера), використовується також для поліпшення пам'яті, лікування артриту, захворювань печінки, ожиріння. Крім того, нервонова кислота має широке застосування на харчовому ринку в якості харчової добавки в дитячому харчуванні та сумішах (зокрема в харчовому раціоні недоношених немовлят), в раціоні харчування вагітних жінок та в збагачених енергетичних добавках, що мають нейрозахисну дію для атлетів під час тренувань (Sandhir et al., 1998; Taylor et al., 2009; Sargent et al., 1994). Беручи до уваги широке та різнопланове використання нервонової кислоти, її наявність навіть у невеликій кількості у вегетативних органах рослин виду *C. steveniana*, вирощених в умовах ботанічного саду, дає можливість говорити про доцільність використання даного виду в якості джерела C24:1 або для біотехнологічного підвищення вмісту нервонової кислоти у зеленій масі рослин.

Обговорення

Застосована схема стерилізації забезпечує максимальну кількість асептичних паростків, але кількість насіння, що проростає в культурі *in vitro*, є досить низькою. Згідно із проведеними раніше дослідженнями, дана схема є більш результативною для інших видів роду *Crambe* (для *C. tataria* – 60% асептичних насінин утворювали паростки та для *C. koktebelica* – 50% насінин проростали в культурі *in vitro*) (Пушкарьова та ін., 2016), тому можна зробити припущення про те, що така різниця у кількості насінин, що проросли, обумовлена індивідуальними особливостями виду. Аналіз літературних даних показав відсутність інформації про розмноження виду *C. steveniana* в культурі *in vitro*. Дослідження мікроклонального розмноження для роду *Crambe* були зосереджені на визначенні морфогенного потенціалу таких типів експлантів – частина кореня, частина листка та гіпокотиль. При цьому спостерігалась досить висока інтенсивність утворення калюсної тканини із тканин експланту, що підвищує ймовірність виникнення мутацій у новоутворених рослинах. Оскільки метою нашого дослідження є збереження різноманіття рослин, особливо важливим є збереження генетичної однорідності вихідного матеріалу. Для цього було проведено дослідження морфогенного потенціалу пазушних бруньок і показано можливість отримувати досить високу кількість регенерантів шляхом прямого органогенезу.

При вивченні газ-спектрів зразків ефірів ЖК, які було отримано із вегетативних органів асептичних та неасептичних рослин, а також насіння *C. steveniana*, виявили різницю як в якісному, так і кількісному складі ЖК дослідних зразків. Було показано, що рослини, які проростали в асептичних умовах, мали більшу загальну кількість ЖК, ніж ті, що проростали в неасептичних умовах. Разом із тим, культивовані *in vitro* рослини мали вищий вміст насичених ЖК і нижчий вміст ненасичених ЖК у порівнянні з рослинами, культивованими в умовах *in vivo*. Домінуючою ЖК у зразках із вегетативних органів дослідного виду була α -ліноленова кислота, як у рослин, вирощених в умовах *in vitro*, так і в умовах *in vivo*. Численними дослідженнями було показано, що культивування *in vitro* може бути потужним стресовим фактором (Gaspar et al., 2002) та здатне викликати активацію мобільних генетичних елементів (Bayram et al., 2012), що в свою чергу може

привести до виникнення мутацій або зміни експресії генів (Todorovska, 2007). Крім того, ліпіди виконують важливу роль у стійкості рослин до низьких температур та до стресових чинників (Лось, 2005; Shah, 2005; Wang et al., 2006). Підвищення вмісту ЖК (особливо ненасичених ЖК) в асептичних рослин підтверджує стресовий вплив культивування рослин *in vitro* та підкреслює необхідність подальшого молекулярно-генетичного дослідження культивованих в асептичних умовах рослин на предмет виникнення мутацій у відповідь на культивування *in vitro*. Було показано високий вміст незамінних ЖК у зразках із насіння і вегетативних органів дослідного виду. Також у зразках із насіння спостерігається досить високий вміст ерукової кислоти, а у зразках із вегетативних органів неасептичних рослин невелика кількість нервонової кислоти. Отже, одним з можливих механізмів зміни рівня та складу ЖК за культивування *in vitro* може бути посилення їх синтезу за стресу, викликаними цими умовами.

Дані було отримано з використанням обладнання Центру спільного користування в Інституті мікробіології та вірусології імені Д.К.Заболотного НАН України.

Список літератури

- Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. – К.: Наукова думка, 2005. – 269с. /Kushnir G.P., Sarnats'ka V.V. Mikroklonal'ne rozmnozheniya roslin. Teoriya i praktyka. – K.: Naukova dumka, 2005. – 269s./
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352с. /Lakin G.F. Biometriya. – M.: Vysshaya shkola, 1990. – 352s./
- Лось Д.А. Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // Вестник РАН. – 2005. – Т.75. – С. 338–345. /Los' D.A. Molekulyarnye mekhanizmy holodoustoychivosti rasteniy // Vestnik RAN. – 2005. – T.75. – S. 338–345./
- Пушкарьова Н.О., Белокурова В.Б., Кучук М.В. Застосування регуляторів росту для мікроклонального розмноження *in vitro* рослин, що охороняються // Рідкісні рослини і гриби України та прилеглих територій: реалізація природоохоронних стратегій. Матеріали IV Міжнародної конференції. – 2016. – С. 218–222. /Pushkar'yova N.O., Belokurova V.B., Kuchuk M.V. Zastosuvannya regulyatoriv rostu dlya mikroklonal'nogo rozmnozheniya in vitro roslin, shcho okhoronyayut'sya // Ridkisini rosliny i gryby Ukrainy ta pryleglykh terytoriy: realizatsiya pryrodokhoronnykh strategiy. Materialy IV Mizhnarodnoi konferentsii. – 2016. – S. 218–222./
- Сахно Л.О., Остапчук А.М., Ключко В.В., Кучук М.В. Жиринокислотний склад насіння ріпаку з трансгеном *суп11А1* цитохрому Р450_{SCC} // Біотехнологія. – 2012. – Т.5, №5. – С. 27–33. /Sakhno L.O., Ostapchuk A.M., Klochko V.V., Kuchuk M.V. Zhyrnokyslotnyy sklad nasinnya ripaku z transgenom *суп11А1* tsitokhromu R450_{SCC} // Biotekhnologiya. – 2012. – T.5, №5. – S. 27–33./
- Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я.П.Дідуха. – К.: Глобалконсалінг, 2009. – 900с. /Chervona knyga Ukrainy. Roslynnyy svit / za red. Ya.P.Didukha. – K.: Globalkonsaling, 2009. – 900s./
- Artus N.N. Arsenic and cadmium phytoextraction potential of crambe compared with Indian mustard // Journal of Plant Nutrition. – 2006. – Vol. 29. – P. 667–679.
- Bayram E., Yilmaz S., Hamat-Mecbur H. *Nikita* retrotransposon movements in callus cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.) // Plant OMICS: Journal of Plant Molecular Biology & Omics. – 2012. – Vol.5 (3). – P. 211–217.
- Belokurova V.B. Methods of biotechnology in system of efforts aimed at plant biodiversity preservation // Cytol. Genet. – 2010. – Vol.44, no 3. – P. 174–185.
- Garces R., Mancha M. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues // Anal. Biochem. – 1993. – Vol.211. – P. 139–143.
- Gaspar T., Franck T., Bisbis B. et al. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures // Plant Growth Regul. – 2002. – Vol.37. – P. 263–285.
- Imran Mohammad, Farah Naz Talpur, Siradjuddin, Rasool Khan Leaf lipids of some edible plants from north-west Pakistan // J. Chem. Sok. Pak. – 2009. – Vol.31, no 3. – P. 492–497.
- Lazzeri L., De Mattei F., Bucelli F., Palmieri S. Crambe oil – a potential new hydraulic oil and quenchant // Industrial Lubrication and Tribology. – 1997. – Vol.49, no 2. – P. 71–77.
- Lyons J.M., Wheaton T.A., Pratt H.K. Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plant // Plant Physiol. – 1964. – Vol.39. – P. 262–268.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. - Vol.15. – P. 473–497.
- Perry T.W., Kwolek W.F., Tookey H.L. et al. *Crambe* meal as a source of supplemental protein for growing beef cattle // Journal of animal science. – 1979. – Vol.48, no 4. – P. 758–763.

Prakhova T.Ya. New unconventional oilseed – *Abyssinian Crambe* // Bulletin of Altai state agricultural university. – 2013. – Vol.8, no 106. – P. 8–10.

Sandhir R., Khan M., Chahal A., Singh I. Localization of nervonic acid beta-oxidation in human and rodent peroxisomes: impaired oxidation in Zellweger syndrome and X-linked adrenoleukodystrophy // Journal of Lipid Research. – 1998. – Vol.39, no 11. – P. 2161–2171.

Sargent J.R., Coupland K., Wilson R. Nervonic acid and demyelinating disease // Medical Hypotheses. – 1994. – Vol.42, no 4. – P. 237–242.

Shah J. Lipids, lipases, and lipid modifying enzymes in plant disease resistance // Annual Review of Phytopathology. – 2005. – Vol.43. – P. 229–260.

Taylor D.C., Guo Y., Katavic V. et al. New seed oils for improved human and animal health and as industrial feedstocks: genetic manipulation of the *Brassicaceae* to produce oils enriched in nervonic acid // Modification of seed composition to promote health and nutrition / Ed. A.B.Krishnan. – American Society of Agronomy, 2009. – P. 219–233.

Todorovska E. Retrotransposons and their role in plant – genome evolution // Biotechnology & Biotechnological Equipment. – 2007. – Vol.21. – P. 294–305.

Wang X., Li W., Li M., Welti R. Profiling lipid changes in plant response to low temperatures // Physiologia Plantarum. – 2006. – Vol.126. – P. 90–96.

Xiao-qin S., Hui P., Jian-lin G. et al. Fatty acid analysis of the seed oil in a germplasm collection of 94 species in 58 genera of *Brassicaceae* // Chem. Ind. of Forest Prod. – 2011. – Vol.31 (6). – P. 46–54.

Представлено: А.І.Ємець / Presented by: A.I.Yemets

Рецензент: В.В.Жмурко / Reviewer: V.V.Zhmurko

Подано до редакції / Received: 30.07.2016

••• КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ ••• BRIEF COMMUNICATIONS •••

УДК: 577.12:577.112:577.24

Влияние длительного введения *in vivo* низких доз Co^{2+} на гемолиз эритроцитов

У Сі, Є.М.Корнієнко, А.Д.Плотніков, І.С.Піріна, Е.В.Кот, Ю.Г.Кот, Е.Э.Перський

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
korgenia@gmail.com*

Изучено влияние внутрижелудочного введения в течение 15 и 36 суток Co^{2+} в дозах 0,012 и 0,06 мг/кг/сутки на гемолиз под действием HCl эритроцитов 3-месячных крыс породы Вистар. Животные были разделены на 5 групп. В группе 1 – контрольной – они получали чистую воду в течение 36 суток. В группах 2 и 3 – растворы CoCl_2 в вышеуказанных дозах в течение 15 суток, а группах 4 и 5 – в течение 36 суток. Растворы соли и воду вводили через внутрижелудочный зонд ежедневно. Эритроциты получали из цельной крови крыс. Гемолиз вызывали добавлением HCl до ее конечной концентрации 0,002 н. Кинетику гемолиза эритроцитов регистрировали по изменению оптической плотности образцов с шагом регистрации 1 с. В качестве показателей гемолиза были выбраны время структурной перестройки мембраны эритроцитов до начала процесса их разрушения и скорость ее разрушения. Показано, что ионы кобальта вносят дополнительное дестабилизирующее действие на мембраны эритроцитов. Этот эффект усиливается с увеличением дозы Co^{2+} и длительности его введения.

Ключевые слова: эритроциты, гемолиз, Co^{2+} .

Вплив тривалого введення *in vivo* низьких доз Co^{2+} на гемоліз еритроцитів

У Сі, Є.М.Корнієнко, А.Д.Плотніков, І.С.Піріна, К.В.Кот, Ю.Г.Кот, Є.Е.Перський

Вивчено вплив внутрішньошлункового введення впродовж 15 і 36 діб Co^{2+} в дозах 0,012 і 0,06 мг/кг/добу на гемоліз під дією HCl еритроцитів 3-місячних щурів породи Вістар. Тварини були розділені на 5 груп. У групі 1 – контрольній – вони отримували чисту воду протягом 36 діб. У групах 2 і 3 – розчини CoCl_2 у вищевказаних дозах протягом 15 діб, а групах 4 і 5 – протягом 36 діб. Розчини солі і воду вводили через внутрішньошлунковий зонд щодня. Еритроцити одержували з цільної крові щурів. Гемоліз індукували додаванням HCl до її кінцевої концентрації 0,002 н. Кинетику гемолізу еритроцитів реєстрували за зміною оптичної щільності зразків з кроком реєстрації 1 с. Як показники гемолізу були обрані час структурної перебудови мембрани еритроцитів до початку процесу їх руйнування і швидкість її руйнування. Показано, що іони кобальту вносять додаткову дестабілізуючу дію на мембрани еритроцитів. Цей ефект посилюється зі збільшенням дози Co^{2+} і тривалості його введення.

Ключові слова: еритроцити, гемоліз, Co^{2+} .

The influence of Co^{2+} low doses *in vivo* prolonged administration on the erythrocytes hemolysis

U Si, Ye.M.Korniyenko, A.D.Plotnikov, I.S.Pyrina, Ye.V.Kot, Yu.G.Kot, Ye.E.Persky

The effect of intragastric injection of Co^{2+} in doses of 0.012 and 0.06 mg/kg/day for 15 and 36 days on the hemolysis of 3-month-old Wistar rats red blood cells by the action of HCl has been studied. The animals were divided into 5 groups. Group 1 – the control – the animals got clean water for 36 days, in groups 2 and 3 – CoCl_2 solutions in the above-mentioned doses for 15 days, and in groups 4 and 5 – these solutions for 36 days. Water and salt solutions were administered by intragastric gavage daily. Erythrocytes were obtained from whole blood of rats. Hemolysis induced by the addition of HCl to its final concentration of 0,002 N. Erythrocyte hemolysis kinetics was recorded by changes in the optical density of samples with registration step of 1 s. The time of red blood cells membrane restructuring before beginning the process of their destruction and the rate of its destruction were selected as indicators of hemolysis. It has been shown that cobalt ions provide additional destabilizing effect on the erythrocyte membrane. This effect increases with the dose of Co^{2+} and the duration of its administration.

Key words: erythrocytes, hemolysis, Co^{2+} .

Введение

В ряде работ было показано, что ионы кобальта в концентрациях, превышающих 0,6 мг/кг/сутки (NOAEL – уровень отсутствия видимого негативного эффекта), дестабилизируют мембраны эритроцитов даже при однократном введении в организм лабораторных животных (Smith, 1971; Кочарли и др., 2012; Ганусова, Баранник, 2014). Работ же, посвященных хроническому действию ионов кобальта в концентрациях, существенно меньших NOAEL, на структурную стабильность эритроцитов, практически нет.

Целью данной работы было изучение длительного действия малых доз ионов Co^{2+} на структурную устойчивость эритроцитов к гемолизу.

Объекты и методы исследования

Исследования проведены на 3-месячных белых крысах-самцах породы Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария Харьковского национального университета им. В.Н.Каразина.

В экспериментах соблюдали рекомендации проведения медико-биологических исследований согласно закону Украины «О защите животных от жестокого обращения» (Закон Украины №3447-IV, 2006) с изменениями, внесенными в соответствии с Законом №1759-VI (Зміни..., 2010).

Величина NOAEL кобальта для человека и лабораторных животных составляет 0,6 мг/кг/сутки (Toxicological profile for cobalt, 2004). Поэтому в экспериментах использовали 2 дозы Co^{2+} – 0,012 мг/кг/сутки (доза I) и 0,06 мг/кг/сутки (доза II), которые вводили растворами CoCl_2 с концентрациями $0,692 \times 10^{-4}$ М/л и $3,46 \times 10^{-4}$ М/л соответственно.

Животные были разделены на 5 групп по 6 особей в каждой. В группе 1 – контрольной – они получали чистую воду в течение 36 суток. В группах 2 и 3 – растворы CoCl_2 в дозах I и II соответственно в течение 15 суток. В группах 4 и 5 – дозы I и II в течение 36 суток.

Растворы соли и воду вводили через внутрижелудочный зонд ежедневно.

Эритроциты получали из цельной крови крыс после их декапитации под тиопенталовым наркозом в дозе 60 мкг/кг. Кровь смешивали в отношении 0,02 : 1 с 0,15 М/л NaCl, куда заранее добавляли 5 мкл гепарина с активностью 5000 ед/мл. Смесь четырёхкратно отмывали центрифугированием в течение 3 мин при 3000 об/мин на центрифуге ОПН-ЗУХЛ4.2 в 10-кратном объеме 0,15 М/л NaCl при комнатной температуре. Лейкоцитарную пленку и супернатант удаляли аспирацией. 5 мкл полученного осадка эритроцитов суспендировали в 1,0 мл 0,15 М/л NaCl и помещали в кювету толщиной 1 см.

Гемолиз вызывали добавлением HCl, концентрация которой в образцах суспензии эритроцитов составляла 0,002 н. (Черницкий, 2002). В этих условиях оптическая плотность образцов в кювете была равна 0,2.

Кинетику гемолиза эритроцитов регистрировали по изменению оптической плотности образцов, которую записывали на компьютеризированном спектрофотометре Coleman при $\lambda=670$ нм и непрерывном перемешивании, не разрушающем клетки. Регистрацию оптической плотности проводили с частотой 1 с.

Гемолиз для каждого животного измеряли на 6 образцах крови; полученные кривые кинетики усредняли.

В качестве показателей гемолиза были выбраны время структурной перестройки мембраны основной массы эритроцитов до начала кооперативного процесса их разрушения t_n и скорость её разрушения. Последнюю оценивали по изменению оптической плотности образцов в процессе разрушения мембраны, отнесенную ко времени этого изменения – $V=D_p/\Delta t_p$. Величины ΔD_p и Δt_p измеряли на соответствующих участках кинетических кривых.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна-Уитни (Glantz, 2007). Результаты представлены в виде $M \pm sd$, где M – среднее арифметическое, sd – стандартное отклонение. Достоверными считали результаты с $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

На рисунке представлены усреднённые по всем измеренным образцам кривые кинетики гемолиза крови контрольных животных и животных, получавших в течение 15 и 36 дней Co^{2+} в количестве 0,012 мг и 0,06 мг на кг массы тела.

Поскольку вся популяция эритроцитов крови представлена клетками различного возраста, их мембраны также отличаются по свойствам и, соответственно, по структурной стабильности. Поэтому кривая кинетики гемолиза состоит из нескольких участков. Можно выделить три наиболее существенных. Первый (I) соответствует разрушению эритроцитов с наименее прочной мембраной. Второй (II) определяется процессами структурной перестройки и возникновением дефектов в мембранах основной массы эритроцитов, происходящими под действием HCl. И, наконец, третий участок кривой (III) соответствует процессу кооперативного разрушения мембран основной массы эритроцитов.

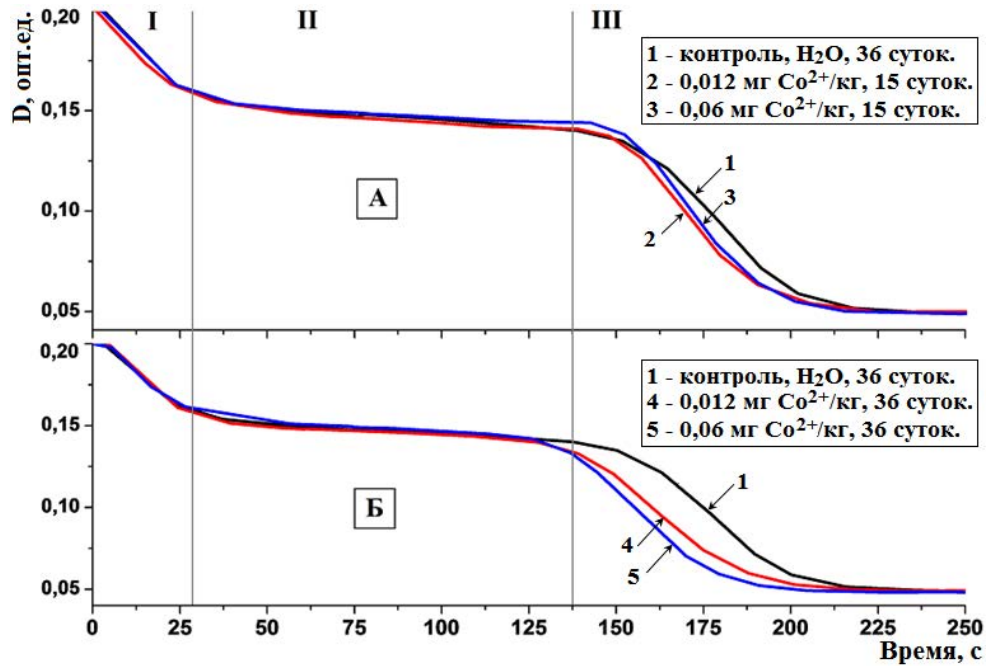


Рис. Влияние Co^{2+} на кинетику кислотного гемолиза эритроцитов 3-месячных крыс. А – 15, Б – 36 суток введения Co^{2+}

Средние численные значения t_n и $\Delta D_p/\Delta t_p$, рассчитанные по кинетическим кривым гемолиза эритроцитов всех измеренных образцов крови каждой из групп животных, приведены в табл. 1.

Таблица 1.
Влияние Co^{2+} на время структурной перестройки мембраны эритроцитов 3-месячных крыс до начала процесса её кооперативного разрушения t_n , (с) и на скорость её разрушения V , (опт. ед./с) $\times 10^{-4}$, $M \pm sd$, $n=6$

Сутки	Условия эксперимента	Показатель	
		t_n	V
36	Контроль – $\text{H}_2\text{O} + 0,002 \text{ н HCl}$	$125,0 \pm 11,0$	$19,7 \pm 0,88$
15	0,012 мг $\text{Co}^{2+}/\text{кг} + 0,002 \text{ н HCl}$	$120,5 \pm 14,0$	$22,8 \pm 1,16^{*\wedge}$
36		$115,0 \pm 8,0$	$28,4 \pm 0,97^{*\wedge}$
15	0,06 мг $\text{Co}^{2+}/\text{кг} + 0,002 \text{ н HCl}$	$112,5 \pm 5,0$	$27,9 \pm 1,14^{*\#}$
36		$105,5 \pm 5,0^*$	$31,6 \pm 1,13^*$

Примечание: * – различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению с контролем; # – различия достоверны ($p < 0,05$) между 15 и 36 сутками; ^ – различия достоверны ($p < 0,05$) между двумя дозами на соответствующие сутки.

В соответствии с полученными результатами, при качественном подобии кривых гемолиза эритроцитов у контрольных и подопытных животных видно, что при обеих дозах Co^{2+} и при обоих сроках введения крутизна участка III больше у подопытных животных. По сравнению с контролем после 36 суток введения Co^{2+} скорость гемолиза увеличивается в 1,6 раза.

Кроме того, по сравнению с контролем, время до начала кооперативного разрушения мембран основной массы эритроцитов (участки I + II) уменьшается при введении Co^{2+} в течение 36 суток на 16%.

Таким образом, в процессе кислотного гемолиза эритроцитов ионы кобальта усиливают дестабилизирующее действие HCl даже в дозах, в 10 и 50 раз меньших NOAEL. При этом дополнительный дестабилизирующий эффект Co^{2+} повышается с увеличением дозы и длительности его введения.

Список литературы

- Ганусова Г.В., Баранник Т.В. Влияние хлоридов кобальта и ртути на показатели пероксидного окисления липидов в сыворотке крови и резистентность эритроцитов самок крыс // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2014. – Вип.22, №1126. – С. 16–21. /Ganusova G.V., Barannik T.V. Vliyanie khloridov kopal'ta i rtuti na pokazateli peroksidnogo okisleniya lipidov v syvorotke krovi i rezistentnost' eritrotsitov samok krys // Visnyk Kharkivs'kogo natsional'nogo universitetu imeni V.N.Karazina. Seriya: biologiya. – 2014. – Vyp.22, №1126. – S. 16–21./
- Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» №3447-IV від 21.02.2006. – ВВР. – 2006. – №27. – Ст.230. /Zakon Ukrainy «Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokogo povodzhennya» №3447-IV vid 21.02.2006. – VVR. – 2006. – №27. – St.230./
- Зміни, внесені до Закону №3447-IV згідно із Законом №1759-VI від 15.12.2009. – ВВР. – 2010. – №9. – Ст.76. /Zminy, vneseni do Zakonu №3447-IV zgidno iz Zakonom №1759-VI vid 15.12.2009. – VVR. – 2010. – №9. – St.76./
- Кочарли Н.К., Гумматова С.Т., Абдуллаев Х.Д., Зейналова Н.М. Влияние ионов тяжелых металлов на мембранную устойчивость эритроцитов в норме и при различной патологии организма // Фундаментальные исследования. – 2012. – №11. – С. 299–303. /Kocharli N.K., Gummatova S.T., Abdullayev H.D., Zeynalova N.M. Vliyanie ionov tyazhelykh metallov na membrannuyu ustoychivost' eritrotsitov v norme i pri razlichnoy patologii organizma // Fundamental'nyye issledovaniya. – 2012. – №11. – S. 299–303./
- Черницкий Г.А. Способ определения резистентности эритроцитов. – Минск: Наука-Белорусь, 2002. – 101с. /Chernitskiy G.A. Sposob opredeleniya rezistentnosti eritrotsitov. – Minsk: Nauka-Belorus', 2002. – 101s./
- Glantz S.A. Primer of biostatistics. McGraw-Hill, 2007. – P.298.
- Smith R.P. Cobalt lysis and methemoglobin accumulation in human erythrocyte suspensions // Experimental Biology and Medicine. – 1971. – Vol.136, no 3. – P. 701–706.
- Toxicological profile for cobalt. U.S. Agency for toxic substances and disease registry. – 2004. – p.47. (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp33.pdf>.)

Представлено: О.П.Білозоров / Presented by: A.P.Belozorov

Рецензент: Н.І.Буланкіна / Reviewer: N.I.Bulankina

Подано до редакції / Received: 05.10.2016

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ
журналу «Вісник Харківського національного
університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія»

У серії Вісника публікуються результати досліджень за всіма напрямками біологічних наук.

До публікації приймаються:

- закінчені оригінальні роботи, що досі ніде не видавалися (статті об'ємом 5–10 сторінок друкованого тексту, включаючи перелік посилань);
- описання оригінальних методів та приладів;
- теоретичні та проблемно-оглядові статті об'ємом до 20 сторінок друкованого тексту, включаючи перелік посилань;
- матеріали та повідомлення про події наукового життя;
- рецензії на книги.

Статті друкуються українською, російською та англійською мовами.

Текст експериментальної статті повинен складатися з наступних розділів: «Вступ», «Методика» («Об'єкти та методи дослідження»), «Результати», «Обговорення» (можливий об'єднаний розділ «Результати та обговорення»), «Перелік посилань».

Текст статті починається з індексу УДК, далі заголовок звичайним шрифтом (**Arial – 12 pt**), ініціали та прізвища авторів (**Arial – 10 pt**), повні назви наукових установ, адреси електронної пошти (**Arial – 9 pt**) – наявність контактної електронної адреси обов'язкова.

Анотація розміщується під «шапкою» статті мовою оригіналу (**Arial – 9 pt**). Її обсяг – орієнтовано до 10 рядків. Під анотацією курсивом друкується список ключових слів (не більше 10). Анотація повинна бути побудована як реферат у реферативних журналах та відобразити суть експериментів, основні результати та їх інтерпретацію. Анотація не повинна містити баластні слова, ввідні фрази та неінформативні вислови. Далі друкуються анотації (**Arial – 9 pt**) англійською і російською (якщо стаття написана українською) мовами разом із транскрипціями прізвищ авторів, перекладом назви роботи і відповідними списками ключових слів (**всього в статті мають бути резюме трьома мовами – українською, англійською, російською**).

Розділ «Вступ» повинен містити постановку проблеми у загальному вигляді та її зв'язок з важливими науковими або практичними завданнями; короткий аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких розпочато рішення даної проблеми, виділення конкретних невирішених питань, яким присвячена стаття, формулювання мети роботи. Інакше кажучи, вступ повинен відповідати на питання: що відомо у даній області; що залишається невідомим; яка задача даної роботи. Бажано, щоб у експериментальних роботах формулюванню мети передувала робоча гіпотеза.

Розділ «Методика» повинен містити відомості про об'єкт (об'єкти) дослідження (з обов'язковим вказуванням повних латинських назв видів та авторів класифікації), умови експериментів, аналітичні методи, прилади та реактиви. У цьому ж розділі даються відомості про повтори експериментів, методи статистичного аналізу результатів.

У розділі «Результати» необхідно лише описати виявлені ефекти, не коментуючи їх, усі коментарі та пояснення виносяться в обговорення. Викладення результатів не повинно зводитись до переказу вмісту таблиць та графіків, воно повинно відображувати закономірності, які витікають з отриманих даних. Результати рекомендується представляти у минулому часі.

Задачею розділу «Обговорення» є узагальнення та інтерпретація результатів, аналіз причинно-наслідкових зв'язків між виявленими ефектами. Отриману інформацію необхідно порівняти з наявними літературними даними та показати її новизну. Обговорення повинно завершуватись відповіддю на питання, яке поставлено у вступі.

Таблиці друкуються у тексті, кожна повинна мати свій заголовок.

Рисунки виконуються у чорному кольорі, розміщуються у тексті. Кожний рисунок повинен мати свій заголовок. На кривих (крім безперервних реєстрацій) повинні бути нанесені експериментальні точки.

Посилання на літературу у тексті подаються у круглих дужках з вказуванням прізвища автора та року видання. Список посилань складається за абеткою, спочатку кирилицею, потім латиницею. Список не нумерується.

Електронні версії статей надсилаються до редакції електронною поштою.

Тексти статей повинні бути виконані у редакторі Ms Word з використанням шрифту **Arial – 10 pt**; **абзац – 1 см**; **міжрядковий інтервал – одинарний**; **поля: верхнє та нижнє – 3,5**; **ліве та праве – 2 см**. Разом з електронною версією до редакції надсилається тверда копія у двох примірниках, один з яких має бути підписаний авторами.

До статті прикладається рецензія фахівця у даній області досліджень (**зовнішня рецензія**).

На окремій сторінці вказують повністю **імена, по батькові та прізвища усіх авторів, телефони, факси, адреси електронної пошти та повні поштові адреси**.

Стаття, яка надходить до редакції, реєструється та направляється до наукового рецензента, який підписує статтю до друку. При наявності зауважень статтю повертають авторам для доопрацювання. Виправлений варіант (у двох примірниках) автор повинен повернути до редакції разом з початковим варіантом статті та відповіддю на всі зауваження.

Черговість виходу статей визначається датою надходження останнього варіанту.

Редакція залишає за собою право **виправляти та скорочувати рукопис, а також повертати авторам роботи, які не відповідають вимогам редакції**.

Вартість публікації статті розраховується наступним чином: 200 грн за роботу редакції (сума є фіксованою, не залежить від обсягу статті) + 40 грн за публікацію однієї сторінки (помножується на кількість сторінок) + вартість пересилання авторського екземпляра. Оплата приймається після отримання автором інформації про прийняття статті до друку.

Оплата приймається у вигляді поштового переказу на ім'я відповідального секретаря.