



Наукові записки

Серія: біологія



Тернопільський
педуніверситет
ім. Володимира Гнатюка

ББК 28
Н 34

Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету
ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія, № 2(13), 2001. — 113 с.

*Друкується за рішенням вченої ради
Тернопільського державного педагогічного університету
ім. Володимира Гнатюка
від 22.05.2001 р. (протокол № 9)*

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

М.М. Барна	кандидат біологічних наук, професор (головний редактор)
К.С. Волков	доктор біологічних наук, професор
В.В. Грубінко	доктор біологічних наук, професор (заступник головного редактора)
В.І. Кваша	доктор сільськогосподарських наук, професор
Н.В. Мшанецька	кандидат біологічних наук, доцент (секретар)
В.І. Парпан	доктор біологічних наук, професор
Я.І. Федонюк	доктор медичних наук, професор
В.І. Чопик	доктор біологічних наук, професор
І.В. Шуст	доктор біологічних наук, професор

Літературний редактор: *З.М. Бичко*
Комп'ютерна верстка: *С.Й. Феник*

*Збірник входить до переліку наукових фахових видань ВАК України
Свідоцтво про держреєстрацію: ТР № 241 від 18.11.97*

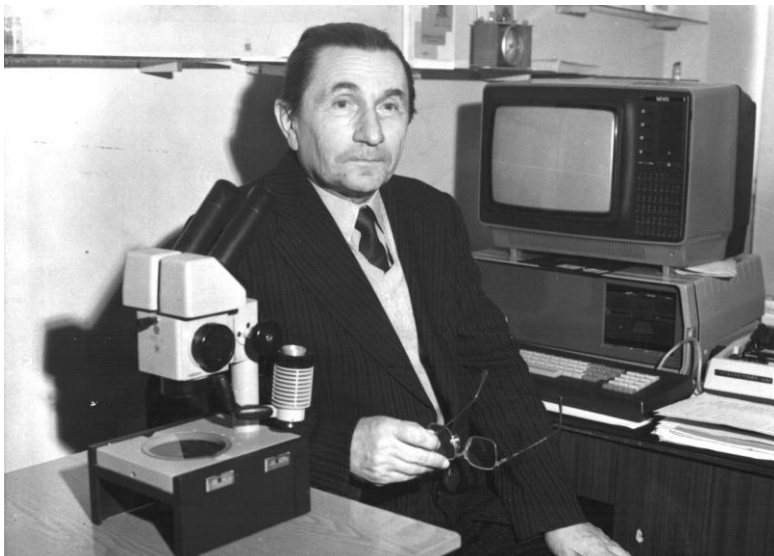
ББК 28
Н 34

© Тернопільський державний педагогічний університет
ім. Володимира Гнатюка

КАФЕДРА ЗАГАЛЬНОЇ БІОЛОГІЇ

Історична довідка

Кафедра створена у 1971 р. як кафедра анатомії та фізіології людини і тварин. Першим завідувачем кафедри став доктор біологічних наук, професор Шуст І.В. Викладацький склад кафедри анатомії і фізіології людини і тварин був сформований із співробітників різних кафедр, які раніше викладали дисципліни морфолого-фізіологічного циклу. Так, анатомію людини викладали кандидати наук, доценти Шиманська О.А., Яковлев В.О., асистент Багнюк К.О., фізіологію людини — доценти Грушко В.С., Черетянка О.Д., Зеленський В.С., гістологію і цитологію — професор Шуст І.В., лікувальну фізкультуру — доцент Гуняді Б.К., викладач Мартинова А.О. Невдовзі виконала на кафедрі і захистила кандидатські дисертації Багнюк К.О. та Галантюк С.І., а згодом асистентом кафедри став випускник природничого факультету Мороз М.М. Викладачі вели заняття в основному на 2 факультетах — природничому і фізичного виховання. З перших днів організації кафедри колектив викладачів і лаборантів приступив до обладнання навчальних лабораторій та кабінетів, розгорнув методичну роботу.



**Перший завідувач кафедри доктор біологічних наук,
професор Шуст Іван Васильович**

Із вводом в експлуатацію головного корпусу інституту (1977 р.) створено навчальні колекції, музеї з анатомії людини та ембріології, оснащені нові лабораторії. На базі кафедри створено наукові лабораторії — гістохімічну і електронномікроскопічну. Викладачами освоєно ряд гістохімічних методик дослідження, що дало можливість налагодити на новому рівні науково-дослідну роботу. На кафедрі розроблялася наукова проблема з дослідження функціональних можливостей організму, що росте. Дослідження проводились у двох напрямках: морфологічні роботи були

спрямовані на експериментальне вивчення змін в організмі при дії екстремальних факторів, а фізіологічними методиками досліджували особливості фізичної і розумової працездатності у дітей різних типів вищої нервової діяльності.

Завдяки значній методичній роботі колективу Міністерством освіти України кафедра була визнана (1975 р.) опорною. За підсумками роботи опорних кафедр в Україні організація науково-методичної роботи була визнана кращою (1984 р.).

Викладачі кафедри постійно працювали і продовжують працювати над удосконаленням організації навчально-виховного процесу у вузі та розробкою методик викладання навчальних предметів кафедри. Зокрема, на основі багаторічного досвіду роботи у вузах професором

КАФЕДРА ЗАГАЛЬНОЇ БІОЛОГІЇ

І. Шустом були запропоновані і перевірені модульно-етапні принципи побудови навчального процесу та впроваджено метод порівняльних матриць при викладанні біологічних дисциплін.

З 1975 р. широко стали використовуватися у викладанні ділові ігри і навчально-дослідницька робота на заняттях.

З набуттям Україною незалежності, викладачі кафедри ще більше уваги стали приділяти методичній та науковій роботі. Переглянуто методологічні підходи у навчально-виховній роботі з метою підготовки вчителя української національної школи.

Кафедра поставила за мету підготовку вчителя-творця, педагога з навичками дослідницької роботи, наукового пошуку. В зв'язку з цим навчально-дослідницька робота проводиться на заняттях, застосовуються творчі довготермінові індивідуальні завдання та науково-дослідна робота в проблемних студентських групах. Всі ці заходи дають можливість студентам поглиблено вивчати навчальні предмети і забезпечують підготовку майбутнього вчителя до проведення пошукової, творчої роботи з учнями в школі. Щороку студентами, які є членами проблемних груп, публікуються наукові повідомлення. За останні роки студентами опубліковано близько 50 наукових робіт.

На кафедрі постійно проводиться значна робота з підготовки науково-педагогічних кадрів. Під керівництвом професора Шуста І.В. виконано і захищено 8 кандидатських дисертацій, в тому числі трьома викладачами інституту (Костиник І.М., Галантюк С.І., Цимбал Н.М.). В аспірантурі кафедри під керівництвом проф. Федонюка Я.І., доц.Царенка А.В. і доц. Галантюка С.І. навчалися 3 аспіранти. Виконала на кафедрі та захистила в 1996 році кандидатську дисертацію асистент Волошин (Сморшок) О.С. Проф. Шуст І.В. підготував доктора наук Локая А.І., який очолив кафедру біології в Тернопільському медичному інституті.

З 1991 по 1996 рік кафедру очолював канд.біол.наук, доцент Галантюк С.І., а з 1996 року — канд. мед. наук, доцент Царенко А.В. Кафедру було реорганізовано в кафедру загальної біології із залученням викладачів екології. На кафедрі працювало 6 викладачів, всі з науковими ступені і вченими званнями: один доктор біологічних наук, професор, три доценти і два асистенти. Викладачі кафедри та допоміжний персонал забезпечували викладання відповідних дисциплін майже на всіх факультетах університету. Зокрема, на всіх факультетах викладалися навчальні курси: вікова фізіологія; анатомія і фізіологія людини, цитологія і гістологія — на природничому і географічному факультетах; фізіологія вищої нервової діяльності — на психолого-педагогічному факультеті.

З 1997 р. кафедру очолює доктор біологічних наук, проф. Грубінко В.В., випускник природничого факультету Тернопільського педагогічного інституту.

Склад кафедри

У даний час на кафедрі працює 6 викладачів: один доктор біологічних наук, професор (Грубінко В.В.), три кандидати біологічних наук, доценти (Галантюк С.І., Страшнюк Н.М., Яковлев В.О.) і два кандидати біологічних наук, асистенти (Волошин О.С., Феник С.Й.).



Кафедра загальної біології у 2000 р. (зліва на право):
асп. Синюк Ю.В.,
лаб. Цаль Я.М.,
доц. Яковлев В.О.,
доц. Марчишин С.М.,
проф. Грубінко В.В.,
проф. Шуст І.В.,
доц. Страшнюк Н.М.,
доц. Галантюк С.І.,
лаб. Чабан С.Й.,
асист. Волошин О.С.,
асист. Феник С.Й.,
лаб. Янков Г.Б.

Навчальна робота кафедри

Викладачами кафедри читаються такі навчальні курси:

- цитологія (хіміко-біологічний факультет);
- гістологія з основами ембріології (хіміко-біологічний, географічний факультети);
- анатомія людини (хіміко-біологічний, психолого-педагогічний факультети);
- фізіологія людини і тварин (хіміко-біологічний, географічний, психолого-педагогічний факультети);
- вікова фізіологія і шкільна гігієна (хіміко-біологічний, географічний, історичний, філологічний, фізико-математичний, індустріально-педагогічний факультети, факультет іноземних мов);
- екологія (хіміко-біологічний факультет);
- екотоксикологія (географічний факультет);
- біотехнологія (хіміко-біологічний факультет);
- Спеціальні курси для студентів та магістрантів хіміко-біологічного факультету.

Колектив кафедри постійно працює над удосконаленням навчального процесу. Так, за останні 3 роки викладачами кафедри видано 18 навчальних посібників та методичних рекомендацій загальним обсягом 81,7 др. арк. Серед них: посібник «Загальна гістологія з основами ембріології» (проф. Шуст І.В.), «Опорний конспект з загальної гістології» та «Опорний конспект з цитології» (проф. Шуст І.В.), «Методичні рекомендації до лабораторно-практичних занять з цитології» (проф. Шуст І.В., доц. Страшнюк Н.М.); «Методичні вказівки до лабораторних занять з гістології та основ ембріології» (асист. Волошин О.С.), посібник «Анатомія та еволюція нервової системи» (доц. Яковлев В.О., асист. Феник С.Й.), «Методичні рекомендації до проведення лабораторно-практичних занять та виконання самостійних завдань з вікової фізіології та шкільної гігієни» (асист. Феник С.Й., доц. Страшнюк Н.М., доц. Галантюк С.І., проф. Грубінко В.В.), «Паспорт здоров'я» (доц. Страшнюк Н.М. у співавт.), «Педагогічна практика студентів: Методичні рекомендації до виконання самостійних завдань з шкільної гігієни» (доц. Галантюк С.І., асист. Феник С.Й., доц. Страшнюк Н.М., проф. Грубінко В.В.), «Екологічний словник-довідник» (доц. Марчишин С.М.), «Методичні рекомендації до самостійного вивчення курсу «Соціоекологія»» (доц. Марчишин С.М.), «Лабораторний практикум з біотехнології» (доц. Страшнюк Н.М., асист. Феник С.Й., проф. Грубінко В.В.), посібник «Загальна цитологія» (проф. Шуст І.В., проф. Грубінко В.В., доц. Страшнюк Н.М.).

Сфера наукових інтересів

Науковці кафедри працюють над розробкою важливих наукових проблем:

«Дослідження молекулярно-метаболических механізмів адаптації організмів до екстремальних факторів середовища» (проф. Грубінко В.В.);

«Дослідження функціональних особливостей організму при рості» (доц. Галантюк С.І.);

«Структурна основа порушення мікроциркуляції в цитоподібній та наднирковій залозах в умовах загальної дегідратації організму» (асистент Волошин О.С.).

«Розробка біотехнологічних методів культивування рідкісних, цінних лікарських видів рослин» (доц. Страшнюк Н.М.);

«Вивчення історії української анатомічної науки» (доц. Яковлев В.О.);

«Використання інформаційних технологій при викладанні біологічних дисциплін у вузі» (асистент Феник С.Й.);

Наукові здобутки кафедри

При кафедрі функціонують електронномікроскопічна лабораторія, лабораторія екотоксикології та біомоніторингу, лабораторія екології та біотехнології, у яких проводяться науково-дослідні роботи з держбюджетних тем, що фінансуються Міністерством освіти і науки України — «Токсикоспецифічні адаптації гідробіонтів та водних екосистем до іонів важких металів та їх регуляція», «Використання методів біотехнології для збереження рідкісних, цінних лікарських видів рослин з метою їх наступної реінтродукції. Отримання в культурі *in vitro* високопродуктивних ліній-продуцентів фармакологічно активних речовин».

КАФЕДРА ЗАГАЛЬНОЇ БІОЛОГІЇ

Викладачі кафедри співпрацюють з численними науковими закладами України: Інститутом гідробіології НАН України; Інститутом молекулярної біології та генетики НАН України, Інститутом клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київським Національним університетом ім. Тараса Шевченка, Інститутом біології тварин УААН (м. Львів) тощо.

На базі кафедри проведено ряд наукових та науково-практичних конференцій:

- “Екологічний стрес і адаптація в біологічних системах” — Всеукраїнська (1998);
- “Сучасні технології викладання біологічних дисциплін у вузі” — Міжвузівська (2000);
- “Особливості та проблеми викладання курсу “Біологія людини” -Міжвузівська (2000).

Результатом наукової роботи викладачів кафедри є монографії, наукові статті, тези доповідей на наукових конференціях, з'їздах, семінарах. За останні 5 років науковцями кафедри опубліковано монографій: проф. Шуст І.В. — “Вузівська кафедра: нариси організаційно-педагогічної діяльності” (1995); “Розвиток і перебудова кровоносних судин” (1997); проф. Грубінко В.В. — “Екологія, охорона природи, екологічна освіта і виховання” (1996), “Астророслина *Brassica gara* та її використання в біологічній освіті”(2000). Загалом за останні 5 років науковцями кафедри опубліковано:

Грубінко В.В. — всього 84 роботи, з яких статті у фахових виданнях — 38, навчально-методичні посібники — 5, інших публікацій — 41; Галантюк С.І. — всього 7 публікацій, з них статті 4, навчальні посібники та методичні розробки — 3; Яковлев В.О. — всього 6 публікацій, з них статті — 2, посібники для шкіл і вузів — 3, інших публікацій — 1; Страшнюк Н.М. — всього 69 публікацій, з них статті — 15, посібники для шкіл і вузів та методичні рекомендації — 14, інших публікацій — 40; Волошин О.С. — всього 24 публікації, з них 6 статей, методичні рекомендації — 1, інших публікацій — 17; Феник С.Й. — всього 16 публікацій, з них статей — 6, посібників для шкіл і вузів та методичних рекомендацій — 4, інших публікацій — 6.

За останні 5 років захищено кандидатські дисертації: Феник С.Й. “Вивчення формування індукованих механізмів детоксикації іонів кадмію в культурі клітин *Nicotiana plumbaginifolia*” (1996), Волошин О.С. “Структурна основа порушення мікроциркуляції в щитоподібній та наднирковій залозах в умовах загальної дегідратації організму” (1996).

На кафедрі ведеться підготовка науково-педагогічних кадрів у постійнодіючій докторантурі із спеціальності «гідробіологія», аспірантурі із спеціальностей «біохімія», «гідробіологія», «екологія», «клітинна біологія» та магістратурі із спеціальності «біологія».

В.В. Грубінко

Надійшла 02.04. 2001

АНАТОМІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

УДК 576. 469: 16/611-018

І.В. Шуст¹, І.І. Шуст²

¹Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2

²Medical Research Group Inc., Sylmar, California, U.S.A.

ВЗАЄМОДІЯ ЛАКТОЦИТІВ І МІКРОГЕМОСУДИН ПРОТЯГОМ СЕКРЕТОРНОГО ЦИКЛУ І ПОСТЛАКТАЦІЙНОЇ РЕСТРУКТУРИЗАЦІЇ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

лактоцити, гемокапіляри, регресія молочної залози, апоптоз лактоцитів, апоптоз ендотеліоцитів, колапс лобуло-альвеолярних компартментів.

Особливістю молочної залози є її циклічне функціонування: згасання функції після відняття малюків (запуску) і відновлення секреції при наступній лактації, що пов'язано з перебудовою органу, його інволюцією і проліферацією. Регулюється секреція залози комплексом взаємодій лактогенних гормонів і рівнем функціональної активності [9].

У минулому десятиріччі при дослідженні лактаційного процесу дослідники особливу увагу приділяли вивченню ролі у стимуляції лактації гормонів [1, 11, 14], ферментів [8, 10] та інших біологічно активних речовин [5, 6]. Проаналізована участь ядерних факторів в інволюції залози [3, 12] та при апоптозі лактоцитів [4, 7]. Однак надзвичайно мало уваги приділено дослідженню взаємозв'язку між лактоцитами і гемокапілярами протягом лактаційного циклу [2, 13].

Нашим завданням було відслідкувати зміни в молочних криноцитах і суміжних з ними похідних мезенхіми, головним чином гемокапілярах, упродовж лактаційного циклу з метою виявлення їх взаємодії.

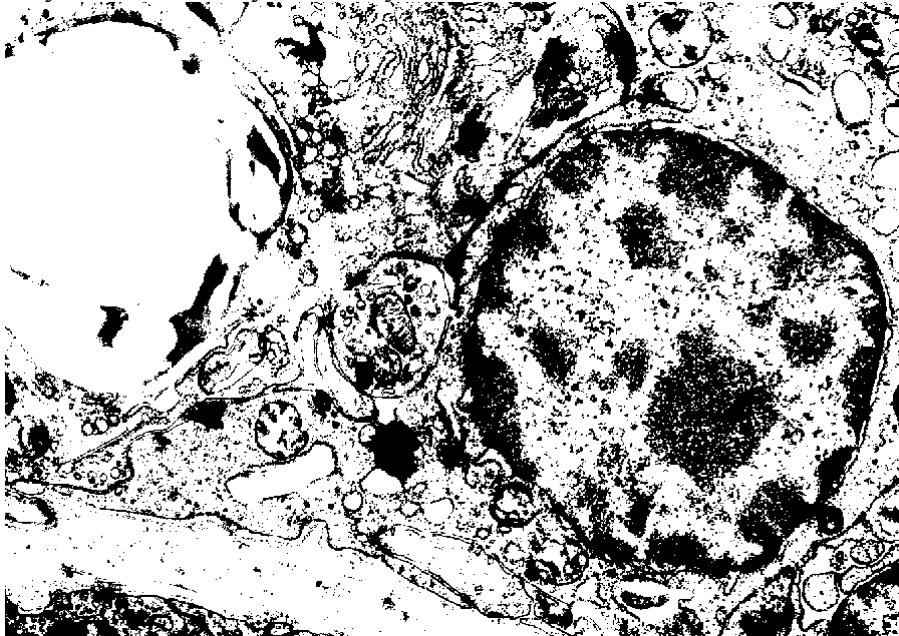
Матеріали і методи досліджень

Дослідження молочної залози проведені на самках щурів на різних стадіях лактації: 1 — перед родами; 2- під час інтенсивного галактопоезу; 3 — при затуханні лактації; 4 — під кінець лактаційного періоду після відлучення малюків. У кожену групу входило по 5 тварин (мала морфологічна вибірка). Експериментальним матеріалом обрано тканини молочної залози, які брали шляхом біопсії під ефірним наркозом. Для електронномікроскопічних досліджень шматочки органу фіксували за методикою Мілоніга та контрастували за Рейнольдсом. Гістохімічними методиками виявляли нуклеїнові кислоти (за методикою Браше), білки (за Бонхеном у нашій модифікації), ліпіди (за Хейлом) [2].

Результати досліджень та їх обговорення

В останні дні вагітності в молочній залозі з'являється багато відносно невеликих клітин переважно кубічної форми, що широкою основою прилягають до базальної мембрани (мал. 1). Така клітина на люмінальній поверхні містить окремі мікроворсинки, до базального полюса звичайно прилягає невеликий відросток міоепітеліоцита. Лактоцит має округле ядро, в якому

переважає дифузний хроматин, скупчення конденсованого хроматину прилягають до каріолеми, за винятком порових комплексів, вільних від конденсованого хроматину. Перинуклеарний простір вузький, рівномірної ширини, з'єднаний великою кількістю анастомозів з ендоплазматичною сіткою. Клітинний органон помірно розвинений. У цитоплазмі багато вільних полісом, цистерни ЕС дещо розширені, мітохондрії майже круглі з короткими гребінчастими кристами, що радіально йдуть від внутрішньої мембрани до середини органели. Стан ядра і розвиток органел такого лактоцита свідчить про те, що він готується до синтезу білка. Їх умовно можна назвати *підготовчими* або *молодими* лактоцитами.



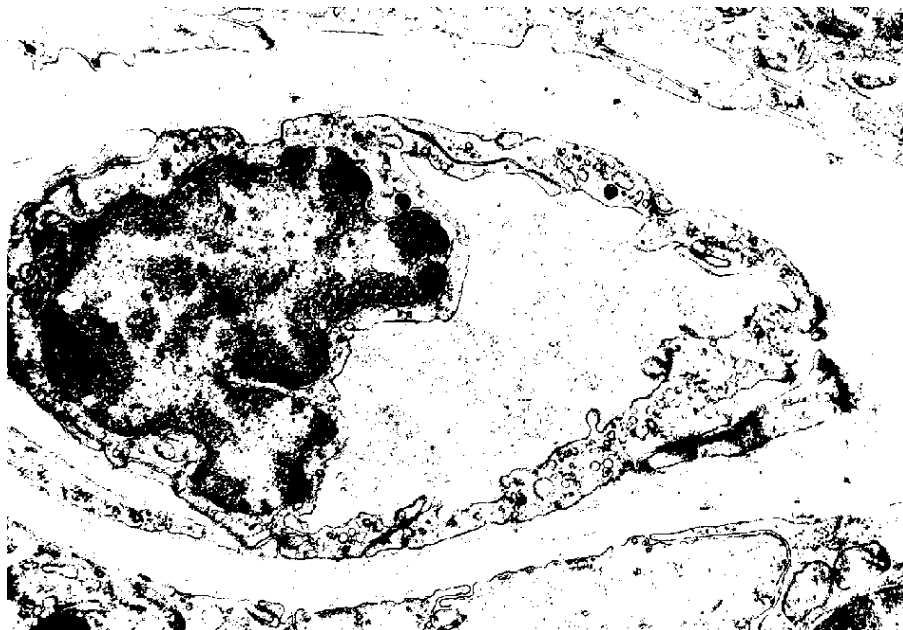
Мал. 1.
Лактоцити:
початковий
(праворуч) і
білоксинтезійний
(ліворуч) з великою
білковою гранулою.
Зб. 12000x

Як в останні дні вагітності, так і безпосередньо після родів, виявляється відносно велика кількість базальних ясних клітин, частина з яких перебувають на стадії диференціації як у бік лактоцитів, так і міоепітеліальних клітин.

Напередодні родів у альвеолах залози з'являється більше клітин з ознаками активного секреторного процесу з добре розвиненим білоксинтезним комплексом. Такі *початкові* молочні криноцити характеризуються наближеною до кубічної формою, ядро в основному округле. Перинуклеарний простір дещо розширений. У цитоплазмі знаходиться добре розвинений клітинний органон, особливо багата гранулярна ЕС, мітохондрії більш овальної форми. Секреторні вклучення — білкові гранули — в основному дрібні, містять осміюфільні вклучення різної електронної щільності. Білкові гранули частково оточені мембраною.

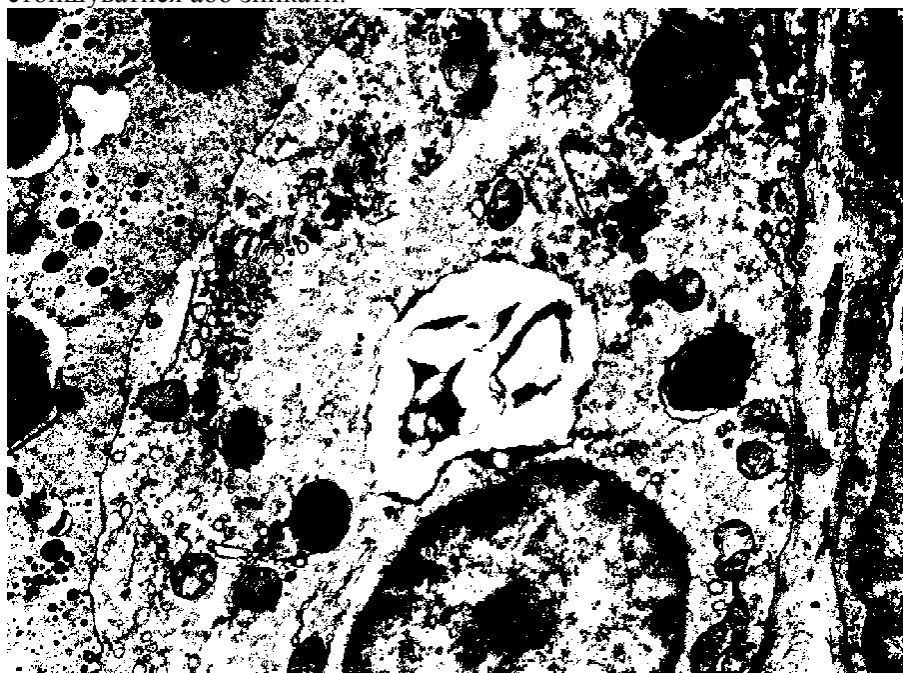
Безпосередньо перед родами і в перші дні лактації кровоносні капіляри густою сіткою обплітають альвеоли. Стінку капіляра формують ендотеліоцити, які щільно контактують між собою. Вони мають безперервну ендотеліальну стінку без пор і фенестр з суцільною базальною мембраною. На поперечному перерізі капіляра найчастіше видно три ендотеліоцити, з яких один з перикаріоном, а два інших представлені периферичними стоншеними ділянками. Це так звані ламелярні зони ендотеліальних клітин. На люмінальній поверхні ендотеліоцит часто містить декілька мікроворсинок рівномірної товщини і різної висоти.

Ядра ендотеліоцитів мають наближену до округлої або трикутну форму з незначними інвагінаціями, містять переважно дифузний хроматин, особливо в центральній частині ядра, невелике ядрце. Овальної форми мітохондрії з рідко розміщеними кристами знаходяться поблизу ядра, ендоплазматична сітка у вигляді коротких цистерн з прилеглими до них полісомами. Мікропіноцитозні міхурці переважно невеликі круглої форми, розміщені в периферійних ділянках цитоплазми ендотеліоцитів. Деякі міхурці вузькою шийкою з'єднані з плазмолемою. Поодинокі більші везикули мають овальну форму, розміщені вільно в цитоплазмі, хоч можуть з'єднуватися з дрібними міхурцями. Контакти між ендотеліальними клітинами звичайно мають форму товстих пластинок з вузькою щілиною.



Мал. 2.
Капіляр, оточений
метаболічним
прошарком.
Ліворуч ядро
ендотеліоцита.
Зб. 8000х

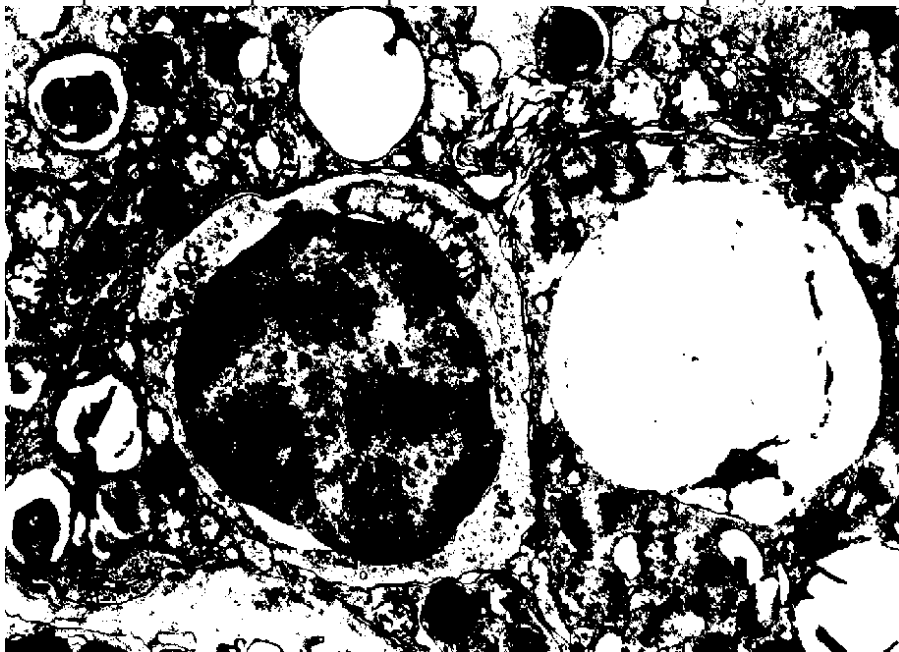
На поверхні зрізу кожного ендотеліоцита знаходиться від одного до трьох відростків перицита, базальна мембрана якого зливається з базальною мембраною ендотелію. Можливо це розшарована базальна мембрана ендотелію, яка охоплює перицит, особливо його відростки, оскільки на зовнішній поверхні перинуклеарної ділянки перицита базальна мембрана може стоншуватися або зникати.



Мал. 3.
Колостральний
лактоцит.
У центрі характерна
гранула з
нагромадженням
осміофільних
включень.
Зб. 10000х

У перші дні лактогенезу, в так званий молозивний період, з'являються лактоцити, які відрізняються від описаних клітин. Поряд з добре розвиненими органелами гранулярної ЕС і комплексом Гольджі та білковими гранулами містяться особливі білкові включення з залишками мембран, які мають розмиті контури. Як правило вони містять великі осміофільні включення в середині гранул. Дані показники свідчать про позалактоцитне походження цих включень. Можливо, що ці секреторні включення потрапили в ацинозні клітини шляхом ендцитозу з плазми крові через капіляри або з плазмодитів і повинні бути у складі секрету — молозива. Такі лактоцити названі нами умовно *колостральними* через те, що вони з'являються

в молозивний період, мають характерні білкові гранули із залишками великої кількості осміофільних мембран і з завершенням молозивного періоду зникають.



Мал. 4.
Лімфоцит у стінці альвеоли між двома лактоцитами. Праворуч у лактоциті велика білкова гранула. Зб. 7000x

У товщі стінки альвеоли молочної залози в період молозивної секреції виявляються лімфоцити з добре розвиненими мітохондріями, цистернами і канальцями едоплазматичної сітки, а також з полісомами в цитоплазмі. Поряд з колостральними і білоксинтезними лактоцитами зустрічаються також плазмоцити.



Мал. 5.
Ліпідпродукційний лактоцит. Ліворуч ядро, праворуч і зверху великі ліпідні глобули з артефактом смугастості. Зб. 11000x

Капіляри, що прилягають до альвеол в молозивний період, дещо відрізняються від описаних у період перед родами. Вони мають ширші просвіти, більш тонкі периферичні стоншені ділянки, меншу кількість низьких мікрворсинок. Біля міоендотеліальних контактів часто знаходяться лімфоцити.

Характерною особливістю капілярів молочної залози під час лактації є широкий просвітлений перикапілярний простір з малою кількістю мікрофібрилярних утворів, що проходять у різних напрямках. Звичайно цей простір ширший у місцях розміщення лактоцитів з добре розвиненим синтезійним апаратом і вужчий там, де за простором знаходяться

міоепітеліальні клітини, або лактоцити, наповнені секреторними включеннями, тобто такі, що закінчили в даний момент секреторний цикл. Зовнішній контур перикапілярного простору відокремлений від лактоцитів та міоепітеліальних клітин базальною мембраною з дещо тоншим шаром *Lamina densa*, яку супроводить чітко виражена *Lamina rara interna*.



Мал. 6.
Ескузивний
лактоцит. Навколо
ядра цитоплазма
наповнена ліпідними
глобулами різної
величини.
Зб. 7000х

У максимумі лактаційного процесу з'являються криноцити, які знаходяться на різних стадіях секреторного процесу. Більшість лактоцитів мають кубічну форму з ядром округлої форми, в якому міститься дифузний хроматин. У цитоплазмі знаходяться добре розвинені органели, особливо багатий білоксинтезний комплекс — гранулярна ендоплазматична сітка з дещо розширеними цистернами і великою кількістю асоційованих рибосом. Секреторні включення і білкові гранули невеликі, рівномірно розміщені в цитоплазмі. Вони бувають частково оточені мембраною і містять більші або менші осміофільні включення. У таких лактоцитах можуть знаходитися невеликі ліпідні глобули. Означені альвеолярні клітини синтезують переважно білкові гранули — це *білоксинтезні* лактоцити.

Криноцити з переважним ліпідутворюваними функціями (*ліпідопродукційні* лактоцити) характерні тим, що мають добре розвинену гладку ендоплазматичну сітку помежовану з овальними мітохондріями і ліпідні глобули різного розміру і ступеня зрілості, які займають переважно апікальну частину криноцита.

В *екструзивних* лактоцитах ліпідні глобули частково або з усіх сторін оточені мембранами. Для великих глобул характерний *артефакт смугастості*, який виникає при різанні твердих, осміофільних включень. Чим більші глобули, тим вони сильніше осміофільні. Особливістю цих лактоцитів є те, що поряд з ліпідними включеннями завжди виявляється слабо розвинена гладка ЕС і дрібні мітохондрії. Часто в таких лактоцитах виявляються лізосоми.

Одночасно з цим виявляється багато клітин ацинарного компартменту в стані голокринової секреції, для яких характерне руйнування плазмолемі. В ядрі цих клітин переважає конденсований хроматин. Цитоплазма ацинарних клітин на перших порах переповнена жировими включеннями. Голокринові клітини альвеол можуть мати ознаки деструкції різної глибини, аж до перетворення їх у секреторний детрит. Слід відзначити наявність різниці між ліпідними глобулами, які з'явилися в просвіті альвеол внаслідок мерокринової, апокринової та голокринової секреції. Ця різниця полягає в оформленні глобул. На нашу думку при мерокриновій секреції ліпідні глобули не оточені мембранами. При апокриновій вони як правило мають мембрани лише з одного боку, тоді як глобули, що виникли внаслідок голокринового типу секреції, оточені мембраною майже з усіх боків.



Мал. 7.
Секреторний дендрит
у просвіті альвеоли.
Внизу ядро в стані
деструкції.
36. 9000x

Капіляри в період інтенсивної секреції відзначаються головним чином тим, що в периферійних ділянках цитоплазми містять багато мікропіноцитозних везикул.

На другий день після відлучення малят від матері відзначається перша фаза інволюції молочної залози. Вона характеризується появою поодиноких лактоцитів з явищами *апоптозу*. Такі клітини мають сплющену форму. Ядро слабо деформоване з відсутністю перинуклеарного простору, маргуїнізацією хроматину і вакуолізацією центральної частини ядра. Ендоплазматична сітка значно розширена, окремі цистерни можуть займати від 1/3 до 1/2 площі цитоплазми. При подальших деструктивних змінах у цитоплазмі залишки мембран цих органел формують своєрідний кластер — скупчення фрагментів мембран.

Поряд з цим гемокапіляри змінюються незначно. Вони, як і в лактаційний період, густо сіткою обплітають альвеоли. Цитоплазма перикаріона ендотеліоцитів як правило вузька, бідна піноцитозними міхурцями. На люмінальній поверхні ендотеліоцитів містяться невеликі мікроворсинки. Місцями дещо змінюється перикапілярний метаболічний прошарок. Він стає світлішим, тканина розволонена. Базальна мембрана капілярів локально має розпливчасті контури.

На третій-четвертий день після відлучення малят відбувається часткове відокремлення груп лактоцитів від базальної мембрани альвеоли і деструкція цих лактоцитів продовжується в просвіті ацинуса. Ендотеліоцити гемокапілярів реагують по-різному в залежності від сусідства їх з альвеолами. Відбувається диференціація ендотеліальних клітин на ясні і темні. При цьому темні ендотеліальні клітини розташовуються поряд з лактоцитами зі збереженою структурою. Вони мають стоншену периферійну ділянку цитоплазми з видовженими мікроворсинками. Цитоплазма таких ендотеліоцитів інтенсивно осміофільна. В ній добре видно органели. Окремі мітохондрії зморщені і мають деформовані кристи. Піноцитозні міхурці поодинокі і дрібні. Метаболічна зона між темним ендотеліоцитом і активними лактоцитами широка і містить багато міхурців різних розмірів та форми, а також осміофільні скупчення невизначеної форми.

Світлі ендотеліальні клітини розміщені з протилежного боку капіляра, характеризуються потовщеною цитоплазмою і відсутністю мікроворсинок на люмінальній поверхні. Цитоплазма має ознаки набряку, мітохондрії деформовані з майже повною деструкцією крист. У цитоплазмі таких ендотеліоцитів знаходиться декілька великих лізосом з інтенсивно базофільним вмістом. Цитоплазма світла, піноцитозні міхурці майже відсутні. Перикапілярний прошарок (метаболічна зона), що прилягає до цього ендотеліоцита і межує з лактоцитом, перебуває в стані деструкції, дуже вузький. Базальна мембрана з обох боків має розпушену щільну пластинку, а зовнішня світла пластинка зливається з перивазальним простором.



Мал. 8.
Метаболічний простір (внизу) з піноцитозними міхурцями різних розмірів і форм. Зверху праворуч просвіт альвеоли. Зб. 9000x

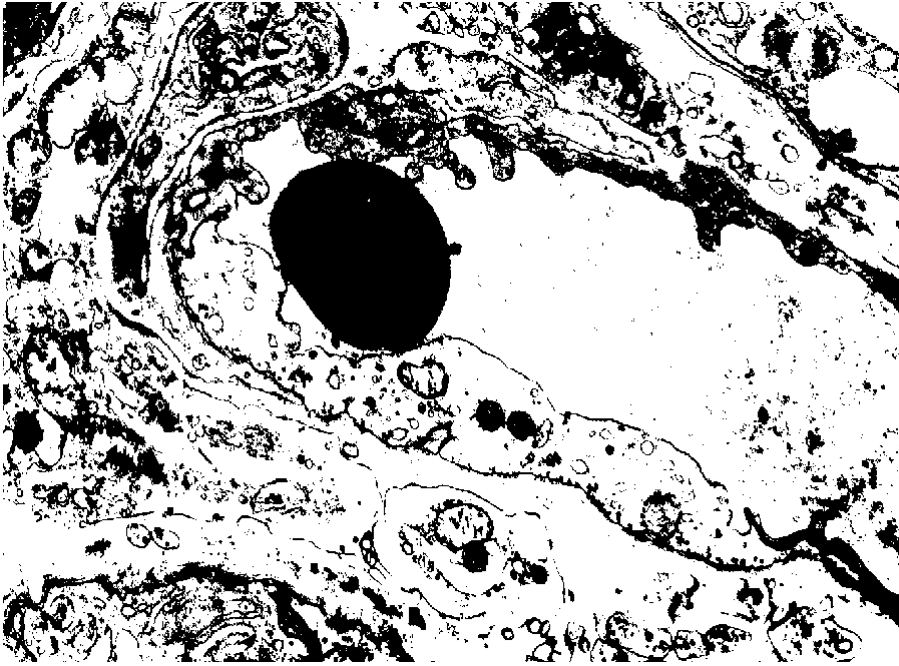
На другому етапі через 3-4 дні після відняття малят відзначається деградація лобуло-альвеолярного компартменту залози, місцева деструкція базальної мембрани і відрив лактоцитів. Вони виявляються в просвіті альвеол, де продовжується процес їх деструкції. При деградації базальної мембрани настає колапс альвеол і дестабілізація клітинних мембран. Наявність дериватів у збереженій частині лактоцита свідчить про те, що ця клітина функціонально малоактивна. Відмінність такої форми програмованої загибелі клітин від їх апоптозу полягає в тому, що тут процес починається з порушення міжклітинних зв'язків.

Одночасно в мікрогемосудинах спостерігається набряк. Ядра ендотеліоцитів мають складки. Перинуклеарний простір відсутній. Цитоплазма ендотеліоцитів значно потовщена. В таких ендотеліоцитах знаходиться мала кількість піноцитозних міхурців різних розмірів. В окремих кровеносних судинах трофічного рівня настає деформація і апоптоз ендотеліоцитів, колапс та редукція капілярів.

На п'ятий день після відлучення малят спостерігається найбільш глибоке порушення структури лобуло-альвеолярних компонентів з ознаками колапсу. Деструкція лактоцитів продовжується в просвітах капілярів, деякі криноцити руйнуються *in situ*, починаючи з апікального полюса. Зростає число апоптозних тіл — обмежених плазмолемою утворів, які відзначаються чіткою маргінізацією хроматину з його мікрофрагментацією, відсутністю в каріолемі перинуклеарного простору. У цитоплазмі спостерігається розширення цистерн ендоплазматичної сітки, фрагментація мембранних утворів цитоплазми, утворення своєрідного кластера.

Означені зміни лобуло-альвеолярних комплексів супроводжуються регресією капілярного русла, настає своєрідний колапс капілярів. В окремих ендотеліоцитах спостерігається міграція хроматину з його мікрофрагментацією і маргінізацією, деструкція органел цитоплазми. У фагоцитах, що знаходяться в стінках альвеол, з'являється багато вторинних лізосом з інтенсивним осміофільним вмістом. У стромі залози з'являються активні фагоцити і кількість жирових клітин збільшується.

Отже, апоптоз лактоцитів служить причиною швидкої регресії капілярного русла. Кількість інтроепітеліальних макрофагів в альвеолах збільшується, в них з'являється ліпофусцин. Макрофаги або залишаються в епітелії або мігрують в інтерстиціальну тканину, а відтак у регіональні лімфовузли. Характерним результатом інволюції залози є стискання тканин без руйнування її базової архітектури.



Мал. 9.
Гемокapіляр: “темні”
(зверху) і “ясні”
(знизу)
ендотеліоцити.
У просвіті капіляра
еритроцит.
Зб. 7000x

Під час підготовки до наступної лактації відбуваються зміни в базальних ясних клітинах залози. У них поступово збільшується кількість елементів ЕС і полісом, зростає кількість цистетн і збільшуються їх розміри, мембрани ендоплазматичної сітки вкриваються полісомами. Ядро в малодиференційованих лактоцитах містить деконденсований хроматин, а перинуклеарний простір каріолеми рівномірно розширений. У цитоплазмі знаходиться майже виключно гранулярна ЕС, мітохондрії дрібні, наближені до овальної форми, комплекс Гольджі складається з окремих диктіосом.

Перед народженням малят у молочній залозі самки альвеоли містять лактоцити різних рівнів зрілості і секреторної готовності. Переважають криноцити з добре розвиненим білоксинтезійним апаратом з малою кількістю дрібних білкових включень. У великих білкових гранулах містяться осміофільні мембраноподібні включення з ознаками деструкції цих утворів. Місцями в цитоплазмі альвеолоцитів поряд з трубками гладкої ЕС виявляються скупчення ліпідних глобул.

Капіляри залоз у передродовий період добре розвинені. Їх ендотеліальні клітини в період підготовки до родів мають слабо розвинений синтезуючий і енергопродукуючий апарати. В ендотеліальних клітинах вирізняється мікропіноцитозний комплекс, який має пряме відношення до транспортної функції. Перицити мають плоскі відростки, які охоплюють капіляр. Зверху майже до кожного ендотеліоцита прилягає оточений базальною мембраною відросток перицита. Однак окремі тонші його ділянки можуть щільно прилягати до ендотеліальної клітини. Перикапілярний простір має рівномірну ширини, містить мікрофібрилярні утвори, що проходять у різних напрямках з незначною щільністю.

Висновки

Узагальнюючи отримані нами результати досліджень та дані літератури, можна дійти висновку, що в молочній залозі здійснюються циклічні зміни секреторних клітин — лактоцитів. Відзначено такі перехідні форми лактоцитів: підготовчі, початкові, колостральні, білоксинтезійні, ліпідопродукційні, екструзивні та голокринові.

Під час секреторного процесу в залозі відбувається одночасна перебудова лактоцитів, мікрогемосудин і перикапілярних, або альвеоло-гемосудинних прошарків, які є своєрідними метаболічними зонами альвеол органу. За посередництва цих метаболічних зон здійснюється взаємодія між лактоцитами і гемосудинами трофічного рівня протягом секреторного циклу.

Коли кількість секреторних включень у криноцитах досягає певної критичної точки, настає голокринова секреція — клітина розпадається на секреторний детрит.

Після завершення лактаційного процесу молочна залоза підлягає екстенсивній тканинній реструктуризації, при якій відзначається щонайменше три стадії змін в органі. У першу чергу, під впливом апоптозіндукуючих факторів настає програмована смерть (апоптоз) окремих активних лактоцитів. На другій стадії має місце альтерація епітеліально-мезенхімних взаємовідносин з наступною деградацією екстраальвеолярного матриксу і деструкцією базальної мембрани. На останній стадії реструктуризації залози відзначається колапс альвеол і мікрогемосудин, які їх обслуговують, що завершується редукцією лобуло-альвеолярного компартменту залози. Однак зазначені процеси не призводять до тотальної деструкції базової архітекtonіки органа. Основою для ремоделювання функціональних структур молочної залози служать базальні ясні клітини часток, які є джерелом лактоцитного і міоепітеліального диферонів органа.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дроник Г.В. Гормональна регуляція метаболічної активності молочної залози жуйних. Автореф. дис. ... докт. біол. наук. 03.00.13. Інститут біології тварин УААН. — Львів, 1994. — 48 с.
2. Кудakov Ю.А. Изменение трансэндотелиального транспорта в микрососудах молочной железы в условиях функциональной гиперплазии и постлактационной инволюции органа // Патоморфология и клиническая патология сердца и сосудов. — Ярославль, 1991. — 183 с.
3. Furlong E.E.M., Keon N.K., Thornton F.D. et al. Expression of a 74-kDa nuclear 1 (NF1) protein is induced in mouse mammary gland involution. Involution-enhanced occupation of a twin NFI binding element on the testosterone-repressed prostate message-2 (clusterin promoter) // J. Biol Chem. — 1996. — Vol. 22(271), N 47. — P.1968-1997.
4. Heermeier K., Benedict M., Li M., Furth P., Nunez G. Hennighausen L. Bax and Bcl-x_s are induced at the onset of apoptosis in involuting mammary epithelial cells // Mech DeVol. — 1996. — Vol. 56, N 1-2. — P. 197-207.
5. Kaska S., Grun E., Mielkie H. Investigation on the composition of milk after artificial induction of lactation in 12 to 19 month old heifers // Berliner und Münchener Tierarztl. Wochenschr. — 1995. — Vol. 108, N 9. — P. 333-338.
6. Le Roith, Neuenschwander S., Wood T.L., Hennighausen L. Insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 inhibit involution of the mammary gland following lactation: studies in transgenic mice // Prog Growth Factor Res. — 1995. — Vol.6, N 2. — P. 4.
7. Li M., Hu J., Heermeier K., Hennighausen L., Turth P.A. Apoptosis and remodeling of mammary gland tissue during involution proceeds through p-53-independent pathways// Cell Growth Differ. — 1996. — Vol. 7, N 1. — P. 13-20.
8. Lund L.R., Rimer J. Thomasset N. et al. Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase-independent and — dependent pathways// Developmnt. — 1996. — Vol. 122, N 1. — P. 181-193.
9. Marti A., Feng Z., Altermatt H.J., Jaggi R. Milk accumulation triggers apoptosis of mammary epithelial cells// Eur. Cell Biol. — 1997. — Vol. 73, N 2. — P. 158-165.
10. Marti A., Jehn B., Costello E. et al. Protein kinase A and AP-1(c-Fos/JunD) are induced during apoptosis of mouse mammary epithelial cells // Oncogene. — 1994. — Vol. 9, N 4. — P. 1213-1223.
11. Mc Kanna J.A. Lipocortin 1 in apoptosis: mammary regression // Anat. Rec. — 1995. — Vol. 242, N 1. — P. 1-10.
12. Querrie L.H., Addey C.Vol., Wilde C.J. Apoptosis in lactating and involuting mouse mammary tissue demonstrated by nick-end DNA labeling // Cell Tissue Res. — 1995. — Vol. 281, N 3. — P. 413-419.
13. Srivastava M.D., Srivastava B.I.S. Vascular endothelial growth factor in human milk// Medical — Science — Research. — 1998. — Vol. 26, N 6. — P. 419-421.
14. Travers M.T., Barber M.C., Tonner E. et al. The role of prolactin and growth hormone in the regulation of casein gene expression and mammary cell survival: relationships to milk synthesis and secretion // Endocrinology. — 1996. — Vol. 137, N 5. — P. 1530-1539.

INTERACTION BETWEEN LACTOCYTES AND MICROHAEMOVASELS DURING SECRETORY CYCLE AND POSTLACTATING RESTRUCTURISATION OF MAMMARY GLAND

We described following transitional form of lactocytes during lactation cycle: preparatory, initial, colostrals, proteinsynthetical, lipidoproduative, extrusive and holocrinale form. It was found that haemocapillaries are intimately interacted with milk crinocytes. Pericapillary space formed the original metabolic zone between the capillary vessel and adjoining lactocytes of the alveole wall. In weaning period the clear space of the capillary get narrow some of them felled to desolate. Disruption of the basic architecture of mammary gland in the weaning period is not observed.

Надійшла 30.01.2001

УДК 612.769

К.О. Багнюк

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2

ДЕЯКІ ФІЗІОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ БОРЦІВ У ЗВ'ЯЗКУ З ВИДОМ БОРОТЬБИ ТА СПОРТИВНИМИ ДОСЯГНЕННЯМИ

фізіометрія, спортивна боротьба, силова та загальна витривалість борців

У ході підготовки борців враховуються як морфологічні особливості будови їх тіла, так і функціональні можливості опорно-рухового апарату та вегетативних органів [2, 5]. Серед багатьох показників індивідуальних особливостей організму великий інтерес становлять антропометричні ознаки, які визначають силу, витривалість, працездатність та спортивні досягнення [1, 4]. Більшість даних з цієї проблеми одержані при обстеженні борців греко-римської боротьби [6].

Метою нашого дослідження було прослідкувати вплив специфіки фізичних вправ, що застосовуються у вільній та греко-римській боротьбі, на деякі фізіометричні показники борців обох видів боротьби.

Матеріали і методи досліджень

Обстежено 10 борців, які займаються греко-римською боротьбою (9-мс, 1-кмс) та 10 борців вільного стилю (7-мс, 3-кмс). Групи були однорідні за зростом і масою тіла: 40 %-високорослі і 60% — середньорослі [6].

Визначали силу нервової системи за методикою “теппінг-тесту” Є. П. Ільїна [3], життєву місткість легень (ЖЄЛ), кистеву динамометрію та станову силу, силовий та життєвий індекси. Про силову витривалість та швидко-силові якості судили за кількістю підтягувань на перекладині за 10 с, часі утримання тулуба в стані розгинання і боковому положенні та максимальній кількості рухів кистю протягом 10 с. [5].

Одержані дані опрацьовували статистично з використанням показників вірогідності різниці.

Результати дослідження і їх обговорення.

Проведені обстеження показали, що 40 % борців греко-римської боротьби мали середньо-слабку нервову систему, 30% — сильну, 20% — середню і лише 10% — слабку. У борців вільного стилю результати були дещо інші: 30% з них мали середньо-слабку нервову систему, 50% — слабку, 10% — середню і 10% — сильну. Після об'єднання осіб із сильною і середньою нервовою системою та з слабкою і середньо-слабкою одержали наступне: для

борців греко-римської боротьби ці величини будуть рівними — 50% на 50 %, а для борців вільної боротьби — 80% і 20 %.

Очевидно для виконання прийомів боротьби вільного стилю важливим для борців є не стільки сила нервової системи, скільки рухливість нервових процесів і відчуття намірів противника. Відомо (3), що в слабкості нервової системи є й позитивні сторони — її висока чутливість.

У борців вільної боротьби була більшою і максимальна частота рухів кисті (“теппінг-тест”) протягом 10 с., а саме: $79,9 \pm 16,0$ проти $65,5 \pm 8,5$ у борців греко-римської боротьби. У провідних борців вільного стилю цей показник становив 93 і 112.

Як відомо [2, 5] однією з умов досягнення високих результатів борцями є загальна і силова витривалість. Про загальну витривалість ми судили за величиною життєвого індексу (відношення ЖЄЛ до маси тіла в %), який у борців греко-римської боротьби був набагато більшим, ніж у борців вільного стилю (на 24,2%, $p=0,001$). “Грекоримляни” випереджували “вільників” і по інших досліджуваних показниках: кількості підтягувань на перекладині за 10 с, часі утримання тулуба в розігнутому стані і боковому положенні (таблиця).

Таблиця

Порівняльні дані силової і загальної витривалості борців вільної і грекоримської боротьби

№	Показники	Вид боротьби		Величина змін (абсол. величина / p)
		вільна	греко-римська	
1.	Станова сила, кг.	$185,4 \pm 11,4$	$175,2 \pm 12,2$	$+10,2 / >0,1$
2.	Кистева динамометрія, кг	$64,9 \pm 5,0$	$64,4 \pm 5,7$	=
3.	Силовий індекс, %	$83,3 \pm 9,3$	$82,8 \pm 8,1$	$+0,5 / <0,5$
4.	ЖЄЛ, мл	$4180,0 \pm 684,7$	$5766,6 \pm 440,1$	$-1586,6 / <0,001$
5.	Життєвий індекс, %	$53,8 \pm 8,8$	$78,0 \pm 6,3$	$-24,2 / =0,001$
6.	Кількість підтягувань на перекладині за 10 с.	$7,8 \pm 1,8$	$10,7 \pm 1,0$	$-2,9 / <0,001$
7.	Час утримання тулуба в стані розгинання, хв.	$1,5 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,9$	$-2,7 / =0,001$
8.	Час утримання тулуба в боковому положенні, хв.	$1,1 \pm 0,3$	$2,05 \pm 0,4$	$-0,5 / >0,01$

Ці показники свідчать про більшу загальну і силову витривалість борців греко-римської боротьби та кращі швидко-силові якості. Найбільші величини ці показники мали у провідних борців і перевищували середні дані на 12,1-27,5%.

У борців вільного стилю була більшою лише станова сила. Щодо силового індексу, то він виявився високим для борців обох видів боротьби. Провідні борці вільної боротьби від своїх товаришів різко виділялись за показниками силового і життєвого індексів і меншою мірою за іншими досліджуваними показниками. У цілому їх показники загальної і силової витривалості та швидко-силової якості були нижчими від аналогічних показників борців греко-римської боротьби.

Отже, борці греко-римської боротьби характеризуються більшою силовою і загальною витривалістю. Половина із них має сильну і середню нервову систему. Борці вільного стилю переважають над “греко-римлянами” лише за величиною станової сили та максимальному темпі рухів кистю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бельский И. В. Модель специальной силовой подготовленности пауэрлифтеров // Теор. и практ. физической культуры. — 2000. — № 1. — С. 33-35.
2. Дахновський В. С., Лещенко С. С. Подготовка борцов высокого класса. — Киев: Здоровье, 1989. — С. 3-61.
3. Ильин Е. П. Сила нервной системы и методики ее исследования. Психофизиологические основы физического воспитания и спорта. — Л., 1972. — С. 4-29.

4. Никитюк Б. А. Соматотипология и спорт // Теор. и практ. физич. культуры. — 1982. — №5. — С. 26-28.
5. Станков А. Т., Климин В. П., Письменский И. А. Индивидуализация подготовки борцов. — М.: ФИС, 1984. — 240 с.
6. Туманян Г. Е., Мартиросов Э. Г. Телосложение и спорт. — М.: ФИС, 1976. — С. 148-185.

К.О. Bahnyuk

SOME PHYSIOMETRICAL PARAMETERS OF THE FIGHTERS IN CONNECTION WITH A TYPE OF WRESTLING AND SPORTS ACHIEVEMENTS

The fighters of the Graeco-Roman wrestling are characterized by the greater power and common persistence. Half from them has strong and medium nervous system. The fighters of free-style wrestling dominate above “Graeco-Roman wrestling FIGHTERS” only behind size of class force and maximal rate of locomotions by a brush.

Надійшла 28.01.2001

БІОХІМІЯ

УДК 577.121.7:597.554.3

В.В. Грубінко¹, В.О. Арсан², І.М. Коновець²

¹Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2

²Інститут гідробіології НАН України
04210 Київ, пр. Героїв Сталінграда, 12

ЕНЕРГЕТИЧНИЙ СТАТУС ОРГАНІЗМУ РИБ ЗА ІНТОКСИКАЦІЇ АМІАКОМ

аміак, інтоксикація, енергетичні субстрати, енергетичні цикли, аденілатний енергетичний заряд, корон

Забруднення внутрішніх водойм, включно рибогосподарських, є одним з лімітуючих факторів функціонування водних екосистем та їх біопродуктивності. У зв'язку з цим вивчення фізіолого-біохімічних механізмів адаптації та обмінних процесів у риб в умовах забруднення водних екосистем токсикантами є однією з головних умов розробки ефективних засобів та способів підвищення стійкості їх організму до нових умов існування.

Найбільшу небезпеку для риб становлять ті речовини, які у фізіологічних концентраціях є інтермедіатами обміну речовин у них, і одночасно за підвищення вмісту у водному середовищі та організмі — токсикантами. Одним із таких метаболітів риб є аміак.

Дослідження впливу аміаку на риб актуальне принаймні з декількох причин. По-перше, вклад аміаку у формування токсичності водного середовища значний завдяки інтенсивним процесам анаеробної біодеструкції у водоймах, частка яких останнім часом зростає внаслідок підвищення загального забруднення водойм. По-друге, аміак є біополнотантом гідробіонтів і нагромаджується у водному середовищі у значних концентраціях при застосуванні методів інтенсивного риборозведення та у системах аквакультури з замкненим водопостачанням. По-третє, відомо, що за несприятливої дії абіотичних факторів середовища (неоптимальні температури, голодування, гіпоксія і ін.) та за дії будь якого токсиканту у організмі риб посилюється катаболізм білків, за рахунок чого утворюються значні кількості ендogenous аміаку, який є вторинним токсикантом поряд з токсикантом-індуктором. По-четверте, оскільки аміак є проміжною сполукою обміну речовин у риб, кінцевим продуктом азотого метаболізму і водночас у високих концентраціях токсикантом, слід очікувати, що у риб до цієї речовини, як і до інших аналогічних метаболітів, в процесі еволюції виробилися ефективні захисні механізми адаптації та внутрішньоклітинні системи регуляції метаболізму. Тому інтоксикація організму риб аміаком є зручною моделлю для дослідження механізмів забезпечення фізіолого — біохімічної адаптації риб до токсикантів. Розуміння останнього може мати як значне теоретичне, так і практичне значення у пошуку засобів корекції обміну речовин у риб за токсичних умов, оскільки механізми їх адаптації до токсикантів можуть бути універсальними, так само, як до інших абіотичних факторів середовища [48]. Якщо структурна організація і функціонування адаптивних систем в останньому випадку досить добре відомі, то формування адаптивних функцій у організмі риб до токсикантів на фізіолого-біохімічному рівні практично не вивчена. Крім того, у даний час дослідження впливу токсикантів на

гідробіонтів обмежується встановленням ЛД₅₀ та констатацією порушень токсикантом певних функцій у організмі. Тим часом, за даними [46] відповідь організму на дію токсиканту є результатом взаємодії двох процесів: деструктивних (пошкодження) та компенсаторно-адаптивних (захисних). Їх співвідношення визначає рівень токсичності водного середовища для риб та витривалість гідробіонтів до дії токсикантів. Однак щодо жодного токсиканту в даний час співвідношення фізіолого-біохімічних механізмів пошкодження та адаптивно-компенсаторні реакції не досліджено. Модель аміакового токсикозу є зручною для дослідження цих процесів. Проте дані про особливості енергетичного забезпечення організму риб при інтоксикації аміаком досить різноспрямовані і несистемні.

Характерним для гідробіонтів явищем, яке пов'язане з можливістю та високою швидкістю анаеробного окиснення білків у їх організмі і необхідністю протікання цього процесу через часте виникнення кисневого голодування та низьку інтенсивність аеробного окиснення вуглеводів і ліпідів є використання білків і інших азотових сполук як енергетичних субстратів [40, 49]. У видів, які характеризуються низьким споживанням кисню (до них належить і короп), це явище має місце навіть при високому його рівні у водному середовищі. У додаток до цього, будь-яка токсична дія приводить до збільшення інтенсивності обміну білків, що проявляється у посиленні катаболічних процесів. Зниження рівня загального білку у печінці, м'язах та нирках риб виявлено за дії фенолу [23], пестицидів [71, 72, 80, 84], важких металів [86], політоксикозах, викликаних комплексом токсикантів техногенного походження [24]. За рахунок цього в організмі риб відбувається інтенсивне продукування, а завдяки порушенню газообміну, нагромадження аміаку. Розвивається вторинний токсикоз, викликаний аміаком, який спричинює формування нейро-фізіологічного синдрому стресу. Аналогічні ефекти характерні і для токсичної дії екзогенного аміаку. У роботах [16, 74] зазначається, що дія екзогенного аміаку викликає його нагромадження у тканинах риб як за рахунок зниження виділення, так і завдяки посиленню утворення шляхом дезамінування азотових органічних сполук. Свідченням останнього є зниження у тканинах риб, витриманих у токсичному по аміаку середовищі, вмісту білку [77] та збільшення за рахунок їх розпаду концентрації вільних амінокислот в крові [76].

Про стійкий катаболічний стрес-синдром за дії аміаку свідчить також активування ферментів дезамінування. У зябрах, печінці та м'язах намулистого стрибуну за аміакової інтоксикації виявлено зростання активності глутаматдегідрогенази і фосфат-залежної глутамінази та ферментів перерозподілу азотистих ресурсів організму — аланін- та аспартамінотрансфераз [55]. Автори даної роботи вважають, що основним метаболічним шляхом амоніогенезу в цих умовах є глутаматдегідрогеназний шлях [20]. Підвищення інтенсивності його функціонування виявлено також в коропа, товстолобика і сома за діє аміаку в межах від 20 до 2000 мкг/л [63, 74]. У більшості цитованих вище робіт виявлені зміни пов'язуються з використанням рибами білкових ресурсів організму у процесах енергозабезпечення. Щодо останніх, то відомо, що адаптацію риб до ксенобіотиків (інсектицидів, хлорорганічних пестицидів, нафтопродуктів), в основному, забезпечують мікросомальні окиснювальні системи печінки, яка містить набір специфічних P₄₅₀ та b₅-цитохромзалежних оксидаз [36, 93]. Достатньо добре досліджено енергетичний обмін у гідробіонтів за дії на їх організм токсинів синьо-зелених водоростей [29, 30]. Встановлено, що вони викликають збільшення вмісту в печінці риб вітаміну В₁, фонду нікотинамідних коферментів, а також активують тіамінзалежні окиснювальні ферменти. Вплив важких металів, які першочергово діють на білкові структури ферментів, проявляється у порушенні ними асоціації апоферменту з коферментом [30] та структурній модифікації білків крові, печінки і м'язів, включно ферментів енергетичних циклів [19]. Перераховані речовини для організму риб є ксенобіотиками, тому у відповідь на їх дію відбувається підвищення інтенсивності обміну речовин та мобілізація енергетичних ресурсів організму у зв'язку з необхідністю ізолювання, перетворення і виведення цих сполук із клітин. При цьому значно збільшуються енерговитрати. Для забезпечення останніх активуються основні енергетичні цикли. За інтоксикацій головний вклад в енергозабезпечення належить гліколізу [30]. Тому енергетична характеристика організму риб, інтоксикованих ксенобіотиками, аналогічна стану функціональної гіпоксії.

Щодо біохімічних механізмів енергетичної адаптації риб до дії токсичних рівнів власних екзометаболітів та біогенів, включно аміаку, то до останнього часу на їх вивчення звертали мало уваги.

Однак зрозуміло, що структурно-функційні зміни у зябрах, які спричинює аміак, приводять до зниження поглинання рибами кисню [16, 74] і розвитку у їх тканинах аноксії [58]. За рахунок цього відбувається мобілізація глікогену в гліколіз, яку за аміакової інтоксикації виявлено у коропа, сома та товстолоба [74], а також у мозамбікської тіляпії [51]. При цьому у зябрах та печінці виявили зростання активності фосфорилази і альдолази [51], а у печінці і крові — підвищення активності лактатдегідрогенази та рівнів глюкози, пірувату і лактату [74,78]. Збільшення вмісту аміаку у плазмі крові корелювало із зниженням рівня глікогену та збільшенням концентрації глюкози, пірувату і лактату. Спочатку вважали, що активування гліколізу є необхідним для додаткового продукування енергії, бо за аміакового токсикозу у організмі риб зростає рівень енерговитрат [16, 66]. Однак, пізніше було показано, що аміак у мозамбікської тіляпії знижує активність ферментів ЦТК (ізоцитрат-, сукцинат-, малатдегідрогеназ), а також цитохром-с-оксидази [51], що приводить до зменшення у тканинах рівня АТФ і зростання концентрації ADP і AMP та зниження їх енергетичного резерву [51, 78]. Крім того, автори цих робіт відмічають збільшення активності у риб за дії на них аміаку глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і роблять висновок про можливість окиснення глюкози гексозомонофосфатним шляхом. Про збільшення анаеробного окиснення вуглеводів у коропа при дії екзометаболітів риб йдеться і в роботі [40]. Із зазначеного зрозуміло, що гліколіз у риб за дії аміаку є основним шляхом енергозабезпечення організму.

Тенденція до загальної деградації резервних енергетичних субстратів характерна і для ліпідів. У печінці, селезінці та сироватці крові коропа за дії аміаку у концентрації 1,5 та 2,5 ммоль/л знижується вміст загальних ліпідів та триацилгліцеринів [42]. Одночасно відмічено зростання рівня холестерину, фосфоліпідів та вільних жирних кислот. Останнє є ще одним свідченням розвитку у риб стійкого стрес-синдрому [32].

Виявлено певні взаємозв'язки між енергетичними системами та системами детоксикації і виведення аміаку в організмі риб. Відомо про функціонування метаболічного ланцюга: утворення аміаку у NAD(P)H-глутаматдегідрогеназній реакції у тканинах гідробіонтів, його фіксація в глутамін з участю глутамінсинтетази, транспорт останнього у зябра з наступним розщепленням глутаміназою і виділенням у зовнішнє середовище. Констатується універсальність такого механізму для всіх амоніотелічних тварин [34], включно для прісноводних кісткових риб (короп) [9]. З цього приводу слід зазначити, що дані ферментні ланцюги пов'язані з перетворенням аміно- та кетокислот, які є одночасно інтермедіатами вуглеводного та енергетичного обмінів: глутамату, аспартату, глутаміну, 2-оксиглутарату, аланіну, пірувату, лактату і ін. Зміну їх вмісту спостерігали у ряді випадків дії на риб різних токсикантів, які викликають внутрішньоклітинний амоніагенез: пестицидів — діелдрину [71, 72], трихлорфосу [82], атразину [79], метилпаратіону [83]; фенолу [23]; важких металів [86]; сечовини [81]. Є повідомлення, що за інтенсивного амоніагенезу у організмі мулистого стрибуну у мозку риб при зростанні рівня глутаміну у 10 разів в 10 та 2 рази підвищується активність глутаматдегідрогенази та глутамінсинтетази [62].

У відповідь на дію аміаку виявлено також підвищення активності глутаматдегідрогенази у печінці, м'язах та мозку риб [62, 74, 78]. Однак, в останніх випадках механізми участі вказаних ферментів та їх функції у забезпеченні адаптації не вивчалися. Оскільки трансамінази і глутаматдегідрогеназа каталізують зворотні реакції і забезпечують рівновагу певних субстратів метаболічних циклів, в тому числі аміаку, або регулюють шляхом трансмембранного перерозподілу цих речовин спрямованість та інтенсивність обміну речовин, важливо дослідити роль даних ферментних шляхів у забезпеченні перерозподілу пулу інтермедіатів білкового, вуглеводного та енергетичного обмінів.

Однак, проведені дослідження не дають відповідей на питання про те, який ступінь вкладу окремих субстратів у енергозабезпеченні організму. Ще достатньо не досліджено роль окремих шляхів окиснення у енергозабезпеченні та підтриманні пулу інтермедіатів вуглеводно-енергетичного обміну і їх значення у формуванні адаптивних реакцій організму до аміаку. Не

вивчена роль таких додаткових метаболічних шляхів енергозабезпечення, які функціонують у риб за екстремального впливу на них факторів середовища, як синтез і окиснення кетонових тіл, міокіназна реакція, глюкозо-аланіновий цикл, гама-амінобутиратний шунт і ін. Глибокого аналізу відповіді організму риб на макромолекулярному і ферментному та мембранному структурно-функційному рівнях у їх взаємозв'язку, а також комплексних змін метаболічних систем у зв'язку з факторами їх регуляції, при дії аміаку не проведено. Накінець, головним недоліком проаналізованих досліджень є використання їх авторами в експериментах широкого спектру концентрацій аміаку (від 0,5 до 50,0 мг/л), серед яких є гранично допустимі, сублетальні, хронічно- та миттєволетальні. Значною варіабельністю характеризується також тривалість експозиції. Між тим, найсуттєвішим є дослідження відхилень за хронічної дії субграничних рівнів аміаку, оскільки тільки такі дослідження дають можливість виявити адаптивні зміни у організмі. Це дає змогу встановити чітку картину норми і на її основі здійснити індикацію спричинених аміаком пошкоджень, що важливо для розробки методів рибогосподарської та гідроекологічної біоіндикації.

З огляду на зазначене метою дослідження стала комплексна оцінка фізіолого-біохімічної відповіді системи енергозабезпечення організму риб за хронічної дії аміаку та розробка моделі енергетичної адаптації риб до підвищених рівнів аміаку.

Матеріали і методи досліджень

Досліди проведено на коропі *Cyprinus carpio* L. однорічного віку масою 180-200 г. Матеріал для експериментів відбирали з ставка, в якому постійно контролювався та витримувався у межах норми гідрохімічний режим та режим живлення риб кормом КШ-III-10 (Укр. НДІ рибного господарства) згідно рекомендацій з технології вирощування ставкових риб [45].

У лабораторних умовах короп витримувався у акваріумах об'ємом 200 л по 5 екз. з відстояною водопровідною водою та системами підтримання постійного газового та температурного режимів, які не відрізнялися від природних. Вміст кисню у воді акваріумів становив 7,0-8,0 мг/л, вуглекислого газу — 2,2-2,8 мг/л. Значення рН було близьким 7,7-7,9. Вміст основних катіонів та аніонів був близьким до норми [45]. Температура води підтримувалася автоматично і була аналогічною природній.

Фізіологічно небезпечними для коропа у розрахунку на неіонізовану форму є концентрації аміаку вище 0,07 мг/л. Тому дослідження проведені за рівня аміаку 0,10 мг/л. Аклімацію риб здійснювали протягом 14 діб, періоду, достатнього за даними [47] для формування адаптивних реакцій у організмі ектотермних тварин. Зазначений рівень аміаку створювали внесенням розрахункових кількостей буферної суміші $\text{NH}_4\text{OH}:\text{NH}_4\text{Cl}$ з рН 7,2. Вміст аміаку у воді контрольних акваріумів становив $0,016 \pm 0,005$ мг/л. З метою підтримання сталого рівня аміаку в контрольних та дослідних акваріумах, а також для уникнення впливу власних екзометаболітів риб, кожних дві доби здійснювали зміну води та корекцію рівня аміаку. Вміст загального аміаку у воді визначали фотометрично за допомогою реакції Несслера [25].

Досліджували тканини м'язів, печінки, зябер, мозку та кров риб. Відбір крові здійснювали із синусу зябрової вени з використанням гепарину. Після препарування органів живих риб останні миттєво заморожували у рідкому азоті. Фракції ядер, мітохондрій, мікросом та цитозоль отримували центрифугуванням за стандартними методиками.

Для визначення вмісту метаболітів готували тканинні екстракти у охолоджену 6% свіжовиготовлену розчині хлорної кислоти [52]. Співвідношення тканина:розчин (маса:об'єм) становило 1:5.

Вміст **аміаку** в тканинах визначали мікродифузним методом [85]. Вміст **глутамату та аланіну** визначали на амінокислотному аналізаторі Т-339 (Чехія).

Загальний вміст **білків** у тканинах визначали мікробіуретовим методом [3], а їх кількість у екстрактах ферментних препаратів — за методом Лоурі і ін.[70].

Вміст **кетокислот та оксикислот** (піровиноградної, молочної, щавелево-оцтової, α -кетоглутарової та яблучної) досліджували шляхом приготування небілкових тканинних

екстрактів у 6% розчині хлорної кислоти, який нейтралізували насиченим розчином карбонату калію до рН 7,0 [52]. У випадку дослідження тканин мозку додатково додавали етиловий спирт у розрахунок 0,1 мл на 1 мл екстракту для вилучення фосфоліпідів [55]. Кількість 2-оксиглутарату, пірувату, оксалоацетату, малату та глутамату визначали спектрофотометрично з використанням відповідних ферментів комерційного виробництва [53], а цитрату — за [87]. Інкубаційні суміші при дослідженні відновлених форм субстратів готували на 0,1 М гідрозин-гліциновому буфері, а окиснені — на 0,5 М триетаноламіновому буфері.

Співвідношення нікотинамідних коферментів [NAD(P)⁺ / NAD(P)H] розраховували на основі значень концентрації субстратів лактат-, глутамат- та малат- дегідрогеназних систем з урахуванням відповідних констант реакцій [4, 73]. При розрахунку відношення NADP⁺/NADPH в цитоплазмі концентрацію CO₂ приймали на 25% нижчою, ніж у крові [39]. Вміст CO₂ в ній визначали за допомогою мікроаналізатора крові "Radekis".

Вміст **аденілових нуклеотидів** визначали шляхом приготування 8% хлорних екстрактів з подальшою тонкошаровою хроматографією на стандартних пластинках "Silufol" фірми Chemapol. Рівень неорганічного фосфору визначали за спектрами поглинання молібдатних комплексів за [18]. Вміст фосфатів (неорганічного та фосфору, зв'язаного у 2,3-дифосфогліцераті та АТФ) в еритроцитах визначали неферментним методом за Виноградовою І.Л. і ін.[8]. За показниками вмісту АТФ, АДФ, АМР та Р_i розраховували основні характеристики енергетичного стану клітини: аденілатний енергетичний заряд: $AEZ = (ATP + 1/2ADP) / (ATP + ADP + AMP)$; енергетичний фосфатний потенціал — $ATP / (ADP * P_i)$ [50].

Вміст **глюкози та глікогену** визначали фотометричним методом за інтенсивністю забарвлення розчину з орто-толуїдиновим реактивом [1]. Глікоген попередньо гідролізували у лужному середовищі.

Загальний вміст **ліпідів та триацилгліцеринів** досліджували з використанням стандартного набору реактивів фірми Chemapol. При цьому тканини фіксували в системі хлороформ-метанол (2:1) та екстрагували за Фолчем [59]. Рівень вільних жирних кислот оцінювали за кольоровою реакцією з 1,5-дифенілкарбазидом за рекомендаціями Прохорової М.Ю. [37].

Кетонові тіла визначали в тих самих хлорних екстрактах, що і кетокислоти, в реакції з спиртовим розчином саліцилового альдегіду в насиченому розчині NaOH [7,13]. Кількість ацетону визначали шляхом його попередньої відгонки з проб, а суму 3-оксибутирату та ацетоацетату — у залишку після їх попереднього окиснення до ацетону саліциловим альдегідом.

Крім того, досліджували активність ферментів: **лактатдегідрогенази** (КФ 1.1.1.28) — спектрофотометрично при 340 нм згідно [60]; **3-оксибутиратдегідрогенази** (КФ 1.1.1.30) — за методом [54]; **малатдегідрогенази** (КФ 1.1.1.37) — за зміною поглинання при окисненні NADH при 340 нм. [60]; **6-фосфоглюконатдегідрогенази** (КФ 1.1.1.44) та **глюкозо-6-фосфатдегідрогенази** (КФ 1.1.1.49) — за інтенсивністю відновлення NADP⁺ при 340 нм. [41]; **2-оксиглутарат-дегідрогенази** (КФ 1.2.4.2) — за методом [14], здійснюючи попередню інкубацію 7 хв. при постійному продуванні у суміш повітря, після 2 хв. якої до суміші додавали 2-оксиглутарат та малат в кінцевій концентрації 2 мМ, а стан фосфорилування створювали додаванням АДФ в кінцевій концентрації 10 мМ.; **сукцинатдегідрогенази** (КФ 1.3.99.1) — фотометрично за [33]; **глутаматдегідрогенази** (КФ 1.4.1.2) — спектрофотометричним методом за зміною швидкості окиснення NAD(P)H при 340 нм в 0,05 М калійно-фосфатному буфері (рН 7,5), згідно методики [60];

глюкозо-6-фосфатази (КФ 3.1.3.9) — за гідролізом глюкозо-6-фосфату в інкубаційній суміші, як описано в [26]; **фруктозо-1,6-дифосфатази** (КФ 3.1.3.11) — за гідролізом фруктозо-1,6-дифосфату по [33].

Одержані результати оброблені статистично з використанням методів варіаційної статистики, дисперсійного та кореляційного аналізу [21].

У роботі використано біохімічні реактиви "LKB" (Швеція), "Reanal" (Угорщина), "Lachema" (Чехія), "Feras" (Німеччина) та неорганічні солі "Реахим" класифікації "хч" та "осч" в окремих випадках додатково перекристалізовані.

Результати досліджень та їх обговорення

Енергетичний статус організму тварин як інтегральної термодинамічної системи забезпечується за рахунок тканинного та метаболічного розподілу, а також підтримання гомеостатичного співвідношення інтенсивності процесів утилізації, перерозподілу і синтезу основних резервних енергетичних компонентів клітин. Виходячи з цього, комплексність дослідження досягається вивченням основних найбільш метаболічно активних органів: печінки (функційна активність), м'язів (основне депо енергетичних резервів), зябер (основний орган взаємообміну з зовнішнім середовищем), мозку (витривалість і стабільність нервової системи визначає ефективність адаптації).

Крім того, оскільки активність ферментів дозволяє оцінювати лише стан окремих реакцій метаболічних ланцюгів, які каталізуються ними, а не про їх активність загалом, а за концентрацією метаболітів можна судити тільки про спрямованість обміну речовин, але не про його швидкість, то об'єктивність аналізу рівня біохімічної активності організму досягається одночасним дослідженням взаємопов'язаних показників динаміки і тканинної специфіки перерозподілу енергетичних субстратів, стану ферментних систем в окремих субклітинних структурах, швидкості перетворення потоку інтерметаболітів, а також внутрішньоклітинного перерозподілу регуляторних факторів, в першу чергу нікотинамідних коферментів.

Особливості використання основних енергетичних субстратів

Оскільки будь-яка детоксикація в організмі є енерговитратним процесом, виникає закономірне питання про те, що використовується на його забезпечення — лабільні енергетичні ресурси чи запасні речовини? Відомо, що рівень останніх у тварин є важливою формою акумуляції енергії. Їх динаміка у риб за дії аміаку різноманітна для різних класів речовин і має тканинну специфіку (табл. 1). В усіх досліджуваних тканинах не виявлено вірогідних змін вмісту білків. Це свідчить про те, що білки як джерело енергії використовуються незначно. Аналіз динаміки вільних АК в м'язах та печінці коропа за дії аміаку [10] дозволяє вважати, що за дії аміаку у коропа одночасно активуються і розщеплення, і синтез білків. Про це свідчить як зростання активності лізосомальних протеїназ у м'язах та печінці, так і активація біосинтетичних, наприклад, амінсинтезних реакцій [11]. При цьому зберігається постійним пул основних незамінних АК. Отже, в організмі риб за рахунок адаптивної перебудови обміну білків, яка спрямована на знешкодження надлишку аміаку шляхом його зв'язування з утворенням амідних сполук, витримується загальний азотистий гомеостаз. Підтвердженням цього є як нагромадження амідів та білків, так і значне зниження у вказаних умовах швидкості екскреції аміаку [16]. За інтоксикації організму риб аміаком частка білків як окиснюваного в енергетичних процесах субстрату, очевидно, незначна, а їх роль головно полягає у підтриманні азотистого гомеостазу та перебудові структурно-функціональних елементів клітин. Однак, можлива також участь амінокислот у забезпеченні організму необхідними у енергетичному обміні проміжними метаболічними субстратами, насамперед кетокислотами.

Відомо, що однією з найбільш зручних форм заощадження енергії в тілі риб є ліпіди, особливо ТАГ, які складають 75% всієї маси їх резервного жиру [67, 69]. Крім того, нейтральні жири відносно швидко обмінюються при мобілізації і ресинтезі і тому є зручною формою акумуляції жирових резервів риб [65]. Виявлена нами зміна вмісту і складу ліпідних фракцій у коропа за дії аміаку узгоджується з цими закономірностями. У піддослідних риб спостерігаються значні коливання рівня всіх фракцій ліпідів в печінці. Це проявляється у підвищенні вмісту сумарних ліпідів, ТАГ і ВЖК відповідно на 23,2%; 56,7 та 58,3%. Збільшення вмісту ВЖК відбувається також в крові риб ($P < 0,01$). У м'язах вірогідних змін цих показників не виявлено, але тенденція до їх збільшення також має місце. Вміст ліпідів у мозку не змінюється. У зв'язку з цим слід відзначити, що адаптивні реакції у риб є тканинспецифічними.

Динаміка вмісту основних енергетичних компонентів тканин коропа за дії екзогенного аміаку, n=5

Концентрація аміаку (мг/л)	Загальний білок (мг / г тканини)	Ліпіди (мг/г тканини)		ВЖК (мкмоль/г тканини)	Вуглеводи	
		загальні	ТАГ		глікоген (мг/г тканини)	глюкоза (мкмоль/г тканини)
Б І Л І М'Я З И						
0,014 (контроль)	70,66± 7,32	60,61 ±5,09	25,43 ±2,16	0,25 ±0,02	2,20 ±0,19	1,11 ±0,08
0,10	80,24 ±8,48	62,48 ±4,75	28,94 ±2,32	0,28 ±0,03	0,40 ±0,03*	1,05 ±0,08
П Е Ч І Н К А						
0,014 (контроль)	138,56 ±9,24	71,51 ±6,73	32,15 ±2,49	0,41 ±0,04	17,23 ±0,98	7,98 ±0,62
0,10	124,40 ±8,62	98,13±8,09*	50,34 ±4,19*	0,65±0,06*	12,00 ±0,63*	15,76±1,49*
К Р О В						
0,014 (контроль)	52,03 ±3,58	72,36 ±4,25	–	0,67 ±0,06	–	1,41±0,16
0,10	56,17 ±3,92	67,95 ±4,05	–	1,44 ±0,12*	–	1,83±0,21
М О З О К						
0,014 (контроль)	44,60±3,26	258,13±13,86	48,35±3,14	1,01±0,09	3,80 ±0,31	2,54±0,19
0,10	42,21 ±2,25	266,20 ±19,70	54,86±3,91	0,81±0,07	4,60±0,47	3,01 ±0,26

Відомо, що при температурних аклімаціях найбільш лабільною тканиною щодо ліпідного обміну є печінка [27]. За даними цієї роботи в м'язах збільшення температури також не приводить до зміни вмісту ліпідів. Виявлена особливість мобілізації ліпідів, очевидно, є універсальною для будь-яких стресових станів і пояснюється різною функційною роллю печінки та м'язів риб [38].

Основною мішенню дії аміаку є фракція ТАГ в печінці і ВЖК в печінці та крові риб. Відомо, що рівень ВЖК в крові та печінці є критерієм фізіологічного стану організму і характеризує швидкість їх мобілізації із жирових депо. Так, відношення ТАГ/ВЖК відображає співвідношення інтенсивності процесів ліполізу і етерифікації. Оскільки цей коефіцієнт в печінці дослідних риб знижується (0,071 проти 0,078 у контролі), а рівень ВЖК і ТАГ збільшується, то можна передбачати зниження швидкості гідролізу ТАГ відносно етерифікації і порушення мобілізації жирних кислот з депо та їх транспорту до периферійних тканин і окиснення в АТР. Одержані дані узгоджуються з уявленнями про показники стрес-реакції організму за дії несприятливих факторів середовища [32]. Згідно них, збільшення вмісту ВЖК в крові і печінці тварин пов'язане не стільки з їх участю в процесах окиснення, скільки з взаємодією з клітинними мембранами для стабілізації структури останніх [64]. При цьому ВЖК зменшують проникність мембран. У випадку дії аміаку останнє є актуальним, оскільки може запобігати проникненню аміаку в організм риб. Збільшення вмісту ТАГ можливе в зв'язку з тим, що вони при розвитку стрес-реакції, яка викликає розщеплення фосфоліпідів, заступають останні у складі мембран [32].

Отже, для білків та ліпідів в умовах розвитку стрес-синдрому, викликаному аміаком, в першу чергу характерна участь не в енергозабезпеченні організму, а в перерозподілі структурних ресурсів у формі амінокислот, ВЖК і ТАГ та їх спрямування в адаптивні системи, які протидіють впливу стрес-факторів. Провідна роль в цьому, очевидно, належить печінці. Цей орган забезпечує за рахунок резервів глікогену і енергетичну адаптацію риб до аміаку.

Вміст глікогену в печінці за дії аміаку знижується на 29,4%. У м'язах при значно нижчому абсолютному рівні глікогену навіть у контролі його рівень у дослідних риб знижується у 5,5 рази порівняно з рибами контрольної групи. При цьому в печінці удвічі збільшується вміст глюкози. У м'язах, крові та мозку риб її рівень не змінюється. Мобілізація

глікогенового резерву печінки і м'язів, гіперглікемія у печінці, збільшення вмісту ВЖК в організмі є показником активації окиснення глюкози в тканинах риби, переважно в процесах гліколізу та пентозофосфатного шляху [5, 32]. Про активне окиснення глюкози також свідчить підвищення коефіцієнту відношення ВЖК/глюкоза з 0,051 у печінці дослідних риби проти 0,044 у печінці контрольних особин. Аналогічний показник для мозку складає відповідно 0,40 і 0,27. Отже, в печінці та мозку риби частка глюкози в енергетичному забезпеченні за дії аміаку зростає. Оскільки у мозку рівень глікогену не змінюється, можна передбачити транспорт енергетичних субстратів в цей орган з печінки. Свідченням цього можна вважати сталість вмісту глюкози в крові риби. У м'язах, незважаючи на вичерпання запасів глікогену протягом 14 діб аклімації риби в воді з підвищеним рівнем аміаку, вміст глюкози також не змінюється. Витримування гомеостатичного рівня глюкози у організмі риби дає можливість передбачити активацію у печінці гліоконеогенезу, в першу чергу, за рахунок ВЖК та АК, вміст яких, як зазначалося вище, за дії аміаку може збільшуватися за рахунок розщеплення білків та ТАГ. Наведені вище попередні висновки підтвердилися при дослідженні активності ферментів основних метаболічних шляхів енергоутворення та концентрації їх субстратів.

Функціонування основних систем утворення енергії

За дії аміаку водного середовища в концентрації 0,10 мг/л протягом 14 діб його вміст в тканинах риби збільшується (табл. 2). Найзначніші зміни спостерігаються в печінці і крові. В останньому випадку рівень аміаку у дослідних риби збільшується до $10,02 \pm 1,30$ нмоль/мг білку порівняно з контролем $6,01 \pm 0,81$ нмоль/мг білку ($P < 0,05$). Тому можна констатувати, що в організмі риби має місце стійка інтоксикація аміаком. З метою його детоксикації в м'язах та печінці коропа значно активується один із ферментів зв'язування аміаку NADP(H) — ГДГ [11]. Внаслідок цього в печінці вірогідно знижується вміст 2-оксиглутарату і, відповідно, збільшується у 4 рази рівень продукту реакції — глутамату. У м'язах вміст 2-оксиглутарату не змінюється, а глутамату зростає практично у 2,2 рази. Це призводить до зміни співвідношення в тканинах вказаних інтермедіатів.

Таблиця 2

Вплив аміаку водного середовища (0,10 мг/л) на вміст субстратів NAD(P)-залежних дегідрогеназних систем в м'язах та печінці коропа (мкмоль/г тканини), n=8

Показники	Печінка		М'язи	
	0,015 мг NH ₃ /л	0,10 мг NH ₃ /л	0,015 мг NH ₃ /л	0,10 мг NH ₃ /л
Лактат	1,69±0,18	2,20±0,24	3,20±0,28	4,31±0,26*
Піруват*	0,12±0,01	0,10±0,01	0,15±0,04	0,18±0,02
2-оксиглутарат	0,36±0,05	0,27±0,04	0,29±0,04	0,27±0,03
Малат	0,24±0,03	0,26±0,04	0,24±0,01	0,29±0,02*
Оксалоацетат	0,20±0,03	0,25±0,02	0,25±0,02	0,29±0,02
Цитрат	0,34±0,04	0,28±0,03	0,27±0,03	0,36±0,05
Глутамат	0,91±0,12	4,05±0,32*	1,69±0,14	4,12±0,30*
NH ₄ [±]	4,80±0,41	5,60±0,48	3,58±0,25	6,15±0,36*

Примітка. * — значення показника в мкмоль/100 г тканини; 0,015 мг NH₃/л — контроль.

Однак повного знешкодження аміаку не відбувається. Тому має місце зміна вмісту субстратів енергетичних систем. Відомо, що аміак викликає залуження крові. При цьому активується утворення речовин, які підтримують кислотно-основну рівновагу. Ця функція у риби, як відмічається у [17, 57, 78], належить лактату. Іншою причиною переважно гліколітичного шляху окиснення вуглеводів у риби є утворення слизу на поверхні зябер при дії підвищених рівнів аміаку та зниження інтенсивності дихання і вмісту кисню в організмі риби [31, 61]. Тому, поряд із зменшенням в м'язах та печінці риби вмісту глікогену, в нашому

дослідженні виявлено зростання у м'язах рівня лактату. Це супроводжується також збільшенням активності ЛДГ (табл.3). Однією із причин цього може бути як активне використання лактату на нейтралізацію аміаку, так і його перетворення в піруват, рівень якого в тканинах дослідних риб також високий. Крім того, можлива пряма активація ферментів гліколізу аміаком. Наприклад, відомо, що він активує фосфофруктокіназу та піруваткіназу [68]. Слід відмітити також посилення ролі гліколізу в цих умовах як шляху енергозабезпечення, оскільки аміак пригнічує функціонування більш ефективного шляху генерування енергії — ЦТК. Свідченням останнього є динаміка основних субстратів і ферментів цього циклу.

Таблиця 3

Вплив аміаку водного середовища (0,10 мг/л) на активність деяких ферментів енергетичних систем у мітохондріях (м) та цитоплазмі (ц) клітин м'язів та печінки коропа, n=8

Активність	Фракція	Печінка		М'язи	
		0,015 мг NH ₃ /л	0,10 мг NH ₃ /л	0,015 мг NH ₃ /л	0,10 мг NH ₃ /л
Лактатдегідрогенази (нмоль NADH/(мг білка·хв))	ц	207,64±12,29	173,64±12,80	200,72±19,46	24,38±18,82
Сукцинатдегідрогенази (нмоль сукцинату/мг білка·хв)	м	2,24±0,22	1,04±0,16*	7,49±0,03	1,72±0,18*
Малатдегідрогенази (мкмоль NADH/(мг білка·хв))	ц	5,06±0,51	5,22±0,42	4,38±0,38	2,84±0,27*
	м	0,52±0,03	0,32±0,02*	0,37±0,05	0,27±0,04
Глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази (нмоль pаdр/(мг білка·хв))	ц	51,44±4,95	66,87±5,13*	3,44±0,31	4,01±0,55
6-фосфоглюконат-дегідрогенази (нмоль pаdр/(мг білка·хв))	ц	21,24±1,84	38,47±2,18*	4,52 ±0,39	5,12±0,48
Глюкозо-6-фосфатази (нмоль P _i /(мг білка·хв))	ц	160,43±10,91	98,12 ±10,07*	34,82±2,31	13,21±1,23*
	м	21,04±2,56	46,75±3,44*	не виявлено	не виявлено
Фруктозо-1,6-ди-фосфатази (нмоль P _i /(мг білка·хв))	ц	2,70±0,21	3,24±0,38	9,36±0,77	4,63±0,33*
	м	не виявлено	не виявлено	не виявлено	не виявлено
Аланінамінотрансферази (нмоль пірувату/мг білка·хв)	ц	181,39±15,12	262,10±14,40*	31,98±3,56	135,50±13,73*
	м	120,15±12,86	301,95±26,45*	65,92±7,40	103,52 ±9,80*

Примітка. 0,015 мг NH₃/л — контроль.

За дії аміаку виявлено значне зниження (у 2 рази в печінці та у 3,5 в м'язах) активності основного регуляторного ферменту циклу Кребса — сукцинатдегідрогенази. Відомо, що зовнішнє середовище у пойкилотермних організмів в обмеженні швидкості метаболізму відіграє суттєвішу роль, ніж у ссавців [40]. У цьому контексті сукцинатдегідрогеназа є одним з найбільш чутливих ферментів, що підтвердилося і в нашому дослідженні. Крім того, даний фермент на відміну від NAD(H)-залежних дегідрогеназ циклу регулюється низкою внутрішньоклітинних факторів, включно рівнем внутрішньомітохондрійного АТФ та іонів кальцію [75]. Враховуючи активацію гліколізу та зниженню вмісту АТФ за дії аміаку [51], а також стимулювання ним виходу кальцію із організму риб [7], можна передбачити функціонування цих механізмів опосередкованого впливу аміаку на активність СДГ і ЦТК в цілому. Крім того, нами виявлено зниження вмісту одного з інтермедіатів циклу 2-оксиглутарату. Оскільки це узгоджується з зростанням активності NADP(H)-ГДГ [11] та нагромадженням глутамату [10], можливе вилучення 2-оксиглутарату з пулу інтермедіатів ЦТК, що може бути ще однією причиною зниження його активності. Раніше такий механізм гальмування ЦТК у риб при зимовому голодуванні виявлено у мозку коропа [34].

Щодо вмісту інших субстратів ЦТК малату, оксалоацетату та цитрату, то їх рівень у дослідних риб порівняно з контрольними практично не змінюється, крім вмісту малату в

м'язах. Однак, активність малатдегідрогенази у мітохондріях знижується. Це також підтверджує гальмівний ефект аміаку щодо ЦТК і узгоджується з даними роботи [74]. Додатковим фактором зниження аеробного шляху окиснення може бути дія ВЖК, які, як відомо, ініціюють роз'єднання окиснення та фосфорилування. Крім того, зниження синтезу АТР цим шляхом можливо завдяки використанню відновлених еквівалентів NAD(P)H на інші цілі, насамперед, на зв'язування аміаку у NADP(H) — ГДГ реакції.

Про активне генерування саме відновлених форм NADPH свідчить висока активність NADPH — генеруючих ферментів. У печінці хребетних необхідний пул NADPH підтримується першими двома ферментами пентозофосфатного шляху глюкозо-6-фосфат- дегідрогеназою і 6-фосфоглюконатдегідрогеназою, а також NADP(H) — малатдегідрогеназою цитоплазми. Показана роль цих ферментів в генеруванні NADPH та ліпогенезі при температурній аклімації риб [41]. За дії аміаку водного середовища виявлено збільшення активності Г-6-ФДГ та 6-ФДГ. Роль малатдегідрогенази у даному процесі, очевидно, незначна, бо рівень її активності за дії аміаку не змінюється. Зростання утворення відновленої форми NADPH можна пояснити не тільки його участю як коферменту амонійзв'язуючої ГДГ, але і використанням у ліпогенезі. Це узгоджується з даними про зростання за дії аміаку вмісту в тканинах риб ТАГ.

У зв'язку з високою інтенсивністю ліпогенезу, синтезом для цього NADPH пентозофосфатним шляхом у дослідних риб виникає необхідність підтримання високих рівнів глюкози. Однак, інтенсивне функціонування гліколізу за дії аміаку також вимагає значної кількості цього субстрату. Тому може виникати конкуренція за глюкозу між гліколізом і ПФШ. У зв'язку з цим рівень глюкози і в м'язах, і в печінці повинен підтримуватися за рахунок певних джерел. Оскільки запаси глікогену протягом 14 діб аклімації риб значно знижуються, але рівень глюкози при цьому у дослідних риб порівняно з контрольними не змінюється, а у печінці навіть зростає, то слід припустити відновлення рівня глюкози за рахунок глюконеогенезу в печінці. Імовірність активації даного шляху обміну вуглеводів за дії аміаку висока, оскільки не виявлено зниження рівня пірувату, що свідчить поряд із зменшенням активності ЦТК про зниження його окиснення аеробним шляхом. До аналогічного висновку приводить також аналіз співвідношення вмісту лактату у риб дослідної та контрольної груп. Як відомо, у риб субстратом в глюконеогенезі переважно використовується саме лактат [28]. Його вміст у м'язах, де найбільш активно у риб функціонує гліколіз, за дії аміаку значно збільшується. Однак у печінці його рівень у контрольних і дослідних риб вірогідно не відрізняється. Це дозволяє вважати можливим використання обох кінцевих продуктів гліколізу в м'язах як субстратів глюконеогенезу у печінці. Крім того, на користь функціонування глюконеогенезу свідчить постійний рівень глюкози в крові риб. Є дані, що в стресових умовах, наприклад, при довготривалому голодуванні під час нерестової міграції, глюконеогенез у риб може протікати з утворенням надлишку глюкози і навіть її запасанням у вигляді глікогену [56]. При цьому джерелом для синтезу глюкози виступають амінокислоти. У випадку дії аміаку роль останніх у глюконеогенезі також не можна відкидати, оскільки в цих умовах у м'язах та печінці спостерігається зниження рівня саме так званих глюкогенних АК, а також активується NAD(H)-ГДГ, яка здійснює їх дезамінування з утворенням відповідних кетокислот. Прямим доказом активації глюконеогенезу є підвищення рівня активності ферментів цього метаболічного ланцюга: Ф-1,6-ДФ-ази та Г-6-Ф-ази. Остання забезпечує гідроліз глюкозо-6-фосфату до глюкози в глюконеогенезі та бере участь у глюккіназній реакції гліколізу. Активність Ф-1,6-ДФ-ази за дії аміаку значно знижується в м'язах і одночасно зростає в печінці, що узгоджується з зростанням інтенсивності біосинтезу глюкози в цьому органі. Наявність Ф-1,6-ДФ-ази у м'язах риб пов'язана з функціонуванням в них субстратного циклу між фруктозо-6-фосфатом і фруктозо-1,6-дифосфатом, який одержав назву "марнотратного" циклу, бо, виконуючи роль неспецифічної АТРази, приводить до енергетичних витрат. Однак, останнє компенсується збільшенням ефективності контролю швидкості метаболічного потоку [35]. Роль циклу між Ф-6-Ф і Ф-1,6-ДФ зводиться до підвищення контролю швидкості гліколізу. За дії аміаку в умовах забезпечення енергією переважно гліколітичним шляхом, необхідність такого контролю, очевидно, знижується. Тому активність Ф-1,6-ДФ-ази у м'язах також зменшується. Щодо Г-6-Ф-ази, то її субклітинна локалізація виключає можливість

змішування вказаних вище функцій гліколізу та глюконеогенезу [35]. Г-6-Ф, який утворюється у глюкокіназній реакції, ніколи не використовується як субстрат Г-6-Ф-ази глюконеогенезу, а продукт цієї реакції, яка є фосфатазною, глюкоза, вивільняється в кров і не може бути субстратом глюкокіназного перетворення. Для коропа констатується цитоплазматична локалізація Ф-1,6-ДФ-ази і Г-6-Ф-ази глюконеогенезу [12, 28]. Згідно наших даних у м'язах фосфатазна активність знижується, що також узгоджується з посиленням в них за дії аміаку гліколізу та відсутністю глюконеогенезу. У мітохондріях печінки активність Г-6-Ф-ази за дії аміаку зростає. Крім того, хоча активація глюкокіназної реакції ферменту також значно збільшується, підтверджуючи посилення глікогенолізу в цьому органі, Г-6-Ф-азна активність вища, ніж глюкокіназна, майже у 5 разів. Це дає можливість загалом констатувати факт активного функціонування глюконеогенезу в печінці коропа за дії аміаку.

Відомо, що одночасно з глюконеогенезом за умови його активування, в організмі тварин функціонує спряжений з ним глюкозо-аланіновий цикл [43]. Останній активується, зокрема, при інтенсивному утворенні аміаку у м'язах ссавців у результаті м'язової діяльності [22, 43]. Суть цього циклу полягає в утворенні у м'язах за рахунок гліколітичного окиснення вуглеводів пірувату, який замість подальшого перетворення у лактат трансамінується з глутаматом аланіновою трансферазою в аланін, потім останній транспортується кров'ю в печінку і знову перетворюється в піруват шляхом переамінування з 2-оксиглутаратом з наступним синтезом глутамату. Фізіолого-біохімічне значення циклу полягає у видаленні із м'язів високотоксичного аміаку у вигляді аланіну в печінку з наступним виведенням з організму в уреотелічних тварин через орнітиновий цикл синтезу сечовини, а у амоніотелічних через глутамат і глутамін з участю NADP(Н)-ГДГ та ГС відповідно. Вибір аланіну як транспортної форми аміаку пояснюється його низькою токсичністю та здатністю, на відміну від глутамату, до легкого проникнення через мембрани. Глюконеогенез при цьому забезпечує метаболічну рівновагу по глюкозі, її гомеостаз у крові та енергетичний баланс. Отже, збільшення вмісту аміаку, глутамату та глутаміну у м'язах повинно приводити до активування розглянутих процесів. Глутамат і глутамін є ефективними субстратними активаторами глюкозо-аланінового циклу [15, 43].

Оскільки нами виявлено зростання рівня вказаних метаболітів в м'язах риб за дії аміаку, то можна передбачити імовірність функціонування циклу і в даних умовах. Про це свідчить також підвищення активності NADP(Н)-ГДГ у м'язах риб, яка забезпечує достатню кількість глутамату для АлАТ реакції. Інший субстрат — піруват — утворюється в активному в цих умовах гліколізі. Про використання пірувату на переамінування в аланін свідчить той факт, що відношення показника його рівня у м'язах до аналогічного показника у печінці контрольних риб становить біля одиниці, а відношення значення показника концентрації пірувату в м'язах до його значення в печінці дослідних риб становить 1,3. Тобто, рівень пірувату у печінці риб дослідної групи порівняно з м'язами, на відміну від контрольних риб, вищий. Враховуючи, що переважна більшість кінцевих продуктів гліколізу знаходиться у формі лактату, необхідного для нейтралізації аміаку, та наведені факти динаміки співвідношення вмісту пірувату у м'язах дослідних риб, слід зазначити вищу швидкість утворення пірувату, ніж його перетворення у лактат, та підтримання його постійної концентрації у м'язах. Це може свідчити про використання пірувату в процесах переамінування, оскільки його окиснення внаслідок зниження активності ЦТК також зменшується. Отже, у м'язах риб забезпечується достатня кількість субстратів для переамінування. Трансамінування в АлАТ-реакції за дії аміаку активується як у м'язах, так і в печінці [29]. Збільшення поряд з цим вмісту аланіну у м'язах та печінці дослідних риб [10], а також у їх крові з $0,46 \pm 0,09$ мкмоль/мл у контрольних риб до $1,18 \pm 0,11$ мкмоль/мл у дослідних ($P < 0,01$), також дозволяє констатувати функціонування аланінового шляху видалення аміаку з м'язів.

Отже, за дії аміаку з метою його детоксикації та виведення можливе функціонування об'єднаної системи обміну: глюконеогенез — глюкозоаланіновий цикл. Крім цього, функційне значення системи полягає у підтриманні рівноважної концентрації глюкози та інших інтермедіатів вуглеводного обміну, а також забезпеченні енергетичного та кислотно-основного

гомеостазу. Виявлені закономірності підтверджуються аналізом співвідношення нікотинамідних коферментів.

Вплив аміаку на співвідношення нікотинамідних коферментів

Нікотинамідні коферменти відносяться до регуляторних факторів, співвідношення окиснених та відновлених форм яких в певних субклітинних структурах є засобом зміни інтенсивності та спрямованості окремих ланцюгів вуглеводного, ліпідного, білкового та енергетичного обмінів. Одночасно дані співвідношення є наслідком окиснювально-відновного стану окремих дегідрогеназних ферментних реакцій та динаміки їх субстратів.

За дії аміаку у риб виявлено зростання в їх печінці та м'язах відношення лактат/піруват з 14 до 23 та з 11 до 24 відповідно (табл. 2). Це свідчить про зростання відновленості NAD-пар в цитоплазмі клітин. Відповідно в цитоплазмі клітин в обох тканинах знижується відношення NAD⁺ /NADH (табл.4).

Таблиця 4

Вплив аміаку водного середовища (0,10 мг/л) на окисно-відновний стан NAD(P)-пар в цитоплазмі (ц) і мітохондріях (м) тканин коропа

Показники	Печінка		М'язи	
	0,015 мг NH ₃ /л	0,10 мг NH ₃ /л	0,015 мг NH ₃ /л	0,10 мг NH ₃ /л
NAD/NADH ц	788,95	489,90	520,83	464,03
NADP/NADPH ц	0,0065	0,0049	0,0082	0,0081
NAD/NADH м	4,90	0,97	15,73	10,83
NADP/NADPH м	7,63	14,49	24,52	16,76

Примітка. 0,015 мг NH₃/л — контроль

У м'язах ця зміна пов'язана з нагромадженням лактату. У печінці це є показником зниження швидкості окиснення глюкози в цитоплазмі та активації глікогеногенезу, що узгоджується з наведеними вище даними. У мітохондріях м'язів та, особливо, печінки показник даного відношення знижується. Вище зазначалося, що у глутаматдегідрогеназній системі за дії аміаку відношення 2-оксиглутарат/глутамат також зменшується в обох органах. Цей ефект, а також нагромадження глутамату, сприяє переважанню NAD⁺ в мітохондріях. Це узгоджується з даними про використання 2-оксиглутарату в реакціях амінування з метою детоксикації аміаку та літературними даними про роз'єднання аміаком окиснювального фосфорилування [51].

Крім того, в м'язах риб виявлено вірогідне збільшення вмісту малату, а в печінці тенденцію до його нагромадження. Це також свідчить на користь зростання у мітохондріях цих тканин відновленої форми NAD.

За дії аміаку також змінюється відношення NADP⁺ /NADPH. У цитоплазмі печінки воно зменшується на 25%, а в цитоплазмі м'язових клітин практично не змінюється. У мітохондріях печінки цей показник збільшується в 2 рази, а в мітохондріях м'язів, навпаки, зменшується на третину. Різноманітні зміни даного показника пояснюються тканинною та субклітинною специфікою процесів, які протікають в організмі риб за інтоксикації аміаком. Висока відновленість NADP-пар цитоплазми узгоджується з низьким вмістом пірувату у печінці дослідних риб і тенденцією до зростання в ній рівню малату, а також збільшенням активності в цитоплазмі клітин цього органу малатдегідрогенази. Одночасно збільшення показника відношення NADP⁺ /NADPH в мітохондріях є свідченням інтенсивного використання відновленої форми в процесах біосинтезу ліпідів, про зростання активності якого свідчить збільшення активності NADPH-генеруючих дегідрогеназ пентозофосфатного шляху у цитоплазмі печінки. Останнє також є причиною зменшення даного показника в цитоплазматичній фракції печінки дослідних риб. У цитоплазмі м'язів дія аміаку не приводить до зміни активності відповідних ферментів пентозофосфатного шляху. Тому, відношення NADP⁺ /NADPH не змінюється. У мітохондріях м'язів зростає рівень NADP⁺. Це узгоджується із збільшенням ролі NADP(H)-ГДГ в процесах детоксикації аміаку в цій тканині у дослідних риб.

Крім того, зміна відношення NADP⁺ /NADPH у мітохондріях може також регулювати електрохімічний потенціал на мембранах мітохондрій [6], який, в свою чергу, контролює

трансмембранні процеси. Різкі, протилежно спрямовані зміни відношення $NADP^+/NADPH$ у мітохондріях печінки та м'язів риб за інтоксикації аміаком свідчать про порушення транспорту метаболітів через мітохондрійні мембрани.

Редокс-стан $NAD(P)$ -пар регулюється фосфорилуванням аденіннуклеотидної системи [73]. Тому, у зв'язку з розглянутими вище особливостями змін основних енергетичних циклів у організмі риб за дії аміаку є потреба аналізу її стану.

Вплив аміаку на вміст аденілових нуклеотидів

За дії аміаку водного середовища в умовах інгібування в організмі риб ЦТК та пріоритетного енергозабезпечення за рахунок гліколізу, а також використання АТФ у процесах детоксикації, насамперед, в глутамінсинтетазній реакції, виявлено зниження вмісту АТФ практично в усіх органах риб, крім мозку (табл.5). Це узгоджується з даними роботи [74].

Таблиця 5

Вплив аміаку водного середовища (0,10 мг/л) на вміст аденозинфосфатів та енергетичний заряд в тканинах коропа (мкмоль/г сухої тканини), n=7-9

Показники	Печінка		М'язи		Мозок		Зябри	
	к	д	к	д	к	д	к	д
АТФ	4,99±0,34	2,80±0,21*	2,54±0,19	1,38±0,19*	0,24±0,04	0,21±0,05	1,41±0,13	1,06±0,09*
ADP	1,78±0,12	1,34±0,15	2,48±0,26	2,09±0,30	0,51±0,07	0,34±0,05*	0,94±0,08	0,83±0,07
AMP	0,62±0,08	0,79±0,06	2,39±0,24	1,52±0,30*	0,34±0,06	0,27±0,03	0,66±0,06	0,51±0,04*
Сума	7,39±0,58	3,93±0,14*	7,41±0,43	4,89±0,26*	1,12±0,06	0,82±0,04*	3,01±0,09	2,00±0,07*
P_i	5,81±0,28	5,63±0,32	13,11±0,64	10,81±0,99	5,71±0,54	6,31±0,45	9,84±0,67	9,23±0,52
АЕЗ	0,79	0,62	0,51	0,48	0,47	0,46	0,62	0,61
АТФ/ ADP· P_i	0,47	0,38	0,12	0,06	0,09	0,10	0,11	0,13

Примітка. к — контроль — 0,015 мг $NH_3/л$; д — дослід — 0,10 мг $NH_3/л$

Спостерігається також тенденція до зниження вмісту ADP та AMP. Відмічені зміни корелюють із зменшенням суми аденіннуклеотидів в усіх тканинах. Це свідчить про зниження енергетичної ємності їх клітин. Іншим підтвердженням такого висновку є вірогідне зниження потенціалу фосфорилування, який є термодинамічним показником і відображає здатність клітин до синтезу АТФ. Зменшення потенціалу фосфорилування, а також зниження вмісту неорганічного фосфату свідчить про порушення цієї функції у риб за інтоксикації аміаком.

Енергетичний заряд, на відміну від потенціалу фосфорилування, відображає кількість макроергічних зв'язків АТФ і ADP у загальному клітинному фонді аденіннуклеотидів. Зменшення його значення, особливо в печінці та м'язах, корелює з пригніченням синтезу АТФ. Отже, аміак інгібує процеси фосфорилування у аденіновій системі, що узгоджується з виявленим інгібуванням за його хронічної дії АТФ-залежних систем детоксикації.

Щодо окремих тканин, то найбільше знижується енергетичний статус м'язів і печінки. Це корелює з даними про глибоку перебудову обміну речовин за дії аміаку саме в цих органах.

Зменшення енергопродукування у зябрах можна пояснити порушенням у них аміаком процесів іонного обміну та поглинання кисню, про що зазначалося раніше. Можливо, високий рівень енерговитрат у зябрах є наслідком формування специфічних захисних систем, функціонування яких спрямоване на протидію проникненню аміаку в організм риб.

Найменші зміни показників, які розглядаються, відмічено у мозку дослідних риб, хоча виявлено зменшення у цьому органі вмісту ADP та суми аденілових нуклеотидів. Підтримання аденілатного енергетичного заряду та потенціалу фосфорилування, що узгоджується з збереженням рівня неорганічного фосфору, свідчить про можливість функціонування у мозку захисних механізмів стабілізації енергетичного живлення. Цей висновок узгоджується з думкою про формування при стресах у тварин так званого "гематоенцефалічного бар'єру захисту", функціонування якого спрямоване на запобігання пошкодженням мозку за

несприятливої дії на організм [24, 32]. Раніше показано, що однією з найважливіших складових такої системи у риб є ініціювання абіотичними факторами середовища синтезу у печінці риб додаткових субстратів для енергетичного окиснення у мозку кетонів тіл [12, 13].

Особливості обміну кетонів тіл у риб за дії аміаку

Відомо, що кетонів тіла за розвитку в організмі тварин енергодефіцитного стану можуть використовуватися як додатковий субстрат окиснення та енергетичного живлення периферійних тканин, а також бути регуляторами окремих ланок метаболізму [89]. Кетогенез, як правило, протікає у печінці при умові зниження рівня глюкози в організмі або її недоступності для аеробного окиснення у зв'язку з виконанням інших функцій, чи за умови пригнічення ЦТК. За дії аміаку у коропа, як зазначалося вище, мають місце обидва явища. По-перше, запаси глюкози у вигляді глікогену швидко та помітно знижуються; по-друге, її утворення у глюконеогенезі, хоча і забезпечують гомеостатичний рівень у крові, мабуть, не сприяє окисненню, а пріоритетно забезпечує функціонування глюкозо-аланінового циклу та продукування необхідних для детоксикації аміаку кінцевих продуктів гліколізу — пірувату і лактату. Взагалі, існує думка, що роль гліколізу у печінці риб полягає не стільки в енергозабезпеченні в їх організмі, скільки в постачанні попередників у біосинтетичні процеси [88]. За інгібування аміаком ЦТК можливе використання пірувату для синтезу кетонів тіл: 2 піруват → 2 ацетил-СоА → ацетоацетил — СоА → ацетоацетат → 3-оксибутират.

Доказом функціонування даного процесу є збільшення вмісту у деяких тканинах дослідних риб вмісту кетонів тіл (рис.1,а) та зростання активності одного з основних ферментів енергетичної утилізації кетонів тіл 3-оксибутиратдегідрогенази (рис.1,б).

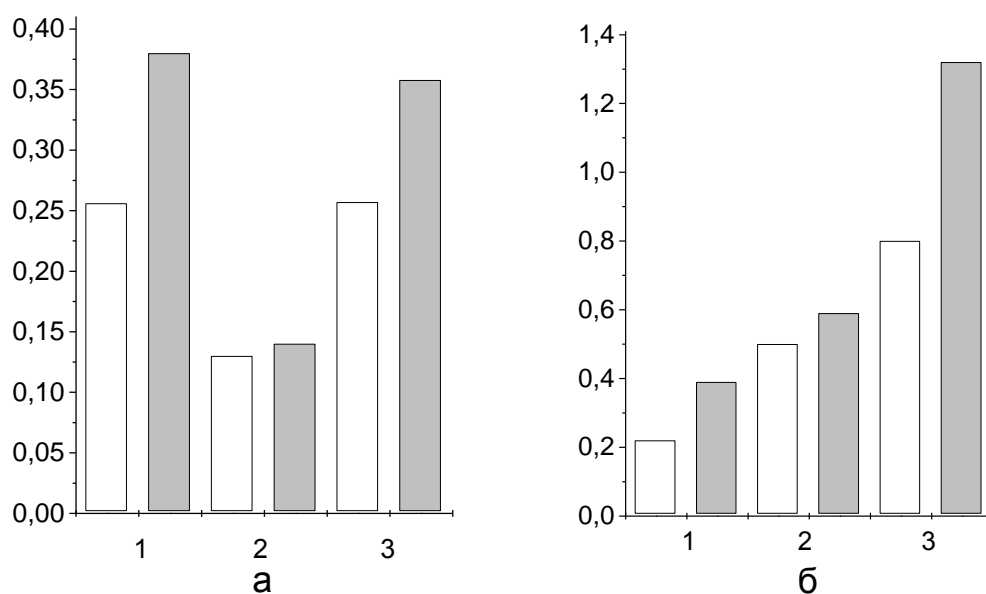


Рис. 1. Вплив аміаку (0,10 мг/л) на вміст кетонів тіл (а) та 3-оксибутиратдегідрогеназну активність (б) у м'язах (1), печінці (2) та мозку(3) коропа. □ — контроль; ■ — дослід.

Одержані дані свідчать про те, що найвищим вміст 3-оксибутирату є у мозку риб, а ацетону та ацетоацетату — у м'язах та мозку. Згідно з літературними даними синтез кетонів тіл відбувається у печінці [22]. Однак, в цьому органі суттєвих відмінностей вмісту кетонів тіл контрольних і дослідних риб не виявлено. Це узгоджується з низькою 3 — оксибутиратдегідрогеназною активністю в цьому органі порівняно з іншими. Передбачаємо швидке видалення утворюваних у печінці кетонів тіл і їх постачання периферійним тканинам, які страждають від зниження енергозабезпечення організму першими. Це підтверджується тим, що у м'язах риб дослідної групи, на відміну від печінки, вміст ацетоацетату та ацетону на 20%

більший, ніж в м'язах контрольних риб. Цей показник для 3-оксибутирату складає 32%. У мозку кількість кетонів у дослідних риб на 30 і 39% відповідно вищий, ніж у контрольних риб. Значно вища 3-оксибутиратдегідрогеназна активність у мозку і м'язах риб порівняно з печінкою, а також збільшення її рівня в цих тканинах майже на 50% за дії аміаку, є свідченням інтенсивного використання кетонів у цих тканинах при інтоксикації організму аміаком. Підвищення ролі кетонів у енергозабезпеченні у риб за дії аміаку може бути пов'язане з використанням глюкози для підтримання функціонування систем його детоксикації та зниження енергозабезпечення за рахунок традиційних шляхів окиснення. Висока імовірність синтезу кетонів підтверджується також високим вмістом та резорбцією за дії аміаку вільних амінокислот та ВЖК, які є основними субстратами для синтезу кетонів.

Отже, утворення кетонів тіл можна вважати одним із компенсаторних механізмів енергозабезпечення за несприятливої дії аміаку. Одночасно слід відмітити, що рівень кетонів тіл визначається співвідношенням процесів їх синтезу та окиснення. Оскільки 3-оксибутиратдегідрогеназна активність у печінці дослідних риб порівняно з контрольними не змінюється, то в цьому органі їх утилізація не відбувається. Тому виникає певний дисбаланс між синтезом кетонів тіл у печінці і їх використанням в інших органах. Це може викликати інтоксикацію організму кетонними тілами та бути додатковим несприятливим фактором у організмі риб при отруєнні аміаком.

Отже, процеси окиснення в організмі риб за дії граничних рівнів аміаку водного середовища забезпечують енерговитрати на адаптацію інших систем обміну речовин, беруть участь у підтриманні метаболічного та кислотного-основного гомеостазу в організмі. Вказані зміни спрямовані на запобігання розвитку патологій та підтримання гомеостазу фізіологічних функцій організму, а також на забезпечення функційної адаптації клітин, тканин і органів у несприятливих умовах за дії аміаку.

Висновки

1. Встановлено, що надлишок аміаку у водному середовищі та організмі риб змінює спрямованість та швидкість перетворення вуглеводів у ключових ланках їх метаболізму.

2. Досліджено механізми пошкоджуючої дії аміаку у системах енергозабезпечення, які полягають у:

— вибіркового вилученні із метаболічних ланцюгів окремих проміжних метаболітів (наприклад, лактату та 2-оксиглутарату), які використовуються у процесах детоксикації та для підтримання кислотного-основного і метаболічного гомеостазу; активації ферментів та ферментних систем, пов'язаних з детоксикацією аміаку;

— збільшенні енерговитрат, спрямованих на підтримання енергозабезпечення систем детоксикації;

— зниженні активності аеробних ланок енергозабезпечення та посиленні функціонування гліколізу;

— зміні співвідношення регуляторних факторів енергетичного обміну, що проявляється у збільшенні загального вмісту відновлених форм нікотинамідних коферментів, що в свою чергу приводить до зміни складу та перерозподілу основних енергетичних компонентів тканин;

— встановленні специфічного співвідношення інтенсивності окремих ланок метаболізму вуглеводів, який полягає в активуванні гліколізу у м'язах та гліоконеогенезу у печінці з одночасним функціонуванням гліукозоаланінового циклу;

— зниженні стану фосфорилування аденіннуклеотидної системи та активуванні за цих умов додаткової системи енергозабезпечення шляхом синтезу кетонів тіл.

3. Більшість виявлених закономірностей має місце за дії на риб інших токсикантів (ДДТ, солей важких металів, токсинів синьо-зелених водоростей, СПАР і ін.) [29]. Тому, можна зробити висновок, що в організмі риб у відповідь на інтоксикацію формується своєрідний стан систем енергозабезпечення. Частина біохімічних змін, які відбуваються, можна вважати адаптивними, оскільки вони забезпечують виживання гідробіонтів при хронічній дії порогових рівнів токсикантів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Определение гликогена по Зейфтеру / Биохимическая фотометрия. — М.: Изд-во АН СССР. — 1957. — С. 452-453.
2. Баев В.И., Булах Е.И. Способ определения кетоновых тел в тканях / Мат. IV корф. и выступл. по изобр. и рационал. в медицине. — Л.: Медицина, 1973. — С. 89-90.
3. Бейли Д. Методы химии белков. — М.: Мир, 1965. — 216 с.
4. Великий Н.Н., Пархомец П.К. Роль окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма // Витамины. — 1976. — №9. — С. 3-15.
5. Весельский С.П. Влияние минерального обогащения комбикорма на рост и некоторые метаболические процессы в организме карпа при его садковом выращивании на подогретых водах // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. 03.00.18. Институт гидробиологии АН УССР. — Киев, 1980. — 23 с.
6. Винников А.И. Образование разности электрических потенциалов в мембранных везикулах *Staphylococcus aureus* // Биохимия. — 1984. — Т. 49, № 12. — С. 2041-2044.
7. Виноградов Г.А. Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб и беспозвоночных // Физиология, биохимия и токсикология пресноводных животных. Тр. ИБВВ. — Л.: Наука, 1990. — Вып. 57(60). — С. 3-28.
8. Виноградова И.Л., Багрянцева С.Ю., Дервиз Т.В. Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТР в эритроцитах // Лаб. дело. — 1980. — № 7. — С. 424-426.
9. Грубинко В.В. Механизм выведения аммиака у карпа, роль в нем глутаминсинтетазы и ее свойства // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. 03.00.04. МГПИ им. В.И. Ленина. — М.: 1988. — 17 с.
10. Грубинко В.В., Явоненко О.Ф., Арсан О.М. Механізм зв'язування екзогенного амонію у коропа // Доповіді АН України. — Сер. Б. — 1990. — № 5. — С. 70-72.
11. Грубинко В.В., Арсан О.М. Динаміка амінокислот і амідів у прісноводних риб при дії аміаку // Доповіді АН України. — 1991. — № 3. — С. 142-145.
12. Жиденко А.А. Особенности метаболизма энергетических компонентов у зимующей молоди карпа и роль адаптивных механизмов в ее выживаемости // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. 03.00.04. Институт биохимии АН Украины им. А.В. Палладина. — Киев, 1990. — 18 с.
13. Жиденко А.А., Грубинко В.В., Явоненко А.Ф. Роль кетоновых тел в энергообеспечении пойкилотермных организмов в условиях зимнего голодания // Укр. биохим. журн. — 1990. — Т. 62, № 5. — С. 72-75.
14. Зинич В.Н. Метод измерения 2-оксиглутаратдегидрогеназной активности интактных митохондрий // Укр. биохим. журн. — 1986. — Т. 58, № 2. — С. 73-77.
15. Кеньдыш И.Н. Регуляция углеводного обмена. — М.: Медицина, 1985. — 271 с.
16. Коваленко В.Ф., Коцарь Н.И. Влияние собственных экзометаболитов на газообмен у карпа при различных температурных условиях // Гидробиол. журн. — 1991. — Т. 27, № 2. — С. 72-75.
17. Козлов В.И., Абрамович Л.С. Справочник рыбовода. — М.: Россельхозиздат, 1980. — 220 с.
18. Кондрашова М.Н., Лесогорова М.Н., Шполь С.Э. Метод определения неорганического фосфора по спектрам поглощения молибдатных комплексов в УФ // Биохимия. — 1965. — Т. 30, № 3. — С. 567-572.
19. Коновалов Ю.Д. Связывание кадмия и ртути белками и низкомолекулярными тиоловыми соединениями рыб // Гидробиол. журн. — 1993. — Т. 29, №1. — С. 42-51.
20. Коуи К., Сарджент Дж. Питание/ Биоэнергетика и рост рыб. — М.: Мир, 1983. — С. 8-69.
21. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 351 с.
22. Ленинджер А. Основы биохимии. — М.: Мир, 1985. — Т.2. — 368 с.
23. Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. — М.: Легк. и пищ.пром-сть, 1983. — 320 с.
24. Лукьяненко В.И. Физиолого-биохимические аспекты экологического мониторинга / II Всес.конф. по рыбохоз. токс., С. — Пб, ноябрь 1991:Тез. докл. — С.-Пб.: Б.и., 1991. — С.18-20.
25. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М.: Химия, 1984. — 448 с.
26. Львова С.П. Фосфорилазная и глюкозо-6-фосфатазная активность в тканях крыс в онтогенезе // Укр. биохим. журн. — 1985. — Т. 57, № 1. — С. 36-41.
27. Малиновская М.В. Особенности липидного и углеводного обмена у карпа при температурной акклимации // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. 03-00-18. Институт гидробиологии АН Украины. — Киев: 1988. — 17 с.
28. Малиновская М.В. Пути метаболизма углеводов у рыб и их температурная адаптация (обзор) // Гидробиол. журн. — 1988. — Т. 24, № 6. — С. 29-39.
29. Маляревская А.Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного евтрофирования водоемов. — К.: Наук. думка, 1979. — 254 с.

30. Маляревская А.Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам (обзор) // Гидробиол. журн. — 1985. — Т. 21, № 3. — С. 70-82.
31. Матей В.Е. Функциональная морфология жаберного эпителия пресноводных костистых рыб // Физиология, биохимия и токсикология пресноводных животных. Тр. ИБВВ. — Л.: Наука, 1990. — Вып. 57(60). — С. 104-141.
32. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. — М.: Наука, 1981. — 277 с.
33. Определение активности сукцинатдегидрогеназы. Определение активности фруктозо-1,6-дифосфатазы // Современные методы в биохимии / Под. ред. В.Н. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 44; 77-78.
34. Мецлер Д. Биохимия. — М.: Мир, 1980. — Т.1. — 467 с.
35. Ньюсхолм Э., Стар К. Регуляция метаболизма. — М.: Мир, 1977. — 407 с.
36. Парк Д.В. Биохимия чужеродных соединений. — М.: Медицина, 1973. — 288 с.
37. Прохорова М.Ю., Тиунов М.П., Шаналис Д.А. Простой колориметрический метод определения свободных жирных кислот // Лаб. дело. — 1977. — № 9. — С. 535-536.
38. Романенко В.Д. Эколого-физиологические основы тепловодного рыбоводства. — К.: Наук. думка, 1983. — 140 с.
39. Романенко В.Д., Евтушенко Н.Ю., Коцарь Н.И. Метаболизм углекислоты у водных животных. — К.: Наук. думка, 1980. — 180 с.
40. Савина М.В. Механизмы адаптации тканевого дыхания в эволюции позвоночных. — С.-Пб.: Наука, 1992. — 197 с.
41. Саутин Ю.Ю., Малиновская М.В. Влияние температурной акклимации на NADP-зависимую дегидрогеназную активность печени карпа и некоторые механизмы ее регуляции // Укр. биохим. журн. — 1988. — Т. 60, № 6. — С. 29-34.
42. Силкина Н.И., Виноградов Г.А., Микряков В.Р. Состав липидов тканей карпа в условиях влияния ионов аммония / V Всес. конф. по водной токсикол. Одесса, апр. 1988: Тез. докл. — М.: Б.и. — 1988. — С.144-145.
43. Смирнов А.В. Роль глюконеогенеза при физической деятельности // Успехи совр. биологии. — 1984. — Т. 97, № 3. — С. 399 — 412.
44. Струбицкая Т.В. Гидрофобные ксенобиотики прудов и участие гепатопанкреаса карповых рыб в их метаболизме // Автореф. дисс.... канд. биол. наук. 03-00-18. Институт гидробиологии АН Украины. — Киев, 1990. — 16 с.
45. Технология производства рыбы в прудовых хозяйствах СССР/ Ред. Федорченко В.И., Михеева В.П. — М.: ВНИИПРХ. — 1986. — 186 с.
46. Филенко О.Ф. Некоторые универсальные закономерности действия химических агентов на водные организмы // Автореф. дисс.... докт. биол. наук. 03-00-18. МГУ. — М.: 1990. — 36 с.
47. Хлебович В.В. Акклимация животных организмов. — Л.: Наука, 1981. — 135 с.
48. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. — М.: Мир, 1988. — 568 с.
49. Шульман Г.Е., Аболмасова Г.И., Столбов А. Я. Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов // Успехи совр. биол. — 1993. — Т. 113, № 5. — С. 576–586.
50. Atkinson D.E. The energy change of adenilate pool as a regulatory parameter // Biochemistry. — 1968. — Vol. 2, N 11. — P. 4030 — 4034.
51. Begum S.J. Biochemical adaptive responses in glucose metabolism of fish (*Tilapia mossambica*) during ammonia toxicity // Curr.Sci.(India). — 1987. — Vol.56, N 14. — P. 705-708.
52. Bergmeyer H.U. Principles of enzymatic analysis / Methods of enzymatic analysis. — Weinheim: Verlag Chemie, 1963. — P. 3-13.
53. Bergmeyer H.U., Bernt E. L-lactate, 2 — Oxoglutarate, L-glutamate / Methods of enzymatic analysis. — Weinheim: Verlag Chemie, 1963. — P.266; 324-339; 384-388.
54. Brady L.J., Hoppel, Brady P.S. Hepatic mitochondria innermembrane properties, b-oxydation and carnitine palmitoyltransferases A and B // Biochem. J. — 1986. — Vol. 233, N 2. — P.427-433.
55. Caamano G.J., Iglesias J., Marco C., Linares A. In vivo utilization of (3-4 °C) acetoacetate for lipid and amino acid synthesis in the 15 day-old chick // Comp. Biochem. and Physiol. — 1988. — Vol. 91, N 1. — P. 1-15.
56. Chang Vol.M., Idler D.R. Biochemical studies on sockeye salmon during spawning migration — Liver glycogen // Can. J. Biochem. Physiol.— 1960. — Vol. 38, N 4. — P. 553-558.
57. Creach Y., Serfaty A. Physiol. J., Paris. — 1974. — Vol.68. — P. 245-260.
58. Cyore K., Janurik E., Olah J., Szabo P. A ponty (*Cyprinus carpio* L.) ammoniafuggo legzése es ammoniauriteze // Halaszat. — 1984. — Vol. 30, N 3. — P. 81-83.

59. Folch J., Lees M., Sloane-Stanloy G.H. A simple method for the isolation and purification from animal tissues total lipides (for brain, liver and muscle) // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226, N 1. — P. 497-509.
60. Glutamate dehydrogenase. Lactate dehydrogenase. Malate dehydrogenase / Biochemica Information. — Vol.1, 2. — W.Germany: Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica, 1975. — P. 211-228.
61. Hyghes G.M. General anatomy of the gills // Fish Physiol. — 1984. — Vol. 40, N 2. — P. 123-138.
62. Iwata Katsuya. Nitrogen metabolism in the mudkipper, *Periophthalmus cantonens* : changes in free amino acids and related compounds in various tissues under conditions og ammonia loading, with special reference to its high ammonia tolerance // Comp. Biochem. and Physiol. — 1988. —Vol. 91, N 3. — P. 499-508.
63. Jeney G., Nemesok J., Jeney Zs., Olah J. Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common carp (*Cyprinus carpio* L.).II. Effect of ammonia on blood plasma transaminases (GOT, GPT), GIDG enzyme activity and ATP value // Aquaculture. — 1992. — Vol. 104, N 1-2. — P. 149-156.
64. Katz A., Messineo F.C. Lipid-membrane interactions and the pathogenesis of ischemic damagein the myocardium // Circ.Res. — 1981. — Vol. 48, N 1. — P.1-16.
65. Kinsella I.E.General metabolism of the hexapod embryo with particular reference to lipids // Comp. Biochem. Physiol. — 1966. — Vol. 19, N 1. — P. 291-304.
66. Knights B. Effect of ammonia accumulation on metabolic rates and growth of European eel, *Anquilla anquilla* L., in relation to warmwater aquaculture // Aquacult. and Fish Manag. — 1989. — Vol. 20, N 1. — P. 111-117.
67. Linko R.The lipid composition of Baltic herring // Suomen. Kem. — 1964. — Vol. 37, N 5-6. — P. 90-92.
68. Lowenstein I.M. Ammonia production in muscle and other tissues: The purine nucleotide cycle // Physiol. ReVol. — 1972. — Vol. 52, N 2. — P. 384-414.
69. Lowern J.A.The lipids of marine organisms // Oceanogr. and Marine Biol. Annual. ReVol. — 1964. — N 2. — P.169-191.
70. Lowry O.H., Rosenbroug N.I., Farr A.L., Randall R.I. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P.265-275.
71. Mehrle P.M., Bloomfield R.A. Ammonia detixifying mechanisms on rainbow trout altered by dietary dieldrin // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 1974. — Vol. 27, N 3. — P. 609-613.
72. Mehrle P.M., Stalling O.L., Bloomfield R.A. Serum amino acids in rainbow trout as effected by DDT and dieldrin // Comp. Biochem. Physiol. — 1971. — Vol. 38, N 3. — P. 373-377.
73. Metabolic compartmentation / Ed. H.Sies. — New-York: Academic Press, 1982. — P. 205-226.
74. Nemesok J., Gyore K., Olah J., Boross L. Effect of NH₃ on blood glucose and catecholamine level GOT, GPT, LDH enzyme activity and respiration of fishes // Fish, Pathog. and Environ. Eur. Polycult. — Budapest, 1984. — P. 209-217.
75. Ogata E., Kondo K., Kimura S., Yoshitoshi Y. Ocredency on Ca²⁺ of ATP-stimulated uncoupled oxidation of succinate in rat liver mitochondria // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1972. — Vol. 46, N 2. — P. 640-645.
76. Ogata H., Murai T. Effects of ammonium chloride administration on ammonia and free amino acid levels in erythrocytes and plasma of carp//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. — 1987. — Vol. 53, N 7. — P. 1257-1260.
77. Orban L., Tatrai I. A kulonbozo kornyezeteli ammonia koncentraciok hatasa a pontyivadek (*Cyprinus carpio* L.) nitrogen-anyaqcserejere // Halaszat. — 1987. — Vol.33, N 5. — P. 156-158.
78. Palackova I., Jirasek I., Paul A. Uciniek subletatni koncentrace ammoniaku na vubrane fysiologicke ukasatele u karpio pludku (*Cyprinus carpio* L.) // Zivoc. vyroba. — 1986. — Vol. 31, N 10. — P. 893-900.
79. Prasad T.A.Vol., Srinivas T., Reddy D.C. Modulation in nitrogen metabolism in the hepatic and neuronal tissues of fish, *Tilapia mossambica*, exposed to atrazine// Biochem. Int. — 1991. — Vol. 23, N 2. — P. 271-279.
80. Radhaiah Vol., Girija M., Jayantha Rao K. Changes in selected biochemical parameters in the kidney and blood of the fish, *Tilapia mossambica* (Peters), exposed to heptachlor // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 1987. — Vol. 39, N 6. — P. 1006-1011.
81. Rajyasree M. Alteration in protein metabolism of fish *Cyprinus carpio* L. on exposure to ambient urea // J. Curr. Bioci. — 1991. — Vol. 8, N 2. — P. 49-52.
82. Rani Vol.J., Janaiah C. Ammonia metabolism in freshwater teleost, *Clarias batrachus* (Linn.) on exposure to trichlorfon//Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 1991. — Vol. 46, N 5. — P. 731-737.
83. Rao K.S.P., Ahmad I.K., Rao K.Vol.R. Impact of methyl parathion on the tissue NH₄⁺-changes in the fish *Tilapia mossambica* (Peters)//Proc. Indian Nat. Sci. Acad. — 1981. — Vol. B.47, N 3. — P. 394-397.
84. Reddy P.M., Bashamohideen Md. Toxic impact of fenvalerate on the protein metaboliām in the branchial tissue of a fish, *Cyprinus carpio* // Curr. Sci.(India). — 1988. — Vol. 57, N 4. — P. 211-212.
85. Seligson D., Seligson H.A. Microdiffusion method of the determination of nitrogen liberated ag ammonia // Z. chim. nud. — 1951. — Vol. 32, N 3. — P. 324-327.

86. Sreedevi P., Sivaramakrishna B., Suresch A., Radhakrishnaiah K. Effect of nickel on some aspects of protein metabolism in the gill and kidney of the freshwater fish, *Ciprinus carpio* L. // *Environ. Pollut.* — 1992. — Vol. 77, N 1. — P. 59-63.
87. Teylor T. A modified procedure for the microdetermination of citric acid // *Biochem.J.* — 1953. — Vol. 54, N 1. — P. 62-65.
88. Walton M.J., Cowey C.B. Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish // *Comp. Biochem. Physiol.* — 1982. — Vol. 73B, N 1. — P. 59-79.
89. Wu G., Thompson J.R. Ketone bodies inhibit leucine degradation in chick skeletal muscle // *Int. J. Biochem.* — 1987. — Vol. 19, N 10. — P. 937-942.

V.V. Grubinko, V.O. Arsan, I.M. Konovets'

THE ENERGY STATUS OF FISHES' ORGANISMS AT INTOXICATION BY AMMONIA

The pollution of intrinsic reservoirs, including fish-farming, is one of the limiting factors of functioning of aqueous ecosystems and their bioeffecting. In this connection the study of physiologically-biochemical mechanisms of acclimatization and fishes' metabolic processes in polluted aqueous ecosystems is one of the main conditions for development of effective methods of increasing stability of water organisms to new conditions of existence.

Надійшла 22.02.2001

УДК 636. 2: 599. 323. 41: 576. 344

В.З. Курант, С.В. Бродін, Ю.В. Синюк

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛІЦИНУ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА В УМОВАХ IN VIVO

прісноводні риби, важкі метали, метаболізм, гліцин

Серед вільних амінокислот гліцину належить особлива функціональна роль. Це пояснюється його надзвичайною метаболічною лабільністю та швидкістю перетворення. Відома активна участь гліцину у синтезі білків та нуклеїнових кислот, в субстратному забезпеченні ліпогенезу та глюконеогенезу, а також використання як енергетичного субстрату [2]. Різноманітною є функціональна роль гліцину в організмі риб. Він регулює осмотичний тиск в м'язових клітинах риб, накопичуючись в цій тканині в значних кількостях. Зокрема, у коропа гліцин є домінуючою амінокислотою м'язів [9]. Ця амінокислота виконує у риб роль харчового стимулятора, а також підвищує їх стійкість до низьких температур. Разом з глюкозою гліцин зв'язує вільну воду в м'язах та інших тканинах риб і тим самим знижує температуру її замерзання на десять частки градуса [7].

Численними дослідженнями, проведеними на різних видах риб, було показано, що вільні амінокислоти в організмі цих пойкилотермних тварин є добрим і доступним джерелом енергії [8,11]. Особливо важливого значення вільні амінокислоти, особливо гліцин, набувають в період зимового голодування [10]. Показано також участь гліцину в адаптації гідробіонтів до дії іонів важких металів [5]. Саме тому метою нашої роботи стало вивчення ролі гліцину та продуктів його метаболізму у забезпеченні опірності та адаптації організму коропа до дії підвищених концентрацій у водному середовищі іонів марганцю, цинку, міді та свинцю.

Матеріали і методи досліджень

Досліди проводили на дворічках коропа (*Cyprinus carpio* L.) масою 250-300г. Вивчали вплив на риб іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} та Pb^{2+} в концентраціях 2, 4 та 6 мг/л, 2 і 5 мг/л, 0,1 і 0,5

мг/л та 0,2 і 0,5 мг/л відповідно, що становить 2 і 5 рибогосподарських ГДК. Метали вносили у вигляді солей $MnCl_2$, $ZnSO_4$, $CuSO_4$ та $Pb(NO_3)_2$.

Період аклімації становив 14 діб. В останній день експерименту рибам внутрішньочеревно вводили $[U^{14}C]$ гліцин в кількості 1 мБк/100г живої маси і через 3 години тварин забивали. Після цього відбирали проби тканин печінки та спинних м'язів для визначення включення міченого гліцину в біосинтез білків, ліпідів та вуглеводів. Ферментативні процеси в гомогенатах припиняли додаванням 10 % ТХОК. Ліпіди з гомогенатів тканин екстрагували сумішшю хлороформ-метанол (2: 1) за методом Folch J. [12]. Радіоактивність білків визначали після вилучення ліпідів, глікогену, глюкози та інших водорозчинних речовин за методом Schort F. [14]. Радіоактивність вуглеводів визначали за методом Прохорової М. І. [6]. Вилучення нуклеїнових кислот здійснювали кип'ятінням гомогенатів у 5% розчині ТХОК. Вимірювання радіоактивності проб проводили на сцинтиляційному лічильнику ЛКБ (Швеція). Одержані дані опрацьовували статистично [4].

Результати досліджень та їх обговорення

З приведених у таблиці даних видно, що у нормальних умовах існування риб гліцин використовується на біосинтез білків, ліпідів та вуглеводів як в печінці так і в м'язах коропа. При цьому у печінці 66,4 % його іде на синтез білків, 27,6 % на синтез ліпідів і 5,9 % на синтез вуглеводів. У м'язах, відповідно, 28,6 % гліцину використовується на синтез білків, 53,9 % на синтез ліпідів та 17,4 на синтез вуглеводів. Слід відмітити, що максимальна кількість досліджуваного субстрату в печінці виявлена в складі білків, в той час, як в м'язовій тканині максимум радіоактивної мітки знайдено у складі ліпідів. Найменше $[U^{14}C]$ гліцину як в печінці, так і в м'язах використовується на синтез вуглеводів.

Таблиця

Радіоактивність білків, ліпідів та вуглеводів, синтезованих в тканинах коропа при використанні $[U^{14}C]$ гліцину в умовах *in vivo* (тис. імп. /хв. на 100 мг сухої тканини, $M \pm m$, $n=5$)

Групи риб	Білки	Ліпіди	Вуглеводи
Печінка			
Контроль	15,60±1,12	6,50±0,37	1,40±0,13
Марганець	9,70±0,66*	4,20±0,38*	1,02±0,13
Цинк	10,50±0,95*	2,16±0,19*	1,20±0,11
Мідь	11,30±0,70*	4,80±0,40*	2,85±0,19*
Свинець	4,47±0,35*	3,69±0,31*	0,81±0,05*
М'язи			
Контроль	3,34±0,35	6,30±0,45	2,03±0,17
Марганець	2,63±0,18	6,20±0,50	1,30±0,12*
Цинк	3,00±0,27	6,80±0,50	0,98±0,06*
Мідь	2,40±0,22	5,80±0,35	1,52±0,13*
Свинець	2,88±0,17	7,50±0,67	2,83±0,16*

Примітка. * — Різниця вірогідна порівняно з контролем ($P < 0,05$)

У результаті дії іонів важких металів змінюється співвідношення інтенсивності ступеня використання гліцину в синтезі кожного з досліджуваних сполук. Так, в печінці та м'язах під впливом усіх досліджуваних металів зменшується включення радіоактивної мітки у фракцію білків. Найбільші відхилення від контролю спостерігаються в результаті дії іонів свинцю (71,3%), а найменші — іонів цинку (32,6%). Причиною цього може бути як різний вплив іонів металів на біосинтетичну здатність клітин, так і регуляторна функція самого гліцину в процесі біосинтезу білків [1].

Щодо ліпідів, то частка гліцину, який використовується на їх синтез в печінці в результаті дії іонів усіх досліджуваних металів, зменшується, в той час як в м'язах цей показник зростає, за винятком міді, де спостерігається його незначний спад. Наші дані узгоджуються з даними авторів [3], які показали, що взаємодія гліцину з певними інтермедіатами в тканинах щурів приводить до активації використання гліцину в синтезі

ліпідів в одних тканинах (в нашому випадку в м'язах) та до пригнічення цього процесу в інших (в даному досліді в печінці).

Найменшою мірою гліцин в тканинах риб використовується на синтез вуглеводів. Це, ймовірно, пояснюється тим, що риби для енергетичних потреб, в основному, використовують жири, білки та амінокислоти [10]. Крім того, в цих гідробіонтів дуже низька гексокіназна активність [13], що не дає змоги їм активно перетворювати вуглеводи, зокрема глюкозу. У результаті дії іонів досліджуваних металів відбувається зниження включення міченого гліцину у вуглеводи в печінці під впливом марганцю (на 27,1%), цинку (на 14,3%) та свинцю (на 42,1%), і зростання під впливом міді (на 103,6%). У м'язах спостерігається подібна закономірність: зниження активності цього процесу в результаті дії іонів марганцю (на 35,9%), цинку (на 51,7%) та міді (на 25,1%), і зростання під впливом іонів свинцю (на 39,4%).

Відмінності у реакції тканин риб на дію іонів важких металів, можливо, пов'язані із різними шляхами перетворення гліцину у печінці та м'язах. Ця амінокислота в організмі коропа піддається окислювальному дезамінуванню як гліцинооксидазою, так і дезамінуючими NAD- і NADPH- залежними дегідрогеназами. Перший фермент більш активний в м'язовій тканині коропа, в той час в печінці більш активними є названі дегідрогенази [9]. Продуктом цих перетворень є гліоксилова кислота, яка окислюючись до CO₂ та H₂O, забезпечує організм риб енергією. Енергетична цінність цього процесу менша порівняно з вуглеводами та жирами, однак за дії стресових факторів, якими зокрема є високі концентрації у воді важких металів, гліцин, акумульований у м'язах риб, має важливе значення у забезпеченні їх організму енергією під час адаптаційних перебудов.

Висновки

Встановлено участь гліцину в біосинтезі білків, ліпідів та вуглеводів у печінці і м'язах коропа, а також вплив іонів важких металів на активність цих процесів. Дія іонів марганцю, цинку, міді та свинцю в концентрації 2ГДК приводить до посилення використання цієї амінокислоти в субстратному забезпеченні енергетичних процесів у тканинах риб при вказаному токсикозі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гулый М. Ф. О регуляторной роли аминокислот в биосинтезе и формировании структуры белка // Укр. биохим. журн. — 1978. — Т. 50, №2. — С. 243-260.
2. Гулый М. Ф., Голубева Л. И., Бойко В. Б. Некоторые метаболические реакции глицина в организме животных // Укр. биохим. журн. — 1983. — Т. 55, № 4. — С. 372-375.
3. Гулый М. Ф., Голубева Л. И., Бойко В. Б., Криворот Н. И. Изучение условий включения ¹⁴C из глицина в липидную фракцию тканей крыс // Укр. биохим. журн. — 1983. — Т. 55, № 4. — С. 376-379.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 351 с.
5. Никаноров А. М., Жулидов А. В., Покаржевский А. Д. Биомониторинг тяжелых металлов в пресноводных экосистемах. — Л.: Гидрометеиздат, 1985. — 144 с.
6. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). — Л.: Изд-во Ленинградского у-та, 1982. — 272 с.
7. Сорвачев К. Ф. Азотсодержащие вещества мышц однолетнего карпа во время зимовки // Биохимия. — 1959. — Т. 24, № 2. — С. 241-247.
8. Явоненко О. Ф., Яковенко Б. В. Роль цикла дикарбоновых кислот та гліцину в енергозабезпеченні риб // Науково-технічний бюлетень інституту землеробства і біології тварин УААН. — Львів, 1999. — Вип. 1 (3). — С. 84-88.
9. Яковенко Б. В. Особливості метаболізму гліцину в організмі коропа лускатого: Автореф. дис... докт. біол. наук: 03. 00. 04. Інститут біології тварин УААН. — Львів, 1993. — 37 с.
10. Яковенко Б. В., Курант В. З., Явоненко А. Ф. Влияние голодания на белковый обмен в мышечной ткани карповых рыб // Гидробиол. журн. — 1982. — Т. 18, № 5. — С. 100-105.
11. Steas'h Y. Importance des besoins azotes chez les poissons // Ann. Inst. M. Pacha. — 1976. — Vol. 9. — P. 91-92.
12. Folch J., Lees M. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226, N 1. — P. 497-501.

13. Nagayama F., Ohshima H., Umezawa K. Distribution of glucose-6-phosphate metabolizing enzymes in fish // Nippon Suisan Gakkaishi. — 1972. — Vol. 38. — P. 589-593.
 14. Schort F. A. Protein synthesis by red and white muscle in vitro: effect of insulin and animal age // Am. J. Physiol. — 1969. — Vol. 217, N 1. — P. 307-309.

V.Z. Kurant, S.V. Brodin, Y.V. Synyuk

INFLUENCE OF IONS OF HEAVY METALS ON METABOLISM OF GLYCINE IN ORGANISM OF CARP IN VIVO

The inclusion of glycine in proteins, lipids and carbohydrates under the influence of ions of manganese, zinc, copper and lead on carp organism in vivo has been studied. It is shown that the intoxication of fish organisms by the ions of heavy metals leads to the intensification of glycine metabolism in fish tissues, which proves the important role of this amino acid in the substrate supply of the energy processes.

Надійшла 12.03.2001

УДК 612.015.3: 577.17: 597.554.3

Р.Б. Балабан

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
 46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

СТАН РІВНОВАГИ У ГЛУТАМАТДЕГІДРОГЕНАЗНІЙ РЕАКЦІЇ ЗА ДІЇ ІОНІВ МАРГАНЦЮ, ЦИНКУ ТА МІДІ В ТКАНИНАХ КОРОПА

прісноводні риби, важкі метали, глутаматдегідрогеназа

Глутаматдегідрогеназа (ГДГ) — ключовий фермент біосинтезу глутамату в клітинах. У більшості організмів виявлено ГДГ двох типів, які відрізняються спорідненістю до певного кофактору NAD (H) чи NADP (H), молекулярною масою, властивостями і метаболічною роллю [7]. Напрямок глутаматдегідрогеназної реакції регулюється співвідношенням у клітинах концентрації її субстратів: 2-оксиглутарату та глутамату. Зміщення рівноваги в реакції (зв'язування аміаку 2-оксиглутратом в глутамат чи навпаки), яка каталізується одним ферментом, визначає тип коферменту [11,14]. Тому про спрямованість процесу синтезу-розщеплення глутамату судять за співвідношенням активностей ГДГ з NAD (H) та NADP (H). В організмі риб дезамінування глутамату здійснює NAD(H) залежна ГДГ [1,5,8], а його синтез - NADP (H) -залежний фермент [3,14]. При цьому обидві форми локалізовані у мітохондріях [1]. Співвідношення їх активностей регулює рівень 2-оксиглутарату, глутамату та аміаку.

У літературі існує ряд даних про зміни дегідрогеназної активності за дії різних екстремальних чинників. Так, підвищена активність ГДГ спостерігалась при отруєнні плямистого змієголова сублетальними концентраціями ртуті [20], тіляпії атразином і сатурном [19]. Активність ГДГ збільшується у гамбузії при токсичній дії NaNO₃ (100 мг/л) або NaNO₂ (0,12 мг/л) [18] і в нирках форелі при дії NaCl [16].

ГДГ здатна зміщувати рівновагу “α-кетоглутарат-глутамат” в той чи інший бік в залежності від співвідношення концентрацій NAD- і NADP в середовищі. Так, у зимуючої молоді коропа рівновага зміщена в бік NADP-залежної реакції. Вважають, що це є додатковим шляхом детоксикації аміаку, що веде до відтоку α-кетоглутарату з пулу проміжних продуктів циклу Кребса [4]. За рахунок активного функціонування глутаматдегідрогеназної системи у коропа здійснюється детоксикація надлишкового аміаку, а також забезпечується необхідним субстратом ферментна система синтезу амідів [6].

Відомі також вікові зміни активності NAD-залежних дегідрогеназ в печінці коропа [10]. Максимальний рівень активності цих ферментів у статевозрілих особин був констатований напередодні нересту. Загальною закономірністю було зниження активності усіх ферментів в печінці після гіпофізарних ін'єкцій і після нересту.

Отже, зміна активності функціонування глутаматдегідрогеназної системи забезпечує низку пристосувань як до сезонних та вікових змін в організмі, так і до негативних екологічних факторів. Метою нашого дослідження стало з'ясувати стан рівноваги у глутаматдегідрогеназній реакції в організмі коропа при дії іонів марганцю, цинку та міді.

Матеріали і методи досліджень

Досліди проводились на коропах (*Cyprinus carpio* L.) дворічного віку, які утримувались в акваріумах об'ємом 200 л, заповнених відстояною водопровідною водою при температурі $14 \pm 1^\circ\text{C}$. Гідрохімічні показники води і кисневий режим були стандартними. Вміст кисню становив 7,0-8,0 мг/л, вуглекислого газу — 2,2-2,8 мг/л. Значення рН було в межах 8,10-8,25. Вміст основних катіонів та аніонів був близьким до норми згідно вимог [13]. З метою уникнення впливу на риб їх власних екзометаболітів воду в акваріумах міняли кожних дві доби. У процесі експерименту риб не годували.

Вивчали вплив на риб іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} та Cu^{2+} в концентраціях 2,4 та 6 мг/л, 2 і 5 мг/л та 0,1 і 0,5 мг/л відповідно, що становить 2 і 5 рибогосподарських ГДК. Метали вносили у вигляді солей MnCl_2 , ZnSO_4 та CuSO_4 .

Для досліджень брали печінку та м'язову тканину, які заморожували, розтирали і використовували для виділення субклітинних структур методом диференційного центрифугування гомогенатів, які готували в 0,22 М розчині сахарози, що містив 0,05М калій-фосфатного буферу (рН=7,5) та 0,001 М ЕДТА. Схема центрифугування була класичною для отримання мітохондрій та цитозолу клітин. Досліджували активність NADH та NAD (P) H залежних глутаматдегідрогеназ.

Активність ГДГ визначали спектрофотометрично в прямій і зворотній реакціях з використанням одного з субстратів NADH або NAD (P) H по кількості відновленого NAD (P), вимірюючи приріст оптичної густини при 340 нм в 0,05 М калій-фосфатному буфері, згідно відомого методу [15]. Інкубаційна суміш містила: 50 мМ калій-фосфатного буферу (рН=7,5); 13,6 мМ 2-оксиглутарату; 21мМ фосфату амонію; 0,9 мМ ЕДТА; 0,12 мМ NAD (P) H; 1,7мМ ADP. Ферментну активність виражали в наномоль NAD (P) H на 1 мг білку за хвилину.

Вміст білку визначали за методом Лоурі та співавторів [17]. Отримані результати піддавали статистичній обробці за загальноприйнятою методикою з використанням t-критерію Стьюдента для визначення достовірності різниці [12].

Результати досліджень та їх обговорення

Найбільш інтенсивно синтез глутамату протікає в м'язах та печінці коропа при дії іонів марганцю (табл. 1), які, як відомо, активують низку металоферментних комплексів, зокрема глутамінсинтетазу [14]. Можна припустити спряженість функціонування цього ферменту та NADP(H)-залежної ГДГ, оскільки продуктом відновного амінування 2-оксиглутарату є глутамат.

Помітна і тканинспецифічна дія іонів важких металів (ВМ) на активність різних форм ГДГ. Якщо активність NAD (H) -залежної форми і у печінці і в м'язах має незначне відхилення від контрольних показників, то у присутності NADP (H) ГДГ-активність у м'язах значно зростає, хоча залишається більш стабільною в печінці.

Аналіз активності NAD(H) -і NADP(H)-залежних глутаматдегідрогеназ в тканинах коропа при дії іонів цинку вказує на переважання процесів синтезу глутамату в м'язах коропа як в контролі, так і в дослідних групах (табл. 2). Причому, цей процес дещо сповільнюється при концентрації іонів 2,0 мг/л, і різко зростає при концентрації 5,0 мг/л. Схожа картина спостерігалася у молоді коропа під час зимівлі, що є додатковим шляхом детоксикації аміаку і веде до відтоку α -кетоглутарату з пулу проміжних продуктів циклу Кребса [4]. Протилежна тенденція має місце в печінці. Тут переважає процес розщеплення глутамату над його утворенням і лише при концентрації 5,0 мг/л активність NADP(H)-залежної ГДГ збільшується.

Таблиця 1

Активність NADH-і NADPH-залежних глутаматдегідрогеназ в тканинах коропа при дії іонів марганцю (мкМ / мг білку / хв ·10⁻³)

Групи риб	NADH-ГДГ	NADPH-ГДГ
М'язи		
контроль	21,94±2,26	127,72±19,32
2ГДК	24,12±3,84	136,92±10,82
5 ГДК	12,80±2,90*	109,32±4,44
Печінка		
контроль	14,14±0,64	92,20±9,94
2ГДК	9,66±3,60	125,74±25,28
5 ГДК	10,00±2,08	97,80±3,60

Примітка. * — в табл. 1-3 різниця вірогідна порівняно з контролем (p<0,05)

За дії іонів міді (табл. 3) в м'язах коропа відмічається також переважання синтезу глутамату над його утворенням. Активне функціонування глутаматдегідрогеназної системи у коропа здійснює детоксикацію надлишкового аміаку, а також забезпечує необхідним субстратом ферментну систему синтезу амідів [6]. Проте, рівень активності NAD (H) -залежної ГДГ в печінці вищий, ніж активність NADP (H) -залежної ГДГ як в контролі, так і у піддослідних риб, що свідчить про переважання процесу розщеплення глутамату над його утворенням таким шляхом і узгоджується з даними про високу активність саме глутаматдегідрогеназного шляху дезамінування амінокислот у риб.

Таблиця 2

Активність NADH-і NADPH-залежних глутаматдегідрогеназ в тканинах коропа при дії іонів цинку (мкМ / мг білку / хв 10⁻³)

Група риб	NADH-ГДГ	NADPH-ГДГ
М'язи		
контроль	50,54±12,52	109,69±18,98
2ГДК	42,76±3,09	64,95±8,83
5 ГДК	42,76±5,79	370,09±66,05*
Печінка		
контроль	32,72±2,65	24,28±1,27
2ГДК	34,82±2,37	21,19±1,93
5 ГДК	16,99±1,54*	36,36±3,09*

Таблиця 3

Активність NADH-і NADPH-залежних глутаматдегідрогеназ в тканинах коропа при дії іонів міді (мкМ / мг білку / хв 10⁻³)

Групи риб	NADH-ГДГ	NADPH-ГДГ
М'язи		
контроль	51,08±11,27	70,88±4,90
2ГДК	8,72±0,69*	97,88±2,96
5 ГДК	23,55±2,36	89,70±6,71
Печінка		
контроль	14,39±2,28	6,99±1,45
2ГДК	21,10±5,16*	5,52±1,59
5 ГДК	9,13±1,36	5,05±0,81

Як видно із наведених даних, активність ферментів є непостійною величиною, яка змінюється під впливом різних фізичних і хімічних чинників. Ця мінливість відіграє значну і різноманітну роль в життєдіяльності організму. Зрушення активності ферментів у відповідь на зміни факторів середовища забезпечують організму можливість пристосування до нових умов існування. У випадку інтоксикації іонами важких металів, зміна ферментативної активності ГДГ свідчить про роль глутамінової системи в детоксикації аміаку у коропа. Принцип її

функціонування полягає у зв'язуванні аміаку в місцях утворення в нетоксичний глутамін, транспорті його в зябра з наступним розщепленням глутаміназою і виведення аміаку в зовнішнє середовище [2].

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що іони марганцю, цинку та міді зміщують рівновагу в глутаматдегідрогеназній системі в м'язах в бік синтезу глутамату, а в печінці, як правило, — в бік розщеплення останнього. Можна стверджувати, що зміна рівноваги в глутаматдегідрогеназній системі є наслідком пристосувань коропа до токсичного стресу, спричиненого впливом іонів важких металів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грубинко В. В., Яковенко Б. В., Явоненко А. Ф. Субклеточная локализация глутаминсинтетазной активности в мышечной ткани и печени карпа // Укр. биохим. журн. — 1987. — Т. 59, № 3. — С. 73-76.
2. Грубинко В. В. Механизм выведения аммиака у карпа, роль в нём глутаминсинтетазы и её свойства: Автореф дисс... канд. биол. наук. 03.00.04. МГПИ им. В.И. Ленина— М., 1988. — 17 с.
3. Грубинко В. В. Роль глутамина в обеспечении азотистого гомеостаза у рыб (обзор) // Гидробиол. журн. — 1991. — Т. 27, № 4. — С. 46-56.
4. Грубинко В. В., Жиденко А. А., Явоненко А. Ф. Конкурентные взаимоотношения NADP –ГДГ и α -кетоглутаратдегидрогеназы в митохондриях мозга зимующей молоди карпа / Экол. энерг. животных: Всес. сов. — Суздаль, 31 окт. -3 нояб. 1988. — Тез. докл. — Пушино, 1988. — С. 54-55.
5. Грубинко В. В., Яковенко Б. В., Явоненко А. Ф. Некоторые ферментативные пути образования аммиака у карпа при голодании // Ред. «Гидробиол. журн.». — Киев, 1986. — Деп. в ВИНТИ, № 8742-В86- 11 с.
6. Грубинко В. В. Адаптивні реакції риб до дії аміаку водного середовища // Авт. дис... докт. біол. наук: 03. 00. 18 / 03. 00. 04. Інститут гідробіології НАН України — К., 1995. — 39 с.
7. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. — М.: Мир, 1982. — Т. 1. — 386 с.
8. Коуи К., Сарджент Дж. Биоэнергетика и рост рыб. — М.: Мир, 1983. — С. 8-69.
9. Лавровский С. Н. Активность ЛДГ и ее изоферментов в нервной ткани на ранних сроках циркуляторной гипоксии головного мозга/ Биохимия гипоксии. — Горький, 1975. — С. 18-23.
10. Малиновская М. В. Возрастные изменения активности NADP-зависимых дегидрогеназ в печени карпа // Гидробиол. журн. — 1996. — Т. 32, № 3. — С. 112-113.
11. Мецлер Д. Биохимия: — М.: Мир, 1980. — Т. 1. — 407 с., Т. 2. — 597 с.
12. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 1960. — Т. 4, № 4. — С. 76-81.
13. Технология производства рыбы в прудовых хозяйствах СССР/Ред. Федорченко В. И., Михеева В. П. — М.: ВНИИПРХ. — 1986. — 161 с.
14. Шатилов В. Р. Глутаматдегидрогеназы / Энзимология ассимиляции аммония у растений // Итоги науки и техники. Сер. биол. хим. — М.: ВИНТИ. — 1987. — Т. 24. — С. 5-104.
15. Glock G. E., Mc Lean P. A preliminary investigation of the hormonal control on the hexose monophosphate oxidative pathway // Biochem. J. — 1955. — Vol. 61, № 2. — P. 390-395.
16. Jurss K., Bittorf Th., Vokler Th., Wacke R. Influence of nutrition on biochemical sea water adaptation of the rainbow trout *Salmo gairdneri* R. // Comp. Biochem. and Physiol. — 1983. — Vol. 75, N 4. — P. 713-717.
17. Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L., Randell R. C. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265-275.
18. Naga Raju T., Ramana Rao S. J. Vol. Levels of dehydrogenases of mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird & Girard) subjected to nitrate and nitrite stress // Indian J. Environ. Health. — 1983. — Vol. 25, N 3. — P. 175-178.
19. Rao K. S. P. et al. Changes in nitrogen metabolism of fish (*Sarotherodon mossambicus*) exposed to benthocarb // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. — 1983. — Vol. 330, N 4. — P. 473-478.
20. Sastry K. Vol., Rao D. R. Chronic effects of mercuric chloride on the activities of some enzymes in certain tissues of the fresh water murrel, *Channa punctatus* // Chemosphere. — 1989. — Vol. 11, N 12. — P. 1203-1209.

THE BALANCE OF GLUTAMATE DEHYDROGENASE REACTION UNDER THE INFLUENCE OF MANGANESE, ZINC AND COPPER IONS IN CARP TISSUES

As a result of the carried out researches it was determined, that the ions of manganese, zinc and copper displaced the balance in glutamate dehydrogenase system. In muscles the synthesis of glutamate prevailed and in liver — the destruction of the one. It is rather difficult to explain some changes in the enzyme activity, but the displacement of the balance of glutamate dehydrogenase system is the adaptation of carp to stress, which was caused by the influence of heavy metals ions.

Надійшла 27.12.2000

УДК 577.352.38: 577.64

О.Б. Столяр

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2

ОКИСНЮВАЛЬНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ ГЕПАТОПАНКРЕАСУ І ПЛАЗМИ КРОВІ КОРОПА ЗА ІНТОКСИКАЦІЇ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

короп, важкі метали, гепатопанкреас, плазма крові, окиснювальна модифікація білків

У процесах біологічного окиснення молекули кисню можуть утворювати нестабільні частково відновлені продукти — пероксид-аніон, супероксид-аніон, гідроксид-радикал та інші, які узагальнено називають активними формами кисню (АФК) у зв'язку з їх високою реакційною здатністю [9]. АФК уражають біомолекули, викликаючи їх хімічні модифікації, і генерують утворення вторинних реактивних частинок (радикалів, пероксидів, ненасичених сполук, альдегідів), які також можуть впливати на структуру біомолекул. Йони важких металів, які мають змінну валентність, вважаються активаторами в процесах генерації АФК та окисної деструкції біомолекул. Зокрема така дія продемонстрована для йонів заліза [3].

Організми гідробіонтів у зв'язку з особливостями респіраторного режиму становлять теоретичний і практичний інтерес в дослідженні їх відповіді на оксидативний стрес та його модуляцію такими поширеними забруднювачами водоем як важкі метали. Показано, що свинець, манган, мідь і цинк при дії в концентрації, яка відповідає 2 ГДК, викликають зміни вмісту первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активності ферментів антиоксидантного захисту в тканинах коропа [2, 6, 10, 11, 14].

Останнім часом більше уваги стало привертати вивчення окиснювальної деструкції білків та встановлення його ролі в оксидативному стресі. Відомо, що важкі метали викликають порушення активності ферментів білкового обміну [4], проникності клітинних мембран [6]. Це, ймовірно, може бути спричинено змінами в будові білків під безпосереднім впливом металів або внаслідок ініційованого ними накопичення АФК, продуктів окиснення жирних кислот тощо. Можливості безпосереднього вивчення цих змін в білках зросли у зв'язку з впровадженням в дослідження методу визначення окиснених похідних аліфатичних амінокислотних радикалів в білках за їх здатністю утворювати забарвлені 2,4-динітрофенілгідразони [3, 7].

Становить інтерес виявлення залежності між природою металу, загальним ступенем ураження організму (доза відносно ГДК) та ступенем окиснюваного ураження білків. Тому метою нашої роботи стало дослідження вмісту окиснених похідних білків в гепатопанкреасі і плазмі крові коропа при дії на організм йонів свинцю, мангану, цинку і міді в концентраціях, які відповідають 0,1; 2 і 5 ГДК.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проводились на коропі лускатому (*Cyprinus carpio* L.) масою 200 — 250 г, попередньо адаптованому до умов акваріуму. Риб, групами по 6 тварин, утримували протягом 14 діб у басейнах об'ємом 200 л при температурі близько 18°C у відстояній, добре аерованій воді. Воду в басейнах змінювали щодобово, підтримуючи в ній необхідний вміст металу. Вміст свинцю (II) у вигляді нітрату у воді становив 0,01, 0,2 і 0,5 мг/л, мангану (II) у вигляді хлориду — 0,13, 2,6 і 6,5 мг/л, цинку (II) у вигляді сульфату — 0,1, 2,0 і 5,0 мг/л, міді (II) у вигляді сульфату — 0,01, 0,2 і 0,5 мг/л. Створені концентрації металів відповідають 0,1, 2 і 5 ГДК [1].

Для аналізу використовували гепатопанкреас та кров з серця риби, яку відбирали з гепарином. Всі процедури по виділенню і обробці зразків проводились на холоді. Окиснювальну модифікацію білків плазми крові і гепатопанкреасу визначали за їх здатністю утворювати 2,4-динітрофенілгідрозони [7]. Вміст фенілгідрозонів обчислювали за формулами:

$A_{370(430)} = E_{370(430)} \cdot d \cdot 1000 / C_{\text{білка}}$ (о.о.г./г білка), $C_{370} = A_{370} / 21$ (мМ/г білка), де А — вміст фенілгідрозонів в умовних одиницях, С — їх концентрація в мМ/г білка, Е — екстинція проби, d — розведення тканини (d для печінки — 100, для плазми — 10), о.о.г. — одиниці оптичної густини, 21 мМ⁻¹ см⁻¹ — мілімолярний коефіцієнт екстинції фенілгідрозонів при 370 нм.

Вміст білків в тканинах визначали за методом Лоурі і співр. [13]. Білки гепатопанкреасу попередньо виділяли [15]. Результати обробляли статистично [8].

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті окиснення білків можуть утворюватись як альдегідні, так і кетонні похідні амінокислотних залишків [3, 7]. Обидва типи похідних взаємодіють з 2,4-ДФГ. Аліфатичні кетон-динітрофенілгідрозони нейтрального характеру поглинають з максимумом при 363-367 нм, а основного характеру — 430-434 нм і 524-535 нм. У тварин контрольної групи нами були виявлені продукти окиснення білків як в гепатопанкреасі, так і в плазмі крові, причому, в розрахунку на білок, їх кількість в гепатопанкреасі була вищою, ніж в плазмі крові (табл. 1 — 3). Кількість похідних нейтрального характеру, рівень яких реєстрували при 370 нм, була вищою, ніж похідних основного характеру, які вимірювали при 430 нм. Найбільш помітна відмінність в кількості цих похідних спостерігалась для білків плазми крові.

Таблиця 1

Дія йонів важких металів в концентрації, що відповідає 0,1 ГДК, на вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів в гепатопанкреасі і плазмі крові коропа, M±m, n= 5

Дослідна група	Рівень фенілгідрозонів		
	Одиниці оптичної густини / 1 г білка, довжина хвилі 370 нм	мМ / 1 г білка, довжина хвилі 370 нм	Одиниці оптичної густини / 1 г білка, довжина хвилі 430 нм
Гепатопанкреас			
Контроль	48,8±2,3	1,96±0,33	39,6±3,6
Свинець	19,4±3,5*	1,24±0,31*	12,7±2,8*
Манган	11,0±1,5*	0,52±0,07*	6,75±1,8*
Цинк	37,8±2,1*	1,80±0,10	30,8±2,2
Плазма крові			
Контроль	32,2±1,2	1,53±0,06	14,3±1,0
Свинець	39,7±3,7	1,89±0,18	23,6±5,4
Манган	13,5±2,8*	0,64±0,13*	4,63±1,33*
Цинк	40,2±12,5	5,52±1,73	56,8±12,6

Примітка до табл. 1-3: * — відхилення від контролю вірогідні, p<0,05

Дослідження дії свинцю, мангану та цинку в концентраціях, які становлять 0,1 ГДК, показало (табл. 1), що в гепатопанкреасі коропа всі ці метали зменшують інтенсивність окиснення білків, причому пригнічують утворення динітрофенілгідрозонів як нейтрального, так і основного характеру. В крові коропа зменшення вмісту окиснених продуктів білків при дії

БІОХІМІЯ

такої концентрації викликає лише манган, а цинк проявляє тенденцію збільшувати ці показники.

При дії в концентрації, що відповідають 2 ГДК (табл. 2), свинець, цинк і мідь викликають істотне збільшення кількості окиснених продуктів, як нейтрального, так і основного характеру в гепатопанкреасі коропа. Їх кількість зростає в два — три рази. При дії мангану ці показники залишаються в межах норми. У плазмі крові помітне збільшення вмісту окиснених продуктів білків викликають цинк і мідь (в два рази), тоді як при дії свинцю і мангану ці показники залишаються в межах норми.

Концентрація 5 ГДК (табл. 3) виявилась летальною при дії міді і дала значну розбіжність результатів визначення параметрів гепатопанкреасу при дії свинцю. Серед інших металів, на відміну від дії менших їх доз, токсичний вплив на гепатопанкреас спричинює манган, тоді як цинк не викликає вірогідних змін показників в цій тканині. У крові спостерігаються значні відмінності між впливом металів на утворення похідних нейтрального і основного характеру, що також не відзначалось при дії менших доз металів. Свинець і цинк викликають найзначніше зростання похідних нейтрального характеру, тоді як манган не змінює цей показник порівняно з контролем. Похідні основного характеру утворюються при дії свинцю і цинку в тій же кількості, що і в контролі, а при дії мангану — значно менше.

Таблиця 2

Дія йонів важких металів в концентрації, що відповідає 2 ГДК, на вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів в гепатопанкреасі і плазмі крові коропа, $M \pm m, n = 5$

Дослідна група	Рівень фенілгідрозонів		
	Одиниці оптичної густини / 1 г білка, довжина хвилі 370 нм	мМ / 1 г білка, довжина хвилі 370 нм	Одиниці оптичної густини / 1 г білка, довжина хвилі 430 нм
Гепатопанкреас			
Контроль	54,0±8,5	2,57±0,40	39,2±7,3
Свинець	120,3±6,4*	5,33±0,49*	77,4±6,7*
Манган	80,6±10,9	3,84±0,52	50,2±8,1
Цинк	181,8±2,0*	8,66±0,12*	104,8±2,3*
Мідь	131,6±15,6*	6,27±0,74*	72,9±3,8*
Плазма крові			
Контроль	27,1±1,1	1,29±0,05	16,3±1,3
Свинець	30,6±2,5	1,46±0,12	18,9±2,7
Манган	24,4±1,8	1,16±0,09	14,0±1,1
Цинк	89,7±8,5*	4,27±0,40*	45,7±4,5*
Мідь	80,3±11,2*	3,82±0,53*	40,1±5,5*

Таблиця 3

Дія йонів важких металів в концентрації, що відповідає 5 ГДК, на вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів в гепатопанкреасі і плазмі крові коропа, $M \pm m, n = 5$

Дослідна група	Рівень фенілгідрозонів		
	Одиниці оптичної густини / 1 г білка, довжина хвилі 370 нм	мМ / 1 г білка, довжина хвилі 370 нм	Одиниці оптичної густини / 1 г білка, довжина хвилі 430 нм
Гепатопанкреас			
Контроль	76,9±6,1	3,66±0,29	50,1±5,7
Манган	219,2±23,6*	10,4±1,1*	112,2±24,7*
Цинк	115,1±28,1	5,52±1,36	40,5±14,0
Плазма крові			
Контроль	31,8±1,9	1,53±0,16	39,4±3,7
Свинець	144,5±19,6*	6,88±0,94*	58,8±7,2
Манган	34,9±3,7	1,66±0,17	14,0±1,3*
Цинк	115,8±12,8*	5,51±0,61*	43,8±4,3

Порівняння дії трьох концентрацій металів показує (рис. 1, 2), що дія найменшої з них протягом 14 днів викликає у риб адаптивну реакцію, яка особливо проявляється у зменшенні рівня окисненості білків в гепатопанкреасі. При дії в концентрації 2 ГДК жоден з металів не проявляє антиоксидантного впливу на білки організму коропа. Причому, для більшості металів більш помітні зміни порівняно з контролем мають місце в гепатопанкреасі. Отже, стан окиснювальної модифікації білків гепатопанкреасу, порівняно з плазмою крові, є більш інформативним показником антиоксидантно-прооксидантного статусу організму коропа.

Концентрація 5 ГДК є екстремальною і викликає, очевидно, різноманітні порушення структури і функцій біомолекул та їх біосинтезу в організмі. Такий багатofакторний вплив може призвести до порушення закономірностей, виявлених при дії менших концентрацій металів на білки коропа (див. рис. 1, 2).

Кожний з металів в концентраціях 0,1 і 2 ГДК, проявляє специфічну дію. Найбільше антиоксидантні властивості виражені у мангану і найзначніші оксидантні — у цинку. У більшості експериментальних умов, які досліджувались, негативний вплив металів на окиснення білків зростає в ряді: Mn — Pb — Cu ≈ Zn.

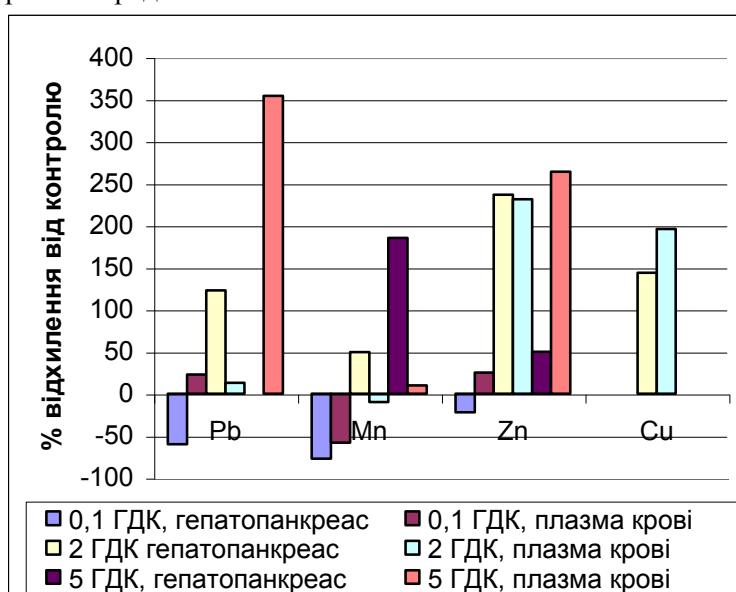


Рис. 1. Вплив йонів важких металів на окиснювальну модифікацію білків в організмі коропа (одиниці оптичної густини при 370 нм / г білка).

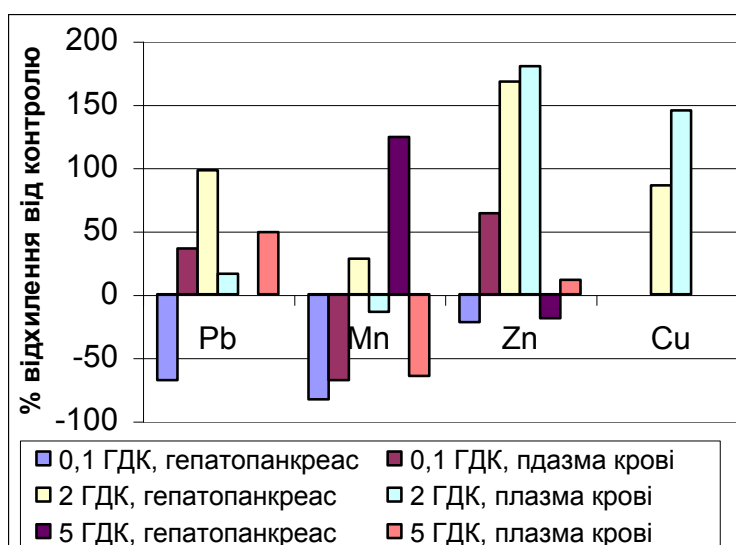


Рис. 2. Вплив йонів важких металів на окиснювальну модифікацію білків в організмі коропа (одиниці оптичної густини при 430 нм / г білка)

Традиційно токсичну дію йонів важких металів пояснюють на підставі спільних рис їх електронної будови [5, 9]. Йони важких металів вважаються активаторами процесів неферментного перекисного окиснення біомолекул на тій підставі, що метали змінної валентності, якими є переважна більшість важких металів, легко віддають електрон, і здійснюють неферментний каталіз в процесах вільнорадикального окиснення [3, 5, 9]. В експериментальних умовах як ініціатор окиснення ліпідів і білків використовують, наприклад, йони заліза [3]. Однак цей механізм дії не може бути застосований для пояснення впливу цинку, який має стабільну валентність і, не зважаючи на це, здійснює найбільший з досліджуваних металів вплив на окиснення білків в організмі коропа. Поряд з цим, при поясненні результатів нашого експерименту слід враховувати, що зміни показників, які спостерігаються після 14 діб витримування риб в токсичному середовищі, є сумарним результатом прямого впливу токсиканту на досліджувані молекули та адаптивних змін, викликаних цим фактором в організмі [2].

Проведені нами раніше дослідження впливу йонів важких металів на ферментні і неферментні фактори антиоксидантного захисту та вміст продуктів ПОЛ в гепатопанкреасі і крові коропа також показали, що найзначніші негативні зміни цих показників викликають цинк і мідь, а свинець і, особливо, манган, впливають на них значно менше, і навіть, оптимізують показники антиоксидантно-прооксидантного стану організму, не зважаючи на еквівалентний ступінь ураження організму в цілому, згідно встановленій величині ГДК [10, 11].

Тому одержані результати дозволяють узагальнити, що чотири досліджувані метали-забруднювачі за дією на антиоксидантно-прооксидантний статус організму коропа можна об'єднати в дві групи: мідь і цинк та свинець і манган. Спільними рисами для металів цих груп є те, що мідь і цинк вводяться в організм і стабільні у найвищому позитивному, властивому їм ступені окиснення, а свинець і манган — в найнижчому позитивному ступені окиснення. Одержані результати показують, що метали першої з цих груп, не зважаючи на те, що цинк не проявляє змінну валентність, ініціюють перекисне окиснення як ліпідів, так і білків, причому на окиснення білків більший вплив спричинює цинк, а на ліпіди та активність ферментів антиоксидантного захисту — мідь [11]. Метали, об'єднані в другу групу, впливають незначно на перекисне окиснення біомолекул, або пригнічують його, що яскраво видно на прикладі мангану. Ці закономірності проявляються як при дії 2 ГДК, так і 0,1 та частково 5 ГДК металів на організм, а також, в досліді *in vitro* [12].

Отже, результати вивчення впливу йонів важких металів на процеси окисної модифікації білків показують, що ступінь цих змін узгоджується із змінами інших показників оксидативного стресу організму коропа цим металом. Індивідуальна специфіка дії металу проявляється при його дозах, відмінних в 20 разів за концентрацією. Визначення показників окиснення білків при дії йонів важких металів на організм коропа може служити інформативним тестом при оцінці стану адаптації організму до забруднення.

Висновки

1. Йони мангану при дії в сублетальних концентраціях викликають активацію антиоксидантних чинників захисту структури білків гепатопанкреасу та плазми крові коропа.
2. Йони цинку і міді при дії в сублетальних концентраціях збільшують інтенсивність окиснення білків в гепатопанкреасі та плазмі крові коропа, а йони свинцю меншою мірою, ніж інші досліджувані метали, впливають на цей процес.
3. Ступінь окиснювальної модифікації білків є чутливим тестом для оцінки антиоксидантно-прооксидантного статусу організму коропа при дії важких металів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вороб'єв В.И. Микроэлементы и их применение в рыбоводстве. — М.: Пищевая промышлен. — 1979. — 183 с.
2. Грубінко В.В. Интегральні біохімічні показники для оцінки екологічної небезпечності токсикантів // Науково-технічний бюлетень інституту землеробства і біології тварин. Серія: Фізіологія і біохімія. — Львів. 1999. — Вип. 1(3). — С. 253-256.

3. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // *Вопр. мед. химии.* — 1995. — № 1. — С. 24-25.
4. Курант В.З., Бродін С.В., Синюк Ю.В. та ін. Особливості метаболізму амінокислот в організмі риб за умов інтоксикації йонами міді // *Науково-технічний бюлетень Інституту землеробства і біології тварин УААН.* — Львів, 1999. — Вип. 1(2). — С.122-127.
5. Кухтина Е.Н., Глущенко Н.Н. Влияние железа, цинка, меди на процессы перекисного окисления липидов печени *in vivo* // *Биохимия.* — 1996. — Т. 61, № 6. — С. 993-997.
6. Леус Ю.В., Грубинко В.В. Активность антиоксидантной системы карпа при действии тяжелых металлов // *Гидробиол. журн.* — 1998. — Т. 34, №2. — С. 59-63.
7. Мецишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // *Буковинський медичний вісник.* — 1998. — Т. 2, № 1. — С. 156-158.
8. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // *Патол. физиология и exper. терапия.* — 1960. — № 4. — С. 76-85.
9. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и их роль в организме // *Усп. биол. химии.* — М.: Наука, 1990. — Т. 31. — С. 180-208.
10. Столяр О. Б., Зінковська Н. Г. Вплив йонів свинцю і марганцю на активність антиоксидантних ферментів та перекисне окиснення ліпідів у коропа // *Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія : Хімія.* — 1999. — № 3. — С. 51-55.
11. Столяр О. Б., Зінковська Н. Г., Грубінко В. В., Зінчук В. М., Рудик О. В. Вплив йонів міді і цинку на перекисне окиснення ліпідів і антиоксидантний статус в організмі коропа // *Біологія тварин.* — 1999. — Т. 1, № 2. — С. 84-89.
12. Столяр О. Б., Курант В. З., Зінковська Н. Г., Дрель В. Р. Вплив йонів важких металів на процеси перекисного окиснення в біологічних системах в умовах *in vitro* // *Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія : Хімія.* — Тернопіль, 1998. — № 2. — С. 50-56.
13. Loury O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Vol. 191, N 1. — P. 265-275.
14. Radi A. A. R., Matkovics B. Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues // *Comp. Biochem. Physiol.* — 1988. — 90C, N 1. — P. 69-72.
15. Walton M. J., Cowery C. B. Methionine metabolism in Rainbow Trout // *J. Nutr.* — 1982. — Vol. 12, N 1. — P. 1525-1535.

O. B. Stolyar

OXIDATIVE MODIFICATION OF CARP HEPATOPANCREAS AND BLOOD PLASMA PROTEINS UNDER THE HEAVY METALLS INFLUENCE

We have investigate the influence of lead (0,01, 0,2 and 0,5 mg/l) manganese (0,13, 2,6 and 6,5 mg/l), zinc (0,1, 2,0 and 5,0 mg/l) and copper (0,2 mg/l) ions for up 14 days upon the common carp (*Cyprinus carpio L*). The concentrations of metalls were 0,1, 2 and 5 MPC. We studied the level of protein oxidative modification of hepatopancreas and blood plasma. The results show that manganese ions caused the antioxidant protection of proteins. The zinc and copper ions increased the level of protein oxidation and the rate of changes, caused by the lead, wasn't such significant as for other metalls. The level of protein oxidative modification in carp tissues may serve as an adequate test for estimation of the antyoxydant-prooxidant status of organism under the heavy metalls influence.

Надійшла 15.01.2001

Н.Г. ЗіньковськаТернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2**ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНО — ПРООКСИДАНТНОГО
СТАТУСУ КРОВІ КОРОПА ПРИ ДІЇ ЙОНІВ ЦИНКУ В
СУБЛЕТАЛЬНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ***короп, цинк, кров, продукти перекисного окислення ліпідів, гемоглобін, каталаза*

Одним із найкраще вивчених з точки зору біологічної дії в організмі гідробіонтів важких металів є цинк [1]. Він є есенціальним мікроелементом, що входить до складу білків, стабілізує їх структуру і бере безпосередню участь у ферментативному каталізі [4]. Поряд з цим, даний метал є поширеним забруднювачем водойм [3]. Тому на вивчення впливу його токсичних рівнів на антиоксидантно-прооксидантний стан організму звертається велика увага [7, 11, 13]. Відомо, що цинк у сублетальних концентраціях змінює активність ферментів антиоксидантного захисту та концентрації продуктів вільнорадикального окислення, зокрема перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), проте є менш токсичним ніж мідь [3, 7, 11, 13]. Однак залежність дії цинку від його концентрації та механізм його впливу на деструкцію біомолекул вивчені недостатньо. Зокрема, не з'ясовано, яку роль в прояві токсичної дії металу має зв'язана (металопротеїни) та вільна його форма.

Метою нашої роботи стало вивчення дії йонів цинку в концентраціях, які відповідають 0,1, 2 і 5 ГДК, на ферментативні і неферментативні процеси перекисного окислення ліпідів та вміст гемоглобіну в крові коропа.

Матеріали і методи досліджень

Досліди проведено на коропі лускатому (*Suiprinus carpio* L.) масою 200-250 г, попередньо адаптованому до акваріумних умов. Риб утримували протягом 14 діб у басейнах об'ємом 200 л при температурі близько 18 °С у відстояній, добре аерованій воді. Воду в басейнах міняли кожні дві доби, поновлюючи в ній вміст металу. Концентрація йонів цинку, який вносили у вигляді сульфату, відповідала 0,1 2 і 5 рибогосподарським ГДК, що становило 0,1, 2,0 і 5,0 мг/л [1].

Для аналізу брали кров з серця риби з додаванням гепарину. Всі процедури по виділенню і обробці зразків проводились на холоді.

Стан ферментних антиоксидантних систем оцінювали за активністю супероксид-дисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) плазми крові та еритроцитів, каталази (КФ 1.11.1.6) крові та плазми крові, церулоплазміну (ЦП) (КФ 1.16.3.1) плазми крові. Рівень неферментного антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом відновленого глутатіону (низькомолекулярних тіолів) в еритроцитах. Визначали вміст продуктів ПОЛ: первинних — дієнових кон'югатів; кінцевого — малонового діальдегіду (МДА), а також глікозильованого гемоглобіну та метгемоглобіну в крові.

Активність СОД, каталази, ЦП, вміст загального гемоглобіну і метгемоглобіну, малонового діальдегіду (МДА) в крові, загальний вміст білків в плазмі крові визначали як описано в [12], концентрацію низькомолекулярних тіолів (відновленого глутатіону) в крові — за допомогою реактиву Елмана [12], глікозильованого гемоглобіну — колориметричним методом [12]. За вмістом МДА характеризували спонтанне, ферментне і неферментне ПОЛ, а також стан (індекс) антиоксидантної активності крові [8]. Кров витримували в інкубаційному середовищі 30 хв при 25°C: для визначення інтенсивності спонтанного ПОЛ — без додатків, для оцінки виходу МДА в неферментативній системі переокислення — з додаванням аскорбінової кислоти, — з метою визначення продукування МДА в ферментативній NADPH-залежній системі ПОЛ — з додаванням NADPH. Інкубаційна суміш для визначення неферментного ПОЛ містила 80 мМ аскорбінової кислоти, 0,2 мМ ADP, 0,012 мМ FeSO₄, а

ферментного ПОЛ — замість аскорбінової кислоти — 0,5 мМ NADPH [5, 6]. Результати обробляли статистично [9].

Результати досліджень та їх обговорення

Антиоксидантно-прооксидантний статус крові при дії 0,1 ГДК цинку на організм вивчався нами найбільш повно, оскільки в літературі немає відомостей про дію низьких концентрацій цього металу на ПОЛ в організмі риби. Результати дослідження показали, що вміст білків в крові зазнає істотних змін навіть при такій незначній концентрації металу у воді (табл. 1). Спостерігається збільшення вмісту білків у плазмі крові. Концентрація гемоглобіну і метгемоглобіну істотно зменшується. Раніше було показано, що при дії 2 і 5 ГДК цинку на коропа вміст білків у плазмі крові, гемоглобіну і метгемоглобіну зростає [11]. Отже, при дії різних концентрацій цинку спостерігаються протилежно спрямовані зміни показників. Аналогічне явище ми спостерігали і при дії міді [12].

До показників крові коропа, досліджених нами раніше при дії вищих доз цинку, належать активність СОД в еритроцитах і плазмі крові, каталази в плазмі крові, вміст церулоплазміну в плазмі крові [11]. При дії 0,1 мг/л цинку активність СОД плазми зменшується, СОД еритроцитів порівняно з контролем не змінюється. Рівень церулоплазміну в плазмі крові істотно зростає, як і при дії вищих доз цинку [11]. Активність каталази у плазмі крові не змінюється порівняно з контролем, що свідчить про відсутність істотних пошкоджень функції гепатопанкреасу та еритроцитів, як і при дії вищих рівнів цинку [11].

Таблиця 1

Активність системи антиоксидантного захисту та вміст білків в крові коропа при дії на організм 0,1 мг/л цинку, $M \pm m$, $n=5$.

Показник	Контроль	Дослід
СОД плазми крові, у. о. /мкг білку	76,0±9,0	14,5±3,8*
СОД еритроцитів, у. о. /г гемоглобіну	4,65±0,25	3,99±0,37
Каталаза плазми крові, мг H ₂ O ₂ /мл плазми	0,98±0,11	1,21±0,12
Церулоплазмін плазми крові, мг/л плазми	28,6±0,7	81,2±1,2*
Церулоплазмін плазми крові, мг/г білка плазми	0,72±0,04	1,71±0,05*
Білки плазми крові, мг/мл плазми	39,0±1,3	47,0±2,1*
Гемоглобін, г/100 мл крові	9,82±0,72	5,80±0,40*
Метгемоглобін, % від загального	9,45±2,10	1,89±0,37*

Примітка до табл. 1–3: * — відмінності порівняно з контролем вірогідні ($p < 0,05$), X — показник не визначався

Більш детальне вивчення показників антиоксидантного захисту крові коропа при дії цинку показало, що 0,1 ГДК цинку викликають ті ж зміни, що і вищі дози (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст окиснених продуктів та активність каталази в крові коропа при дії цинку, $M \pm m$, $n=5$

Вміст цинку у воді, мг/л		Глікозильований гемоглобін, % від загального	Дієнові кон'югати, мкмоль/мл крові	Малоновий диальдегід, мкмоль/мл крові	Відновлений глутатіон еритроцитів, нмоль/мл крові	Каталаза крові, мг H ₂ O ₂ /мл крові за хв
0,1	Контроль	5,99±0,20	42,8±3,6	X	67±12	4,96±0,76
	Дослід	6,25±0,27	78,0±9,8*	X	296±31*	12,2±2,9*
2,0	Контроль	9,61±0,64	17,5±4,7	5,86±0,60	368±27	4,50±0,61
	Дослід	12,51±0,49*	29,1±4,4*	4,36±0,65	379±40	6,25±0,99
5,0	Контроль	5,75±0,75	X	1,01±0,11	368±27	15,7±3,2
	Дослід	4,58±0,51	X	11,3±0,5*	440±28*	17,3±3,3

До складу неферментних антиоксидантних факторів крові належить відновлений глутатіон [10]. Його вміст при дії 0,01 мг/л цинку зростає в чотири рази порівняно з контролем, а при дії вищих доз не зазнає істотних змін. Каталаза крові також виявилася чутливішою до дії 0,1 мг/л цинку, ніж до вищих доз.

Йони цинку здійснюють вплив і на утворення в крові пероксидних продуктів (табл. 2). Спостерігається збільшення концентрації глікозильованого гемоглобіну і продуктів ПОЛ — дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду.

Ґрунтовніше пояснити отримані результати вдалося при дослідженні реакції ПОЛ-системи за дії 2 і 5 ГДК цинку (табл. 3).

Таблиця 3

Метаболічні особливості утворення продуктів ПОЛ в крові коропа при дії цинку, $M \pm m, n=5$

Вміст цинку у воді, мг/л		Спонтанне ПОЛ, мкмоль/мл крові	Ферментне ПОЛ, мкмоль/мл крові	Неферментне ПОЛ, мкмоль/мл крові	Співвідношення ферментного і неферментного ПОЛ	Індекс антиоксидантної активності
2,0	Контроль	5,91±0,42	42,5±1,7	47,8±3,2	0,98±0,08	1,15±0,11
	Дослід	5,29±0,80	37,9±1,9	42,1±1,5	0,90±0,08	0,87±0,08
5,0	Контроль	1,65±0,33	43,7±1,7	44,8±1,3	0,98±0,06	3,11±0,38
	Дослід	2,50±0,67	50,9±2,8*	130,9±5,9*	0,37±0,01*	1,33±0,12*

Як виходить із одержаних результатів при дії 2 ГДК цинку активність ПОЛ порівняно з контролем змінюється незначно. Рівень цинку 5 ГДК викликає істотне зростання як вмісту в крові малонового діальдегіду, так і швидкості його накопичення, особливо в умовах індукції з йонами Fe³⁺ і аскорбіновою кислотою (неферментне ПОЛ). У результаті співвідношення інтенсивності ферментного і неферментного ПОЛ істотно зменшується. Індекс антиоксидантної активності крові, який визначається за співвідношенням продуктів ПОЛ залежно від розведення крові, також зменшується.

Отже, не зважаючи на те, що цинк є одним з найбільш поширених в організмі металів, зростання його рівня в водному середовищі навіть на порядок порівняно з природним вмістом [4] впливає на стан антиоксидантно-прооксидантної системи організму, а при подальшому зростанні його концентрації викликає істотне зміщення її рівноваги в бік активації неферментних оксидантних процесів. Очевидно, що при дії 0,1 ГДК металу має місце адаптація системи крові до дії цього чинника, а при дії 5 ГДК виявляється неспецифічне порушення антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу.

Як відомо, цинк володіє стабільним ступенем окислення і не бере участі в окисно-відновних процесах в організмі [4]. Однак іони цинку утворюють комплексні сполуки з амінокислотами, білками, нуклеотидами і нуклеїновими кислотами. Очевидно, надлишок цинку в організмі риб протягом 14 діб викликає зміну активності ферментних систем, які проявляються у відзначених нами порушеннях антиоксидантно-прооксидантного статусу крові.

Висновки

Підвищення вмісту іонів цинку до 0,1; 2 і 5 мг/л активує функціонування складових системи антиоксидантного захисту крові: збільшує активність церулоплазміну і каталази крові та відновленого глутатіону в еритроцитах; збільшує концентрацію метгемоглобіну і глікозильованого гемоглобіну, дієнових кон'югатів і МДА. Активація антиоксидантного захисту найбільша при дії 0,1 ГДК цинку. За зростання вмісту цинку в воді та крові риб активність ферментних системи антиоксидантного захисту крові зменшується.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вороб'єв В. И. Микроэлементы и их применение в рыбководстве — М.: Пищ. пром. — 1979. — 183 с.
2. Грубинко В. В., Леус Ю. В., Арсан О. М. Перекисное окисление липидов в тканях карпа при действии аммиака. // Гидробиол. журн. — 1996. — Т. 32, № 4. — С. 52-57.
3. Грушко Я. М. Ядовитые металлы. — М.: Медицина. 1972. — 160 с.
4. Ершов Ю. А., Плетенева Т. В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. — М.: Медицина. — 1989. — 272 с.

5. Кричевская А. А., Лукаш А. И., Кесельман Н. А. Изменение перекисного окисления и содержание фосфолипидов в мозге при гипероксии и защитное действие мочевины // Укр. биохим. журн. — 1976. — Т. 48, № 3. — С. 120-124.
6. Кухтина Е. Н., Глущенко Н. Н. Влияние железа, цинка, меди на процессы перекисного окисления липидов печени in vivo // Биохимия. — 1996. — Т. 61, № 6. — С. 993-997.
7. Леус Ю. В., Грубинко В. В. Активность антиоксидантной системы карпа при действии тяжелых металлов // Гидробиол. журн. — 1998. — №2. — С. 59-63.
8. Мартынюк В. Б., Ковальчук С. Н., Тымочко М. Ф., Панасюк Е. Н. Индекс антиокислительной активности биологического материала // Лаб дело. — 1991. — № 3. — С. 12-22.
9. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол. физиология и экспер. терапия. — 1960. — № 4. — С. 76-85.
10. Осипов А. Н., Азизова О. А., Владимиров Ю. А. Активные формы кислорода и их роль в организме. — Усп. биол. химии. -М.: Наука, 1990. — Т. 31. — С. 180-208.
11. Столяр О. Б., Зіньковська Н. Г., Грубінко В. В. і ін. Вплив йонів міді і цинку на перекисне окислення ліпідів і антиоксидантний статус в організмі коропа // Біологія тварин. — 1999. — Т.1, № 2. — С.84-89.
12. Столяр О. Б., Зіньковська Н. Г., Мудра А. Є. і ін. Антиоксидантно-прооксидантний статус організму коропа при дії сублетальної концентрації міді (II) // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія: Біологія. — 2000. — №3 (10). — С. 72-78.
13. Radi A. A. R., Matkovics B. Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues // Comp. Biochem. Physiol. — 1988. — 90C, N 1. — P. 69-72.

N.H. Zin'kovs'ka

THE STUDY OF ANTYOXIDANT-PROOXIDANT STATUS OF CARP BLOOD UNDER THE INFLUENCE OF SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF ZINC IONS ON THE ORGANISM

The influence of exposure to 0,1, 2,0 and 5,0 mg zinc ions/l for up 14 days on the antyoxidant-prooxidant status of carp blood has been investigated. The results show that the zinc concentration 0,1 mg/l activates the compounds of atioxidante protection systeme: catalase, ceruloplasmin, reduced glutathione. The doses 2,0 and 5,0 mg zinc/l doses provokes the increase of peroxidation activity in the blood (the content of malonic dialdehyd, lipide hydroperoxides, glycosidative hemoglobin) and the decrease of antyoxidant activity of blood. Thys the dose of 0,1 mg/l is the most propitious for the stimulation of protection systems in the carp blood.

Надійшла 12.04.2001

УДК 676-008. 9-085. 272. 4/. 355 — 092. 9

Л.С. Фіра¹, Б.Р. Бойчук¹, Д.В. Козак¹, О.І. Кривокульський¹, О.Б. Столяр²

¹Тернопільська державна медична академія ім. І. Я. Горбачевського
46001 Тернопіль, Майдан Волі, 1

²Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ВИКОРИСТАННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІНОВИХ ЛІПОСОМ З ІНКОРПОРОВАНИМ КРЕЗАЦИНОМ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, ВИКЛИКАНИХ РЕНТГЕНІВСЬКИМИ ПРОМЕНЯМИ, ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ТА НІТРИТОМ НАТРІЮ

ліпосоми з інкорпорованим крезацином, фосфоліпіди, середні молекули, ендогенна інтоксикація, перекисне окислення, білі щурі, нітрит натрію, тетрахлорметан, рентгенівське опромінення.

В останні роки в літературі зустрічаються окремі повідомлення про ліпосоми як носії лікарських речовин з метою їх цілеспрямованого транспорту до певного органу [4]. Доцільним є застосування лікарських ліпосом при хворобах, що супроводжуються порушеннями

фосфоліпідної структури мембран. Фосфоліпіди відіграють важливу роль в процесах обміну та дезінтоксикації, росту і регенерації клітин. Ліпосоми як синтетичні замінники фосфоліпідів можуть проявити лікувальний ефект, проникаючи в пошкоджені клітини організму і модифікувати ліпідний шар їх мембран [12].

Відомо, що при Rg-опроміненні та дії на організм ксенобіотиків відбувається деструкція плазматичних та внутрішньоклітинних мембран, як наслідок дії токсичних речовин та утворення активних форм кисню (АФК) [9]. Останні виступають ініціаторами вільнорадикальних реакцій і призводять до утворення ендогенних токсинів [10]. Внаслідок деструкції та зміни проникності мембран велика кількість ендогенних токсинів попадає в кров. Поряд з активацією вільнорадикальних процесів та процесів ліпопероксидації при опроміненні та отруєннях відбуваються зміни в антиоксидній системі організму [2,3,6]. Тому виникла необхідність використання препарату для зниження перекисного окислення ліпідів та нормалізації антиоксидантної системи.

Останнім часом в літературі з'явилися повідомлення про те, що крезацин-(трис-2-оксигетил)-амоній-о-крезоксиацетат здатний активувати анаболічні процеси в гепатоцитах, виявляти антиоксидний та мембранстабілізуючий ефекти [11].

Метою нашої роботи було дослідити можливість корекції за допомогою ліпосом з інкорпорованим крезацином порушень вільнорадикального окислення і системи антиоксидного захисту у щурів за низькодозового опромінення та гострого ураження тетрахлорметаном і нітритом натрію.

Матеріали і методи досліджень

Досліди проведені на білих безпородних щурах масою 150-170 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Всіх тварин поділили на 3 групи: I — інтактні, II — одноразово опромінені в дозі 0,5 гр з одночасним одноразовим отруєнням CCl_4 (0,4 мл 50% олійного розчину внутрішньоочеревинно) та $NaNO_2$ в дозі 70 мг/кг внутрішньошлунково (за 24 год. до евтаназії); III — уражені тварини (аналогічно II групі), які отримували щодня ліпосоми (75 мг ліпідів на кг) з інкорпорованим крезацином (20 мг/кг) внутрішньоочеревинно.

Бішарові ліпосоми отримували методом ультразвукової обробки суспензії яєчного фосфатидилхоліну і холестерину (мольне співвідношення 9:2) в розчині Хенкса. Інкапсулювання крезацину в ліпосоми проводили як описано в роботі [12].

Евтаназію тварин проводили на 4 та 7 добу після опромінення та введення CCl_4 (за 24 год до евтаназії вводили $NaNO_2$). Для досліджень використовували кров, сироватку крові та тканину печінки. Про активність вільнорадикальних реакцій судили за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [1], ендогенну інтоксикацію оцінювали за вмістом середніх молекул (СМ) [4], відсотком ушкодження еритроцитарної мембрани (ЕП) [15]. Характеризуючи стан антиоксидантної системи, визначали активність каталази (КТ) [13], церулоплазміну (ЦП) [17] та вміст відновленого глутатіону (G-SH) [18].

Усі отримані цифрові дані обробляли статистичним методом з використанням критерію Стьюдента [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень показали, що одноразове опромінення в поєднанні з отруєнням тварин ксенобіотиками активує процеси вільнорадикального окиснення, що проявляється у підвищенні вмісту МДА в сироватці крові (табл. 1) та печінці (табл. 2) в обидва досліджувані строки ($P < 0,05$). Підвищення вмісту МДА протягом 7 діб, очевидно, пов'язане з посиленням утворенням продуктів метаболізму CCl_4 та $NaNO_2$ (CCl_3 та NO) з наступним утворенням АФК під впливом спільної дії рентгенівських променів та вищевказаних токсичних чинників.

Токсичні продукти ліпопероксидації призводять до деструкції клітинних мембран, що зумовлює вихід ендогенних токсинів в кров. Підтвердженням цьому є збільшення вмісту СМ в сироватці крові та печінці дослідних тварин. З літератури відомо, що одним з патогенетичних факторів розвитку ендогенної інтоксикації є нагромадження в біологічних рідинах середньомолекулярних пептидів — проміжних і кінцевих продуктів порушення процесів обміну, деструкції тканин. Вважається що до 80% з них є продуктами порушення білкового

обміну в результаті активації протеїназ в умовах аномального протеолізу при гострих і хронічних захворюваннях [16].

Поряд з підвищенням вмісту СМ в сироватці крові ми відмітили підвищення еритроцитарного індексу інтоксикації, який вказує на ступінь пошкодження еритроцитарної мембрани під впливом токсичних сполук. Так на 4 та 7 добу дослідження відсоток ушкоджених мембран еритроцитів зріс на 17% в уражених тварин (табл. 1).

Як видно з отриманих даних, однією з первинних реакцій на дію рентгенівських променів в комплексі із ксенобіотиками є розвиток процесів ПОЛ, кінцевими продуктами яких є токсичні речовини. На думку багатьох дослідників [5,8] утворені радіо- та ендogenousні токсини впливають на компоненти клітинної мембрани, багаточисельні ферменти та генетичний апарат клітини, сприяють розвитку променевого ураження, а радіочутливість організму і окремих органів визначається вихідним рівнем активних продуктів вільнорадикального окиснення.

В організмі людини і тварин є багато механізмів, які підтримують на постійному рівні процеси вільнорадикального окиснення. Велика роль в цих процесах належить антиоксидантам, ферментним системам, таким як глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, каталаза, церулоплазмін, що забезпечують дезактивацію окремих токсичних продуктів.

Відомо, що підвищення активності ПОЛ спричиняє надмірне утворення вільнорадикальних продуктів з наступним утворенням АФК та зниженням активності антиоксидантної системи. У зв'язку з цим викликало цікавість порівняння в різних тканинах активності каталази — одного з ферментів антиоксидантної системи. У крові отруєних тварин в 4 рази зросла активність каталази на 4 та 7 добу експерименту. У печінці тих самих щурів активність ферменту також зростала, однак її підвищення не перевищувало норму в 1,5 рази.

Таблиця 1

Показники ендogenousної інтоксикації, перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові тварин, отруєних тетрахлорметаном, нітритом натрію на фоні низькодозового опромінення та при корекції порушень фосфатидилхоліновими ліпосомами з інкорпорованим крезацином, ($M \pm m$; $n = 6$)

Групи тварин	4 доба						7 доба					
	ЕП в %	МДА, мкмоль/л	СМ ум. од/л	ЦП, г/л	Ката-лаза, мкат/г білка	SH-групи, ммоль/л	ЕП в %	МДА, мкмоль/л	СМ ум. од/л	ЦП, г/л	Ката-лаза, мкат/г білка	SH-групи, ммоль/л
Інтактні	65,0 ±1,4	3,5 ± 0,19	0,17 ± 0,003	0,14 ±0,005	0,02 ± 0,001	0,74 ± 0,08	65,0 ±1,4	3,5 ± 0,19	0,17 ± 0,003	0,14 ±0,005	0,02 ± 0,001	0,74 ± 0,08
Рентген+ СС14+ NaNO ₂ (К)	76,0 ±0,5 ±0,07* 6*	4,10 ±0,07*	0,22 ± 0,013*	0,34 ±0,01*	0,08 ± 0,002 *	0,61 ± 0,05	76,0 ±0,52 *	5,10 ±0,10*	0,26 ± 0,006	0,38 ±0,006*	0,07 ± 0,001 *	0,33 ± 0,04*
К+ліпосоми	77,0 ±1,2	4,5 ± 0,05	0,22 ± 0,011	0,25 ±0,011	0,07 ± 0,003	1,0 ± 0,09	74,0 ±1,1	4,7 ± 0,15	0,20 ± 0,002	0,30 ± 0,005	0,07 ± 0,002	0,87 ± 0,07
К+ліпосоми з крезацином	66,0 ±0,9	3,4 ± 0,15	0,21 ± 0,012	0,20 ±0,01	0,05 ± 0,002	0,93 ± 0,07	6,20 ±0,9	3,4 ± 0,12	0,16 ± 0,003	0,22 ± 0,004	0,03 ± 0,001	0,76 ± 0,05

Примітка: К — контрольна група тварин (отруєні та опромінені тварини); * — відмінності між інтактними тваринами та контрольними; ** — відмінності між контрольними тваринами та лікованими.

Показники ендогенної інтоксикації, перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в печінці тварин, отруєних тетрахлорметаном, нітритом натрію на фоні низькодозового опромінення та при корекції порушень фосфатидилхоліновими ліпосомами з інкорпорованим крезацином

Групи тварин	4 д о б а				7 д о б а			
	МДА, мкмоль/кГ	СМ, ум. од./кг	Каталаза, мкат/кг	SH-групи, ммоль/кг	МДА, мкмоль/кГ	СМ, ум. од./кг	Каталаза, мкат/кг	SH-групи, ммоль/кг
Інтактні	2,2 ±0,18	3,30 ±0,21	0,11 ±0,007	3,80 ±0,21	2,2 ±0,18	3,30 ±0,21	0,11 ±0,007	3,80 ±0,21
Рентген+ СС14+ NaNO ₂ (К)	5,1 ±0,4*	4,60 ±0,17*	0,17 ±0,004	4,10 ±0,19	2,7 ±0,06*	4,50 ±0,19	0,15 ±0,002	4,40 ±0,11
К+ліпосоми	5,0 ±0,2	4,4 ±0,15	0,16 ±0,005	3,4 ±0,15	2,9 ±0,06	3,8 ±0,11	0,15 ±0,005	4,2 ±0,12
К+ліпосоми з крезацином	4,5 ±0,3	4,2 ±0,2	0,14 ±0,003	3,1 ±0,12	2,1 ±0,03	3,3 ±0,12	0,12 ±0,003	3,5 ±0,11

Висока активність каталази є захисною реакцією на посилене утворення пероксиду водню, зростання якого під впливом екзогенних чинників досягає значних величин.

У крові тварин зростала активність ферменту церулоплазміну. Причому, на 4 та 7 добу ураження тварин це підвищення було однаковим, майже в 2,5 рази. Наші дані узгоджуються з результатами, наведеними в [2], де показано, що одноразове опромінення в малих дозах викликає компенсаторне підвищення рівня церулоплазміну. Додаткове введення нітриту натрію та тетрахлорметану ще більше активізувало захисну здатність організму. Ми вважаємо, що висока активність антиоксидантних ферментів є захисною реакцією на введення в організм трьох пошкоджуючих чинників одночасно.

Поєднаний вплив вищевказаних факторів призвів до зменшення вмісту G-SH в плазмі крові, причому на 7 добу воно було дуже значним (більше, ніж у 2 рази). У печінці отруєних тварин G-SH зазнав незначного підвищення: 8% на 4 добу отруєння і 16% на 7 добу. Очевидно, що підвищення вмісту G-SH зв'язане з дестабілізацією мембран гепатоцитів, в першу чергу з порушенням білкових структур мембран, що призводить до окиснювальної модифікації ферментів, звільнення білкових компонентів та підвищення вмісту тиолових груп.

У плазмі крові висока активність токсичних продуктів вільнорадикальних реакцій супроводжує компенсаторне пригнічення активності глутатіонової системи, що проявляється у зниженні вмісту відновленого глутатіону.

Отже, під впливом рентгенівських променів відбувається значна активація процесів ліпопероксидації, яка викликає деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран і вихід ендогенних токсинів в кров. Значна кількість токсичних сполук в крові супроводжується змінами в антиоксидантній системі організму (підвищення активності КТ, ЦП та різноспрямовані зміни вмісту G-SH).

Для корекції виявлених порушень ми використали фосфатидилхолінові ліпосоми з інкорпорованим крезацином, який проявляє антиоксидантні властивості.

Враховуючи тропність ліпосом до печінки і той факт, що при токсичному гепатиті страждають фосfolіпідні структури мембран гепатоцитів, ми використали фосфатидилхолінові ліпосоми з метою корекції біомембран за умов поєднаної інтоксикації організму NaNO₂ та СС14 на фоні рентгенівського опромінення.

Ліпосомальна терапія призвела до суттєвого пригнічення процесів ліпопероксидації в уражених клітинах печінки (зниження вмісту МДА), зниження вмісту ендогенних токсинів як в крові (табл. 1), так і в печінці (табл. 2) отруєних тварин. Достовірно знизився вміст СМ в досліджуваних тканинах в обидва строки експерименту. Аналогічних змін зазнала система антиоксидантного захисту організму. Під впливом ліпосом з крезацином нормалізувалася

активність КТ, ЦП та вміст G-SH. На 7 добу дослідження вищеперераховані показники практично нормалізувалися.

Висновки

На основі вищенаведених фактів можна дійти висновку, що антиоксидантний ефект зумовлений дією крезацину та фосфатидилхолінових ліпосом. Можливо, завдяки наявності в молекулі крезацину трис- (2-оксиетил) — амонієвої групи даний препарат здатний гасити вільні радикали й активні форми кисню, блокуючи процеси ліпопероксидації. Можна припустити, що використання фосфатидилхолінових ліпосом як “контейнера” для транспорту трис- (2-оксиетил) амоній ортокрезоксиацетату в печінку може бути ефективним методом терапії при гострих отруєннях та радіаційних ураженнях, що здатний нормалізувати активність вільнорадикальних реакцій та анаболічні і катаболічні процеси в гепатоцитах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. — 1988. — № 11. — С. 41-43.
2. Барабой В. А., Олійник С. А., Хмелевський Ю. В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журн. — 1994. — Т. 66, № 4. — С. 3-30.
3. Верхогляд И. Н., Цудзевич Б. А. Активность ферментов антиокислительной системы и содержание продуктов перекисного окисления липидов в печени и тимусе крыс на ранних этапах лучевого воздействия/ Радиобиол. — 1992. — Т. 32, № 3. — С. 412-417.
4. Використання ліпосом у клінічній медицині / М. М. Корда, С. В. Бродін, Я. С. Стравський та ін. // Ліки. — 1997. — № 5. — С. 67-72.
5. Влияние ионизирующего излучения на перекисное окисление липидов в крови крыс / Т.Т. Тацко, Л.М. Мажуль, О. В. Шаблинская и др. // Радиобиол. — 1990. — Т. 30, № 3. — С. 1413-1415.
6. Григор'єва Н. П., Яремій І. М., Мещишен І. Ф. Окислювальна модифікація білків та активність деяких антиоксидних ферментів крові шурів за умов опромінення та дії настоянки арніки гірської // Мед. хімія. — 2000. — Т. 2, № 1. — С. 70-72.
7. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — Л.: Медицина, 1978. — 294 с.
8. Динамика показателей перекисного окисления липидов в крови и радиочувствительных органах крыс при тотальном и локальном рентгеновском воздействии / В.А.Барабой, Н.Н.Дзятковская, Т.В.Клименко и др. // Радиобиол. — 1990. — Т. 30.- Вып. 6. — С. 735-739.
9. Динаміка перекисного окислення ліпідів в органах шурів при опроміненні та антиоксидантний ефект суфану / І. Чекман, Н. Горчакова, М. Середенко та ін. // Галицький лікар. вісник. — 2000. — Т. 7, № 2. — С. 85-88.
10. Канапацкая И. А., Зырянова Т. Н., Лаврова В. М. Показатели пероксидного окисления липидов в митохондриях печени крыс после введения им некоторых ксенобиотиков и действия радиации в малой дозе // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70, № 6. — С. 113-118.
11. Корда М. М. Трис-(2-оксиетил)-аммоний ортокрезоксиацетат ингибирует окислительную модификацию липопротеинов низкой плотности // Эксперим. и клин. фармакол. — 1997. — Т. 60, № 6. — С. 37-39.
12. Корекція фосфатидилхоліновими ліпосомами з інкорпорованим крезацином метаболічних порушень у печінці при інтоксикації D-галактозаміном / М. М. Корда, С. В. Бродін, Я. І. Гонський та ін. // Ліки. — 1997. — № 3. — С. 24-27.
13. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др. // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.
14. Нагоев Б. С., Габрилович М. И. Значения определения средних молекул в плазме крови при инфекционных заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии / Клин. лаб. диагностика. — 2000. — № 1. — С. 9-11.
15. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Ринук и др. // Лаб. дело. — 1988. — № 9. — С. 22-24.
16. Среднемолекулярные пептиды сыворотки крови крыс при остром повреждении печени и введении йодированного масла / И. М. Турияца, Л. М. Ростока, Т. М. Федорович и др. // Укр. биохим. журн. — 1991. — Т. 63, № 2. — С. 102-105.

17. Тарасов Н. И., Серегин С. П., Волчегорский И. А. О роли определения церулоплазмينا в лабораторной диагностике хронического простатита // Клин. лаб. диагностика. — 1998. — № 1. — С. 19-20.
18. Ellman G. S. Tissue sulfhydryl groups// Arch. Biochem. — 1959. — Vol. 82. — P. 70-77.

L. S. Fira, B. R. Boychuk, D. Vol. Kozak, O. I. Krivokulskiy, O. B. Stolyar

THE USING OF PHOSPHATYDILCHOLINE LIPOSOMES WITH INCORPORATED CRESACIN FOR THE CORRECTION OF DISORDERS IN THE ORGANISM OF RATS CAUSED BY X-RAY IRRADIATION, TETRACHLORMETHANE AND SODIUM NITRITE

Combination of X-Ray irradiation with CCl_4 and NaNO_2 results in the activation of free radical oxidation processes and development of the endogenic intoxication (increase of the MM and EII content) / The disorders of antioxidant system were also found. Liposomes alone and liposomes with incorporated cresacin were used for the correction of revealed disorders. The treatment by liposomes with included cresacin was normalize researched indexes more effective.

Надійшла 16.04.2001

ЕКОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 577. 41: 597. 554. 3

В.О. Хоменчук

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ОСОБЛИВОСТІ СУБКЛІТИННОГО РОЗПОДІЛУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В ДЕЯКИХ ТКАНИНАХ КОРОПА ПРИ ДІЇ ЇХ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ

водне середовище, важкі метали, гідробіонти, субклітинні фракції

У комплексному екомониторингу територій провідна роль належить оцінці стану водних екосистем, в яких у підсумку відбувається накопичення біополутантів, токсичних продуктів антропогенної діяльності, їх акумуляція та фіксація. Серед полутантів хімічного походження одне з провідних місць займають важкі метали.

Водні організми володіють властивістю накопичувати іони металів до рівнів, які значно перевищують їх фізіолого-біохімічні потреби, не зважаючи на функціонування складних механізмів регуляції процесів акумулявання. Разом з тим, накопичення важких металів в організмі риб має тканинні особливості, що зумовлюється низкою зовнішніх та внутрішніх факторів [1, 3]. Можна припустити, що перерозподіл металів в організмі проходить не лише на тканинному, а і на клітинному рівні. Завданням нашого експерименту було дослідження особливостей накопичення важких металів в організмі коропа (*Cyprinus carpio* L.) та їх перерозподіл між субклітинними елементами печінки, зябер та м'язів при дії сублетальних концентрацій іонів міді, цинку, марганцю і свинцю.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проведено на дворічках коропа масою 200-250 г., які утримувалися в акваріумах ємністю 200 л. Вміст кисню в воді акваріумів підтримували на рівні 7,0 — 8,0 мг/л, вуглекислого газу — 2,2-2,8 мг/л. Величина рН коливалась в межах 7,7-7,9. Риби перебували в середовищі, в якому вміст досліджуваних металів відповідав 2 рибогосподарським ГДК (Cu^{2+} — 0,2 мг/л; Zn^{2+} — 2 мг/л; Mn^{2+} — 2,4 мг/л; Pb^{2+} — 0,2 мг/л.). Метали вносили у воду в складі солей MnCl_2 , ZnSO_4 , CuSO_4 та $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Період аклімації становив 14 діб, що вважається достатнім для формування адаптивних захисних механізмів при дії вищевказаних токсикантів [5]. Досліджували рівень накопичення металів в мітохондрійній, цитоплазматичній та ядерній фракціях печінки, зябер та спинних м'язів.

Для визначення вмісту міді, цинку, марганцю та свинцю субклітинні компоненти спалювали в перегнаній азотній кислоті в співвідношенні 1:5 (маса:об'єм). Концентрацію металів вимірювали на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 і виражали в нг/мг білку. Вміст білку в пробах визначали за методом Лоурі та співавт. [11]. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично [4].

Результати досліджень та їх обговорення

Одержані результати показують, що вміст металів в досліджуваних субклітинних компонентах при фізіологічній нормі коливається в досить широких межах. Аналогічно за дії

підвищених концентрацій металу, характерний різний ступінь акумулювання металів органелами, в залежності від їх функціонального призначення.

Так, якщо проаналізувати вміст міді в субклітинних фракціях печінки коропа (табл. 1), то можна побачити, що при дії підвищеної концентрації металу в середовищі вміст його зростає в 1,7 рази в ядерній фракції. Наші дані узгоджуються з дослідженнями авторів [10], якими було встановлено, що в печінці окуня більше 90% міді знаходилось в ядерній мембрані у вигляді гранул.

Аналогічна тенденція спостерігається в мітохондріях, в яких вміст металу зростає в 3,1 рази. Дослідники [6] встановили, що при дії підвищених концентрацій міді спостерігається набухання мітохондрій, розрив їх крист і вакуолізація матриксу, зменшення щільності цитоплазми, що зумовлено значним накопиченням металу. Звертає на себе увагу той факт, що в цитоплазматичній фракції має місце тенденція до зменшення вмісту міді в 1,3 рази, що на нашу думку, можна пов'язати із зменшенням об'єму цитоплазми в цілому.

Таблиця 1

Вміст міді в окремих фракціях клітин зябер, печінки і м'язів коропа при дії іонів міді (нг/мг білку, $M \pm m$, $n=5$)

Групи риб	Субклітинні фракції		
	Ядерна	Мітохондрійна	Цитоплазматична
ПЕЧІНКА			
Контроль	120,0±30,0	80,0±4,0	220,0±39,0
2 ГДК	200,0±30,0	250,0±23,0*	130,0±26,0*
ЗЯБРИ			
Контроль	43,0±6,0	31,0±2,0	40,0±5,0
2 ГДК	99,0±7,0*	72,0±9,0*	120,0±20,0*
М'ЯЗИ			
Контроль	14,0±4,0	96,0±20,0	28,0±3,0
2 ГДК	7,0±1,0	280,0±80,0	25,0±1,0

Примітка. * — тут і в таблицях 2,3,4 відхилення порівняно з контролем статистично достовірні ($p < 0,05$)

Дана гіпотеза підтверджується дослідженнями авторів [14], якими при інтоксикації сублетальними концентраціями міді виявлено зменшення об'єму цитоплазми і збільшення кількості лізосом.

Найбільш яскраво пряма залежність між концентрацією металу в середовищі і його накопиченням в організмі проявляється в зябрах. У всіх фракціях клітин зябер при експозиції в середовищі 0,2 мг/л міді спостерігається значне підвищення рівня металу: у ядерній — в 2,3; в мітохондріальній — в 2,2; в цитоплазматичній — в 3 рази. Очевидно, це пояснюється безпосереднім контактом зябер з водним середовищем, що підтверджує гіпотезу про надходження металів з води шляхом фізико-хімічної сорбції в зяброві клітини з їх подальшим перерозподілом в організмі [3].

Для мітохондрій м'язів характерним є зростання кількості металу в 3 рази, в ядерній фракції зменшення його кількості в 2 рази, в той час як в цитоплазмі значного відхилення від контролю не відмічено. Очевидно, це можна пояснити тим, що мідь, як елемент, який змінює ступінь окислення, в мітохондріях бере участь в окисно-відновних процесах [15]. Можна припустити, що мідь зв'язується ферментами дихального ланцюга мітохондрій, тому що при токсичній дії хлориду міді виявлено активацію анаеробного та інгібування аеробного шляху утворення енергії [7].

Щодо цинку, то для цього металу рівень в субклітинних фракціях в середньому на один-два порядки вищий від вмісту решти досліджуваних металів (табл. 4).

За рівнем зростання концентрації цинку, в розрахунку на білок, клітинні компоненти як печінки так і м'язів можна розмістити в такому порядку: ядра<мітохондрії<цитоплазма. За дії сублетальної концентрації металу ми спостерігаємо незначне зростання його в усіх фракціях печінки. Майже аналогічна картина, за винятком мітохондрій, де концентрація металу зменшується, спостерігається для субклітинних компонентів зябер. В ряді досліджень встановлено, що цинк переважно потрапляє в організм гідробіонтів з їжею через кишківник

[8,16]. З огляду досить високий вміст цинку в клітинах печінки і зябер і, одночасно, незначне його накопичення при дії сублетальних концентрацій металу, можна відмітити надзвичайно високий рівень регуляції вмісту цинку та систем його переносу при дії його підвищених концентрацій в водному середовищі. Відомо, наприклад, що для *Fundulus heteroclitus* накопичення кадмію при його концентрації в воді менше 100 мкг/л не відбувається, тобто здійснюється фізіологічна регуляція вмісту металу [9]. Для клітин м'язів характерний дещо інший розподіл цинку. Відбувається незначне зменшення його вмісту в цитоплазмі та ядрах, і зростання в два рази рівня металу в мітохондріях. У загальному можна сказати, що в найзначніше накопичення цинку проходить в мітохондріях м'язів.

Таблиця 2

Вміст цинку в окремих фракціях клітин зябер, печінки і м'язів коропа при дії іонів цинку (нг/мг білку, $M \pm m$, $n=5$)

Групи риб	Субклітинні фракції		
	Ядерна	Мітохондрійна	Цитоплазматична
ПЕЧІНКА			
Контроль	651,0±67,0	1111,0±140,0	1365,0±305,0
2 ГДК	675,0±136,0	1240,0±154,0	1567,0±128,0
ЗЯБРИ			
Контроль	1212,0±129,0	2498±289,0	1823,0±181,0
2 ГДК	1421,0±252,0	2358,0±211,0	1996,0±39,0
М'ЯЗИ			
Контроль	46,0±7,0	71,0±17,0	128,0±15,0
2 ГДК	39,0±7,0	140,0±21,0*	117,0±14,0

Найвищий абсолютний вміст марганцю спостерігається в мітохондріях, за винятком ядерної фракції зябер, де рівень металу є найвищим (табл. 3). Порівняно низький рівень металу відмічено для цитоплазми.

Таблиця 3

Вміст марганцю в окремих фракціях клітин зябер, печінки і м'язів коропа при дії іонів марганцю (нг/мг білку, $M \pm m$, $n=5$)

Групи риб	Субклітинні фракції		
	Ядерна	Мітохондрійна	Цитоплазматична
ПЕЧІНКА			
Контроль	8,2±2,6	14,1±3,4	4,3±0,5
2 ГДК	22,3±3,6	18,5±2,0	7,4±1,0
ЗЯБРИ			
Контроль	36,6±7,3	13,5±0,6	1,6±0,2
2 ГДК	163,0±14,6*	24,8±2,4*	5,9±0,8*
М'ЯЗИ			
Контроль	1,56±0,6	14,1±4,2	7,3±0,7
2 ГДК	3,13±0,5	7,6±1,21	6,4±1,2

За інтоксикації іонами марганцю проходить активна його акумуляція у всіх фракціях, за винятком мітохондрій і цитоплазматичної фракції м'язів. Особливо чітко це прослідковується в ядрах, де його вміст збільшується в 2,7 рази в печінці, в 4,4 — в зябрах і в 2 рази в м'язах. Заслуговує на увагу той факт, що значне накопичення металу в мітохондріях спостерігається лише для зябер, а для мітохондрій м'язів взагалі характерне зменшення його рівня майже в 2 рази. Відомо, що мітохондрії в умовах *in vitro* мають здатність накопичувати Mn^{2+} , де він може зв'язуватись з АТФ і впливати на енергетику клітини в цілому [2]. Очевидно, що в нашому випадку протягом 14 діб інтоксикації сублетальними концентраціями металу виробляються адаптивні механізми регуляції вмісту марганцю в мітохондріях, а отже і енергетичного статусу клітини в цілому. З огляду на значне зростання його вмісту в ядерній фракції, ймовірно, що проходить його перерозподіл між мітохондріями та ядрами. Це особливо чітко прослідковується в зябрах — органі, безпосередньо межуючому з навколишнім середовищем,

де рівень металу в ядерній фракції з розрахунку на білок в 27 раз переважає його рівень в цитоплазмі і в 6,5 рази в мітохондріях.

Значний інтерес становлять дані, отримані при інтоксикації організму риб свинцем (табл. 4). Слід відмітити, що при дії його сублетальних концентрацій не проходить накопичення металу в субклітинних фракціях печінки. Очевидно, що печінка не виконує депонуючої функції для свинцю, адже відомо, що цей метал є типовим токсикантом.

Таблиця 4

Вміст свинцю в окремих фракціях клітин зябер, печінки і м'язів коропа при дії іонів свинцю (нг/мг білку, $M \pm m$, $n=5$)

Групи риб	Субклітинні фракції		
	Ядерна	Мітохондрійна	Цитоплазматична
ПЕЧІНКА			
Контроль	12,8±2,5	10,7±0,9	9,1±1,8
2 ГДК	13,9±0,9	11,5±0,7	11,1±1,3
ЗЯБРИ			
Контроль	17,1±3,7	9,1±2,2	14,3±1,7
2 ГДК	37,8±16,4	25,6±2,1*	22,2±4,2
М'ЯЗИ			
Контроль	3,6±1,4	9,4±1,1	15,4±2,8
2 ГДК	2,0±0,1	9,8±1,4	23,8±4,4

Аналогічні закономірності характерні і для м'язів, де лише в цитоплазматичній фракції має місце незначна акумуляція металу. Попередні дослідження констатують досить високу стійкість до дії свинцю дорослих риб [14], в той час, як для риб на більш ранній стадії розвитку він є надзвичайно токсичним [9]. Дослідження авторів [13] показують, що після введення дзеркальним коропам свинцю спостерігається найбільше його концентрування в кістках.

Відсутність прямого зв'язку між концентрацією в воді і накопиченням в організмі коропа може бути зумовлено виключно хімічними причинами. Відомо, що при досить низьких концентраціях свинець утворює нерозчинний осад, який є малодоступним для піддослідних риб. У зябрах спостерігається значне накопичення металу у всіх фракціях, особливо, мітохондріальній. Можна припустити, що зябра відіграють основну роль у зв'язуванні свинцю з наступним його виведенням з організму ще до того, як він потрапить в інші органи. Відомо, що в зябрах свинець накопичується в інертній формі у виді кристалічних відкладів в базальній пластині, зв'язаний із кальцієм у співвідношенні 1:1 [12]. Такі системи захисту характерні не лише для свинцю. Так, при інтоксикації алюмінієм в цитоплазматичних вакуолях респіраторних і хлоридних клітинах зябер було виявлено відклади електроннощільних частинок [17]. Описаний захисний механізм підвищує толерантність гідробіонтів до токсичних рівнів металів у водному середовищі та активує їх адаптивні можливості.

Висновки

Накопичення важких металів субклітинними компонентами залежить від природи металу, його фізіологічної ролі в організмі, функціонального призначення органів та ряду інших зовнішніх і внутрішніх факторів. Відмічено досить високий рівень акумулювання металів в ядерних фракціях досліджуваних тканин, де вони, очевидно, знаходяться в вигляді ущільнень, в результаті чого проходить їх інактивація і підвищення толерантності організму до дії важких металів. Виходячи з визначення токсичності як рівня накопичення металу в метаболічно-активних структурах найбільш токсичним з досліджуваних металів є мідь. Особливо відчутною є її дія на мітохондрії, а отже і на енергетичний статус клітини в цілому. Найнижчий рівень акумулювання досліджуваних металів характерний для ядерної фракції м'язів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Евтушенко Н. Ю. Биоаккумуляция микроэлементов в органах и тканях рыб с различным типом питания при тепловом выращивании // Гидробиол. журн. — 1996. — Т. 32, №3. — С. 89-102.
2. Ленинджер А. Биохимия. М.: Мир, 1974. — 960 с.
3. Патин С. А., Морозов Н. П. Микроэлементы в морских организмах и экосистемах. — М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1981. — 152 с.
4. Сопін Є. Ф., Виноградова Р. П. Основи біохімічних методів дослідження. — К.: Вища школа, 1975. — 244 с.
5. Хлебович В. В. Аклимация животных организмов. — Л.: Наука, 1981. — 135 с.
6. Abbasi A. K., Shackley S. E., King P. E. Effects of copper on the ultrastructure of brain cells of Atlantic herring, *Clupea harengus* L. // Pakistan J. Zool. — 1995. — Vol. 27, N 3. — P. 203-206.
7. Balavenkatassubaiyah M., Rani A. Usha, Geethanjali K., Purushotham K. R. Effect of cupric chloride on oxidative metabolism in the fresh water teleost, *Tilapia mossambica* // Ecotoxicol. and Environ. Safety. — 1984. — Vol. 8, N 3. — P. 289-293.
8. Bauden Jean-Pier. Accumulation simultanee par les vaies dirute et tropique du ⁶⁵Zn par *Cyprinus carpio* L. // Acta aecol. appl. — 1985. — Vol. 6, N 3. — P. 259-268.
9. Bernhard M., Zattera A. Major pollutants in the marine environment/ "Marine pollution and marine waste disposal". Proc. 2nd intern. Congress, San-Remo, 17-21 Dec. 1973, Pergamon Press, 1975. — P. 195-300.
10. Frazier John M. A fish model of animal copper metabolism // Mar. Environ. Res. — 1984. — Vol. 14, N 1. — P. 478.
11. Loury O. H., Rosebrough H. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 191, N 1. — P. 265-275.
12. Marshal A.T., Talbot V. Accumulation of cadmium and lead in the gills of *Mutilus edilis*: X-ray microanalysis and chemical analysis // Chem. Biol. Interact. — 1979. — Vol. 27, N 1 — P. 111-123.
13. Tiedemann G., Kublbeck M., Rosmanith J. Interaction of cadmium and lead in fish // Wiss und Umwelt. — 1984. — N 3. — P. 145-154.
14. Weis P., Bogden J.D., Enslee E.C. Hg- and Cu- induced hepatocellular changes mumichog, *Fundulus heteroclitus* // Environ. Health Perspect. — 1986. — Vol. 65, N 2. — P. 167-173.
15. Windom H.L., Smith R. G. Distribution of iron, magnesium, copper, zinc, silver in oysters along the Georgia Coast // J. Fish Res. Board Canada. — 1972. — Vol. 29, N 4. — P. 13-15.
16. Wunder W., Henschke F., Pesch H. Die Wirkung von Zink auf die Muskulatur des Sangfishes im Boblense // Natur und mus. — 1984. — Vol. 114, N 4. — P. 103-107.
17. Youson John H., Heville Christine M. Deposition of aluminium in the gill epithelium of rainbow trout (*Salmo Gairdneri* Richardson) subjected to sublethal concentration of the metal // Can. J. Zool. — 1987. — Vol. 65, N 3. — 647-656.

V.O. Khomenchuk

PECULIARITIES OF SUBCELLUR DISTRIBUTION OF HEAVY METALS UNDER THE INFLUENCE OF THEIR HIGHER CONCENTRATIONS IN SOME TISSUES OF CARP

The acumulation of heavy metals by the subcellur components depends of the nature of metal, its physiological role in an organism, functional placement of subcells and also on a number of other internal and external factors. A rather high level of accumulation of metals in nuclear fractions of investigated tissues is marked. Outgoing from the definition of toxicity, as an upbuilding of metal in metabolically active patterns, the most toxiferous of the studied metals is copper. The lowest level of accumulation of the investigated metals is characteristic for a nuclear fraction of muscles.

Надійшла 16.03.2001

УДК 597.554.3

Г.Б. ГуменюкТернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2**СЕЗОННА ДИНАМІКА ВМІСТУ І МІГРАЦІЯ МІДІ, КОБАЛЬТУ, КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ В ЕКОСИСТЕМІ ТЕРНОПІЛЬСЬКОГО СТАВУ***екосистема ставу, планктон, вода, донні відклади, важкі метали, міграція*

Як відомо важкі метали (ВМ) є одними з найбільш небезпечних хімічних забруднювачів поверхневих вод України. Їх поведінка в екосистемах є своєрідною, оскільки вони не піддаються деструкції на відміну від органічних речовин (ОР), а постійно присутні у водних екосистемах, змінюючи форму сполук, а, отже, реакційну здатність, біологічну активність та екологічну небезпечність. Їх фізико-хімічний стан змінюється в результаті процесів гідролізу, комплексоутворення, адсорбції, осадження. Вказані процеси визначають міграційну рухливість ВМ, їх перерозподіл між основними компонентами водної екосистеми (вода, прибережний мул, ґрунти, водорості), біодоступність і токсичність для водних організмів. Домінування тих чи інших процесів залежить значною мірою від типу водойми, її гідрохімічного та гідрологічного режимів, біопродуктивності, сезонності і деяких інших характеристик [8].

Тернопільський став відноситься до числа водойм з середньою і високою біопродуктивністю та широким різноманіттям природних ОР. Багато з них утворюють міцні комплекси з ВМ, завдяки чому зменшується інтенсивність адсорбційних процесів. Утворення комплексних сполук сприяє зниженню токсичності і біодоступності ВМ внаслідок зниження активності гідратованих іонів, особливо у випадку домінування високомолекулярних комплексів [8].

За рівнем трофності Тернопільський став відноситься до евтрофних водойм. Основну роль в комплексоутворенні відіграють як гумусні речовини — гумінові і фульвокислоти (ГК і ФК), що містяться в значній кількості у воді, прибережному мулі та ґрунтах, так і органічні сполуки прижиттєвого виділення рослинних і тваринних організмів.

Метою нашого дослідження було вивчення вмісту та особливостей перерозподілу Cu, Co, Pb, Cd у системі вода→прибережний мул→ґрунти→водорості та особливості їх міграції по компонентах водної екосистеми.

Матеріали і методи досліджень

Вміст Cd, Co, Cu та Pb у воді, прибережному мулі, ґрунтах та водоростях визначали, відбираючи їх зразки в 5 різних точках Тернопільського ставу: 1 — біля міського пляжу; 2 — поблизу автомобільної дороги; 3 — біля заплави р. Серет; 4 — низинна ділянка ставу (надходження техногенних викидів з стоком, з річкової води, з атмосферних опадів); 5 — в ділянках заболоченого схилу (постійне обводнення).

Воду відбирали з поверхневого горизонту озера. Проби прибережного мулу та водної рослинності відбирали на глибині до 50 см. Зразки ґрунту відбирали у приводних ділянках не далі 2 м від водного плеса. Проби висушували в термостаті при температурі 50° С, розтирали в ступці до порошкоподібного стану. Згодом 0,25 г абсолютно сухого мулу чи ґрунту поміщали в платиновий тигель, додавали 2,5 мл суміші HF і 2,5 мл HClO₄ та випарювали насухо. Після цього додавали 2,5 мл HF і 0,25 мл HClO₄ і нагрівали до виділення білих парів, знову додавали 0,25 мл HClO₄. Залишок розчиняли в 2,5 мл HNO₃. Спалювання та підготовку зразка водоростей (0,25 г висушеної маси) здійснювали аналогічно [11]. Отримані нітратні розчини використовували для визначення вмісту важких металів, яке здійснювали методом атомно-адсорбційної спектрофотометрії на спектрофотометрі С-115 при відповідних довжинах хвиль, які відповідали максимуму поглинання кожного з досліджуваних металів.

Дані гідрохімічної характеристики Тернопільського ставу одержано з використанням стандартних методик за результатами досліджень гідрохімічної лабораторії Тернопіль-водгоспу.

Статичну обробку одержаних даних здійснювали за методом [4].

Концентрацію металів виражали в мг на 1 кг сухої маси досліджуваних зразків.

Оцінку забруднення здійснювали порівнянням одержаних даних з значеннями ГДК досліджуваних металів для прісноводних екосистем (табл. 1).

Таблиця 1

ГДК металів для певних складових водного середовища, (мг/кг, мг/л) [9, 2, 11]

метали	Складові водного середовища			
	вода	прибережний мул	грунти	водорості
Cu	0,002	20	50	10
Co	0,008	1,8	12	0,01052
Cd	0,0001	0,1	1	0,15
Pb	0,003	50	60	0,22

Результати досліджень та їх обговорення

Вода

Відомо, що найбільш біодоступними є розчинені форми металів. При цьому токсичний вплив на гідробіоти проявляють, головним чином, так звані вільні (гідратовані) іони ВМ, деякі їх гідроксикомплекси і метал-органічні сполуки [5].

До найбільш важливих процесів, що сприяють зниженню токсичності ВМ і тих, що відіграють істотну роль в самоочищенні водної маси, відносять адсорбцію іонів металів завислими частинами і комплексоутворення з участю розчинених органічних речовин (РОР).

У нашому дослідженні виявлено сезонні особливості кількісного представлення ВМ у воді: квітень — Pb<Cd<Co<Pb; травень — Pb<Cd<Co<Cu; липень — Cd<Cu<Co<Pb; серпень — Cd<Cu<Co<Pb (рис.1-4).

Для даних металів міграція в розчиненому стані є найбільш характерною. Вона може включати вільні іони металів та їх комплексні сполуки з органічними та неорганічними лігандами. Форми знаходження металів визначаються фізико-хімічними, гідродинамічними і біологічними параметрами Тернопільського ставу.

Таблиця 2

Гідрохімічна характеристика води Тернопільського ставу у квітні, травні, липні та серпні 2000 року

Місяці	Показники						
	pH	завислі речовини, мг/л	вміст солей, мг/л	вміст Fe, мг/л	Розч. O ₂ , мг/л	Cl ⁻ , мг/л	SO ₄ ²⁻ , мг/л
квітень	7,4	4,5	556	0,16	4,8	70,9	121,6
травень	7,8	6,4	315	0,15	9,7	14,2	15,4
липень	7,2	-	-	-	-	-	-
серпень	7,6	8,2	310	0,17	9,5	8,5	27,0

Щодо процесів комплексоутворення в поверхневих водах ставу, необхідно відмітити їх важливу роль в міграції ВМ. Основну роль в зв'язуванні металів відіграють РОР. Це обумовлено високою біопродуктивністю ставу і великим різноманіттям органічних речовин — лігандів ВМ.

Концентрація комплексних сполук Cu, Co, Cd, Pb залежить від багатьох факторів. Зниження їх зв'язування в комплекси, як бачимо, спостерігається навесні. Це зумовлено, з одного боку, розбавленням вод в час весняного повноводдя, а з другого — зміною компонентного складу РОР в цей період. У кінці весни і в першій половині літа, коли тільки зростає інтенсивність вегетаційних процесів, основну масу РОР складають гумусові речовини, які принесені у став з поверхневим зливом. Незважаючи на високу комплексоутворюючу

здатність (КЗ) гумусових речовин в цілому, в кінці весни відмічена найнижча їх здатність до зв'язування металів в комплекси [8]. Останнє, відповідно, зумовлює зростання концентрацій цих металів у поверхневих водах ставу. Очевидно, низька зв'язуюча здатність гумусу, що змивається з поверхні, пояснюється конформацією його макромолекул, при якій активні (координаційні) центри стають недоступними для зв'язування металів. Має місце також зростання долі гумінових кислот з високою молекулярною масою. Вони мають меншу КЗ порівняно, наприклад, з фульвокислотами, що характеризуються значно меншими молекулярними масами. До кінця літа ступінь зв'язування металів в комплекси, як бачимо, зростає. Відповідно, зменшується концентрація металів в поверхневих водах ставу. У цей період разом з гумусовими речовинами в комплексоутворенні беруть участь ОР — продукти метаболізму.

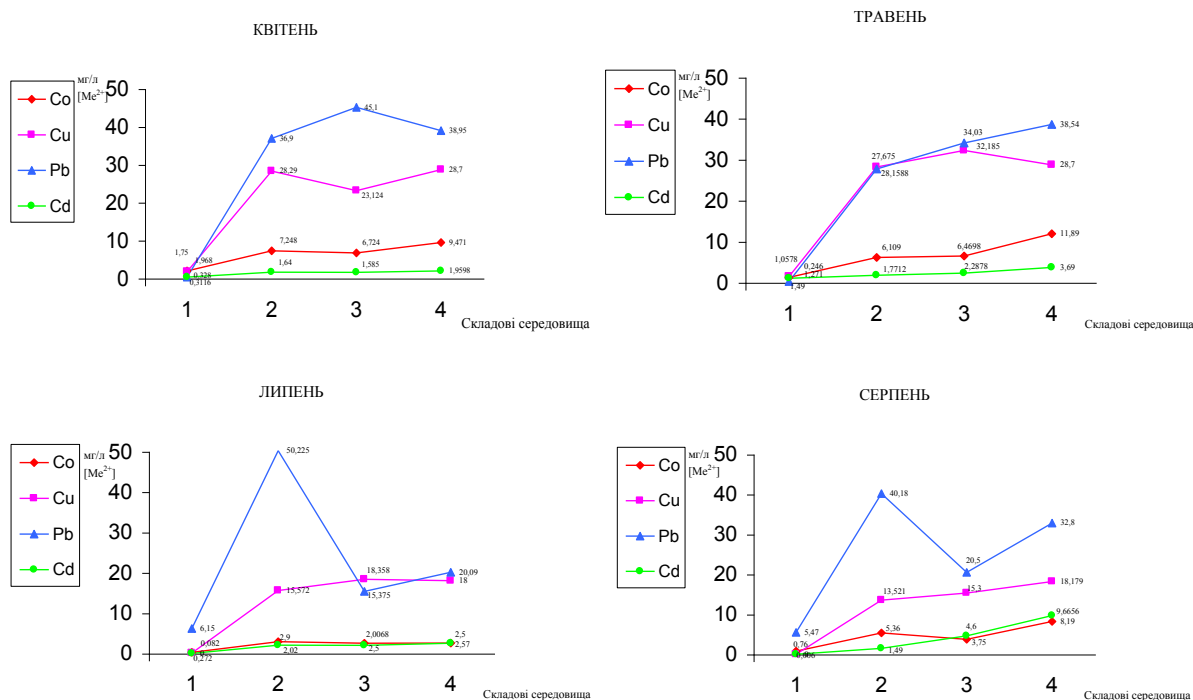


Рис. Вміст кобальту, міді, свинцю та кадмію у воді (1), прибережному мулі (2), ґрунтах (3) та водоростях (4) Тернопільського ставу в різні сезони року ($M \pm m$; $n=5$)

Серед процесів, що впливають на стан мікроелементів в природних водах, важлива роль належить адсорбції на завислих частках. Загальновідомо, що завислі речовини представлені мінеральною і органічною складовими. До мінеральної частини відносять, як правило, глинисті мінерали, оксиди, силікати, карбонати. Органічна фракція включає важкорозчинні органічні сполуки (наприклад гумусові), залишки мікроорганізмів і рослинних матеріалів (детрит) [7].

Процес адсорбції ВМ на завислих речовинах має виключно важливе екологічне значення, виступаючи, з одного боку, фактором концентрування токсикантів, а з іншого — показником самоочищення водойми. Адсорбція металів завислими речовинами водойми і осадження в донні відклади приводить до зниження токсичності води.

Згідно даних гідрохімічної характеристики води Тернопільського ставу концентрація завислих речовин навесні менша, ніж влітку. Це є ще одним підтвердженням того, що літні концентрації в поверхневих водах ставу ВМ (за винятком свинцю) значно менші, ніж весняні. При цьому концентрація ВМ у травні менша, ніж у квітні, що пояснюється початком вегетаційного періоду та збільшенням кількості ОР — лігандів для ВМ та завислих речовин. Винятком є тільки кадмій. Його концентрація у травні значно перевищує величину ГДК у поверхневих водах.

Це можна пояснити слабкою комплексоутворюючою здатністю кадмію порівняно з іншими металами (Cu, Pb, Co) та незначною міцністю його комплексів з гуміновими і

фульвокислотами, а також з іншими органічними комплексоутворюючими сполуками природних вод. Також слід відмітити, що одним із джерел надходження кадмію в поверхневі води є ґрунт [7]. Оскільки у травні мали місце інтенсивні атмосферні опади, то можна припустити, що концентрація у воді кадмію зросла за рахунок змиву верхнього шару ґрунту.

Тривожним фактом є різке збільшення концентрації свинцю влітку. Джерелом забруднення поверхневих вод цим металом є тетраетил свинцю, що надходить з автомобільної траси, яка пролягає по дамбі ставу. Велика концентрація свинцю влітку пов'язана з процесом метилювання. У цей період, особливо у серпні-липні спостерігається «цвітіння водойм», яке призводить до збільшення кількості мікроорганізмів. Неорганічні сполуки свинцю в даних відкладах водойм піддаються метилюванню з участю мікроорганізмів. Мобілізація свинцю з донних відкладів за рахунок процесів метилювання створює серйозну небезпеку для водної біоти.

Прибережний мул

Прибережний мул (донні відклади) — це найбільш стабільний компонент водних екосистем, в якому відображаються основні фізико-хімічні і біологічні внутрішньоводні процеси. Визначальну роль в процесах міграції металів відіграє міцність зв'язування ВМ з твердими субстратами прибережного мулу. Міцність зв'язування ВМ зростає від обмінної фракції до залишкової [6].

У результаті наших досліджень встановлено наступну послідовність скількісного співвідношення вмісту досліджуваних металів у прибережному мулі: квітень — $Cd < Co < Cu < Pb$; травень — $Cd < Co < Pb < Cu$; липень — $Cd < Co < Cu < Pb$; серпень — $Cd < Co < Cu < Pb$.

Згідно класифікації Перельмана [10] мул Тернопільського ставу можна віднести до глинистих мулів. У ньому розкладається багато органічних речовин. У результаті розвивається глиниста окисно-відновна ситуація. Іони заліза та марганцю відновлюються, мул набуває сірого, зеленуватого або сизого кольору. У глинистому мулі не вистачає кисню для окислення органічних речовин, їх розкладання затримується. Найважливішим є те, що у глинистому середовищі багато металів є рухомими і утворюють легкорозчинні сполуки (особливо з органічними кислотами). Цим і можна пояснити значні зміни концентрацій ВМ протягом весняно-літнього періоду.

Загальновідомо, що мідь і кобальт утворюють досить міцні комплексні сполуки з природними органічними лігандами. Також слід відмітити, що поверхнева взаємодія таких комплексів з глинистими частинками (яких особливо багато в післязимовий період), що складають основу глинистих мулів, є досить значною. У донних відкладах весняного періоду також формуються комплекси міді та кобальту з ОР природного походження — залишками рослин, які утворилися ще у зимовий період. Цим пояснюються більші весняні концентрації міді і кобальту порівняно з літніми. Має місце надходження з донних відкладів у водне середовище влітку та акумуляція їх водною рослинністю внаслідок фізичного (хвилі, течії, пониження та підвищення рівня води), чи антропоїчного (дноглибинні роботи, рух катерів), впливів, які ведуть до збільшення концентрації вільних іонів. Слід враховувати можливість виникнення анаеробних умов в придонному горизонті, особливо в зонах накопичення водоростей, в результаті чого вільні іони металів легко переходять у водне середовище з донних відкладів.

Відрізняється поведінка свинцю і кадмію в прибережному мулі. Виявлено збільшення літніх концентрацій даних металів порівняно з весняними. Слід відмітити, що свинець і кадмій мають велику спорідненість до утворення комплексів з неорганічними лігандами та залізомарганцевими оксидами [1] (кількість останніх у літній період значно зростає, а у серпні їх концентрація становить 0,17 мг/л). Крім того, свинець має здатність однаково зв'язуватись з ОР різної молекулярної маси, аллохтонним і автохтонним гумусом [8], тоді як кадмій в основному зв'язується з автохтонним гумусом (фітопактонним).

За даними інших дослідників [2] комплексні сполуки свинцю та міді найбільш стійкі. Загальний порядок стабільності комплексних сполук гумусових речовин з ВМ [5] виглядає так: $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > Fe^{2+} > Mn^{2+}$.

Ці дані ще раз підтверджують можливість формування високих концентрацій свинцю у прибережному мулі.

Значна участь оксидів заліза і марганцю в зв'язуванні свинцю і кадмію дозволяє припустити, що у відновних умовах можливе їх часткове вивільнення і перехід в інші фази [1], що спостерігається в серпні.

Ґрунт

Ґрунт є відкритою підсистемою геохімічного ландшафту, яка пов'язана потоками речовин і енергії з приземною атмосферою, з сукупністю нижчих і вищих рослин і тварин, поверхневими і підземними водами. Ґрунт безпосередньо впливає на забруднення харчового ланцюга [13].

Поблизу Тернопільського ставу зустрічаються такі типи ґрунтів [10]:

1) лучно-болотні намиті середньо-суглинкові грубопилуваті на алювіально-делювіальних відкладах з рН=4,6-7,1; вміст гумусу 1,4-8,79%; вміст рухомого заліза 86,8-421,6 мг/100 г ґрунту. За механічним складом ґрунти середньосуглинкові, грубопилуваті. Вміст фізичної глини — 33,6-43,7%; мулу 9,6-18,8%; крупного пилу 47,2-62,8%.

2) чорноземи слабореградовані слабозмиті середньосуглинкові, грубопилуваті на лесовидних суглинках з рН=5,7-7,2; вміст гумусу 2,9-4,74%. За механічним складом ґрунти середньосуглинкові грубопилуваті. Вміст фізичної глини — 36,9-39%; мулу 15,4-20,2%; крупного пилу 52,1-58,2%.

3) торфовища глибокі глибокопоховані осушені на алювіально-делювіальних відкладах. Вміст гумусу 4,01-8,5%; рН=5,8-6,8. Вміст рухомого заліза 137,2 мг/100 г ґрунту. Ступінь розкладання 30-75%.

Разом з біогенною акумуляцією, що спрямована знизу вгору, в ґрунтах спостерігається і нисхідна міграція водних розчинів (вилуговування). У болотних, лугових та інших супераквальних (надводних) ґрунтах низин спостерігається ще й накопичення хімічних елементів з ґрунтових вод. У таких ґрунтах — це торф'яні та глинисті горизонти [10]. Слід нагадати, що в глинистому середовищі багато ВМ є рухливими і утворюють легкорозчинні сполуки (особливо з органічними кислотами).

Як бачимо, на початку вегетації ґрунти характеризуються підвищеним вмістом ВМ (особливо у квітні). Це обумовлено впливом весняної повені, відкритості поверхні для надходження ВМ, інтенсифікацією геохімічно-трансформаційних процесів, що спричиняє утворення сполук між ВМ, реакцією рН ґрунтів. Згідно даних інших дослідників [3] однозначно зафіксовано залуження ґрунтів по вертикальному профілю весною у ґрунтах зниженої ділянки поблизу водойм, що спричиняє утворення сполук ВМ зі складовими ґрунту.

Один із основних процесів, що впливає на їхню частку в ґрунті, є закріплення гумусовими речовинами. Закріплення здійснюється в результаті утворення важкими металами солей з органічними кислотами, адсорбцією іонів на поверхні органічних колоїдних системи, закомплексування їх гуміновими та фульвокислотами. Міграційні можливості ВМ при цьому в основному знижуються. Саме цією обставиною і пояснюється підвищений вміст важких металів у верхньому найбільш загумусованому шарі ґрунту.

Деяка частина іонів ВМ адсорбується на поверхні мінеральних часток. Можливо також їх проникнення в міжплощинний простір глинистих мінералів чи ізоморфне заміщення іонів інших елементів в кристалічній ґратці.

Низхідній міграції ВМ заважають також гідроксиди і оксиди Fe та Mn, які звичайно концентруються у верхній частині профілю ґрунту. Частина захоплених ними ВМ може бути значною.

Взаємодія іонів ВМ з гумусовими речовинами можуть бути описані як іонообмінні, адсорбція на поверхні, хелатування, реакції коагуляції і пептизації.

У комплексних сполуках іони металів розміщуються в аніонній частині гумусової молекули, тоді як в функціональних групах здатні до дисоціації. Фульвокислоти володіють більш високою здатністю до комплексоутворення з іонами ВМ порівняно з гуміновими, залишаючись при цьому рухливішими [2].

Як було зазначено раніше, свинець і мідь утворюють стабільніші комплекси порівняно з кобальтом і кадмієм, що пояснює їх високу концентрацію в ґрунтах. Встановлено, що вилуговування свинцю з ґрунту майже не проходить. Він мігрує в основному в бікарбонатній формі, а також в складі органічних комплексів. Зниження концентрації свинцю у ґрунтах влітку можна пояснити вимиванням цього металу у поверхневі води ставу (липень — 6,15 мг/л; серпень -5,47 мг/л) та акумуляцією водною рослинністю. Також слід нагадати про велику здатність іонів свинцю до утворення комплексів з оксидами Fe і Mn, а при зниженні рН і зміні окисно-відновної ситуації такі комплекси дуже нестійкі.

Зниження концентрацій кобальту влітку пояснюється вилуговуванням, зміною рН та окисно-відновною ситуацією.

Концентрація кадмію в ґрунтах зростає від квітня до серпня. Більшість дослідників вважає, що кадмій володіє досить високою міграційною здатністю, особливо в межах рН (5-9), але інші дані, одержані для ряду бухт США [8], показують, що при помірній лужності, кадмій стає менш рухливим в зв'язку з утворенням важкорозчинної фази — карбонату кадмію, сульфідів, та досить міцним зв'язування з органічними речовинами. Це, очевидно, має місце і в нашому випадку.

Концентрація міді дещо зростає від квітня до травня, а потім різко зменшується у літній період. Велика частина міді у ґрунтах знаходиться у вигляді гуматних і фульватних комплексних сполук. При цьому домінують останні. Відомо, що при значному забрудненні (в нашому випадку кадмієм) гумінові кислоти перетворюються у фульвокислоти, комплекси з якими характеризуються незначною міцністю.

У результаті зміни рН та окисно-відновної ситуації такі комплекси легко розкладаються. Тільки цим і можливо пояснити міграцію міді в ґрунтах, в цілому досить малорухливого елемента. Аналогічне явище спостерігається і в прибережному мулі.

Водорості

Одним із цікавих об'єктів, вивченню якого надається велике значення при оцінці токсикологічного забруднення, є водорості — первинні продуценти кисню і органічної речовини у водоймі. Інтенсивність надходження ВМ в клітини водоростей різноманітна і залежить від багатьох факторів, в тому числі від біологічних особливостей водорості і виду металу.

Г.А.Сафонова [11] приходить до наступних висновків. Водорості в цілому дають більш високі коефіцієнти накопичення (КН), ніж інші прісноводні організми. КН різних елементів в межах одного виду водорості відрізняються значно більшою варіабельністю, ніж КН одного і того ж елемента різними водоростями.

Звідси випливає, що величина КН більшою мірою визначається природою хімічного елемента, ніж специфічністю організму. Тому градація елементів за ступенем їх накопичення в загальних рисах однакова для таких різних в систематичному відношенні груп, як бактерії, водорості, вищі водні рослини і водні тварини.

Накопичення металів водоростями проходить, перш за все, шляхом його адсорбції на клітинній стінці, що відмічено, наприклад, для *Chlorella stigmatophora* і *Ch. vulgaris* [11]. Саме цим і пояснюється максимальне поглинання ВМ водоростями зразу ж після внесення металів в їх культуру.

У наших дослідженнях встановлено такі послідовності вмісту в водоростях досліджуваних металів: квітень — Cd<Co<Cu<Pb; травень — Cd<Co<Cu<Pb; липень - Cd<Co<Cu<Pb; серпень — Co<Cd<Cu<Pb.

Весняні концентрації досліджуваних металів, окрім кадмію, значно переважають літні. Деякі дослідники [8] вважають, що фітопланктон протягом зими осідає на забруднені донні відклади, а весною змулюється.

У другу фазу весни спостерігається бурхливий розвиток комплексу діатомових водоростей — астеріонелла (*Asterionella*), табелярія (*Tabellaria*). Деякі дослідники стверджують, що ці види водоростей мають значну чутливість до міді. З одержаних нами результатів можна зробити висновок, що діатомові водорості мають високу чутливість до кобальту та свинцю. Також, сприяє акумуляції ВМ водоростями значна мінералізація води

(квітень — 556 мг/л). Слід зазначити позитивну кореляцію між концентрацією ВМ у воді (навесні найвищі концентрації) та у водоростях.

Привертає увагу також те, що мідь сприяє збільшенню проникності клітинних оболонок у водних рослинах, що підвищує їх чутливість до дії інших металів.

Оскільки у водоймі звичайно спостерігається присутність не одного, а декількох металів, дуже важливим у практичному відношенні є вивчення синергічної чи антагоністичної дії металів на водорості.

Встановлено антагонізм міді і кадмію. Кадмій інгібує поглинання міді водоростями і знижує їх токсичність. Токсичність міді зменшується і в присутності кобальту [11]. Як видно з наших досліджень концентрація міді протягом вегетаційного періоду не змінюється. Кадмій разом із свинцем викликають синергічний ефект і тільки при високих концентраціях свинцю його взаємодія з кадмієм носить антагоністичний характер. Присутність заліза також частково інгібує поглинання кадмію, проте кобальт зовсім не впливає на нього.

За результатами наших досліджень концентрація досліджуваних металів у водоростях різко зменшується у липні, окрім кадмію. Це пов'язано з зниженням рН (рН=7,4), а адсорбція всіх металів знижується з зростанням концентрації H^+ . У серпні концентрація металів підвищується. У цей період відбувається активна вегетація синьо-зелених (*Anabaena*, *Microcystic*, *Oscillatoria*) та зелених (*Scenedesmus*, *Pediastrum*) водоростей, що приводить до «цвітіння води». При цьому відбувається підвищення рН (рН=7,6). У таких умовах при зниженні редонс-потенціалу метали виступають як активні комплексоутворювачі з органічними речовинами, утворюючи добре розчинні у воді хелати. Хелатні форми Cu , Co , Pb найбільше засвоюються рослинами [12].

Концентрація кадмію у водоростях збільшується від квітня до серпня. Низькі температури послаблюють поглинання кадмію. Крім того, оскільки різниця в температурі води впливає на швидкість росту, у водоростях, які швидко ростуть, його міститься менше, особливо навесні. Адсорбція кадмію швидкоростучими молодими культурами в цілому слабша, ніж старими культурами, які перестали рости (найбільше таких у серпні). Також встановлено, що зростання швидкості течії в напівзамкнутій протічній системі збільшує швидкість накопичення кадмію.

Із літературних даних відомо, що мікроскопічні водорості мають більше значення в трансформації ВМ у водних екосистемах. Активно накопичуючи ВМ, водорості можуть впливати на розподіл їх в харчовому ланцюзі, на вертикальний і горизонтальний транспорт по акваторії. Велике значення надається водоростям як об'єктам моніторингу забруднення водойм, бо вони можуть накопичувати ВМ до таких кількостей, які на декілька порядків перевищують їх вміст у воді. Частина біоти водоростей інтегрує в часі всі шкідливі впливи на водойми.

Висновки

1. Проведено вивчення вмісту та проаналізовано міграційну рухливість міді, кобальту, кадмію та свинцю в складових водної екосистеми — вода, прибережний мул, ґрунти, водорості.

2. Зростання вмісту ВМ у складових середовища така: **квітень** — для Co і Cu : вода<прибережний мул>ґрунти<водорості>; для Pb : вода<прибережний мул<ґрунти>водорості>; для Cd : вода<прибережний мул>ґрунти<водорості>; **травень** — для Co , Pb , Cd : вода<прибережний мул<ґрунти>водорості>; для Cu : вода<прибережний мул<ґрунти>водорості>; **липень** — для Cu : вода<прибережний мул<ґрунти>водорості>; для Pb , Cd , Co : вода<прибережний мул>ґрунти<водорості>; **серпень** — для Cu , Cd : вода<прибережний мул<ґрунти>водорості>; для Pb , Co : вода<прибережний мул>ґрунти<водорості>.

3. Зв'язування важких металів у комплекси з розчинними органічними речовинами, адсорбція їх на завислих частинках, утворення комплексів з гуміновими кислотами, фульвокислотами та глинистими речовинами є основною причиною низького вмісту «вільних іонів», як однієї з найбільш токсичних форм.

4. Порівнюючи одержані дані з величинами ГДК, можна зазначити, що Тернопільський став є досить забрудненою водоймою, особливо свинцем і кадмієм.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоконь В.М., Нахшина Е.П. Формы нахождения тяжелых металлов в донных отложениях водохранилищ Днепра // Гидробиол. журн. — 1990. — Т. 26, № 2. — С. 83-89.
2. Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение. — Новосибирск: Наука, 1991. — 64 с.
3. Козуля Г.В. Особливості поведінки техногенних елементів у ґрунтах різних орацій долинних ландшафтів середньої течії ріки Сів. Донець: Автореферат дис. канд.географ.наук. 03.00.16. — Харківський Національний університет ім. В.П. каразіна. — Харків, 1999. — 8 с.
4. Лакин В.Т. Биометрия. — М.:Высшая школа, 1980. — 343 с.
5. Линник П.Н. Тяжелые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции // Гидробиол. журн. — 1999. — Т. 35, № 1. — С. 22-41.
6. Линник П.Н. Донные отложения как потенциальный источник вторичного загрязнения водной среды соединениями тяжелых металлов // Гидробиол. журн. — 1999. — Т. 35, № 2. — С. 97-107.
7. Линник П.Н., Набиванец Б.И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. — Л.: Гидрометеоиздат, 1986. — 186 с.
8. Линник П.Н., Искра И.В. Роль растворенных органических веществ в миграции цинка, свинца и кадмия в водохранилищах Днепра // Водные ресурсы. — 1997. — Т. 24, № 4. — С. 494-502.
9. Мур Дж. В., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. Контроль и оценка влияния. — М.: Мир, 1987. — С. 91-104.
10. Перельман А.И. Геохимия. — М.: Высшая школа, 1989. — С. 273-284.
11. Сафонова Г.А. Накопления ртути и других тяжелых металлов водоростями и водными растениями // Поведения ртути и других тяжелых металлов в экосистемах. — Ч.1. Новосибирск, 1989. — С. 64-100.
12. Характеристика ґрунтів Тернопільської області. Тернопіль:Тернопільський філіал інституту землекористування, 1988. — 67 с.
13. Ялынская Н.С., Лопотун А.Г. Накопление микроэлементов и тяжелых металлов в растениях рыбных прудов // Гидробиол. журн. — 1993. —Т. 23, № 2. — С. 40-45.

G. Humenyuk

SEAZON'S DYNAMICS OF COOPER, COBALT, CADMIUM AND LEED CONTENTS AND MIGRATION THOSE METALS IN ECOSYSTEM OF TERNOPIIL'S POUND

In this work seasonal distribution of some heavy metals (Cu, Co, Pb, Cd) among some components of water ecosystems (water, coastal mull, soils, water-plant) in Ternopil's pond was investigated independency from chemical state in aquatic environment.

Надійшла 20.12.2000

УДК 581.522.4.056:131

А.І. Герц¹, В.А. Андрійчук², І.І. Герц³

¹Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2

²Тернопільський державний технічний університет ім. Івана Пулюя
46009 Тернопіль, вул. Руська, 62

³Тернопільський обласний еколого-натуралістичний центр
46012 Тернопіль, вул. Микулинецька, 37

БІОСИНТЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ТА РІСТ АСТРОРОСЛИНИ *BRASSICA RAPA L.* ЗА РІЗНИХ РЕЖИМІВ ОСВІТЛЕННЯ

Brassica rapa L., хлорофіл, нікотинаміди, ріст, інтенсивність освітлення

Дослідження продуктивності вищих рослин в умовах зміни як екологічних, так і технологічних факторів культивування є важливим завданням при створенні перспективних систем їх життєзабезпечення в модельних, включно космічних, системах з використанням біологічних об'єктів [5].

Розвиток досліджень у даному напрямку привів до ідеї пошуку тих рослин на космічних станціях, які за межами впливу гравітаційного поля Землі дають як максимальну продуктивність, так мають нетривалі періоди вегетації.

Останнім часом велику увагу приділяють особливому генетичному різновиду хрестоцвітих *Brassica rapa L.*, який відноситься до серії так званих швидкоростучих рослин (Fast plants), виведених у Вісконсінському університеті (США) П. Уільямсом [8,9]. Ці рослини висотою 15 см не потребують великих площ для вирощування (не більше 2 см² на одну рослину), мають відносно короткий життєвий цикл — 35 діб [4]. Вказані особливості роблять їх не тільки зручним об'єктом для вивчення різних фізіологічних процесів, але одночасно, завдяки малим розмірам і високій енергетичній цінності — можливим компонентом космічних екосистем [5].

Враховуючи те, що дана рослина може стати основним компонентом в системі фотосинтетичної регенерації повітря, води, джерелом рослинної їжі в експериментальних системах життєзабезпечення людини, в яких основну регуляторну та орієнтаційну функцію виконує світло, нами проведено ряд досліджень. Їх метою стало вивчення впливу світла різних параметрів на фотосинтетичні та ростові процеси модельної рослини *B. rapa*.

Беручи до уваги той факт, що продуктивність рослин більше залежить не тільки від швидкості ресинтезу АТФ, а від утворення NADPH в електронно-транспортному ланцюзі та існування чіткої кореляції між інтенсивністю фотовідновлення та приростом біомаси [2], основним досліджуваним показником був обраний вміст NADPH, а також рівень хлорофілів *a* і *b* в органах рослин, як показник потенційної потужності фотосинтетичного апарату, фази розвитку рослини, дії стресових факторів на рослину. Дані показники дають змогу адекватно оцінити стан фотосистем у рослин за варіабельних умов освітлення і зробити висновки про оптимальні умови їх культивування.

Матеріали і методи досліджень

Рослини протягом вегетаційного періоду вирощували в теплицях [8] при температурі повітря 22-25°C, атмосферній концентрації CO₂, фотоперіоді 24 год., освітленні в діапазоні 7,5 — 10 клл (стандартні люмінесцентні лампи типу DAKS 18 W, FOOLWHITE, ЛБ-20, КГМ 12-20). Як живильний субстрат використовувалася суміш: 1 частини торфу, 1 частини вермикуліту (торф'яний компост), поживний розчин Хогланда (суміш Хогланда в концентрації 1/2 нормальної дози)[8,9].

Вплив світлового режиму на біосинтетичну активність, ріст та розвиток *Brassica rapa* досліджували у таких варіантах:

1. Безперервне опромінення лампами КГМ 12-20 (спектр випромінювання в червоній та інфрачервоній областях, Львів "Електротехніка").

2. Змінний режим опромінення люмінесцентними лампами (ЛБ-20) на різних стадіях розвитку (5 діб освітлення, 5 діб темряви).

3. Переривчасте світло від люмінесцентного опромінювача — ЛБ-20 (інтервал 3 хв.)

4. Безперервне світло від люмінесцентного опромінювача (ЛБ-20) .

Наступну серію дослідів проводили зі зміною інтенсивності освітлення рослин при таких режимах:

1. Люмінесцентні лампи DAKS 18 W, FOOLWHITE — Philips (спектр випромінювання в синьо-оранжевій області з максимумом 590 нм.). Інтенсивність випромінювання — 10 клл.

2. Опромінювачі ЛБ-20 (Полтава) — 8,5 клл.

3. Люмінесцентні лампи DAKS 18 W, FOOLWHITE-Philips — 7 клл.

4. Люмінесцентні лампи DAKS 18 W, FOOLWHITE-Philips — 5,5 клл.

Вміст пігментів і коферменту в листках вивчався спектрофотометричним методом в спиртовій витяжці [1]. Визначення сухої біомаси рослини проводилося ваговим методом. Одержані результати опрацьовані статистично за допомогою методів варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення.

Умови безперервного освітлення лампами КГМ-12-20 формують фотосинтетичний апарат, який сприяє відновленню NADPH в органах рослини на початкових стадіях їх росту (до

10 діб), а також кінцевих стадіях, що дає можливість використовувати його асимілюючу силу в період цвітіння і дозрівання плодів (рис. 1, дослід 1). Приріст органічної речовини вегетативних органів, зокрема листків — низький.

Змінний режим опромінення люмінесцентними лампами (рис. 1, дослід 2) на різних стадіях росту має дещо плавнішу динаміку зміни вмісту коферменту, більший приріст сухої маси листків, ніж при освітленні КГМ лампами. Режим переривчастого освітлення до 30 доби, маючи на порядок вищу динаміку зміни відновленого нікотинаміду, приводить до нестабільності в синтетичних процесах рослини (рис. 1, дослід 3) і, як наслідок, незначного приросту біомаси рослини.

Постійне освітлення люмінесцентними лампами забезпечує активність фотосинтетичного апарату, який підтримує рівень NADPH, починаючи з 20 доби, на постійному рівні. Порівняно з попередніми варіантами, рівень хлорофілів і відновника найнижчий, приріст органічної речовини у вегетативній та генеративній частинах рослини є незмінними.

Слід зазначити, що у всіх проаналізованих дослідках спостерігалася кореляція між динамікою зміни кількості NADPH, та вмістом хлорофілів.

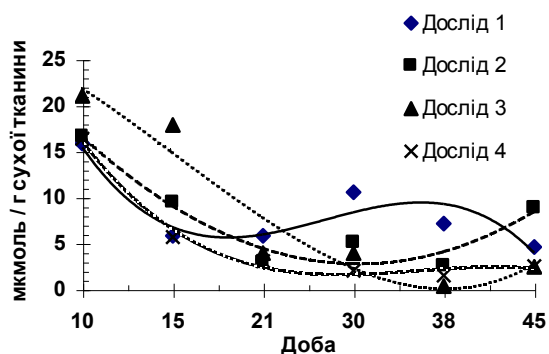
Наступний дослід з вивчення впливу інтенсивності освітлення на біохімічні та фізіологічні процеси *B. para* виключав вплив червоного спектра світла, який на думку деяких авторів недостатній для формування фотосинтетичного апарату рослин [7].

Результати другого дослідження показали, що при освітленні 5,5 клл (рис.2, дослід 4) спостерігається найвищий рівень вмісту як хлорофілів, так і нікотинамідного коферменту (рис. 2). Високий вміст коферменту та хлорофілів відповідає найменшому приросту біомаси. Тільки на 40 добу спостерігається значне зниження вмісту нікотинаміду. У цей час спостерігається приріст біомаси листків. У міру підвищення рівня освітлення відбувається кратне зменшення вмісту NADPH у клітинах листків та плодів. Стебло, маючи на початках свого розвитку іншу динаміку (до 15 доби), поступово також виходить на рівень швидкого накопичування коферменту. Рослина при даних умовах освітлення зберігає свої фотосинтетичні, фізіологічні та ростові показники в межах норми. Інший показник біопродуктивності рослини — приріст сухої маси, є найнижчим. Цей факт є підтвердженням того, що продуктивність рослини залежить від рівня NADPH і його використання у вторинних процесах фотосинтезу. Рослина при малих інтенсивностях освітлення, хоча і має високий вміст коферменту, але, з невідомих причин, не використовує його для нарощування біомаси. Залишаючись оводненою, вона використовує відновник лише для збільшення ростових показників (значного пригнічення росту не спостерігалось) та для формування генеративних органів. Ця тенденція відбита на графіку у вигляді поступового спаду рівня нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату відновленого до 40-ї доби. У даний період рослина має найвищу сиру масу листків і незначне збільшення сухої біомаси.

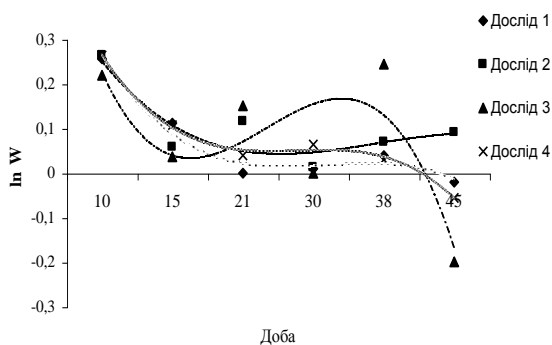
Цікавим є те, що у всіх досліджуваних варіантах, рослинам притаманна практично однакова динаміка зміни даних речовин в процесі їх формування і розвитку. Це ще раз вказує на особливе значення рівня освітлення як регуляторного фактора розвитку рослинного організму. Рослини, які вирощувалися при інтенсивності світла 10 клл, характеризуються незначним вмістом нікотинамідного коферменту, що, очевидно, обумовлено використанням його на ростові процеси. Як наслідок — висока сира й суха біомаса.

У рослин, які вирощувалися при інтенсивності освітлення 8,5 клл лампами ЛБ-20, зменшується кількість відновленого нікотинаміду на 20—30 добу розвитку з подальшим його накопиченням в наступні дні. При цьому, протягом усього онтогенезу спостерігається лінійний спад приросту біомаси.

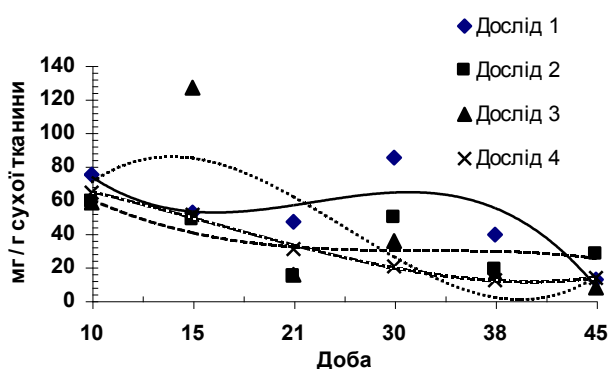
Порівнюючи криві зміни всіх трьох досліджуваних компонентів, можна помітити зниження амплітуди коливань одержаних даних. Рослини на всіх стадіях розвитку при дії даного освітлення (спектри випромінювання збігаються з білим світлом) мають менші коливання вмісту NADPH і хлорофілів.



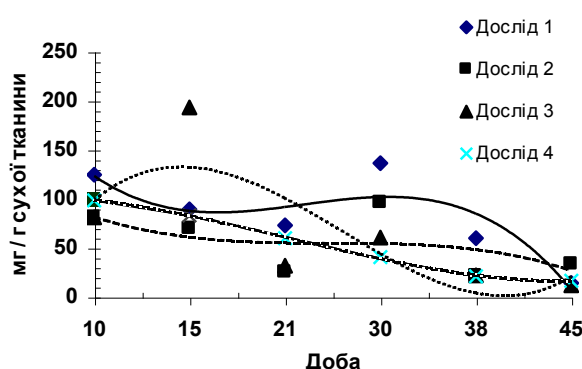
а) Динаміка вмісту NADPH в листках



б) Відносний приріст біомаси листків



в) Динаміка вмісту хлорофілу (а) в листках



г) Динаміка вмісту хлорофілу (в) в листках

Рис. 1. Вплив світлового режиму на біосинтетичні процеси в *Brassica rapa*. Дослід 1. Безперервне опромінення лампами КГМ 12-20 (спектр випромінювання в червоній та інфрачервоній областях). Дослід 2. Змінний режим опромінення люмінесцентними лампами на різних стадіях розвитку (5-діб освітлення, 5-діб темрява). Дослід 3. Переривчасте світло від люмінесцентного опромінювача (інтервал 3 хв). Дослід 4. Безперервне світло від люмінесцентного опромінювача.

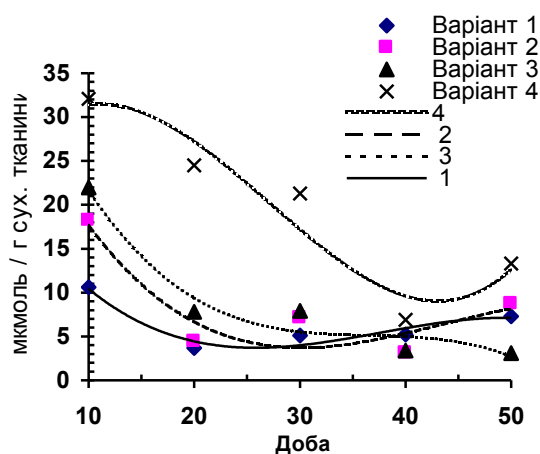
Аналізуючи вміст хлорофілів, можна помітити деяку подібність його динаміки з динамікою зміни вмісту відновленого коферменту. Про ступінь сформованості фотосинтетичного апарату говорять показники співвідношення хлорофілів *a/v*, які в нормі становить від 2,2 до 3 [6].

У нашому випадку дане твердження не справджується. Це може бути наслідком недостатньої освітленості рослин, адже низьке співвідношення хлорофілів *a/v* є ознакою тінелюбних і вирощених при низьких інтенсивностях світла рослин. З іншого боку, зниження співвідношення хлорофілів *a/v* може бути пов'язане з відносним збільшенням їх в світлозбірному хлорофіл-білковому комплексі [6].

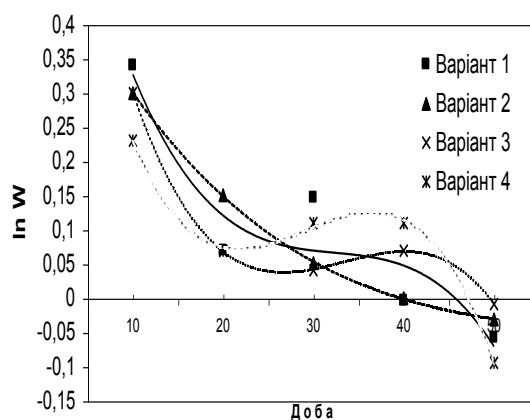
Співвідношення хлорофілу *a/v* при малих інтенсивностях світла практично відповідає загальним правилам тіневитривалих рослин: вміст хлорофілу *v* значно перевищує хлорофіл *a*. Більш стабільно ведуть себе хлорофіли при освітленні 10 клл. Їх співвідношення є найбільшим порівняно з іншими дослідями. При інтенсивності світла до 8,5 клл спостерігається випрямлення кривої динаміки вмісту хлорофілів, що спричинено поступовим накопиченням хлорофілу *a* і *v* в листках до 50-ї доби включно. Даний ефект може бути викликаний випромінюванням ламп, спектр яких тяжіє до білого. У плодах рослин вищевказані закономірності повторюються із значно вищими кількісними показниками.

Слід відмітити, що вміст хлорофілів при підвищенні освітлення зростає за рахунок збільшення вмісту хлорофілу *a*. Вміст хлорофілу *v* змінювався меншою мірою, в результаті чого при низьких інтенсивностях світла зменшувалося співвідношення хлорофілів *a/v*. Отже, проаналізувавши графіки (рис. 1, рис. 2), можна помітити певну подібність у динаміці змін як відновленого коферменту так і хлорофілів. Це може слугувати доказом існування певної залежності між вмістом хлорофілів у хлорофіл-білкових комплексах фотосистем рослин і

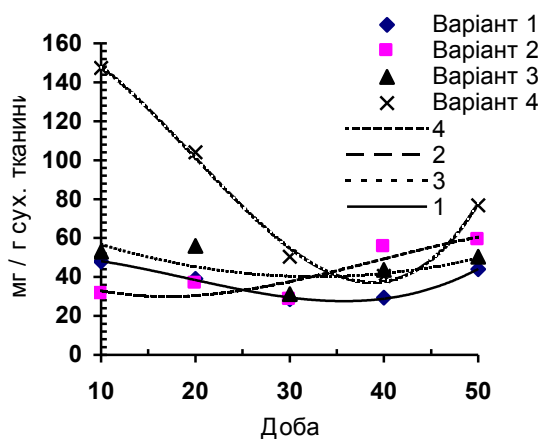
швидкістю функціонуванням електронно-транспортного ланцюга як донора електронів для відновлення NADP.



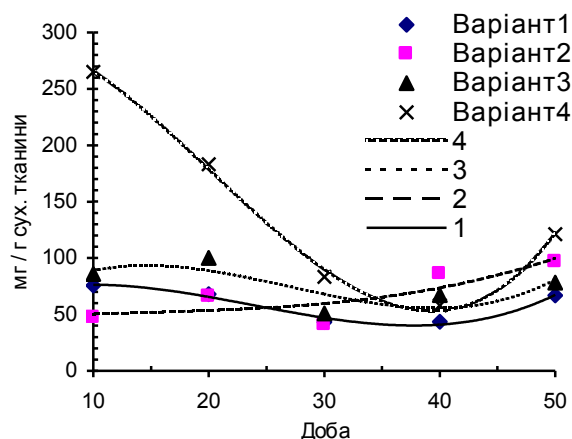
а) Динаміка вмісту NADPH в листках



б) Відносний приріст біомаси листків



в) Динаміка вмісту хлорофілу (а) в листках



г) Динаміка вмісту хлорофілу (в) в листках

Рис. 2. Вплив рівнів освітлення на біосинтетичну активність в *Brassica rapa*. Варіант 1. Люмінесцентні лампи DAKS 18 W, FOOLWHITE (спектр випромінювання в синьо-оранжевій області з максимумом 590нм.). Інтенсивність випромінювання –10 клл. Варіант 2. Опромінювачі ЛБ-20 — 8,5 клл. Варіант 3. Люмінесцентні лампи DAKS 18 W, FOOLWHITE — 7 клл. Варіант 4. Люмінесцентні лампи DAKS 18 W, FOOLWHITE — 5,5 клл.

Для рослин, які росли при низьких інтенсивностях освітлення (5,5 клл) (рис.2) характерний високий вміст нікотинамідаденіндинуклеотиду відновленого, а в силу збільшення освітленості його вміст знижується. При цьому відносний приріст сухої маси вегетативних органів рослини при 10 клл, незважаючи на низький рівень відновника, є найвищим.

Порівнюючи графіки вмісту відновленого коферменту і приросту сухої маси листків (рис. 1, рис. 2), слід звернути увагу на існування певної залежності між вмістом двох досліджуваних компонентів. При високих концентраціях першого загальний приріст біомаси не спостерігається, а зі зниженням вмісту NADPH є помітним приріст сухої речовини вегетативних органів рослини. Тобто існують механізми, які регулюють швидкість утилізації нікотинаміду відновленого у темновій фазі фотосинтезу, і вони є світлозалежними.

Різні типи освітлення змінюють активність ферментів фотосинтезу і, при цьому, впливають на інтенсивність фотосинтезу та метаболізм вуглецю. Це може відбуватися на рівні

ферментів відновлювального пентозофосфатного циклу — рибулозодифосфаткарбоксілази. Так, в дослідженні [7] приводяться дані про зниження активності 1,5-дифосфаткарбоксілази в залежності від умов освітлення.

Висновки

У результаті проведених досліджень показуно, що *B. rapa* здатна адаптуватися до широкого діапазону інтенсивності світла, змінюючи при цьому морфологічні і фізіологічні характеристики. Режим освітлення залишається суттєвим фактором регуляції співвідношення приросту органічних речовин вегетативної та генеративної частин, розвитку астророслини *B. rapa* і може використовуватися для керування продуктивністю та розвитком рослини. При цьому режим освітлення вибірково впливає на біосинтетичні процеси і в залежності від етапу розвитку рослини спричиняє той чи інший ефект. Спостерігається кореляція між рівнем накопичення нікотинамідного коферменту в органах рослини і сухої маси, а також залежність використання NADPH рослиною від рівня освітлення.

Оптимальними умовами освітлення, в межах досліджуваних інтенсивностей, для отримання максимального ефекту в рості і розвитку *B. rapa* є 8,5 клл. Випромінювач КГМ 12-20 може сприяти стимуляції цвітіння і дозрівання плодів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гавриленко В.Ф. и др. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. — М.: Высшая школа, 1975. — 402 с.
2. Гинс В.К., Шевякова А.В., Гамбарева Н.Г., Мухин Е.Н. Образование НАДФН в зависимости от возраста листьев и растений пшеницы разной продуктивности // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1989. — Т. 29, № 3. — С. 247-251.
3. Зотикова А.П., Зайцева Т.А и др. Различия в холодостойкости томата и огурца связаны с низкотемпературной устойчивостью фотосинтеза и характером углеводного метаболизма // Физиология растений. — 1996. — Т.43, № 6. — С. 900.
4. Кочубей С.М. Исследования фотосинтетического аппарата растений по программе совместного украинско-американского эксперимента "Шаттл-97" // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1998. — Т. 30, № 3. — С. 230.
5. Левинских М.А., Дерендяева Т.А. и др. Продукционные характеристики растений *Triticum aestivum* сVol. super dwarf и *Brassica rapa* при воздействии факторов космического полета // Космическая биология и авиакосмическая медицина. — Т. 2. — 1998. — С. 9.
6. Николаева М.К., Власова. М. П. Анатомические особенности, пигментный состав и фотосинтетическая активность листьев бобов, выращенных при различной освещенности // Физиология растений. — 1990. — Т. 37, № 5. — С. 928.
7. Осипова О.П., Хейн Х.Я., Ничипорович А.А. Активность фотосинтетического аппарата растений выросших при разной интенсивности света // Физиология растений. — 1971. — Т. 18, № 2. — С. 257.
8. Fast Plants / Bottle Biology NOTES, Winter, 1996. — 15 p.
9. Fast Plants / Bottle Biology NOTES, Summer, 1997. — 15 p.

A.I. Herts, Vol. A. Andriychuk, I.I. Herts

BIOSYNTHETIC ACTIVITY AND GROWTH OF ASTROPLANT BRASSICA RAPA L. AT DIFFERENT MODES OF LIGHTING IN MODEL CONDITIONS

The article considers light as by the fundamentals a regulator photosynthetic, physiological and biochemical processes of plants. The object of researches selected a genetic mutant *Brassica rapa* L. From the future this plant there can be a main component of regeneration of atmosphere, a water, vegetative nutrition in an environmental control system of the person. The purpose of researches was learning effect of light of different parameters on a photosynthesis and growth yes plants to receive a maximum result in of growth, development, ecological and biochemical full value.

Надійшла 15.01. 2001

УДК 580.027.2:633.88

Н.М. Страшнюк, Л.Р. ГрицакТернопільський державний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ВИКОРИСТАННЯ КУЛЬТУР КЛІТИН І ТКАНИН ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

лікарські рослини, культури клітин і тканин, in vitro, біологічно активні речовини

Лікувальні властивості рослин залежать від наявності в них комплексу різних за хімічною структурою і терапевтичною дією речовин. Культивовані клітини рослин зберігають притаманну вихідному виду здатність синтезувати широкий спектр речовин вторинного метаболізму: алкалоїдів, терпеноїдів, глікозидів, сапонінів, полісахаридів, ефірних олій, дубильних речовин, флавоноїдів, вітамінів, рослинних гормонів, мікроелементів, органічних кислот, мінеральних солей тощо [15]. І тому для отримання цінних біологічно активних речовин, поряд з традиційними технологіями, в основі яких лежить використання цілих організмів (мікроорганізмів, рослин, тварин), використовують біотехнологічні методи, що ґрунтуються на культивуванні вільних та іммобілізованих клітин [28].

Культура клітин, для того щоб стати об'єктом промислового вирощування, повинна витримати конкуренцію з дикорослими і культурними лікарськими, технічними рослинами, а також з мікробіологічним виробництвом і хімічним синтезом. Порівняно з традиційною лікарською сировиною, культури клітин мають такі переваги: незалежність від впливу факторів навколишнього середовища (клімату, сезону, погоди, ґрунтових умов, шкідників тощо); вищий вихід і якість продукту завдяки оптимізації і стандартизації умов вирощування; економія посівних площ [10].

Однак, у сучасному біотехнологічному виробництві використовується невелика кількість клітинних і тканинних культур. Зумовлено це відносно низькою продуктивністю штамів, а також тим, що продуктивність відселектованих варіантів, як правило, швидко знижується до середнього популяційного рівня. Тому актуальним залишається з'ясування закономірностей, що лежать в основі такої нестабільності. Обмеженням у створенні високорентабельних технологій є недостатня кількість фундаментальних знань про генетичну, біохімічну, фізіологічну регуляцію вторинного метаболізму в рослинній клітині [10]. Можливі функції вторинних речовин в інтактній рослині остаточно не вивчені, але дія більшості з них спрямована, в основному, на захист рослин від різних стресових факторів, тобто вони виконують регуляторну функцію, забезпечуючи життєдіяльність організму [7].

Показано, що іноді в культивованих клітинах у спеціалізованому обміні проявляються особливості, характерні для філогенетично ранніх груп рослин або ювенільної стадії розвитку рослин [10]. Популяція клітин *in vitro* проходить певний онтогенез: розмноження (поділ)—розтягнення—диференціація—старіння—смерть. Співвідношення клітин, які знаходяться на різних стадіях розвитку, змінюється залежно від того, який процес переважає. Диференціювання калусної клітини, яка виходить з циклу поділу, полягає в її спеціалізації на синтезі видоспецифічних вторинних сполук [13].

Дані про контроль біосинтезу вторинних метаболітів клітинною диференціацією неоднозначні. Якщо у деяких випадках синтез вторинних речовин починається з появою в культурі морфогенних структур, то в інших — високий вихід досліджуваних речовин спостерігається в недиференційованій калусній тканині [28].

Також суперечливі повідомлення про взаємозв'язок синтезу вторинних сполук з ростом клітин. У багатьох культурах при періодичному режимі вирощування вторинні метаболіти накопичуються в значних кількостях лише при сповільненні або зупинці росту, хоча у деяких випадках синтез продукту сприяє росту клітин. Можливо, механізми й умови, які блокують

поділ клітин та їх активний ріст, є одночасно механізмами активації, які забезпечують синтез ферментів вторинного метаболізму [10].

Оскільки взаємозв'язок синтезу вторинних сполук з ростом клітин на початкових етапах введення того чи іншого виду *in vitro*, невідомий і непередбачуваний, то спочатку необхідно створити оптимальні умови для росту, тобто для накопичення біомаси, а потім дослідити вплив цих умов на біосинтез вторинних метаболітів. Якщо утворення біомаси не пов'язане з синтезом вторинної речовини, необхідно встановити баланс між біомасою і виходом речовини [9].

Отже, при введенні в культуру *in vitro* будь-якого виду важливим є: вибір генотипу донорної рослини; з'ясування специфіки фізіолого-біохімічних процесів, що відбуваються у рослинному організмі; дослідження впливу екзогенних та ендогенних факторів на ріст і накопичення вторинних метаболітів у культурах клітин і тканин; пошук способів підвищення біопродуктивності отриманих клітинних штамів.

Вибір генотипу донорної рослини

Збільшення синтезу вторинних метаболітів у культурах клітин може бути досягнуто, якщо вихідні батьківські рослини, експланти яких використовуються, накопичують великі кількості вторинних метаболітів. Тому, відбираючи рослину-донор експлантів, слід детально дослідити її генотип, умови зростання та вплив факторів середовища на реалізацію геному.

Так, при дослідженні трьох культивованих популяцій («Auvergne», «Baviere», «Jura») тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.), які вирощувались на висоті 1500 та 740 метрів над рівнем моря біля Тренто (Італія), встановлено, що концентрація загальних білків у сухій речовині листків зменшувалась у всіх популяціях із зниженням висоти над рівнем моря [48]. Вміст хлорофілу та каротиноїдів також зменшувався у популяціях «Baviere» та «Jura», а для рослин популяції «Auvergne» ці показники не залежали від зміни висоти над рівнем моря. Співвідношення хлорофілу *a* і *b* у рослинах досліджуваних популяцій не змінювалось при зниженні висоти над рівнем моря [48].

Для отримання культури барвінку рожевого (*Catharantus roseus*) М. Ценк із співробітниками зібрав 184 зразки насіння з різних місць зростання [64]. З проростків цих рослин були відібрані декілька з найбільшим вмістом (більше, ніж 0,7% сухої маси) гіпотензивних індольних алкалоїдів — серпентину і аймаліцину, з яких були отримані калусні культури, що містили у 4-5 разів більше досліджуваних алкалоїдів, ніж калуси, отримані з низькопродуктивних рослин [64]. Однак, У. Реллер не виявив подібної залежності в утворенні серпентину калусними культурами, отриманими із взятих з різних місць зростання рослин барвінку рожевого. Японські дослідники також не спостерігали кореляції між вмістом алкалоїду берберину в інтактних рослинах і калусних культурах *Thalictrum minus* [64]. Можливо, ці протиріччя пояснюються тим, що оцінка вихідного генотипу визначалася лише за фенотипом.

Для отримання клітинних культур маку снодійного (*Papaver somniferum*) було використано ізогенну лінію. Апікальні меристеми, ізольовані одночасно з різних рослин одного віку, культивувались на однакових середовищах. Отримані калуси суттєво відрізнялись як за ростовими характеристиками, так і за синтезом алкалоїдів [33].

При дослідженні синтезу нікотину в калусних культурах, отриманих від двох різних пар рослин тютюну (*Nicotiana tabacum*), що відрізнялися за вмістом нікотину і були ізогенні за іншими локусами, виявлено високий вихід нікотину у культурах, ініційованих з високопродуктивних рослин.

З метою відбору високопродуктивних ліній для введення в культуру *in vitro* нами використовувались рослини видів роду *Gentiana* L. із різних популяцій: *G. lutea* (г. Пожижевська), *G. acaulis* (г. Шпиці, г. Туркул), *G. asclepiadea* (г. Пожижевська, г. Данцеш), *G. punctata* (г. Пожижевська, г. Говерла) [31].

Отримані із високопродуктивних вихідних рослин культури *Catharantus roseus* і *Nicotiana tabacum* синтезували серпентин і нікотин, відповідно, у більших, порівняно з іншими лініями, кількостях [3]. Ці клітини, мабуть, володіють підвищеним біохімічним потенціалом, завдяки якому вони здатні продукувати і накопичувати вторинні метаболіти. Забезпечуючи стабільні культури цих клітин відповідними фізіологічними стимулами, тобто діючи на пускові

механізми або «ефектори» шляхів біосинтезу вторинних метаболітів, можна індукувати *in vitro* синтез значних кількостей вторинних метаболітів [3].

Незважаючи на суперечливість приведених даних, більшість дослідників традиційно при відборі рослин чи ліній для отримання біологічно активних речовин враховують їх генетичні характеристики [27]. Однак, це зовсім не означає, що як експлантат може використовуватися лише тканина, багата досліджуваною речовиною, оскільки висока концентрація речовини може відображати накопичення її в тканинах шляхом направленої транспорту, а не лише як продукт синтезу за місцем локалізації. Тому вибір органу рослини для введення в культуру має важливе значення [28]. Так, наприклад вміст стероїду діосгеніну в культурі клітин діоскорей (*Dioscorea floribunda*), отриманої з бульби, був на порядок вищий, ніж в культурі клітин з пагона. Часто клітини *in vitro* тотипотентні щодо синтезу вторинних сполук, тобто будь-яка клітина при створенні відповідних умов культивування може продукувати речовини, властиві для досліджуваної рослини [9].

Слід зазначити, що гени, які відповідають за регуляцію біосинтезу вторинних метаболітів, присутні і в тих клітинах, в яких, як правило, вторинні метаболіти не синтезуються. У деяких випадках біосинтетичний потенціал культури клітин відновлюється при регенерації рослини. Наприклад, культура клітин наперстянки при довготривалому культивуванні втрачала здатність до синтезу глікозидів, а в рослинах, які регенерували з цієї культури, їх біосинтез відновлювався. Отже, генетична інформація в клітинах зберігається, але для її реалізації потрібні специфічні умови [27].

Вважають, що культивовані клітини, ізольовані від високопродуктивних рослин і тканин, містять необхідну генетичну інформацію для біосинтезу цих метаболітів [27].

Сомаклональна мінливість та її вплив на синтез культурами клітин і тканин біологічно активних речовин

Культура клітин рослин характеризується великою морфологічною і генетичною гетерогенністю. Перша залежить від виду тканини, складу живильного середовища та способу культивування; вона проявляється залежно від фази росту та кількості пасажів. Генетична гетерогенність може залежати від гетерогенності вихідного експланту і від складу середовища. Калусні і суспензійні культури відрізняються за морфологією та ступенем гетерогенності клітинної популяції, за морфогенетичним та біосинтетичним потенціалами [13].

Варіації, що виникають, можуть мати фізіологічну, епігенетичну і генетичну природу. Як правило, фізіологічні зміни не мають стабільного характеру і зникають при зміні умов культивування. Складніше відрізнити генетичні та епігенетичні зміни — ті та інші стабільно передаються протягом багатьох клітинних генерацій, і не зникають при зміні умов культивування [8].

Результати досліджень особливостей хромосомної мінливості клітин при калусоутворенні дуже суперечливі. Значна кількість експериментальних даних свідчить про те, що вже серед перших мітозів після індукції дедиференціації спостерігається міксоплоїдія з широким розмахом щодо числа хромосом і наявності різних аномалій мітозу. У багатьох публікаціях наведені дані про те, що серед перших клітинних поділів рівень порушень невеликий, і лише при подальшій проліферації, особливо в процесі пасивування *in vitro*, відзначається зростання рівня і розширення спектру хромосомних аномалій. Причина суперечності отриманих даних полягає у використанні різного вихідного матеріалу і/або різних умовах індукції калусоутворення [20].

Стан геному в клітинах різних органів і тканин може бути різним. Відмінності виникають в онтогенезі як у результаті запрограмованих змін у процесі диференціації клітин, так і в результаті накопичення мутацій. Кількість і спектр цих геномних змін залежить від багатьох факторів — виду рослини, особливостей її генотипу, віку і умов проростання, типу тканини і рівня спеціалізації клітин тощо [18]. Умови індукції дедиференціації і калусоутворення не тільки виявляють певну частину цих змін при вступі клітин у мейоз, але в деяких випадках приводять до виникнення нових перебудов [20].

При використанні як вихідного матеріалу диплоїдних клітин, у первинному калусі спостерігається, за окремими винятками, диплоїдні мітози. Це показано на прикладі не тільки онтогенетично молодих тканин і органів (меристеми, зародки, молоді листки, деякі частини проростків тощо.), але і при використанні високодиференційованих клітин тих видів рослин і/або тканин, які в онтогенезі не піддавались поліплоїдії. Наприклад, диплоїдний калус був отриманий із нормальної тканини і тканин пухлини (корончастий гал) стебла соняшника [41], із коренеплодів топінамбура [43], у клітинах якого перед початком проліферації вміст ДНК був близьким до $4C$ [45], з різних органів скерди *Crepis capillaris* [40, 59], із ділянок листків і цибулин *Ornithogalum thyrsoides* та інших рослин, диференційованим тканинам котрих не властива поліплоїдія. У таких первинних калусах протягом всього періоду їх росту, як правило, не відзначається суттєвих змін числа хромосом. Такі дані отримані при культивуванні первинних калусів, отриманих із молодих листків *Nicotiana tabacum* [19].

Однак, при використанні як первинних експлантів серцевинної паренхіми того ж виду тютюну, клітини якого піддані поліплоїдії, було встановлено наступне. Число хромосом у перших після індукції калусоутворення мітозах коливалось від 40 до 215 при $2n=48$. Ди- і тетраплоїдні клітини склали 12,5 і 17,5% вивчених клітин, відповідно. Клітини більш високих рівнів плоїдності (містять понад 100 хромосом) склали близько 50%. Другий мітоз відзначали через 1–2 дні після першого. Частота зустрічальності клітин з більшим, ніж 100, числом хромосом, знизилась у другому мітозі вдвічі (до 22,7%). Культивована тканина складалась на 70% з клітин з числом хромосом від 77 до 96 [61].

На основі проведених досліджень різних ділянок стебла *N. tabacum* було зроблено висновок, що у вихідних міксоплоїдних експлантах перші поділи *in vitro* відбуваються, в основному, у диплоїдних та тетраплоїдних клітинах. Клітини вищих рівнів плоїдності піддаються редукції числа хромосом внаслідок фрагментації ядер, і лише після цього приступають до поділу [39].

Цікаві дані отримані також на прикладі гороху *Pisum sativum*. У цієї рослини показано відсутність поліплоїдних клітин у листках і достатньо висока їх частота в коренях і сім'ядолях. Калус, що утворювався на частині листка, більше, ніж на 90%, складався з диплоїдних клітин [19]. Калус стеблового походження на третину складався з поліплоїдних клітин. У калусі з ділянок коренів спостерігали ширший розмах мінливості за числом хромосом (від n до $6n$), при цьому частка тетраплоїдних мітозів перевищувала 30% [19].

В арабідопсиса калус, отриманий з насіння, на відміну від калусів листового і стеблового походження складався практично повністю з диплоїдних клітин [54]. Однак, у дослідях з проростками *Nigella sativa* найстабільнішим був калус з листків. Він містив, крім диплоїдних, незначну кількість тетраплоїдних клітин. У клітинах калусу з стебел рівень плоїдності складав $12n$, з насіння — $8n$ [42].

Рівень і типи мінливості залежать також від виду рослини і від особливостей його генотипу. Наприклад, порівняння чотирьох видів арабідопсиса показало, що з пиляків у всіх випадках формувалися анеуплоїдні калуси, а з насінин, що проростали, — в основному диплоїдні. При цьому рівень мінливості за числом хромосом був різним у різних видів і навіть у межах одного виду в різних калусах, отриманих з аналогічних експлантів [34]. У двох видів картоплі, *Solanum tuberosum* і *S. phureja*, у ділянках листків, на яких *in vitro* утворювався калус, поліплоїдні клітини виникали внаслідок ендоредуплікації. Кількість циклів редуплікації була видоспецифічною, а рівень поліплоїдії залежав від початкового рівня плоїдності генотипу, у тому числі від частини поліплоїдних ядер у вихідній міксоплоїдній ділянці листка [58]. Подібні результати були пізніше отримані в аналогічних дослідях з люцерною [32]. При культивуванні протопластів, отриманих з зародків двох сортів рису різновидності *japonica*, були встановлені відмінності в плоїдності культивованих клітин. В одного сорту калуси були диплоїдні, а в іншого — міксоплоїдні, і містили диплоїдні, тетра-, окто-, і анеуплоїдні клітини. Автори вважають, що поліплоїдні клітини могли виникнути як наслідок ендополіплоїдії при вирощуванні протопластів у культурі *in vitro* [56].

Рівень і темп хромосомної мінливості *in vitro* залежать від початкового рівня плоїдності вихідної рослини та експланта. У представників різних видів, сортів, форм і генотипів або

навіть при використанні однієї рослини, але різних вихідних експлантів, залежність темпу поліплоїдії від початкового рівня плоїдності може бути різною. Наприклад, у *Crepis capillaris* темп поліплоїдії клітин первинного калусу на експлантах від гаплоїдної рослини був вищим, ніж на аналогічних експлантах диплоїдної [60]. У картоплі при вивченні чотирьох дигаплоїдів і одного тетраплоїдного сорту висока частота спонтанного подвоєння числа хромосом (42–50%) спостерігалась у клітинах культури бульбодисків у трьох дигаплоїдних генотипах, а в четвертого дигаплоїду і тетраплоїду подвоєння не відбувалось [51].

Досліджувались первинні калуси, отримані з ділянок листка диплоїдної рослини *N. tabacum* (сорт Самсун), з його недозрілих пиляків і з ділянок листків трьох гаплоїдів, отриманих при культивуванні тих же пиляків [20]. Було встановлено, що 4 калуси з листків диплоїда не відрізнялись між собою за кількістю хромосом. У них переважали диплоїдні мітози (87–93%), зустрічались також тетраплоїдні (до 2%), гіподиплоїдні (2,3–4,7%) і гаплоїдні (2,3–4,9%) клітини. У таких же умовах калуси гаплоїдного походження суттєво відрізняються між собою. Різниця була встановлена і між зразками з різних ділянок одного листка. У деяких калусів значним був відсоток гіпогаплоїдних клітин, який досягав в одному випадку 43%. Подібні результати були отримані і при вивченні первинних калусів з пиляків. Але відсоток диплоїдних мітозів у ряді випадків був значно вищий [20]. Загальним для калусів тютюну гаплоїдного походження, особливо з пиляків, була порівняно невелика кількість анеуплоїдних клітин.

Подібні дані отримані при аналізі калусів томатів, індукованих на ділянках листків гаплоїдної, диплоїдної і тетраплоїдної рослин, а також отриманих з пиляків диплоїда [62]. Відмінність від тютюну полягала у більшій варіації мінливості всіх типів первинних калусів томатів за кількістю хромосом і у вищій частоті клітин як з редукованим, так і з збільшеним числом хромосом. Це, напевно, обумовлено особливостями томату як об'єкта дослідження. Вони полягають у тому, що різним його органам, у тому числі і листкам, властива міксоплоїдія (полісоматія). При цьому частота клітин з різними C -рівнями ДНК у диплоїдних і тетраплоїдних рослин практично однакова в межах від $2C$ до $16C$ і більше, і досягає, наприклад у черешкових старіючих листках рівня $123C$. Це свідчить про те, що у томату в нормі в ході онтогенезу проходять процеси як редукції, так і ендоредуплікації, а сама міксоплоїдія контролюється генетично як число ендоредуплікацій і перебуває під впливом умов вирощування рослин [62].

Отже, початковий рівень плоїдності експланта може суттєво впливати не тільки на темпи поліплоїдії, але і на процеси редукції кількості хромосом при калусоутворенні. При цьому у різних видів рослин залежність процесу мінливості числа хромосом від початкового рівня плоїдності має різну ступінь вираження [20].

Рівень геномної мінливості клітин первинного калусу залежить також від умов вирощування рослин і навіть від стадії клітинного циклу вихідного експланта [44, 55]. Це, напевно, обумовлено тим, що умови вирощування можуть суттєво впливати на особливості геномної мінливості в онтогенезі. Наприклад, як у диплоїдних, так і у тетраплоїдних рослин томатів, кількість ендоредуплікацій у клітинах листків і сім'ядоль, а звідси і особливості міксоплоїдії їхніх тканин, були різними при вирощуванні рослин у теплиці та *in vitro* [62]. Подібні дані отримані і для інших рослин [18]. Напевно, саме тому, наприклад, у суниці *Fragaria ananassa* листові експланти рослин, що вирощуються *in vitro*, порівняно з такими однорічних тепличних рослин утворили калус, який характеризувався підвищеним рівнем геномної мінливості, зокрема анеуплоїдією [55].

Показано, що поліплоїдія і анеуплоїдія можуть виникати в культурі на початку клітинних поділів і частота таких змін збільшується з віком культури. Так, при культивуванні калусів гороху, одержаних із тканин сім'ядолей, анеуплоїдні та триплоїдні клітини були виявлені уже в перших пасажах, при цьому з віком культури зростала і частота перебудов хромосом, які виявляли в анафазах клітин, що ділилися [8]. Ефективним прийомом, який доводить, що зміна кількості хромосом у культивованих клітинах рослин пов'язана не з вихідною гетерогенністю тканин, а, власне, з умовами культивування, є клонування окремих клітин. Встановлено, що калусні клони, що культивуються на одному середовищі і при однакових умовах,

розрізняються за кількістю хромосом. У рослин–регенерантів в умовах *in vitro* відбуваються зміни кількості хромосом, їх перебудови, а також типові генні мутації [30]. Так, наприклад, при проведенні цитогенетичного аналізу калусу *Gentiana scabra* та регенерованих з нього рослин, було встановлено, що всі регенеранти характеризувалися такою ж, як материнські рослини, кількістю хромосом ($2n=26$). Однак, у деяких випадках серед калусних культур зустрічались анеуплоїдні і тетраплоїдні клітини, як результат дії умов культивування. Для рослин–регенерантів характерними були фенотипові варіації, що проявлялись у зміні висоти рослин, форми листків і коренів, кількості стебел та часу цвітіння [46].

Встановлено, що, крім зміни кількості і структури хромосом, у клітинах рослин в умовах *in vitro*, відбуваються і генні мутації. Вони приводять до виникнення певних варіантів та ознак, які проявляються на рівні не тільки клітин, але й цілих рослин. Частоти генних мутацій достатньо великі і можуть бути використані для підвищення генетичного різноманіття культивованих рослин [8].

Отже, клітини рослин, потрапивши в умови культивування *in vitro*, піддаються генетичним змінам. Збереження клітинами генетичної стабільності може розглядатися лише як виключення. Прямі цитологічні спостереження за числом і структурою хромосом культивованих клітин рослин свідчать, що каріотип культивованих клітин легко піддається модифікаціям. Частина таких клітин гине, але деяка частина може розмножуватися і витіснити нормальні хромосомні варіанти. Встановлено, що клітини із зміненими каріотипами можуть володіти морфогенетичними потенціями і давати початок рослинам–регенерантам із зміненим числом і структурою хромосом [8].

Процеси поліплоїдії і редукції числа хромосом у диференційованих клітинах є генетично обумовленими. Встановлено, що в онтогенезі рослин у різних тканинах вміст і співвідношення фітогормонів і інгібіторів змінюється, що регулює в них, а також у сусідніх органах і тканинах, процеси диференціації і морфогенезу [12, 22], а вплив екзогенних фітогормонів залежить від стадії онтогенезу [23].

На прикладі культивованих *in vitro* клітин і тканин показано, що дедиференціація, диференціація і соматичний ембріогенез індукуються екзогенними фітогормонами [8]. Змінюючи співвідношення між фітогормонами в умовах *in vitro*, можна або протягом тривалого часу вирощувати диференційовану тканину, або викликати формування корневих і стеблових зародків, або закладку ембріодних структур.

Виявлено, що кінетин, один з найбільш використовуваних і найбільш вивчених фітогормонів з цитокініноювою активністю, є речовиною, що викликає як у інтактних рослин, так і в культурі тканин, поліплоїдизацію клітинних популяцій внаслідок ініціювання ендомітозів [53], порушення цитокінезу [17] та селективну стимуляцію поділу поліплоїдних клітин [29]. Торрі з співробітниками [47] встановили, що при дії на диплоїдні клітини гороху кінетин викликає два цикли редуплікації хромосом, внаслідок чого з'являлись тетраплоїдні метафази. Дія на тетраплоїдні клітини кортекса кореня не приводила до додаткової реплікації. У процесі росту культури клітин на середовищі з кінетином кількість тетраплоїдних, а потім і октоплоїдних мітозів збільшувалась, і вже через п'ять днів диплоїдні клітини склали менше, ніж 10% клітинної популяції [57].

Подібну дію на клітинні популяції мають ауксини 3-індолілоцтова кислота (ІОК) [1] і 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота (2,4-Д) [14] і гібереліни [2]. У дослідях італійських дослідників [36] при вирощуванні калусної тканини *Haplorappus gracillis* встановлено, що поліплоїдизація калуса залежить від співвідношення в живильному середовищі цитокінінів та ауксинів. Поліплоїдні штами з перевагою тетраплоїдних клітин отримані на середовищі, доповненому 0,02 мг/л кінетину та 1 мг/л НОК, з перевагою октоплоїдних — на середовищі з 0,02 мг/л кінетину та 2 мг/л α -нафтилоцтової кислоти (НОК). Штами з перевагою диплоїдних клітин отримані на середовищі з 0,02 мг/л кінетину та 4 мг/л НОК [36]. Подібні результати були отримані в культурі тканин *Allium cepa*, де додавання в живильне середовище 5 мг/л НОК приводило до збільшення числа диплоїдних клітин до 100%, а використання цитокініну – 6–(3–метил–2–бутен–1–іл–аміно)–пурину — стимулювало розвиток коренів з більшою, ніж у

контролі, кількістю диплоїдних клітин [52]. Отже, функціональна і хромосомна мінливість клітин в онтогенезі рослин у певній мірі регулюється гормональним шляхом.

У рослин морфогенез може також регулюватися фітохромною системою шляхом диференціальної експресії генів [25]. Біохімічно це визначається як зміна у співвідношенні фітогормонів та інгібіторів [24]. Тому, не виключено, що фітохромна система може впливати на хромосомну мінливість в онтогенезі рослини. Підтвердженням цього припущення можуть бути дані про різну плоїдність диференційованих клітин, різних органів рослин, у тому числі епікотилія, що вирощується в темноті та на світлі [38].

Подальше вивчення природних механізмів регуляції плоїдності клітин у рослині і пошуки шляхів цілеспрямованого втручання у ці механізми є важливим для багатьох галузей біології, і перш за все, для біології розвитку, для вирішення деяких практичних питань експериментальної генетики рослин, для з'ясування залежності між змінами рівня плоїдності та змінами синтезу культурами клітин і тканин біологічно активних речовин.

Зміни вторинного метаболізму в культурах клітин можуть бути викликані різними факторами: зовнішніми умовами культивування (світлом, температурою, швидкістю обертання посудини для культивування); внутрішніми умовами культивування (компонентами живильного середовища — регуляторами росту, макро– і мікропоживними речовинами, джерелами вуглецю; попередниками і елісіторами, аерацією і перемішуванням культури, рН живильного середовища); попередньою обробкою клітин перед культивуванням; відсутністю диференціювання тканини в деяких калусних і суспензійних культурах; змінами біосинтетичного потенціалу культур клітин, одержаних із різних частин рослин; структурними перебудовами геномів культивованих клітин, викликаними ендоредуплікацією і (або) процесами фрагментації ядерного геному (особливості, які властиві росту клітин *in vitro*) [3].

Для багатьох культур клітин рослин характерним є те, що після фази швидкого поділу клітин у системі періодичного культивування швидкість раптово знижується і починається формування вторинних продуктів, а також інших ознак спеціалізації клітин. Це так званий трофазно–ідіофазний розвиток. Первинний метаболіт переважно синтезується як прямий результат метаболічних процесів, що підтримують життєдіяльність і ріст клітин, та послідовно накопичується із збільшенням сухої маси клітини. На противагу цьому, вторинний метаболіт не є продуктом метаболізму, що підтримує клітини в активному стані поділу, і накопичення цих метаболітів запізнюється, порівняно з ростом клітин. Тому, умови культивування, що сприяють швидкому росту, дуже рідко сприяють біосинтезу вторинних метаболітів [3]. Отже, для одержання необхідного специфічного продукту при періодичному вирощуванні культур клітин рослин необхідно намагатись досягнути оптимальних умов як для накопичення біомаси, так і для біосинтезу і накопичення вторинних метаболітів.

При вирощуванні *in vitro* в інших фізико–хімічних умовах проходить розрепресування заблокованої в нативних умовах генетичної інформації, наступають зміни, перебудови у структурі хромосомного апарату, виникають порушення клітинного поділу. Важливим є те, що клітини зі зміненими каріотипами в умовах культури не елімінують з популяції, а можуть успішно репродукуватися. І тому, у багатьох випадках *in vitro* клітина набуває здатності утворювати ті речовини, які в нативних умовах у материнській клітині не синтезуються [5, 13, 63]. Так, деякі культури в умовах *in vitro* можуть продукувати підвищені кількості алкалоїдів, наприклад, апоскополамін виявлений у більшій кількості в екстрактах із культур *Datura stramonium*, порівняно з інтактними рослинами, де цей алкалоїд присутній лише у слідових кількостях. Крім того, деякі культури синтезують алкалоїди, не виявлені *in vivo*, наприклад, едулінін у *Ruta graveolens* і ароморін у *Stephania cepharantha* [3].

Встановлено, що на якісний склад та кількісний вміст біологічно активних речовин культивованих *in vitro* пагонів *G. lutea* впливають концентрації фітогормонів (6-бензиламінопурину (БАП) та ЮК) та їх співвідношення у живильному середовищі [49]. Змінюючи склад середовища або використовуючи двохфазне культивування, можна підібрати оптимальні умови з великим виходом біомаси та високим вмістом біологічно активних речовин. У культивованих *in vitro* коренях *G. lutea* вміст генціопікрину був меншим від аналогічного показника у культивованих пагонах, сверціамарин відсутній [49].

Довготривале культивування калусної культури меліси лікарської приводило до змін кількості продукованої ефірної олії та співвідношення між її складовими компонентами [37]. Вміст цитронелалю, цитронелолу, неролу і гераніолу під впливом екзогенних регуляторів росту підвищувався, тоді як синтез гераніл ацетату пригнічувався. Живильні середовища, доповнені високими концентраціями БАП, стимулюють нагромадження у рослинах значної кількості (більше, ніж 10%) аллоаромодентрену. Цей сесквітерпеновий вуглеводень є лише слідовим складником у контрольних рослин *M. officinalis* [37].

Отже, підібравши тип експланту та маніпулюючи складом живильного середовища, можна направлено впливати на генотипову конституцію клітинної популяції, створювати умови для преференціального розмноження в ній клітин із заданим числом хромосом і отримувати клітинні лінії з генетично детермінованою здатністю до надсинтезу тої чи іншої речовини [4, 18]. Застосування таких підходів особливо актуальним є для лікарських рослин, потреба в яких у фармацевтичній промисловості та в народній медицині зростає, а запаси у природі через нерегламентовану господарську діяльність обмежені.

Способи підвищення біосинтетичної активності культур клітин і тканин

Регулятори росту та інші подібні біологічно активні речовини можуть бути використані не тільки для регуляції процесів вторинного метаболізму культивованих клітин різних видів рослин, різних за типом росту та ступенем диференціації (у тому числі трансформованих агробактеріями), але й для одержання нових штамів, підвищена продуктивність яких може бути обумовлена змінами генетичної структури клітинних популяцій. Такі речовини безсумнівно привертають увагу ще й тому, що вони, на відміну, наприклад, від типових мутагенів, викликають направлені зміни генетичної структури клітинних популяцій. Високий рівень гетерогенності та мінливості культивованих клітин, особливо геномної мінливості, що призводить у деяких випадках до нестабільної продуктивності, може бути джерелом одержання нових штамів-продуцентів [18].

З використанням експериментального мутагенезу стало можливим одержання продуктивних штамів, що накопичують у ряді випадків важливі продукти, які синтезуються вихідними рослинами у незначних кількостях [18]. У деяких випадках доцільно збільшити спонтанну генетичну мінливість обробкою мутагенами. Вважають, що в популяціях клітин можуть виникати варіанти, в яких збільшення кількості потрібного метаболіту відбувається як наслідок змін на рівні структурних або регуляторних генів. При цьому у культивованій клітині використовуються шляхи метаболізму, що відмінні від властивих рослині і, що найбільш важливо і бажано, не підлягають контролю розвитку а, отже, можливі на рівні неорганізовано проліферуючих клітин [6]. Завдяки мінливості клітин у культурі *in vitro* можливе отримання штамів, які б забезпечували високий вихід цінних продуктів метаболізму рослинної клітини.

Так, при клонуванні суспензійної культури клітин пасльону, виділено штам, які накопичують більше, ніж 3% від сухої маси, стероїдного алкалоїду соланідину. Застосування мутагенезу з наступною селекцією дозволило отримати штам діоскорей дельтовидної, який містив 3% діосгеніну від сухої маси [5, 8].

Для збільшення виходу біомаси рослинних клітин і цільового продукту використовується метод відбору особливо активних поодиноких клітин з використанням радіоактивно мічених антитіл проти цільового продукту. Наприклад, Отже отриманий клон клітин *Catharanthus roseus*, який продукує вдвічі більше аймаліцину, порівняно з вихідними клітинами [11].

При вирощуванні *Papaver bracteatum* виявлено, що зміна рН живильного середовища, опромінення тканин нейтронами, введення в поживне середовище аналогів амінокислот, а також механічне пошкодження тканини при їх пасивуванні виявляє стимулюючу дію на біосинтез у клітинах маку сангвінаріну [16].

Генетична трансформація та інші генно-інженерні маніпуляції дозволили створити перспективні високопродуктивні культури [21]. Особливо слід відзначити трансформанти, виділені за допомогою агробактерії та її плазмід, зокрема, одержання «бородатих коренів», продуктивність яких виявилась досить високою [18, 21]. Ці культури здатні синтезувати весь спектр коренеспецифічних вторинних метаболітів. Завдяки високій ростовій активності генетично трансформованих коренів можливе одержання їх значної біомаси, порівняно з

культурою клітин. Ростовий індекс більшості стабільних кореневих культур становить від 20 до 50 за період 2-3 тижневого культивування. Тому, якщо врахувати, що при такому культивуванні концентрація вторинних метаболітів аналогічна цілій рослині, загальна продуктивність культивованих коренів може бути значно вищою, ніж продуктивність цілої рослини. Цікавою особливістю генетично трансформованих коренів є їх здатність виділяти біологічно активні речовини у живильне середовище (від 10 до 75% їхнього ендogenous вмісту). Можливо, це зумовлено відсутністю їх відтоку в надземні органи рослин, що робить перспективним утилізацію живильного середовища в промислових масштабах [26].

Для трансформації рослин роду *Gentiana*: *G. acaulis*, *G. cruciata*, *G. lutea*, та *G. purpurea* були використані штами ATCC15834 та A4M70GUS *A. rhizogenes* [50]. Отримані в результаті мікроклонального розмноження пагони перелічених вище видів рослин були інокульовані суспензією клітин *A. rhizogenes*. Адвентивні корені з'являлися у місцях інокуляції у рослин усіх 4 видів. Кореневі апекси культивувались на живильному середовищі без фітогормонів протягом 2-6 років. Вони характеризувались значним розгалуженням та плагіотропізмом [50]. Спонтанне формування бруньок відбувалось на коренях *G. cruciata*. Корені *G. lutea*, *G. acaulis* і *G. purpurea* культивували на середовищах з високою концентрацією кінетину, що викликало формування пухких калусних тканин. Лише у випадку з *G. purpurea* ці калуси були органогенними. Регенеровані пагони *G. cruciata* та *G. purpurea* дали початок рослинам, які проявляли типові для трансформованих *A. rhizogenes* фенотипи рослин: короткі меживузля та покручені листки. У коренях *G. acaulis* та *G. cruciata*, трансформованих за допомогою *A. rhizogenes* A4M70GUS, позитивна реакція X-gluc вказала на активність бета-глюкуронідази. ДНК, отримані з волосатих коренів і з коренів трансгенних рослин, гібридували відповідними геномними пробами саузерн-блотингу, завдяки чому була доведена стабільна генетична трансформація чотирьох видів *Gentiana* [50].

У результаті трансформації коренів *G. lutea* *Agrobacterium rhizogenes* штам ATCC 15834 вібрано 9 клонів з добре розвинутою морфологічною структурою та високою інтенсивністю росту. У 2 із 9 клонів серед вторинних метаболітів у найбільшій кількості синтезувалися секоїридоїди, в інших — ксантони. В одному із клонів вміст генцизину був близьким до такого в коренях інтактних рослин [49]. Отримані *in vitro* пагони та трансформовані корені *G. lutea*, за припущеннями авторів, можуть бути оригінальним джерелом сировини для фармацевтичної промисловості [49].

При проведенні нами трансформації з використанням *A. rhizogenes* штам *YEB*⁺ отримані культури ізольованих коренів *G. lutea* характеризувались інтенсивнішим ростом та вищим, порівняно з не трансформованими культурами, вмістом біологічно активних речовин [35].

Для отримання метаболітів можна застосувати іммобілізовані клітини рослин. Оскільки, при культивуванні рослинних клітин у вільному стані спостерігається агрегація клітин, диференціювання та зміна їх активності. Іммобілізовані клітини рослин позбавлені цього недоліку і мають переваги: їх вирізняє підвищена стійкість до механічних подразнень; фаза росту співпадає з фазою утворення метаболітів; клітини можна легко перенести на нове середовище або у реакційну суміш [11].

Знання особливостей і механізмів структурно-функціональної мінливості геному культивованих клітин, розробка генетичних основ клітинної селекції дозволять цілеспрямовано створювати стабільні штами-суперпродуценти біологічно активних речовин, у тому числі тих, що інтенсивно використовуються у фармацевтичній промисловості. Використання таких штамів підвищить рентабельність і конкурентоздатність клітинних біотехнологій одержання цінних продуктів рослинного походження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Араратян Л. А. Специфічність мутаційної мінливості хромосом від дії індолілоцтової кислоти. // Експериментальні мутації та селекція рослин. — К.: Наукова думка, 1971. — С. 47–53.
2. Бегларян Н. П. О некоторых цитологических особенностях мутанта подсолнечника, индуцированного гибберелловой кислотой. // Цитология и генетика, 1970. — Т. 4, № 6. — С. 547–552.

3. Биотехнология сельскохозяйственных растений / Пер. с англ. В.И. Негрука с предислов. Р. Г. Бутенко. — М.: Агропромиздат, 1987. — 301 с.
4. Бондаренко А. М. Клеточные технологии и соматональная изменчивость в селекции пшеницы // Физиология и биохимия культурных растений. — 1996. — Т. 28, №3. — С. 183-195.
5. Бутенко Р. Г. Индукция морфогенеза в культуре тканей растений. — М.: Наука, 1980. — С. 42-54.
6. Бутенко Р. Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения // Культура клеток растений и биотехнология, 1986. — Т. 18. — С. 3-20.
7. Бутенко Р. Г., Гусев М. В., Киркин А. Ф., Корженевская Т. Т., Маркова Е. Н. Клеточная инженерия. — М.: Высшая школа, 1987. — 127 с.
8. Бутенко Р.Г., Гостимский С.А. Изменчивость генома растительной клетки при культивировании в условиях *in vitro* // Биотехнология. — 1985. — № 2. — С. 79-85.
9. Валиханова Г. Ж. Биотехнология растений. — Алматы, «Конжык», 1996. — 272 с.
10. Валиханова Г. Ж., Рахимбаев И. Р. Культура клеток и биотехнология растений. — Алма-Ата, КазГУ, 1989. — 80 с.
11. Виестур У.Э., Шмите И.А., Жилевич А.В. Биотехнология: биотехнологические агенты, технология, аппаратура. — Рига: Изд-во «Знание», 1987. — 283 с.
12. Гордиенко И. И., Сапожникова Н. Ф., Дерендовская А. И. Эндогенные регуляторы роста и укоренения черенков можжевельника казацкого // Физиол. раст., 1976. — Т. 23, №4. — С. 753-759.
13. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. — К.: Наук. думка, 1980. — 488 с.
14. Каллак Х., Каареп Ю. Цитогенетическая характеристика действия 2,4-Д на каллусные ткани *Narlorarpus gracilis*. // Уч. записки Тартуского ун-та, тр. по цитологии и генетике. — Тарту, 1976. — С. 32-51.
15. Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. культура клеток и биотехнология. — М.: Наука, 1986. — 285 с.
16. Кузовкина И. Н., Рабинович С. А. Действие стрессовых факторов на биосинтез бнзофенантридиновых алкалоидов в культуре ткани *Paraver bracteatum* // Тез. докл. междунардн. конф.: Биология культивируемых клеток и биотехнология, Новосибирск, 2-6 августа, 1988. — 240 с.
17. Кулаева О. Н. и др. О восстановлении белково-нуклеинового обмена срезанных листьев в процессе их изменения под действием кинетина // ДАН СССР. — 1963. — Т. 152, № 6. — С. 1475-1478.
18. Кунах В. А. Геномная изменчивость и накопление индолиновых алкалоидов в культуре клеток раувольфии змеиной, *Rauwolfia serpentina* Benth //Биополимеры и клетка. — 1994. — Т. 10, № 1. — С. 3-30.
19. Кунах В. А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 1. Изменчивость в онтогенезе // Биополимеры и клетка. — 1997. — Т. 10, №6. — С. 5-35.
20. Кунах В. А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 4. Изменчивость в процессе дедифференцировки и каллусообразования *in vitro* // Биополимеры и клетка. — 1998. — Т. 14, №4. — С. 298-320.
21. Кучук Н. В. Генетическая инженерия растений. — К.: Наук. думка, 1998. — 152 с.
22. Лилов Д., Андропова Т. Изменение на цитокинините в лозата. // Физиол. раст. (Болгария). — 1975. — Т. 1, № 4. — С. 3-11.
23. Лихолат Т. В. Значение генного и цитоплазматического уровней регуляции в компетенции клеток разного возраста к действию индолил-3-уксусной кислоты. // Структура и функции клеточного ядра. Новосибирск, 1975. — С. 43-44.
24. Ложникова В. Н., Чайлахян М. Х. Реакция прерывания темноты светом и ингибиторы роста // ДАН СССР, 1975. — Т. 222, № 5. — С. 1242-1245.
25. Мор Г. Молекулярные основы фитоморфогенеза // Физиол. и биохимия культ. раст., 1976. — Т. 8, № 5. — С. 462-472.
26. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: Підручник. — К.: Вища шк., 1995. — С. 467-470.
27. Пирузян Э.С. Основы генетической инженерии растений. — М.: Наука, 1988. — 304 с.
28. Рахимбаев И. Р., Колумбаева С. Ж., Джокебаева С. А. Культура клеток и клеточная инженерия растений. — Алматы, КазГУ, 1993. — 80 с.
29. Сидоренко П. Г., Кунах В. А. Влияние кинетина на репродукцию клеток различной плоидности. IV Всесоюз. совещ. по полиплоидии, 12—14 ноября 1975 г. Тезисы докл. — К.: Наукова думка, 1975. — С. 112-114.
30. Сидоров В. А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. — К.: Наук. думка, 1990. — 280 с.
31. Страшнюк Н.М., Грицак Л.Р., Бияк В.Я., В.В. Грубінко Види роду *Gentiana* L. у флорі України: хорологія, біологічна активність, використання //«Наукові записки» Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія 4: Біологія, № 4(11); 2000. — С. 53-59.

32. Хрусталева Л. И., Карлов Г. И. Кинетика полиплоидизации клеток в первичном каллусе у различных генотипов люцерны // Цитология и генетика. — 1995. — Т. 29, № 2. — С. 31–36.
33. Шамина З. Б. Методические указания по клеточной селекции. — М., 1984. — 36 с.
34. Amos J. A., Scholl R. L. Induction of haploid callus from anthers of four species of *Arabidopsis* // Z. Pflanzphysiol. — 1978. — Vol. 90, N 1. — P. 33–43.
35. Baranchuk S. O., Havrylova O. M., Khorostkivska O. Yu. Root culture transformation of *Gentiana lutea* L. *Agrobacterium rhizogenes* // Conference on genetics and molecular biology for students and young scientists devoted to 100th anniversary of genetics: Abstract book. — Lviv: Spolom, 2000. — P. 43.
36. Bennici A., Buiatti M., D'Amato F., Pagliai M. Nuclear behaviour in *Haplopappus gracilis* callus grown in vitro on different culture media // Colloq. Int. CNRS, — 1971. — N 193. — P. 245–250.
37. Binder G., Vandenberg T., AbouMandour A. A., Czygan F.C. Regeneration of plants and production of volatiles from callus cultures of *Melissa officinalis* L.3. Effect of exogenous growth regulators on essential oil composition // J. of Appl. Botany-Angewandte Botan. — 1996. — Vol. 70, N. 5-6. — P. 181-184.
38. Boeken G., van Oostveldt P., van Parijs R., Fredericq H. Phytochrome controlled endomitosis during the process of cell elongation in the epycotyl of *Pisum sativum* seedlings // Arch. Int. Physiol. Et biochim. — 1975. — Vol. 83, N 1. — P. 169–171.
39. Brossard D. Etude cytophotometrique des variations du contenu en DNA nucleaire au cours de la dedifferentiation de la moelle de Tabak (*Nicotiana tabacum*) cultivee in vitro // Compt. rend. Acad. Sci. — 1974. — Vol. 278, N 20. — P. 2517–2520.
40. Brossard D. Neof ormation de bourgeons vegetatifs et inflorescentiels a partir de disques foliaires du *Crepis capillaris* L. Wallr. cultives in vitro // Ibid. — 1979. — Vol. 93, N 1. — P. 69081.
41. Butcher D. N., Sogek e A. K., Tommerup S. C. Factors influencing changes in ploidy and nuclear DNA levels in cells from normal, crown-gall and habituated cultures of *Helianthus annuus* L. // Protoplasma. — 1975. — Vol. 86. — P. 295–308
42. Chand S., Roy S. C. Study of callus tissues from different parts of *Nigella sativa* (Ranunculaceae) // Experientia. — 1980. — Vol. 36, N 3. — P. 305–306.
43. Dodds J. H., Phillips R. DNA and histone content of immature tracheary elements from cultured artichoke explants // Planta. — 1977. — Vol. 135, N 3. — P. 213–216.
44. Ito M., Stern H. Studies of meiosis in vitro. I. In vitro culture of meiotic cells // Develop. Biol. — 1967. — Vol. 16, N 1. — P. 36–53.
45. Jeoman M. M., Evans P. K., Naik G. G. Changes in mitotic activity during carly callus development // Nature. — 1966. — Vol. 209. — P. 1115–1116.
46. Lee M.–K., Bang J.–W., Lee H.–K. Chromosome stability in the cultured cells and the regenerated plants of *Gentiana scabra* var. *buergeri* // Chromosome Research. — 1995. — 3, Supplement 1. — P. 116.
47. Libbenga K. R., Torrey J. W. Hormone-induced endoreduplication prior to mitosis in cultured pea root cortex cells // Developm. Biol. — 1973. — Vol. 60, N 4. — P. 293–299.
48. Menghini A, Poceschi N, Romano B, Venanzi G, Bezzi A, Aiello N. Altitudinal effects on pigment and protein contents in *Gentiana lutea* L. leaves // Annali Della Facolta Di Agraria Universita Degli Studi Di Perugia 44 Part. — 1990 (1993). — Vol. 1, N 9. — P. 253-259.
49. Menković N., Šavikin-Fodulović K., Momčilović I., Grubišić D. Quantitative determination of secoiridoid and γ -pyrone compounds in *Gentiana lutea* cultured in vitro // Planta Med. — 2000. — Vol. 66. —P. 96–98.
50. Momčilovic I., Grubisic D., Neskovic M. Micropropagation of four *Gentiana* species (*G. lutea*, *G. cruciata*, *G. purpurea* and *G. acaulis*) // Plant Cell Tissue and Organ Culture. — 1997. — Vol. 49, N 2. — P. 141-144.
51. Mozafari J., Wolyn D. J., Ali-Khan S. T. Chromosome doubling via tuber disk culture in dihaploid potato as determined by confocal microscopy // Plant Cell Repts. — 1997. — Vol. 16. — P. 229–333.
52. Nadi S., Fridborg G., Eriksson T. Effects of 6-(3-methyl-2-buten-1-ylamino)-purine and 6-naphtalenacetic acid on root formation and cytology of root tips and callus in tissue of *Aliium cepa* var. *Proflerum* // Hereditas. — 1977. — Vol. 86, N 1. — P. 57–61.
53. Nagl W., Racker W. Shift of DNA replication from diploid to poliploid cells in cytokinin controlled differentiation // Cytobos. — 1974. — Vol. 10, N 39. — P. 137–144.
54. Negruti D., Beefink F., Jacobs M. *Arabidopsis thaliana* as model system in somatic cell genetics. 1. Cell and tissue culture // Plant Sci. Lett. — 1975. — Vol. 5. — P. 293–304.
55. Nehra N. S., Kartha K. K., Stushnoff C. Nuclear DNA content and isozyme variation in relation to morphogenic of strawberry (*Fragaria ananassa*) callus cultures // Can. J. Bot. — 1991. — Vol. 69, N 2. — P. 239–244.
56. Nishibayashi S., Nayashi Y., Kyojuka J., Shimamoto K. Chromosome variations in protoplast-derived calli and in plants regenerated from the calli of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) // Jap. J. Genet. — 1989. — Vol. 64, N 5. — P. 355–361.

57. Phillips R., Torrey J. G. DNA synthesis cell division and specific cytodifferentiation in cultured pea root cortical explant // *Developm. Biol.* — 1973. — Vol. 32, N 2. — P. 336–347.
58. Pijnaker L. P., Sree Ramulu k., Dijkhuis P., Ferwerd M. A. Flow cytometric and karyologikal analysis of polysomaty and polyploidization during callus formation from leaf segments of various potato genotypes // *Theor. and Appl. Genet.* — 1989. — Vol. 77, N 1. — P. 102–110
59. Reinert J., Kuster H. J. Diploide, chlorophyllhaltige Gewebekulturen aus Blättern von *Crepis capillaris* (L.) Wallr. // *Z. Pflanzen. physiol.* — 1966. — Vol. 54, N 3. — P. 213–222.
60. Sacristan M. D. Karyotypic changer in callus cultures from haploid and diploid plants of *Crepis capillaris* L. // *Chromosoma.* — 1971. — Vol. 33. — P. 373–383
61. Shimada T., Tabata M. Chromosome numbers in cultured pith tissue of tobacco // *Jap. J. Genet.* — 1967. — Vol. 42, N 3. — P. 195–201.
62. Smulders M. J. M., Rus–Kortekaas W., Gilissen L. J. W. Development of polysomaty during differentiation in diploid and tetraploid tomato (*Lucopersicon esculentum*) plants // *Plant Sci.* — 1994. — Vol. 97, N 1. — P. 53–60.
63. Whipkey A., Simon J. S., Charles D. J., Janick J. In vitro production of artemisinin from *Artemisia annua* L. // *J. Herbs, Spices and Med. Plants.* — 1992. — Vol. 1, N 1–2. — P. 15–22.
64. Zenk M. N., El-Shagi H., Arens H., Stockigt I., Weiler E. W., Deus B. Formation of the Indole Alkaloides Serpentine and Ajmalicine in Cell Suspension Cultures of *Catharantus roseus* // *Plant Tissue Culture and Biotechnological Application*, Berlin — Heidelberg — N. Y., Springer Verlag, 1977. — P. 27–43.

N.M. Strashnyuk, L.R. Hrytsak

USAGE OF MEDICINAL PLANTS CELLS AND TISSUES CULTURES FOR OBTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

There have been considered problems of usage of cells and tissues cultures of medicinal plants for obtaining biologically active substances. The analysis of various factors influence on the biosynthetic activity of medicinal plants cells and tissues cultures and the ways of its increasing has been made.

Надійшла 12.02. 2001

ОГЛЯДИ

УДК 581.196

С.Й. Феник

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2

УЧАСТЬ СРх-АТРаЗ У ТРАНСПОРТІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНИ РОСЛИННИХ КЛІТИН

Р-АТРаза, СРх-АТРаза, рослини, важкі метали, мембранний транспорт

Дослідження шляхів і способів транспорту ВМ у рослинні організми є актуальним у зв'язку із зростаючим забрудненням довкілля важкими металами (ВМ). Однак особливості транспорту металів через мембрани рослинних клітин на молекулярному рівні залишаються недостатньо вивченими. Розуміння таких особливостей на генетичному рівні є важливим для розробки схем генетичної інженерії рослин з метою отримання гіперакумуляторів того чи іншого металу. Такі рослини можуть бути використані для фітореMediaції — застосування рослин для виведення ВМ із забруднених ґрунтів та вод [20].

У даний час не вирішено ряд питань щодо нагромадження рослинами ВМ. Не відомо, яким чином в організмі рослин регулюються фізіологічні норми ВМ та попереджується надмірне їх нагромадження до токсичних рівнів. Іони Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} є важливими для метаболізму рослин мікроелементами, однак вони ж в надмірних кількостях, як і іони Cd^{2+} , Hg^{2+} , Ag^{2+} , Pb^{2+} , можуть бути надзвичайно токсичними [13].

На клітинному рівні токсичність може реалізуватися через зв'язування іонами ВМ сульфгідрильних груп білків, що в свою чергу може призводити до зміни активності ферментів, порушення функцій білків, викликати дефіцит іонів інших металів [14, 27]. Можливі також порушення транспортних процесів у клітині, активізація шкідливих окислювальних процесів [14].

Очевидно, що ключову роль у гомеостазі ВМ відіграють транспортні білки. Толерантність до високих концентрацій ВМ рослин, які ростуть на забруднених ґрунтах, ймовірно досягається виключенням механізмів проникнення іонів цих ВМ через кореневу систему, а також включенням механізмів детоксифікації та компартменталізації або ж виведення іонів ВМ з клітин [28]. АТРази СРх-типу є ключовими “транспортерами” ВМ через мембрани рослинних клітин. Вважається, що ці АТРази одночасно беруть участь і у підтриманні гомеостазу основних мікроелементів, і у формуванні стійкості до надмірних кількостей металів [28].

АТРази Р-типу виявлені в усіх типах організмів. Такі АТРази беруть участь у транспорті через мембрани необхідних мікроелементів та токсичних ВМ (наприклад, Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}). Деякі автори відносять більшість АТРаз Р-типу до СРх-АТРаз, оскільки першим притаманні загальні особливості консервативних внутрішньомембранних залишків: цистеїн-пролін-цистеїн, цистеїн-пролін-гістидин і цистеїн-пролін-серин (СРх-залишки), які ймовірно виконують функцію трансдукції іонів ВМ [22]. У вищих рослин вперше СРх-АТРаза було виявлено у *Arabidopsis thaliana* [24]. При скануванні бази даних генів *Arabidopsis* виявлено

гени інших СРх-АТРази — AC002392, Z99707 [28]. У ході такого пошуку в сої також виявлено послідовності кДНК, що кодують “неповний” білок, який відповідає С-термінальному кінцю СРх-АТРази. Нуклеотидні послідовності цього білка є на 76% гомологічними до Z99707. Подібні гени виявлені і у *Mimulus guttatus* [28].

Встановлено, що сигнальний шлях етилену в рослин потребує функціонування СРх-АТРази RAN1 (responsive to antagonist 1) [9]. У дріжджів RAN1 відповідає за транспорт міді, яка є необхідною для функціонування рецептора етилену [9].

У *Saccharomyces cerevisiae* існує АТРаза DRS2, з великою кількістю гідрофобних залишків та містить іон-транспортний домен [2]. Цей ген бере участь у прямому транспорті ВМ та в підтриманні їх гомеостазу в дріжджів [21]. Мутанти із дефектним геном DRS2 є гіперчутливими до цинку і кобальту, тому не виключено, що цей ген бере участь у зменшенні токсичного впливу цих металів [21]. Принаймні дві подібні АТРази виявлено у геномі *Arabidopsis* [16], що може свідчити про їх аналогічну роль у рослин.

Структура СРх-АТРази має багато спільних характеристик із АТРазами Р-типу, однак їм характерні й унікальні особливості [22]. Спільні риси є типовими для більшості великих і малих цитоплазматичних доменів pomp (включно тих, що знаходяться безпосередньо в цитоплазмі). Більшість СРх-АТРази містять N-термінальний цитоплазматичний домен, який, можливо, зв'язує іони металів. Основні відмінності у структурі СРх-АТРази і АТРазами Р-типу, характерні для кількості і топології мембранно-зв'язаних доменів [28].

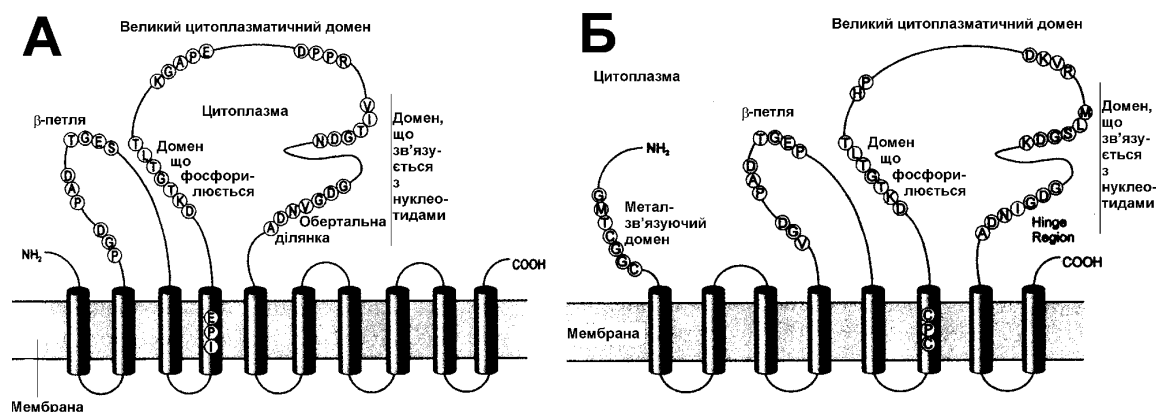


Рис. Порівняння двох АТРази Р-типу з *Arabidopsis*: А — Ca²⁺-АТРаза (AtECA1); Б — АТРаза СРх-типу (PAA1). Показані консервативні ділянки амінокислотних послідовностей [28].

Порівняння структур АТРази Р-типу та СРх-АТРази. Порівняно з АТРазами, які не зв'язують ВМ, СРх-АТРази мають відмінності у будові чотирьох трансмембранних доменів, розміщених перед першим цитоплазматичним доменом. Крім цього, після другого цитоплазматичного домену, у СРх-АТРази ймовірно є два трансмембранні домени, тоді як у інших АТРази Р-типу у цій ділянці здебільшого є чотири і більше трансмембранних доменів. СРх-залишки здебільшого розміщені у шостому трансмембранному домені [28]. Крім цього велика цитоплазматична петля у СРх-АТРази є меншою, ніж у інших АТРази Р-типу. У СРх-АТРази *Arabidopsis* між доменом, що фосфорилюється і ділянкою петлі, є на майже 150 амінокислотних залишків менше, ніж, наприклад, у Ca²⁺-АТРази (AtECA1) [24].

Як і для більшості АТРази, для СРх-АТРази характерна послідовність амінокислот DKTGTLT, що містить залишок аспартату, який фосфорилюється АТФ [1, 15]. СРх-АТРази також містять консервативну ділянку в ділянці петлі GDGxNDx. Ці найбільш консервативні ділянки АТРази Р-типу практично не змінювалися в ході еволюції [2]. Ділянка GDGxNDx бере участь у зв'язуванні АТФ і є ключовою для функціонування АТРази [15]. Два консервативні залишки аспартату цієї ділянки, ймовірно беруть участь у гідролізі ацилфосфатного посередника [1]. Обидва цих залишки виявлені у великому цитоплазматичному домені, що має вигляд петлі. Цей домен також містить іншу консервативну ділянку — TGD. Ця ділянка (особливо залишки гліцину і аспартату) ймовірно бере участь у фосфорилюванні [1].

Одночасно у СРх-АТРаз відсутні ділянки KGAPЕ і DPPR, характерні для інших АТРаз Р-типу. Однак залишок аспартату, що присутній у ділянці DPPR, наявний в усіх АТРаз Р-типу, включаючи і СРх-АТРази. Ділянка RxxK, консервативна для усіх АТРаз Р-типу, включаючи і СРх-АТРази [1,2]. Не виключено, що присутній у цій ділянці залишок лізину відіграє роль стабілізації заряду [1].

У СРх-АТРаз ділянки малої цитоплазматичної петлі (петля β -домену) PGD, PAD і TGES є менш консервативними, ніж у АТРаз Р-типу. Ділянки PGD, PAD ймовірно задіяні у перетворенні енергії [15], ділянка TGES і у *Arabidopsis* (RAN1), і у дріжджів бере участь у транспорті іонів Cu^{2+} [9].

Усі АТРази Р-типу містять консервативні послідовності проліну в трансмембранному домені, який передує великій цитоплазматичній петлі. Ця петля знаходиться на відстані 43 амінокислотних залишків від фосфорильованого аспартату в бік N- кінця [15]. У Ca^{2+} -АТРази (AtECA1) амінокислотні залишки, що оточують пролін, очевидно відповідають за іонспецифічність. У СРх-АТРаз на N- кінці присутній залишок цистеїну, а на С-кінці — цистеїну, серину або гістидину [22]. Не виключено, що у СРх-АТРаз ця ділянка виконує ключову роль у переміщенні іонів ВМ [15]. У великій цитоплазматичній петлі СРх-АТРаз є консервативний локус НР, якого немає в інших АТРази Р-типу, що не транспортують ВМ. Крім цього, на С-кінці біля фосфорильованого залишку аспартату виявлено ділянку із 30-50 амінокислотних залишків, яка, можливо, відіграє ключову структурну роль у функціонуванні СРх-АТРаз (як сайт взаємодії між білками) [18].

Отже, у різних видів рослин відсоток ідентичності між амінокислотними послідовностями є не дуже високим, однак усі вони містять консервативні для усіх АТРаз Р-типу ділянки а також НР локус.

Характеристика ділянок, що зв'язують іони металів. Окрім СРх-залишку унікальною особливістю усіх СРх-АТРаз є наявність декількох метал-зв'язуючих ділянок біля N-кінця перед першим трансмембранним доменом. У багатьох випадках вони містять один або декілька багатих цистеїном (СххС) ділянок [28]. У генах PAA1 і RAN1 з *Arabidopsis* є, відповідно, одна і дві ділянки GMTCxхС, які також виявлені у інших метал-зв'язуючих білках, що не є СРх-АТРазами [28].

СРх-АТРаза Z99707 з *Arabidopsis* практично не містить СххС ділянок, однак біля N-кінця містить ряд залишків гістидину, які, можливо, беруть участь у зв'язуванні металів [28]. Залишки гістидину здебільшого наявні у білках із “цинковим пальцем” у ділянках, що зв'язують цинк [4]. Ділянки, багаті на гістидин (особливо HxHxH), також виявлені у інших білках, що транспортують цинк, включаючи ZIP (Zrt- and Irt-related protein) білки [6] та CDF білки [17]. Це може свідчити про те, що цинк є можливим субстратом для цих АТРаз. Однак послідовності HxHxH також виявлені у білків, які зв'язують і інші метали. Тому вважається, що такі ділянки можуть бути задіяні у метал-залежній регуляції взаємодії між білками [6]. У гена AC002392 відсутня типова метал-зв'язуюча ділянка біля N-кінця. Замість цього біля С-кінця міститься декілька багатих на гістидин та цистеїн ділянок (декілька пар СС, що закінчуються довгою послідовністю залишків гістидину), які, ймовірно, зв'язують метали [28].

На прикладі гену АТР7В показано, що послідовність GMTCxхС відіграє ключову роль у зв'язуванні атома міді. Продемонстровано стехіометрію такого зв'язку [12]. Функціональна роль метал-зв'язуючих доменів в СРх-АТРаз не зовсім зрозуміла. Можливо такі домени захоплюють іони і переміщують їх до асоційованого з мембраною транслокаційного домену, або ж виконують зберігаючу чи регуляторну функції [7]. Cu^{2+} -АТРаза з *Arabidopsis* має один або два GMTCxхС домени. Це може свідчити про те, що саме вони виконують основну функцію — транспорт іонів міді через мембрану [28].

При дослідженні структури четвертого метал-зв'язуючого домена Cu^{2+} -АТРази людини (втрата функції транспорту Cu^{2+} цією АТРазою є причиною розвитку хвороби Менкеса) було встановлено, що дві ділянки GMTCxSC⁵⁰² взаємодіють з одним іоном металу [7]. Метал-зв'язуюча “кишеня” утворюється з двох цистеїнових залишків (з одного боку) та тирозину⁴⁹⁸ і серину⁵⁰¹ (з другого боку). У генах аналогічних АТРаз *Arabidopsis* (PAA1 і RAN1) залишки тирозину і серину в цих положеннях замінені на гліцин і аланін [28]. Залишки гліцину і аланіну

є короткими, однак їх здатність зв'язувати іони Cu^{2+} зберігається (можливо це впливає на спорідненість зв'язування) [28].

ГМТСххС ділянки присутні у мідь-, кадмій- і цинк-зв'язуючих доменах [7, 22]. Тому у формуванні метал-специфічності чи метал-спорідненості можливо задіяні залишки інших амінокислот. Залишок лейцину, розміщений на відстані 21 залишку від СххС ділянки, присутній в усіх шести метал-зв'язуючих доменах Cu^{2+} -АТРази Менкеса та в усіх мідь-транспортуючих АТРазах [7]. Цей залишок розміщений нижче метал-зв'язуючої петлі і можливо бере участь у формуванні субстратної специфічності метал-зв'язуючого домену. У мідь-, кадмій- і цинк-зв'язуючих доменах у цьому місці замість лейцину знаходиться залишок фенілаланіну або тирозину [7]. У АТРазах PAA1 і RAN1 з *Arabidopsis* в цьому положенні знаходиться залишок лейцину (він розміщений безпосередньо за метал-зв'язуючою ділянкою) [28]. Отриманий мутант *ran1-2 Arabidopsis*, у якого відбулася заміна лише однієї амінокислоти — гліцину¹⁷³ на глутамін, що призвело до втрати функцій транспорту міді Cu^{2+} -АТРазою [9]. Висувається припущення, що в результаті цієї мутації була порушена цілісність другого метал-зв'язуючого домену [9].

Аналіз амінокислотних послідовностей чотирьох СРх-АТРаз *Arabidopsis* (PAA1, RAN1, Z99707 і AC002392) показав, що їх не можна віднести до однієї групи, тому не виключено, що вони виконують різні транспортні функції. PAA1 і RAN1 є більш подібними на АТРази, що транспортують мідь (показано, що RAN1 є Cu^{2+} -АТРазою [9]). Z99707 і AC002392 мають більший відсоток гомології із Cd^{2+} -АТРазами, однак їх функції транспортування кадмію ще не доведені [28].

Функції. Очевидно, СРх-АТРази не лише виконують функції транспорту деяких металів у клітину, але й забезпечують їх гомеостаз (тобто попереджують нагромадження цих металів до токсичних рівнів). Показано, що в стійких до цинку *Synechocystis* та *E. coli* СРх-АТРаза РСС 6803 транспортує цинк з цитоплазми назовні клітини [3, 25]. Можливо фізіологічною роллю СРх-АТРаз вищих рослин є саме транспорт ВМ (особливо це стосується субстрат-специфічності таких АТРаз). Рослинні СРх-АТРази, що транспортують один і той же метал, в цілому характеризуються низькою гомологією (30-40%), хоча і містять ряд консервативних ділянок. Показано, що в *Arabidopsis* експресується АТРаза АМА1 [16], яка транспортує молібден. Найвищі концентрації цієї АТРази виявлені у коренях і квітках. Автори припускають, що АМА1 виконує роль транспорту молібдену в ксилемну паренхіму коренів.

Оскільки більшість СРх-АТРази *Arabidopsis* за амінокислотними послідовностями не є подібними одна на одну, не виключено, що вони транспортують різні субстрати. Такі АТРази можуть знаходитися у плазматичній мембрані і функціонувати як помпи, що викачують метали з клітини і знижують токсичний вплив ВМ. Вони також можуть знаходитися і у внутрішньоклітинних мембранах і відповідати за компартменталізацію ВМ, наприклад, їх секвестрацію у вакуолях, апараті Гольджі чи ендоплазматичному ретикулумі [28].

Висувається припущення, що у вищих рослин існують шляхи транспорту міді, подібні до таких у дріжджів [10]. Відомо, що іони міді транспортуються через плазматичну мембрану дріжджів білками СТР1 та СТР2, і далі зв'язуються із специфічними мідь-“провідниками”. Одним із таких білків є АТХ1, що містить один СххС домен біля N-кінця [11]. Взаємодіючи з АТХ1, а згодом з везикулярною СРх-АТРазою ССС2, іони міді транспортуються до секреторної системи і включаються в склад багатой на мідь оксидази FET3. FET3 є інтегральним мембранним білком, що опосередковує процес окислення заліза [5]. Після зв'язування із FET3 іон заліза взаємодіє з пермеазою FTR1 і транспортуються через плазматичну мембрану [5, 23, 26]. В *Arabidopsis* виявлено декілька білків, які, можливо, є аналогами білків-транспортерів міді у дріжджів. Наприклад виявлено білок ССН, який є гомологом АТХ1 і, ймовірно, відповідає за високоспоріднений транспорт іонів заліза [8]. Також виявлено білок СОРТ1, який за послідовністю амінокислот є дуже подібним до СТР1 дріжджів і, очевидно, також є транспортером міді. Не виключено, що у вищих рослин існує й СРх-АТРаза, яка виконує функції, аналогічні ССС2 [10]. Такою АТРазою може бути RAN1 з *Arabidopsis*, яка бере участь у транспорті іонів Cu^{2+} , необхідних для функціонування рецептора етилену [9].

Регуляція. Внутрішньоклітинні концентрації іонів ВМ дуже точно контролюються, однак невідомо, яким чином здійснюється регуляція надходження таких іонів в клітину. У даний час немає доказів того, що білки-транспортери беруть участь у здійсненні такої регуляції у клітинах вищих рослин. У більшості організмів регуляція функціонування білків, що транспортують ВМ, здійснюється на посттрансляційному рівні зовнішньоклітинними концентраціями ВМ через фактори транскрипції [19].

Отже СРх-АТРази, потенційно можуть бути ключовими елементами транспорту ВМ в рослинній клітині, брати участь у підтримці гомеостазу ВМ та у формуванні стійкості рослин до ВМ.

ЛІТЕРАТУРА

- 1 Aravind L., Galperin M.Y., Koonin E.V. The catalytic domain of the P-type ATPase has the haloacid dehalogenase fold // *Trends Biochem. Sci.* — 1998. — Vol. 23, N 1. — P. 127-129.
- 2 Axelsen K.B., Palmgren M.G. Evolution of substrate specificities in the P-type ATPase superfamily // *J. Mol. Evol.* — 1998. — Vol. 46, N 1. — P. 84-101.
- 3 Beard S.J., Hashim R., Membrillo-Hernandez J., et al. Zinc(II) tolerance in *Escherichia coli* K-12: evidence that the *zntA* gene (*o732*) encodes a cation transport ATPase // *Mol. Microbiol.* — 1997. — Vol. 25, N 1. — P. 883-891.
- 4 Berg J.M., Godwin H.A. Lessons from zinc-binding peptides // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* — 1997. — Vol. 26, N — P. 357-371.
- 5 de Silva D.M., Askwith C.C., Kaplan J. Molecular mechanisms of iron uptake in eukaryotes // *Physiological Reviews.* — 1996. — Vol. 76, N 1. — P. 31-47.
- 6 Eng B.H., Guerinot M.L., Eide D., et al. Sequence analyses and phylogenetic characterization of the ZIP family of metal ion transport proteins // *Journal of Membrane Biology.* — 1998. — Vol. 166, N 1. — P. 1-7.
- 7 Gitschier J., Moffat B., Reilly D., et al. Solution structure of the fourth metal-binding domain from the Menkes copper-transporting ATPase // *Nat. Struct. Biol.* — 1998. — Vol. 5, N 1. — P. 47-54.
- 8 Himealblau E., Mira H., Lin S. — J., et al. Comparative biochemistry of iron assimilation. Iron transport in microbes, plants and animals // *Plant Physiol.* — 1998. — Vol. 117. — P. 1227-1234.
- 9 Hirayama T., Kieber J.J., Hirayama N., et al. Responsive-to-antagonist1, a Menkes/Wilson disease-related copper transporter, is required for ethylene signaling in *Arabidopsis* // *Cell.* — 1999. — Vol. 97, N 3. — P. 383-393.
- 10 Kampfenkel K., Kushnir S., Babiychuk E., et al. Developmental and Environmental Regulation of the *Nicotiana glauca* Cytosolic Cu/Zn-Superoxide Dismutase Promoter in Transgenic Tobacco // *J. Biol. Chem.* — 1993. — Vol. 270. — P. 28479-28486.
- 11 Lin S. — J., Pufahl R.A., Dancis A., et al. A role for the *Saccharomyces cerevisiae* ATX1 gene in copper trafficking and iron transport // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272, N 14. — P. 9215-9220.
- 12 Lutsenko S., Petrukhin K., Cooper M.J., et al. N-terminal domains of human copper-transporting adenosine triphosphatases (the Wilson's and Menkes disease proteins) bind copper selectively in vivo and in vitro with stoichiometry of one copper per metal-binding repeat // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272, N 30. — P. 18939-18944.
- 13 Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. — London.: Academic Press. 325 p.
- 14 Meharg A.A. Integrated tolerance mechanisms: Constitutive and adaptive plant responses to elevated metal concentrations in the environment // *Plant Cell Environ.* — 1994. — Vol. 17. — P. 989-993.
- 15 Moller J.V., Juul B., le Maire M. Structural organization, ion transport, and energy transduction of P-type ATPases // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1996. — Vol. 1286, N 1. — P. 1-51.
- 16 Palmgren M.G., Axelsen K.B. Evolution of P-type ATPases // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1998. — Vol. 1365, N 1-2. — P. 37-45.
- 17 Paulsen I.T., Saier M.H. A novel family of ubiquitous heavy metal ion transport proteins // *J. Membr. Biol.* — 1997. — Vol. 156, N 2. — P. 99-103.
- 18 Payne A.S., Gitlin J.D. Functional expression of the menkes disease protein reveals common biochemical mechanisms among the copper-transporting P-type ATPases // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273, N 6. — P. 3765-3770.
- 19 Radisky D., Kaplan J. Regulation of transition metal transport across the yeast plasma membrane // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274, N 8. — P. 4481-4484.
- 20 Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. Phytoremediation // *Annual Review Of Plant Physiology And Plant Molecular Biology.* — 1998. — Vol. 49. — P. 643-668.

- 21 Siegmund A., Grant A., Angeletti C., et al. Loss of Drs2p does not abolish transfer of fluorescence-labeled phospholipids across the plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273, N 51. — P. 34399-34405.
- 22 Solioz M., Vulpe C. CPx-type ATPases: a class of P-type ATPases that pump heavy metals // *Trends Biochem. Sci.* — 1996. — Vol. 21, N 7. — P. 237-241.
- 23 Stearmann R., Yuan D.S., Yamaguchi-Iwai Y., et al. A permease-oxidase complex involved in high-affinity iron uptake in yeast // *Science.* — 1996. — Vol. 271, N 5255. — P. 1552-1557.
- 24 Tabata K., Kashiwagi S., Mori H., et al. Cloning of a cDNA encoding a putative metal-transporting P-type ATPase from *Arabidopsis thaliana* // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1997. — Vol. 1326, N 1. — P. 1-6.
- 25 Thelwell C., Robinson N.J., Turner-Cavet J.S. An SmtB-like repressor from *Synechocystis* PCC 6803 regulates a zinc exporter // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1998. — Vol. 95, N 18. — P. 10728-10733.
- 26 Tsai K.J., Yoon K.P., Lynn A.R. ATP-dependent cadmium transport by the cadA cadmium resistance determinant in everted membrane vesicles of *Bacillus subtilis* // *J. Bacteriol.* — 1992. — Vol. 174, N — P. 116-121.
- 27 Vangronsveld J., Vanassche F., Clijsters H. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: in situ metal immobilization and revegetation // *Environmental Pollution.* — 1995. — Vol. 87, N 1. — P. 51-59.
- 28 Williams L.E., Pittman J.K., Hall J.L. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants // *Biochimica et Biophysica Acta.* — 2000. — Vol. 1465, N 1-2. — P. 104-126.

Надійшла 09.02.2001

УДК 611-018. 7: 611. 45

О.С. Волошин¹, Ю.С. Смршок², С.І. Галантюк¹

¹Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

²Тернопільська державна медична академія ім. І. Я. Горбачевського
46001 Тернопіль, Майдан Волі, 1

АНТИОКСИДАНТИ І ПРОБЛЕМА СТИМУЛЯЦІЇ РЕГЕНЕРАТОРНИХ ПРОЦЕСІВ

антиоксиданти, мембрана, ліпіди, перекисне окислення, іонний гомеостаз, вільні радикали, деструкція, регенерація

У сучасній морфології активно досліджується проблема порушення структурно-метаболических систем на субклітинному та молекулярному рівнях. У цих дослідженнях виключно важлива роль належить вивченню системи біологічних мембран. До останніх відносяться плазматичні та ядерні мембрани, структурні компоненти мітохондрій, ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, лізосом, велика кількість мікроміхурців та везикул цитоплазми [11, 24]. Плазмолемі та мембрани органел виконують бар'єрну та обмежуючу функції, відокремлюючи вміст клітин та органел від навколишнього середовища і захищаючи клітини від проникнення негативних чинників. Характерною особливістю мембран є вибіркова проникність і підтримання іонного гомеостазу клітин і тканин [25]. Ця особливість мембран забезпечується великою кількістю ферментів, які впорядковано вмонтовані на їх поверхні, завдяки чому з біомембранами пов'язані такі важливі процеси як вискоєфективний каталіз метаболических реакцій, біоенергетика, синтез білків, ліпопротеїдів, активація гідролітичних процесів та ін. [11, 14, 21].

Тонку будову біологічних мембран остаточно ще не встановлено, про що свідчить існування численних моделей, найприйнятнішою серед яких є рідинно-мозаїчна, запропонована S. Singer і G. Nicolson (1972) [27]. Відповідно до неї, біомембрани становлять собою орієнтований двомірний в'язкий розчин амфіпатичних білків та ліпопротеїдів і ліпідів, що знаходяться у термодинамічній рівновазі. Основу мембрани становить ліпідний бішар. Структурні білки мембран поділяються на периферійні, внутрішні та інтегральні. Ділянки білків та ліпідів, що чергуються, створюють мозаїчну картину клітинних мембран. Біологічні

мембрани різних субклітинних структур помітно відрізняються між собою за формою, будовою та функціями.

Деструктивні зміни, порушення проникності розгалуженої системи біомембран спричинюють розвиток патологічного стану клітин [16, 26, 28]. В даний час остаточно встановлено, що пошкодження плазматичних та органоїдних мембран є важливою патогенетичною ланкою цілого ряду захворювань: променева хвороба, ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарду, токсикози, бронхіальна астма, пухлини та ін. [6].

Особливе місце серед причин, що викликають значне порушення структурної організації клітинних та органоїдних мембран, належить активації процесів перекисного окиснення ліпідів [1, 5, 8, 9, 10, 23]. Більшість окисних процесів у клітинах протікає за допомогою ферментів. Однак, хоча кисень є лише кінцевим акцептором електронів і не взаємодіє безпосередньо із субстратом окиснення, тим не менш у складі нормальних проміжних речовин утворюються гідропероксида, при розкладанні яких виникають вільні радикали, здатні ініціювати механізми ланцюгових процесів перекисного окиснення [13]. Більше того, у ряді випадків ферментативне окиснення включає як необхідну ланку при каталізі безпосереднє утворення вільних радикалів. Пероксидам та вільним радикалам належить певна роль у процесах окисного фосфорилування, мікросомального гідроксилування [5]. Однак пероксида та вільні радикали можуть служити ініціаторами аномальних окисних реакцій в організмі. Вільні радикали є природними (нормальними) учасниками біохімічних процесів. Оскільки в певних патологічних умовах виникає реальна загроза зростання їх кількості, то в усіх тканинах організму існують спеціальні системи регуляції вільнорадикальних процесів. Останнім характерні ферментативні і неферментативні механізми захисту. У нормально функціонуючому організмі існує динамічна рівновага між присутністю вільних радикалів та компонентами антиоксидантної системи, внаслідок чого мембранні та інші субклітинні компоненти тканин порівняно захищені від загрози аутоокислення. Однак, при стресових реакціях цей стан помітно змінюється. При важкому стресі у кровоносне русло викидається велика кількість катехоламінів, які різко активують перекисне окиснення ліпідів. Результатом цього є утворення надлишку гідропероксидів ліпідів та вільних радикалів, які активно взаємодіють із основним субстратом аутоокислення (поліненасиченими ліпідами бішару), і, як наслідок — глибока деструкція плазматичних та органоїдних мембран [4, 17, 22]. Дестабілізуючи та порушуючи ультраструктуру мітохондрій, токсичні продукти пероксидації порушують окисне фосфорилування і тим самим пригнічують енергетичні процеси. Як наслідок порушується структурна основа апарату білкового синтезу і транспортної системи, дезорганізуються лізосомальні ферменти, що супроводжується виходом гідролітичних ферментів та аутолізом цитоплазми клітин [6].

Отже, індукована високим вмістом у крові катехоламінів, активація перекисного окиснення ліпідів є важливим фактором порушення структури та функції клітинних мембран. Крім того, пероксида та вільні радикали взаємодіють не тільки з мембранними компонентами клітин, вони здатні також викликати денатурацію білків, пригнічувати активність ферментів.

Розуміння значення деструкції клітинних мембран у розвитку патологічних процесів і ролі у ньому процесів перекисного окиснення ліпідів є підставою для використання мембранотропних препаратів, які пригнічують пероксидацію і захищають плазматичні та внутрішньоклітинні мембрани від пошкоджуючих факторів. Серед них особливої уваги заслуговують антиоксиданти [5]. Хоча захист від перекисного окислення ліпідів у клітинах забезпечується не лише біоантиоксидантами, а й ферментативним механізмом інактивації вільних радикалів, антиоксиданти становлять виключно важливу систему захисту біомембран, попереджуючи перекисне окиснення фосfolіпідів [1, 3]. Однак, незалежно від причини, яка викликає активацію вільнорадикального окиснення ліпідів, у процесі останнього значно знижується кількість біоантиоксидантів у тканинах, що є свідченням виснаження ендогенної системи захисту і необхідності додаткового введення препаратів антиоксидантної дії [3]. В даний час існує значна кількість експериментального та клінічного матеріалу, який свідчить про важливу роль у стабілізації клітинних мембран, попередженні денатурації білків та

пригніченні активності ферментів таких препаратів мембранотропної дії як альфа-токоферол, селен, аскорбінова кислота, вітамін Р та ін. [3,5].

За тривалої функціональної напруги, а також при дії токсичних речовин, порушенні трофіки у тканинах переважають катаболічні процеси. Морфологічно це виражається у дестабілізації та деструкції внутрішньоклітинних мембран. При цьому одержані переконливі дані про важливу роль репаративної регенерації у підтриманні і відновленні структурної основи клітин в умовах патології. Вивчення проблеми регенерації характеризується різноманітністю її напрямів та аспектів [2]. Особливої уваги у вивченні регенерації заслуговують дослідження акад. Д. С. Саркісова, який обґрунтував і розвинув концепцію внутрішньоклітинної регенерації як своєрідної, самостійної та універсальної форми цієї реакції [18]. Згідно його даних внутрішньоклітинна регенерація у ссавців включає у себе три рівні: молекулярний, внутрішньоорганічний і органічний. Дослідження відновних і гіперпластичних процесів з таких позицій дозволяє вірно розуміти закономірності регенераторної реакції і на більш високому рівні, аж до органного [12, 13].

Висновки

Враховуючи викладене вище, можна вважати актуальним пошук препаратів, що одночасно діють як мембранопротектори та як стимулятори регенераторних процесів в умовах патології. У цьому контексті в останні роки об'єктом широкого вивчення стали кремнійорганічні сполуки. Кремній, як один із біоелементів, відіграє значну роль у протіканні нормальних і патологічних процесів в організмі людини. Сполуки кремнію відзначаються широким спектром біологічної дії, що і є обґрунтуванням необхідності вивчення механізмів дії кремнійорганічних препаратів на організм із кінцевою практичною метою — захистити клітини, тканини та органи від тяжких пошкоджень при різних патологічних станах [7, 19, 20].

ЛІТЕРАТУРА

1. Агаджанов М. И. Роль липидной перекисидации в патогенезе ожоговой болезни и влияние антиоксидантов на ее течение. — М.: Медицина, 1980. — С. 70-71.
2. Алимов В. А., Акбаров У. У., Игамбердиева З. З. Компенсаторно-приспособительные процессы внутренних органов в клинике и эксперименте. — Ташкент, 1989. — С. 5-8.
3. Архипенко Ю. В., Коган В., Козлов Ю. П. Эндогенные перекиси липидов — модификаторы проницаемости биологических мембран // Патология мембранной проницаемости. — М., 1975. — С. 13-16.
4. Барабой В. А. Роль перекисного окисления липидов в механике стресса // Физиол. журн. — 1989. - Т. 35, № 5. — С. 85-97.
5. Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Т. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии — 1985. — Т. 54, № 9. — С. 1540-1558.
6. Владимиров Ю. А., Коган Э. М. Механизм нарушения биоэнергетических функций мембран митохондрий при тканевой гипоксии // Кардиология.- 1981. — Т. 21, № 1. — С. 82-85.
7. Воронков М. Г., Кузнецов И. Г. Кремний в живой природе. — Новосибирск: Наука. — 1984. — С. 61-85.
8. Джафаров А. И. Кинетика перекисного окисления липидов в клеточных органеллах, перенесших аноксию в различных условиях// Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1981. — № 10. — С. 425-427.
9. Дорошкевич Н. А., Анцулевич Н. А., Виноградов В. В. Динамика процессов перекисного окисления липидов и стероидогенеза в коре надпочечников при истощающем стрессе // Укр. біохім. журн. — 1990. — Т. 62, № 4. — С. 97-100.
10. Дорошкевич Н. А., Анцулевич Н. А., Наумов А. В. и др. Перекисное окисление липидов в коре надпочечников при истощающем стрессе //Бюлл. экспер. биол. и мед. — М.: Медицина, 1990. — № 5. — С. 430-432.
11. Зенгбуш П. Мембраны / Молекулярная и клеточная биология. — М.: Мир, 1982. — Т. 2. — С. 6-30.
12. Зуфаров К. А. Клеточные механизмы компенсаторно-приспособительных процессов // Тезисы Всесоюзн. съезда анатомов, гистологов и эмбриологов. — Минск, 1981.
13. Зуфаров К. А., Абдуллаев Н. Х. Структурно-функциональные аспекты процессов адаптации и повреждения // Тез. докл. 1 Всесоюзного съезда патофизиологов. — Ташкент, 1976. — С. 4.

14. Кафиани К. А., Маленков Г. А. Роль ионного гомеостаза клетки в явлениях роста и развития // Успехи совр. биол. — 1976. — Т. 81, № 3. — С. 445-463.
15. Козлов Ю. П. Свободные радикалы и их роль в нормальных и патологических процессах. — М., 1973. — 174 с.
16. Лукьянов С. М. Основание общей патологии клетки. — Варшава, 1980. — 392 с.
17. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика. — М.: Наука, 1981. — С. 169-191.
18. Саркисов Д. С. Структурные основы гомеостаза // Гомеостаз. — М.: Медицина, 1981. — С. 256-311.
19. Тизенберг Г. М., Кузнецов И. Г., Левина М. Н. Сравнительная токсикологическая характеристика некоторых кремнийорганических соединений. — Иркутск, 1980. — С. 14.
20. Устинова Н. Г., Скопякова А. Б., Дяков В. М. Влияние мивала и крезацина на некоторые показатели жизнедеятельности мышей. — Новосибирск, 1984. — С. 131-132.
21. Халмурадов А. Г., Тоцкий В. Н., Чаговец Р. В. Структурная организация биомембран // Транспорт жирорастворимых витаминов. — К.: Наукова думка, 1980. — С. 9-17.
22. Челнакова И. С., Тронько Б. М., Микоша А. А. Вызываемые хлоридом изменения перекисного окисления липидов в надпочечниках собак и морских свинок // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 1989. — Вып. 2. — С. 171-174.
23. Юшина Л. В. Фосфолипидный спектр органов и перекисное окисление липидов при обезвоживании // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Алма-Ата, 1989. — 25 с.
24. Хэм А., Кормак Д. Цитоплазма и ее органеллы // Гистология. — М.: Мир, 1982. - Т. 1. — С. 161 -236.
25. Jodin G., Landry S. Transport actif du calcium dans les thymocytes // C. r. Soc. biol. — 1975. — Vol. 169, N 5. — P. 1315-1319.
26. Suman Ph. Ultrastructure of membrane lesions in immune lysis and druginduced lysis // Fed. Proc. — 1971. — Vol. 33. — P. 2116-2134.
27. Singer S. J., Nicolson G. L. The fluid mosaic model of cell membranes // Sciens. — 1972. — Vol. 175. — P. 720-724.
28. Trump B. E., Arstilla A. U. Cell injury and cell death // Principles of Pathology / Ed. M. F. Lovia, R. B Hill. — New York: Oxford Univer. Press, 1971. — P. 9-95.

Надійшла 23.03.2001

УДК: 616. 71-007. 234-053. 2

Н.В. Банадига¹, І.О. Рогальський¹, О.С. Волошин²

¹Тернопільська державна медична академія ім. Івана Горбачевського
46001, Тернопіль, Майдан Волі, 1

²Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ПРОБЛЕМА ОСТЕОПОРОЗУ В ПЕДІАТРІЇ

остеопороз, діти, періоди розвитку, методи діагностики і лікування

Остеопороз (ОП), як медична проблема тривало вивчається зарубіжними фахівцями, а також став предметом дослідження останніх 10-15 років провідними вітчизняними науковцями. Остеопороз, як правило, розглядається як патологія дорослих. Зважаючи на особливості дитячого організму, в тому числі кісток, що охоплюють ріст, диференціацію, перемодування кісткової тканини, вважаємо, що корені ОП сягають дитячого віку. Це спонукало нас до аналізу сучасного бачення вказаного явища.

У даний час, не зважаючи на численні наукові пошуки в цій галузі медицини, не має єдиного визначення ОП. Одне з них (від грець. *poros*-отвір, дірка) тлумачить ОП як загальнонабуте зменшення кісткової маси на одиницю об'єму кістки по відношенню до нормальних показників даної вікової групи [17]. Тобто, даний об'єм кістки містить менше кісткової тканини і більше кістковомозкового простору.

Зацепин С. Т. [2] стверджує, що ОП є хворобою, при якій виникає втрата кісткової тканини, що перевищує її вікову атрофію. Вважають, що зменшення кісткової маси на 30 — 40 % нижче вікової норми вже є ОП. Однією з форм ОП є ювенільний ідіопатичний ОП (ЮОП).

Однак ЮОП є рідкісною формою. Існує певне протиріччя між тим, чи дійсно ЮОП таке рідкісне захворювання і тим, що недосконалою є діагностика його латентних форм? Можливості сучасної діагностичної апаратури дозволяють виявити порушення мінеральної щільності кістки у дітей чи у дорослих вже при незначних змінах остеогенезу [1, 9]. В основі патологічного процесу може лежати генетична передумова. Однак для прояву ЮОП необхідні додаткові обтяжуючі фактори: гіпокінезія; неадекватність харчування; травма; функціональна невідповідність; фізичне перевантаження; вітамінна недостатність; гормональні розлади; наявність супутньої патології; вживання різних медикаментозних середників, які викликають певний рівень ОП [29].

У медичній літературі описані поодинокі випадки ЮОП у дітей, в яких була не обтяжена спадковість. Це збільшує зацікавленість дослідників щодо генезу виникнення ЮОП [29]. Аналіз результатів вивчення проблеми ОП у дітей і молодих осіб наводить на думку, що він у більшості випадків є вторинним, а не ідіопатичним. Вторинний ОП виникає внаслідок таких гормональних порушень: первинний гіперпаратиреоз, гіпертіреоз, гіперадреналокортицизм, гіперпітуїтаризм і гіпогонадізм [5].

Вплив обтяжуючих факторів припадає на молодий вік, коли щільність кісткової тканини сягає максимуму. У зв'язку з цим попередження даного захворювання слід розпочинати в періоді раннього дитинства і у пубертаті. ОП потрібно розглядати перед усім, як педіатричну проблему [3]. Контролюючи процеси формування кісткової тканини у перші два десятиліття життя, можна значною мірою запобігти розвитку ОП, оскільки маса кістки в зрілому віці залежить від її інволюційної втрати, яка відбувається незалежно від людини, але швидкість втрати напряму залежить від рівня сформованості кісткової тканини у дитинстві [10, 19].

Епідеміологічні дослідження інституту геронтології АМН України свідчать про те, що частота остеопенії та остеопорозу з віком суттєво збільшується. Для України актуальною є проблема медико-біологічних наслідків Чорнобильської катастрофи. Основні дозоутворюючі радіонукліди на забруднених територіях Sr^{99} та Cs^{137} . 99 % стронцію депонується у кістковій тканині, цезій — здебільшого у м'язовій тканині (80 %). Такий розподіл ізотопів сприяє формуванню структурно — функціональних порушень в кістково — суглобовому апараті, в першу чергу у кістковій тканині [12]. За останні 5 років значно зросла патологія кісткової системи у населення, яке проживає на контрольованих територіях. Це наводить на думку, що в майбутньому спостерігатиметься збільшення в Україні кількості хворих на ОП та його ускладнення [6]. На клітинному рівні зміна маси кістки є результатом переделювання кісткових елементів. Остеокласти, під дією яких відбувається резорбція кісткової тканини, переважають функціонально остеобласти — клітини, які формують кісткову тканину. Цей процес регулюється складною взаємодією між генетичними факторами і чинниками зовнішнього середовища, через комплекс місцевих і системних гормонів, які модулюють активність цих двох типів клітин.

У педіатричній практиці питанням ОП не надається належної уваги, наукові розробки цієї проблеми поодинокі. Однак колектив авторів [23] встановив, що у 52 % випадків причиною переломів шийки стегнової кістки у дітей був ОП. На доцільності вивчення проблеми ОП серед дітей акцентується увага і іншими дослідниками [22].

Патогенез ОП на думку окремих вчених полягає у зміні структури і функції самої кістки, де постійно відбуваються процеси утворення і резорбції кісткової тканини, її моделювання і ремоделювання. Основні патогенетичні ланки ще не повністю вивчені [14]. Тому серед теорій виникнення цього захворювання [17] виділяють наступні: теорія дефіциту кальцію; порушення гомеостазу кальцію; значення закладеної у підлітковому віці кісткової маси; генетична передумова; зменшення фізичного навантаження на кістки; білково-матрична теорія; антиостеопоротичний фактор; гемодинамічно-біостатична теорія; теорія ацидозу.

Вчення про дефіцит кальцію (Ca) запропонували одночасно ряд вчених Bogdanoff et al. (1953), Whedon (1959), а далі вдосконалив Nordin (1960). Недостатнє надходження Ca може бути зумовлене неповноцінним вмістом його у харчовому раціоні, порушеним всмоктуванням у кишечнику або збільшеного виділення його із сечею [4, 17].

Gompel A., True J. B. [28] висловлюють думку, що дефіцит Са, як провідний чинник етіопатогенезу, залишається дискусійним питанням, тому що заснована на цій теорії терапія (призначення великих доз Са) виявилась недостатньо ефективною. При цьому повного вилікування людей з ОП не було досягнуто. Однак визначається гальмівний вплив Са на остеопоротичний процес, що покладено в основу профілактики ОП [3].

Кількість кісткової маси, яка наростає в пубертатному періоді (він є першим критичним періодом формування скелету [28]) прямо визначає ризик розвитку інволюційного і постменопаузального ОП. Більша половина потрібного для мінералізації кістки Са звичайно засвоюється в перші 10 років [24] і до 24 річного віку кісткова тканина вважається повністю сформованою. Після цього починається поступове переважання процесу руйнування кістки, тому у кожної людини з плином років кісткова маса зменшується. Існує гіпотеза про те, що адекватне надходження Са з молоком і молочними продуктами в дитинстві і пубертатному віці є вирішальним фактором для досягнення максимальної щільності кісткової тканини і попередження ОП. Однак навіть надмірне надходження Са у дорослому віці не може зменшити прискорений розвиток ОП, який зумовлений із недостатнім надходженням його у дитинстві.

Calvo M. S. [26] виявив зміни, які відбуваються при підвищеному надходженні з їжею фосфору, а зменшенні Са. Таке співвідношення поступаючих мікроелементів спричиняє виникнення помірного вторинного гіперпаратіреозу. Встановлено, що “дієтичний” фосфор у фізіологічній кількості може точно регулювати продукування нирками 1,25-дигідроксиколекальціферолу і його сироваткову концентрацію. Отже, довготривале надходження з їжею підвищеної кількості фосфору може послаблювати звичайні гомеостатичні механізми, які зумовлені зменшеною кількістю кальцію. Надмірне надходження фосфору приводить до стійких змін кальційрегулюючих гормонів, що у свою чергу не сприяє нормальній мінералізації кісткової тканини, а її втраті.

Gompel A. et al. [28] вважає, що 80 % сформованої кісткової маси має генетичну передумову, а 20 % залежить від навколишнього середовища, дієти, гормонального фону в організмі. Lonzer M. et al. [30], обстеживши 16 сімей, встановив, що діти, які мають батьків із зниженою щільністю поперекових хребців, мають високий ризик захворювання ОП. Abendroth K., Abendroth B. [18] зазначили, що розвитку ОП у дорослих сприяє недостатня активність остеобластів, які продукують кісткову тканину, а функціональна здатність їх є генетично обумовлена. За допомогою денситометрії ми аналізуємо тільки щільність кістки, але не маємо інформації про структурну організацію кісткової тканини.

Спостерігається різна поширеність ОП серед темношкірих і білих осіб. Детально вивчалась дієта, яка по суті була однаковою у обстежуваних групах людей, а різниця вмісту Са у скелетах темношкірих була більшою. Така різниця обумовлена генетичними факторами даних етнічних груп [21].

При проведенні експериментів *in vitro* [32] встановлено, що клітини кісткової тканини є високочутливими до фізичного навантаження. Під час навантаження остеобласти почали сильніше продукувати простагландин E₂, що має значення у побудові кісткової тканини. Marchigiano G. [31] довів, що в спокої ніколи немає природного метаболізму кісткової тканини, її перемодельовання відбувається вздовж ліній механічного напруження [14, 31].

Urist M. [17] вказував на існування у людей без ОП антиостеопоротичного фактору (АОФ), який має індивідуальні генетичні особливості, що гальмують підвищену продукцію глюкокортикоїдів. У 1970 році Urist M. і співавтори переглянули ставлення до антиостеопоротичного процесу, як функції індукування кістки, а виділили вплив протеїн-полісахариди на структуру кістки з ймовірним виродженням і руйнуванням.

Krokowski E. [17] стверджував, що первинний ОП не пов'язаний з порушеннями кальцієвого або кісткового обміну речовин. Він повинен розглядатися, як зміна хребетного стовпа, а також інших кісток, кісткового мозку, міжхребцевих дисків, м'язів і місцевого кровообігу. Ці зрушення пов'язані з віковою втратою м'язової сили, що обумовлено цивілізацією (зменшення навантаження — слабнуть м'язи спини). Це є причиною зміни осанки і переміщення частини маси тіла з м'язів на тіла хребців, які піддаються великому

навантаженню, що приводить до зменшення кровопостачання і тим самим руйнування кісткових балок.

Перше описання ЮОП належить Schippers J. (1983). Він описав у семирічній дівчинки “спонтанний” загальний ОП. Пізніше Lindenmann K. (1951), Hammel H. (1951) сповістили про ОП хребта невиясненої етіології у дітей (хвороба “риб’ячих хребців”), а Catel O. (1954) — написав про пубертатну хворобу “риб’ячих” хребців. Було описано 114 випадків ЮОП. Середній вік обстежених становив 11,5 — 12 років [17].

Захворювання починається непомітно для пацієнтів. Симптоми болю в спині, у суглобах верхніх і нижніх кінцівок, порушення осанки, невпевнена хода, переломи після легких травм, ранкова скутість, зменшення росту, загальна слабкість, підвищена втома [8, 20]. При об’єктивному дослідженні виявляють грудний кіфоз, згладжений поперековий лордоз, короткий тулуб, біль у хребті при постукуванні і надавленні.

Vallaverde Vol. і співавтори [34] описали явище важкості ходіння. Цей діагноз у педіатрії дає підозру на неврологічну патологію. Діагностика обстежуваного спрямовується на виключення нервово-м’язової етіології захворювання або органічного ураження ЦНС чи спинного мозку. Однак дослідники пояснили даний синдром ідіопатичним ЮОП. На рентгенограмі виявлено різко виражений поширений ОП хребців з їх клиноподібною деформацією по типу “риб’ячих” у поперековому відділі хребта, а також демінералізація периферичних відділів скелету.

Для кількісної оцінки мінеральної щільності кісткової тканини використовуються радіонуклідні методи: одно — і двофотонна абсорбціометрія. Методи засновані на поглинанні кістковою тканиною енергії фотонів радіонуклідів, спрямованих вузьким пучком через каліметр і реєстрації “пиків накопичення” сцинтиляційним детектором [8, 16].

При гістоморфометричному дослідженні вивчають кісткову тканину із гребеня клубової кістки для оцінки структури. Uchiyama T., Tanizawa T. і інші [33] у експерименті завдяки томографії і гістоморфометрії виявили тісний кореляційний зв’язок між цими методами обстеження і запропонували широке використання томографічного обстеження для оцінки мікроархітекtonіки трабекулярних кісток.

Сучасні дослідження ґрунтуються на даних денситометрії. Денситометри забезпечують швидкісне із високою точністю вимірювання параметрів кістки [13]. Цей метод ґрунтується на аналізі поглинання рентгенівських променів кістками при проведенні рентгенографії з використанням стандартизованої плівки. У клінічній практиці найчастіше застосовують однофотонну абсорбціометрію і абсорбціометрію з подвійною енергією [17, 15].

Кількісний вміст мінералів кістки можна визначати за допомогою томографії. Метод ґрунтується на вимірюванні трьох висот тіл хребця (передньої, середньої, задньої) та їх співвідношення у кожного хребця від Th_{IV} – L_{Vol} . Зменшення цих показників більше стандартних відхилень свідчить про виражений ОП [27]. Також вираховують дисковий коефіцієнт (відношення висоти міжхребцевого диску до висоти тіл суміжних з ним хребців). Зменшення або збільшення дискових коефіцієнтів свідчить про наявність кістково-деструктивних змін у міжхребцевих дисках і тілах хребців [17].

Найновішим методом оцінки стану кісткової тканини є ультразвукова кісткова остеометрія. Цей метод ґрунтується на вимірюванні швидкості розповсюдження ультразвуку по кістці. Перевагами цього методу є неінвазивність, висока точність (1,5 %), тривалість сканування (5 хв), доступність обслуговування, компактність і портативність, що дуже важливо для епідеміологічних досліджень [7, 8, 10]. Дослідження проводять за допомогою апарату “ACHILLES” на кістковій структурі кістки, яка складається з трабекулярної тканини. Методика дозволяє вимірювати такі показники: швидкість звуку, широкосмугове ультразвукове послаблення, жорсткість.

Для діагностики остеопорозу використовують ряд біохімічних досліджень, які допомагають:

а) ідентифікувати захворювання, при яких рентгенологічно є зміни, схожі на остеопоротичні;

б) у диференціальному діагнозі, сприяючи виявленню причини вторинного ОП;

в) запідозрити активність ОП [17].

Поворознюк В. В. [11] виділяє два типи біохімічних маркерів кісткового метаболізму:

а) формування — плазмовий (сироватковий) остеокальцитонін, сироваткова лужна фосфатаза (ЛФ), кістковий ізофермент ЛФ, пептидозв'язний гідроксіпролін;

б) резорбції — загальний гідроксіпролін сечі, піридинолін, оксипіридинолін сечі. Вони необхідні для оцінки темпу резорбції і формування кісткової тканини, підбору лікарських середників, визначення їх ефективності. Однак за їх результатами неможливо достовірно діагностувати ОП, що потребує поглибленого вивчення.

Формування кісткової тканини залежить не лише від вмісту мікроелементів, але й від активності ЛФ. Вона являє собою комплекс 4-х ізоферментів: кишкового, ниркового, кісткового або плацентарного походження. За її активністю можна опосередковано оцінити діяльність остеобластів. Активність ЛФ істотно підвищена в період росту (з максимумом у 11 і 15 років, що у 2-3 рази перевищує показники у дорослих) [17]. При ОП активність ЛФ підвищується. Кістковий ізофермент ЛФ дуже важливий у діагностичному відношенні, оскільки його активність підвищується від 1,9 до 3,7 разів, порівняно з рівнем загальної ЛФ [25]. Максимальне збільшення активності ЛФ діагностоване у випадку переломів [17]. Зниження рівня ЛФ спостерігається при стероїдному ОП [2].

Показником формування кісткової тканини вважають пептидозв'язаний гідроксіпролін, а свідченням резорбтивних процесів — вміст гідроксіпроліну в сечі [8]. Оксипролін входить до складу колагену (13 — 14%). 90 % кісткового оксипроліну утворюється в результаті руйнування, а 10% внаслідок синтезу кістки. Тому його рівень інформує про міру руйнування кістки остеокластами [11].

Високоінформативним методом діагностики порушень кісткової щільності є денситометричний. Зокрема, при використанні рентгенівського двохфотонного денситометра Expert DPX-A фірми "Lunar" ми переконались у високій точності методу. Обстеживши 51 хворих дітей із бронхіальною астмою, у 45,09 % випадків діагностовані порушення насичення Са поперекових хребців. А саме: у 31 % був виражений остеопенічний синдром, де дефіцит складав навіть до 30 %, а у 13 % — підвищена щільність кісткової тканини. Слід зазначити, що під час діагностики діти отримують 0,96 — 1,2 mrem опромінення, а при рентгенограмі кісток від 20 — 50 mrem. Тобто сканування на денситометрі Expert DPX-A фірми "Lunar" не несе великої дози опромінення, що дозволяє широко використовувати його для обстеження дітей.

Аналіз приведених даних свідчить про те, що проблема ОП в сучасних умовах потребує поглибленого вивчення. Малочисельні вивчення ОП у дітей здебільшого стосуються його діагностики на фоні окремих захворювань. Однак вбачається, що ОП є, в першу чергу, проблемою дитячого віку, оскільки в дитинстві відбувається максимальне моделювання кісткової тканини. Окрім того, інтенсивність процесів обміну у дітей, потужні ріст та вдосконалення структури кістки за впливу різноманітних чинників, швидше дестабілізуються із формуванням ОП.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бухман А. И., Зарубина Н. А., Князева А. П. и др. Изучение гормонов в крови при ювенильном остеопорозе // Пробл. эндокринологии. — 1987. — Т. 33, №3. — С. 13-17.
2. Зацепин С. Т., Радионова С. С., Ядовський В. О. и др. Диагностика системного остеопороза // Ортопед., травмат., протез. — 1988. — № 1. — С. 60-64.
3. Крисюк А. П., Кінчя-Поліщук ТА, Гайко О. Г. Остеопороз у дітей та підлітків: класифікація, діагностика, лікування // Проблеми остеології. — 1998. — Т. 1, № 1. — С. 41-45.
4. Меркурьева Р. В., Рахманин Ю. А., Кочанова З. И. Обмен компонентов органического матрикса кости и паренхиматозных органов при поступлении в организм различного состава минеральных веществ // Ортопедия и травматология. — 1978. — 39 с.
5. Олійник В. А., Поворознюк В. В., Терехова Г. М. Вторинний остеопороз при ендокринній патології // Проблеми остеології. — 1998. — Т. 1, № 1. — С. 51-58.
6. Остеопороз на Украине / Поворознюк В. В., Подрушняк Е. П., Орлова Е. П. и др. — Киев, 1995. — 48с.

7. Поворознюк В. В. Вікові особливості стану губчастої тканини у жителів України: дані ультразвукової денситометрії // Журнал АМН України. — 1997. — №1. — С. 127-132.
8. Поворознюк В. В. Остеопороз: клиника, діагностика, профілактика, лечение // Журн. прак. врача. — 1996. — №6. — С. 18-22.
9. Поворознюк В. В. Структурно-функціональний вік опорно-двигального апарату // Пробл. старения и долголетия. — 1994. — Т. 1, № 1. — С. 89-94.
10. Поворознюк В. В. Структурно-функціональний стан кісткової тканини у дітей за даними ультразвукової денситометрії // Педіатрія, акушерство і гінекологія. — 1997. — №6. — С. 49-54.
11. Поворознюк В. В., Балащенко З. А., Сторожук Л. М. Біохімічні маркери резорбції та формування кісткової тканини / Збірн. мат. конф. "Актуальні проблеми геріатричної ортопедії". — Київ, 1996. — С. 79-80.
12. Поворознюк В. В., Зотов В. П., Коштура І. Д. та ін. Радіаційний фактор та кістково-м'язова система. — К.: "Медикал" Укр. РНВФ "Медицина-Екологія", 1997. — 90 с.
13. Поворознюк В. В., Подрушняк Е. П., Коштура І. Д. и др. Костная ткань у людей различного возраста по данным абсорбциометрии // Ортопед, травмат. и протез. — 1994. — №2. — С. 4-10.
14. Подрушняк Е. П. Механизмы развития остеопороза // Проблемы остеологии. — 1998. — Т. 1, № 1. — С. 59-64.
15. Свешников А. А. Количественная оценка минеральных веществ костной ткани методом двухфотонной абсорбциометрии // Ортопед, травмат. и протез. — 1998. — №5. — С. 69-72.
16. Свешников А. Л., Кузнецов Ф. П. Возрастные изменения содержания минеральных веществ в костях здорового человека // Физиология человека. — 1998. — Т. 15, № 1. — С. 148-153.
17. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз: Пер. с нем. — М.: Медицина, 1985. — 334 с.
18. Abendroth K., Abendroth B. Pathophysiology and epidemiology of osteoporosis // Z. Arztl. Fortbild. — 1995. — Vol. 89. — P. 5-11.
19. Aloia J. F. The gain and loss of bone in the human life cycle // Advol. Nutr. Res. — 1994. — Vol. 9. — P. 1-33.
20. Amagai H. Osteoporosis in young people // Nippon Rinsho. — 1994. — Vol. 52. — P. 2395 — 2399.
21. Anderson J. J., Pollitzer W. S. Ethnic and genetic differences in susceptibility to osteoporotic fracture // AdVol. Nutr. Res. — 1994. — Vol. 9. — P. 129-149.
22. Arneson N. I., Melton L. J., Lewallen D. G., O'Fallon W. M. Epidemiology of diaphyseal and distal femoral fractures in Rochester, Minesota, 1965—1984 // Clin. Orthop. — 1988. — Vol. 16. — P. 188-194.
23. Azouz E. M., Karamitsos C., Reed M. N., et al. Types and complication of femoral neck fracture in children // Pediatr. Radiol. — 1993. -Vol. 23. — P. 415-420.
24. Bachrach L. K. Bone mineralization in childhood and adolescence // Curr. Opin. Pediatr. — 1993. —Vol. 5. — P. 467-473.
25. Braga Vol., Drizzi R., Brocco G., et al. Clinical utility of a wheat-derm precipitation assay for determination of bone alkaline phosphatase concentrations in patients with different metabolic bone diseases // Eur. J. Clin. Chem. Biochem. — 1995. — Vol. 33. — P. 433 — 439.
26. Calvo M. S. Dietics phosphate, metabolism calcium and bone // J. Nutr. — 1993. — Vol. 9. — P. 1627-1633.
27. Compel A., True J. B., Decroix Y., Poitout P. The role of calcium at different ages in womens life // Presse. Med. — 1993. — Vol. 22. — P. 864-869.
28. Frederiks B. J., de Campo J. F., Sephton R., Me Credie D. A. Computed tomographie assessment of vertebral bone mineral in childhood // Skeletal Radiol. — 1990. — Vol. 19, N 2. — P. 99-102.
29. Hou J. W., Wang T. R. Idiopathic juvenile osteoporosis // J. Formos. Med. Assoc. — 1995. — Vol. 94. — P. 277-280.
30. Lonzer M. D., Imrie R., Rogers D., Worley D., et al. Effects of heredity, age, weight, puberty and calcium intake on bone mineral density in children // Clin. Pediatr. — 1996. — Vol. 35. — P. 185-189.
31. Marchigiano G. Osteoporosis: primary prevention and intervention strategies for women at risk // Home Care Provid. — 1997. — Vol. 2. — P. 82-83.
32. Sterck J. G., Klein N. J., Lips P., Burger E. H. Response of normal and osteoporotic human bone cells to mechanical stress in vitro // Am. J. Physiol. — 1998. — Vol. 274. — Pt. 1. — P. 1113-1120.
33. Uchiyama T., Tanizawa T., Muramatsu H., Endo N., et al. A morphometric comparison of trabecular structure of human ilium between microcomputed tomography and conventional histomorphometry // Calcif. Tissue Int. — 1997. — Vol. 6. — P. 493-498.
34. Villaverde Vol., De Inocencio J., Merino R., Garcha Consuegra J. Difficulty walking. A presentation of idiopathic juvenile osteoporosis // J. Rheumatol. — 1998. — Vol. 25. — P. 173-176.

Надійшла 20.04.2001

ІСТОРІЯ НАУКИ

УДК 611.01

В.О. Яковлєв

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М.Кривоноса, 2

УКРАЇНСЬКА ШКОЛА АНАТОМІВ

Київська школа анатомів, Харківська школа анатомів

Розвиток анатомічної думки в Україні бере свої витoki з Києво-Могилянської академії — важливого загальноосвітнього та культурного центру України і Східної Європи XVIII ст. У Києво-Могилянській академії готували наукові кадри не лише для України, але й для Росії, Болгарії та інших держав. З академії вийшло багато видатних учених, які зробили вагомий внесок у розвиток медицини, а отже і анатомії. До їх числа належать: Епіфаній Славеницький, Нестор Амбодик-Максимович, О.М.Шумлянський, К.І.Щепін, М.М.Тереховський та інші. Проте у 1817 році Київську академію було закрито.

Анатомія людини як наука у XVIII ст. була частиною біології, зоології та порівняльної анатомії і все більше набирала характеру науки з певними медичними завданнями і спеціальними методами дослідження. У зв'язку з цим і було обґрунтовано її викладання як важливої дисципліни на окремих кафедрах. Головним завданням нормальної анатомії в той час був опис форми, будови, розвитку і розміщення органів людини.

Створення школи анатомів в Україні розпочалося наприкінці XVIII ст. з організацією медичних факультетів у вищих навчальних закладах нашої країни, а її становлення і розвиток — в XIX та XX ст. Такими навчальними закладами були університети, що вперше відкривалися у великих містах України: Львові, Харкові, Києві, Одесі. Вони зробили великий вклад у розвиток вітчизняної науки і культури, а відкриті в них медичні факультети відіграли важливу роль у підготовці кваліфікованих кадрів-лікарів, яких країна гостро потребувала.

На початкових етапах роботи медичних факультетів умови для творчої праці здебільшого були досить обмеженими. Типових приміщень не було. Кафедри анатомії розміщувалися у пристосованих приміщеннях. Лекції і практичні заняття проводилися, як правило, в одній і тій же аудиторії. Професори, крім свого основного предмету, читали лекції і вели практичні заняття також із суміжних дисциплін.

У зв'язку з нестачею національних наукових кадрів вищої кваліфікації в перші роки існування університетів серед професорів було запрошено іноземців, які не завжди турбувалися про розвиток науки в Україні та правильну постановку викладання. Багато лекцій читалися на німецькій, французькій або латинській мовах.

Дещо пізніше університети готували до викладацької діяльності вже своїх вихованців, багато з яких проходили стажування в кращих західноєвропейських наукових лабораторіях. Згодом більшість із них захистили докторські роботи, стали професорами і плідними науковцями, успішно розвивали анатомічну науку, а в окремих галузях анатомії деякі з них, навіть набагато випереджали своїх зарубіжних колег.

Отже, розвиток медичних факультетів в університетах України зумовив виникнення кількох анатомічних шкіл, в тому числі у Харкові та Києві на кафедрах анатомії, що завжди славилися своїми вихованцями, які вписали немало славних сторінок у розвиток вітчизняної і світової науки. Найталановитішими представниками згаданих шкіл є В.О. Бец, В.П. Воробйов та інші видатні вчені, які здобули всесвітнє визнання і залишили значний слід у різноманітних галузях анатомічної науки.

Думка про створення у Харкові університету виникла з ініціативи українського поета і філософа Г.С. Сковороди, а його відкриття відбулося завдяки зусиллям прогресивних діячів того часу на чолі з В.П. Каразіним.

Кафедру анатомії було організовано майже одночасно із відкриттям університету в 1805 році. Першим завідувачем, запрошеним на цю посаду, був Л.О. Ванноті, який усі заняття вів латинською мовою, однак справжня історія кафедри анатомії розпочалася у 1811 році, коли її очолив видатний вчений І.Д. Книгін. Саме його можна вважати засновником Харківської анатомічної школи. За його активною участю в 1820 році було придбано добре приміщення і перебудовано під анатомічний театр. За 15 років керівництва кафедрою проф. І.Д. Книгіну вдалося налагодити навчальний процес, під час якого майбутні лікарі отримували ґрунтовні знання з анатомії.

Проф. І.Д. Книгіна в 1826 р. змінив на кафедрі його учень, помічник і послідовник А.С. Венедіктов. У цей час вперше були запроваджені практичні заняття для студентів. Проф. А.С. Венедіктов заснував анатомічний музей, який на початку ХХ ст. приніс велику популярність кафедрі не тільки серед наших, але й іноземних анатомів. З ініціативи проф. А.С. Венедіктова вперше було здійснене бальзамування трупів, що стало важливим нововведенням Харківської анатомічної школи, однак лише під керівництвом проф. П.А. Нарановича досягло високої досконалості. Проф. П.А. Наранович за 16 років роботи завідувачем (1837-1853 р.р.) зміцнив наукову та навчальну роботу кафедри анатомії і створив міцну дослідницьку та експериментальну базу, склав велику бібліотеку з анатомії людини.

У 1865-1888 рр. кафедрою керував проф. І.К. Вагнер. Завдяки його наполегливості в 1887 році було збудовано типовий корпус анатомічного театру, в якому і в даний час навчаються студенти. Проф. І.К. Вагнер залучив до наукової роботи кафедри молодих талановитих дослідників: М.О. Попова і О.К. Белоусова, які згодом прославили свою кафедру. Ці відомі харківські вчені в кінці ХІХ ст. зробили великий внесок у відродження і розвиток анатомії. З того часу починається стрімкий розквіт Харківської школи анатомів.

Одним із важливих питань, вивченням яких серйозно займалися проф. М.О. Попов і проф. О.К. Белоусов, були проблеми будови нервової системи. У подальшому це стало характерною рисою наукових досліджень Харківської школи анатомів. Проф. О.К. Белоусов був безпосереднім учителем видатного харківського вченого-анатома В.П. Воробйова.

Продовжив справу своїх вчителів і завершив створення Харківської школи анатомів В.П. Воробйов. Він народився у 1876 р. і провів своє дитинство в Одесі, а протягом подальшого життя вчився та працював здебільшого в Харкові і став великим патріотом свого міста. Тут пройшла наукова діяльність проф. В.П. Воробйова, де він обіймав посади завідувача кафедри нормальної анатомії спочатку в університеті, потім в жіночому медичному інституті, а з 1917 р. і до кінця життя — в Харківському медичному інституті. Одночасно, в тридцятих роках, був науковим керівником Українського інституту експериментальної медицини.

Навчався В.П. Воробйов на медичному факультеті Харківського університету, який закінчив в 1903 р. Ще студентом він назавжди поєднав своє життя з анатомічною наукою. На другому курсі Воробйов В.П. стає препаратором і учасником наукової роботи кафедри нормальної анатомії. Його дві студентські наукові роботи — “Судини сухожиль стопи” та “Вивихи кісток зап'ястка” були відзначені золотими медалями і персональними преміями. З кожним роком навчання зростала і його професійна майстерність. Після закінчення університету проходив стажування в кращих наукових лабораторіях Німеччини та Австрії.

Коло наукових інтересів В.П. Воробйова було дуже широким, а ділянки його досліджень — багатогранними. Велику увагу вчений приділяв питанням дослідження нервової системи і був визнаним спеціалістом в галузі неврології. Він виконав кілька важливих робіт з анатомії

вегетативної нервової системи. Застосовуючи розроблену оригінальну методику, він до найменших подробиць дослідив інервацію серця людини. З успіхом займався він також дослідженням інервації сухожиль, шлунка та інших органів.

Проф. В.П. Воробйов усюди проявляв себе як учений-новатор, який сміливо шукав нові шляхи, нові методи досліджень. Ним розроблений макро-мікроскопічний метод дослідження тканин тіла людини, який вже багато років служить анатомічній науці, методика вшитих електродів для вивчення периферичної нервової системи в умовах хронічних досліджень на тваринах, метод трьохмірного дослідження. Він став засновником ще однієї галузі морфології — стереоморфології.

Проф. В.П. Воробйов був різностороннім і великим майстром анатомічного препарування. Створюючи нові музеї, він розробив ряд методів виготовлення анатомічних музейних та навчальних препаратів, муляжів і досягнув в цьому великої майстерності. Одночасно він розробив також нові способи бальзамування.

Проф. В.П. Воробйов був одним із основоположників динамічної анатомії. Він перебудував викладання анатомії, збагативши зміст предмету фактами біомеханіки, рентгенографії, антропології, а також ряду інших біологічних дисциплін (гістології, ембріології, фізіології), розробив струнку теорію організації і використання навчальних анатомічних музеїв, створив при кафедрі взірцевий музей, призначений для навчального процесу і єдиний у світі Музей становлення людини.

Проф. В.П. Воробйов — автор оригінальних широко відомих наукових праць, підручників і посібників з анатомії, першого вітчизняного 5-томного “Атласу анатомії людини”. Робота над цим атласом була продовжена учнем і послідовником проф. В.П. Воробйова — Р.А. Синельниковим.

У 1937 р. проф. Р.А. Синельников після смерті проф. В.П. Воробйова очолив кафедру, продовжуючи справу свого вчителя і традиції Харківської школи анатомів в галузі бальзамування та макро-мікроскопічної анатомії, проф. Р.А. Синельников видав тритомний анатомічний атлас.

Отже, основним питанням досліджень анатомів Харківської школи було вивчення будови і діяльності нервової системи. Поряд з цим вчені-анатоми працювали над проблемою бальзамування і досягли в цій галузі значних успіхів. Вчені цієї школи здійснили значну кількість важливих досліджень, зробили багато наукових відкриттів, поновили та вдосконалили ряд методик анатомічних досліджень.

Особливе значення для харківських анатомів мав розроблений ними метод макро-мікроскопічного дослідження систем тіла людини. Запровадження цього методу, який з успіхом широко використовується як в нашій країні, так і за кордоном, принесло велику популярність Харківській школі анатомів.

Другим видатним центром розвитку анатомічної думки в Україні була кафедра нормальної анатомії Київського університету, яку було засновано в 1841 році одночасно з відкриттям медичного факультету. Вона мала сприятливі умови для свого розвитку, що певною мірою пов'язано з іменем видатного російського анатома і хірурга М.І. Пирогова, який підтримував з університетом тісний зв'язок.

Не зважаючи на те, що кафедра анатомії Київського університету створена пізніше, ніж подібні кафедри Західної Європи, завдяки впливу М.І. Пирогова на анатомічний напрям робіт і талановитому керівництву спочатку проф. М.І. Козлова, а згодом проф. О.П. Вальтера та проф. В.О. Беца, вона привертала увагу найвидатніших вчених Росії і Заходу — Овсянникова, Якубовича, Брока та ін. Останній спеціально приїздив до Києва, щоб ознайомитись з чудовою колекцією препаратів, виготовлених В.О. Бецом.

Першим завідувачем кафедри був проф. М.І. Козлов, який в 1841-1844 рр. читав повний курс описової анатомії. Становлення кафедри та її розвиток відбувалось під впливом проф. О.П. Вальтера, який за період своєї роботи (1844-1868 рр.) домігся побудови сучасного анатомічного театру і був першим засновником наукового та учбового анатомічних музеїв.

Кафедра анатомії Київського університету після завершення обладнання лабораторій, робочих кабінетів, секційного залу і розміщення зібраних проф. О.П. Вальтером колекцій в

анатомічному театрі, за висловами проф. В.О.Беца, стала на той час зразковим науковим закладом.

У центрі наукових інтересів проф. О.П. Вальтера були питання нервової системи. Він вперше у 1843 році довів вплив симпатичних нервів на просвіт кровоносних судин. Широкої популярності набули також його дослідження теплоутворення та теплорегуляції. Саме проф. О.П. Вальтер започаткував, а проф. В.О. Бец підтримав і визначив подальший основний напрям досліджень анатомів Київської школи — вивчення анатомії нервової системи.

Проф. О.П. Вальтер був одним із реформаторів викладання анатомії в Київському університеті. Лекції він читав цікаво, умів захопити аудиторію розповіддю про таємниці будови людського організму, ілюструючи їх анатомічними препаратами та іншим унаочненням. Написаний ним підручник “Курс анатомії людського тіла” (1855 р.), певний час був основним для медичних факультетів країни. Характерним для цього підручника є широке використання структурно-функціонального підходу, коли будова органів подається у тісному зв'язку з їх фізіологією.

З ініціативи проф. О.П. Вальтера та значною мірою його коштів, з 1860 р. почав видаватися перший в Україні медичний журнал “Сучасна медицина” — один із кращих медичних журналів того часу.

Багато корисного для розвитку анатомії в Україні зробив всесвітньовідомий проф. В.О. Бец — гордість Київської школи анатомів, який був учнем, а згодом і гідним наступником проф. О.П.Вальтера.

В.О. Бец народився в 1834 р. на Чернігівщині. Там пройшло і його дитинство. Навчаючись на медичному факультеті Київського університету, він брав активну участь у студентських наукових гуртках, зосередивши інтереси на вивченні анатомії, і був одним із представників передової студентської молоді. Після закінчення університету (1860 р.) йому запропонували роботу на кафедрі.

Наукову підготовку вдосконалював за кордоном, де він працював у провідних вчених: Келлікера, Брюкке, Людвіга, Бунзена, Кирхгофа і Гельмгольца, а в 1868-1890 рр. очолював кафедру анатомії Київського університету. Маючи добру анатомічну, гістологічну та фізіологічну підготовку, проф. В.О. Бец працював не тільки на рівні досягнень цих наук в другій половині XIX ст., але й вніс нове у розвиток морфологічної науки. Він вивчав механізм кровообігу у печінці, досліджував кровоносні і лімфатичні судини та нерви надниркової залози, відкрив хромафінну реакцію мозкового шару наднирників, вперше провів у 1887 році систематичне дослідження росту і розвитку кісток людини. Однак найбільший внесок він зробив у вивчення центральної нервової системи, вивченню якої присвятив більшу частину свого життя.

Проф. В.О. Бец перший описав у 1873 році рухові зони кори великого мозку, вперше відкрив (1874 р.) великі пірамідні клітини кори (клітини Беца), простеживши їх послідовний розвиток. Вивчаючи особливості мікроскопічної будови кори головного мозку, він першим виявив різницю клітинної будови різних її ділянок, а також висунув припущення про взаємозв'язок диференціації кори і локалізації її функцій. Ці відкриття є основою найважливіших відділів неврології — цитоархітекτονіки та мієлоархітекτονіки великого мозку. Вони сприяли розвитку не тільки неврології, але й вчення про вищу нервову діяльність, створеного І.П. Павловим. Відкриття проф. В.О. Беца і його праці, що стосуються центральної нервової системи мають світове значення.

Проф. В.О. Бец виготовив велику кількість анатомічних препаратів (близько 5000), що отримали високу оцінку на виставці у Петербурзі (1872 р.) і Всесвітній виставці у Відні (1873 р.), які згодом він подарував Київському університету. Вони і тепер прикрашають кафедру анатомії Київської медичної академії.

Чималий внесок проф. В.О. Бец зробив у розвиток остеології. Він встановив зміни в різних частинах кістяка людини протягом всього її життя — від народження до глибокої старості. Дослідження кісткової системи висвітлені ним у відомій монографії “Морфологія остеогенезу” (1887 р.), де наводиться величезна кількість фактів розвитку скелета. Це одна із найважливіших робіт із вивчення кісткової системи.

Проф. В.О. Бец був талановитим дослідником будови нервової системи, одним із основоположників сучасної неврології та фундаторів Київської школи анатомів. У його особі поєднувався вчений, що узагальнив нагромаджений протягом декількох століть матеріал, з блискучим експериментатором і наполегливим дослідником нових шляхів і методів дослідження. Перекоаний у перевазі вітчизняної науки над західноєвропейською, як за ідейним змістом, так і тому, що вітчизняними вченими прокладалися нові шляхи в науці, В.О. Бец у монографії, присвяченій анатомічному театру, відстоює пріоритет вітчизняних вчених у загальній анатомії і зазначає, що він відмовився від запропонованої йому на той час бажаної пропозиції видати атлас своїх препаратів за рахунок Дрезденської академії наук і поставив собі за мету видати атлас людського мозку лише у рідній країні. Патріотичні почуття заставляють В.О.Беца відмовитися від продажу американцям своєї колекції препаратів, оціненої в 30000 гульденів, і залишає її в дарунок Київському університету.

Боротьба за пріоритет вітчизняної науки червоною ниткою проходить через весь творчий шлях В.О. Беца. В ім'я процвітання вітчизняної науки він витрачає особисті заощадження, організовуючи при Київському університеті спеціальну фототомію, щоб мати змогу опублікувати вдома, а не за кордоном, свій атлас анатомії мозку.

Визначним ученим-анатомом Київської школи був і проф. М.А. Тихоміров, який очолював кафедру анатомії з 1890 по 1902 рр. Він досліджував периферичну нервову систему, васкуляризацію головного мозку, кровоносні судини організму. Головні положення своїх багаторічних досліджень судинних аномалій він виклав у відомій всьому світові монографії “Варіанти артерій і вен людського тіла в зв'язку з морфологією кровоносної системи” (1900 р.).

До неперевершених досліджень в неврології належить дисертація М.А. Тихомирова про кровопостачання головного мозку людини “Розподіл і взаємне відношення артерій великого мозку людини” (1880 р.).

Другий важливий напрям наукової діяльності, який приніс широку популярність Київській анатомічній школі, розпочав проф. Ф.А. Стефаніс (1902 р.) — учень і наступник проф. М.А.Тихомірова. Використовуючи розроблену оригінальну методику, разом із своїми співробітниками він з великим успіхом вивчав лімфатичну систему органів грудної і черевної порожнини, зокрема шлунка, печінки, нирок та інших органів. Всі ці дослідження були узагальнені і висвітлені у кількох монографіях.

Визнання проф. Ф.А. Стефанісу принесла докторська дисертація “Лімфатичні судини шлунка людини” (1902 р.), де він перший описав лімфатичні судини серозного покриву шлунка, їх продовження у лімфатичні судини стінки дванадцятипалої кишки. Йому належить ідея про зв'язок органів через лімфатичні судини серозного покриву.

Класичною роботою є монографія проф. Ф.А. Стефаніса “Лімфатичні судини печінки людини” (1904 р.), в якій підведено підсумки вчення про лімфатичну систему печінки станом на кінець XIX ст.

Завдяки високій техніці і точності дослідження лімфатичної системи, проф. Ф.А. Стефаніс встановив нові факти і створив класифікацію лімфатичних вузлів черевної порожнини, засновану на відношеннях їх до кровоносних судин.

З відкриттям у Києві медичного інституту в його підпорядкування перейшла кафедра анатомії, одним із найбільш видатних керівників якої протягом багатьох років (1930-1973 рр.) був проф. М.С. Спіров. Разом із своїми учнями він продовжував дослідження кращих представників Київської анатомічної школи і досяг великих успіхів у вивченні різних проблем анатомії. Особливо успішно на кафедрі розвивалася спадщина з вивчення лімфатичної системи.

Завдяки удосконаленню методів дослідження та наполегливій праці науковців, під керівництвом проф. М.С. Спірова були одержані нові оригінальні дані з функціональної, вікової й порівняльної анатомії лімфатичної системи. З цієї проблеми працівники кафедри опублікували понад 300 наукових праць, кілька монографій, захистили ряд кандидатських і докторських дисертацій. Завдяки працям проф. М.С. Спірова і його співробітників Київська школа лімфологів стала добре відомою як у нас, так і за межами України.

Основні здобутки анатомів Київської школи стосуються вивчення центральної нервової та судинної систем.

Професори О.П. Вальтер, В.О. Бец, М.А. Тихоміров, Ф.А. Стефаніс, М.С. Спіров склали блискучу плеяду вчених, які значною мірою сприяли своєю науковою діяльністю успіхам вітчизняної анатомії. Кожний із них вніс певний вклад в анатомічну науку: О.П. Вальтер — в методику і організацію викладання анатомії, В.О. Бец — в анатомію центральної нервової системи, М.А. Тихоміров — в анатомію кровоносної системи, Ф.А. Стефаніс і М.С. Спіров — у вчення про лімфатичну систему.

Українські анатоми розробляли питання великої наукової ваги, своїми дослідженнями створювали певні напрями в анатомічній науці, зробили важливі узагальнення видатного наукового значення і високо піднесли престиж вітчизняної науки.

Ніколи не згасала в Українській анатомічній школі зацікавленість до вивчення нервової системи, що вперше виникла в Києві і Харкові, а потім поширилася і на інші анатомічні школи України. Тому й найважливіші досягнення українських анатомів стосуються нервової системи. До основних здобутків наших анатомів слід віднести також важливі дані, якими збагатилася анатомія судинної системи. Пріоритетними є також фундаментальні праці в галузі бальзамування. Відкриття українських анатомів значно збагатили анатомічну науку.

В.О. Бец, В.П. Воробйов та інші наші талановиті вчені залишили після себе численні роботи, в яких виклали всі свої ідеї. Ці ідеї не пропали, вони живуть і вдосконалюються в анатомічних школах учнів наших видатних анатомів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биологи. Биографический справочник / Сост. Бабий Т.П., Коханова Л.Л., Костюк Г.Г. и др. — К.: Наук. думка, 1984. — 600 с.
2. В.П.Воробьев. Избранные труды / Под ред. Д.А.Жданова, Р.Д.Синельникова. — Л.: Медгиз, 1958. — 346 с.
3. Кульчицкий К.И., Бобин В.В., Бурих М.П. В.П.Воробйов. — К.: Держмедвидав УРСР, 1951. — 51 с.
4. Кульчицкий К.И., Чернишенко Л.В. М.С. Спіров. — К.: Здоров'я, 1979. — 40 с.
5. Куприянов В.В. В.П.Воробьев. — М.: Медицина, 1963. — 68 с.
6. Новомлинский А.Н., Попов В.Н. Владимир Петрович Воробьев. — К.: Наук. думка, 1986. — 152 с.
7. Свиридов О.И. Анатомія людини. — К.: Вища школа, 2000. — 400 с.
8. Синельников Р.Д. Жизнь в науке. Обоснование советской анатомической школы В.П.Воробьева. М.: Медицина, 1969. — 124 с.
9. Спіров М.С. Владимир Алексеевич Бец (к 125-летию со дня рождения) // Архивы анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1962. — №2. — С. 106-111.
10. Спіров М.С. Київська анатомічна школа. — К.: Здоров'я, 1965. — 131 с.

V.O. Yakovlev

THE UKRAINIAN SCHOOL OF THE ANATOMISTS

Functioning of two greatest schools of the Ukrainian anatomists — in Kyiv and in Kharkiv, and main ideas and works of famous Ukrainian anatomists are reviewed.

Надійшла 15.01.2001

С.І. Галантюк

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ВКЛАД І.І. МЕЧНИКОВА В РОЗВИТОК БІОЛОГІЧНОЇ НАУКИ*І.І. Мечников, життя, наукова діяльність*

Видатний український вчений І.І. Мечников прославився дослідженнями в ряді біологічних і медичних наук. Значний інтерес становлять його життя і діяльність. Остання включає два періоди: перший пов'язаний з роботою переважно в Одесі, другий — в Парижі.

Плин часу відмежовує від нас той день, коли зайшла зоря Іллі Ілліча Мечникова. Однак, вона не згасла, завдяки геніальним відкриттям вченого.

І.І. Мечников своїм прізвищем зобов'язаний молдавським боярам, один з яких служив у званні мечника при князеві, за що й отримав прізвище Мечникова. Природа с. Іванівки Куп'янського повіту Харківської губернії захопила ще восьмирічного хлопчика і спонукала до занять ботанікою, екскурсій у природу. Навчаючись в гімназії, І.І. Мечников відвідував університетські лекції і під керівництвом молодого фізіолога Щелкова познайомився з основами гістології. З 17-річного віку І.І. Мечников навчався в Харківському університеті, який закінчив протягом двох років. Після одержання вищої освіти молодий випускник поривається реалізувати себе в практичній діяльності. Спроби влаштуватися на викладацьку роботу в Медико-хірургічній академії та в Петербурзькому університеті були невдалими через консерватизм і неприязнь тамтешньої професури. Тому І.І. Мечников прийняв запрошення ректора Новоросійського університету і зайняв посаду ординарного професора кафедри зоології. Тут він знайшов розуміння і підтримку таких учених як О.О. Ковалевський, І.М. Сеченов, Л.С. Ценковський. Проте і в Новоросійському університеті ситуація не сприяла розкриттю творчих можливостей і таланту І.І. Мечникова і він змушений був покинути цей вуз.

Шлях до висот науки далі не був пов'язаний з навчальними закладами і І.І. Мечников поринає в осмислення природничих наук, захоплюється зробленими в другій половині XIX століття відкриттями Р. Вірхова, Ч. Дарвіна, Г. Гельмгольца, Л. Пастера.

Однак, залишивши університет, І.І. Мечников залишається без роботи, і його матеріальний стан дедалі погіршується. Незважаючи на обдарованість і геніальність вченого, його не приймають навіть на роботу в наукову лабораторію.

Вивчивши ще в гімназії порівняльну анатомію, І.І. Мечников сприймає вчення Ч. Дарвіна і обирає порівняльно-ембріологічний напрям у своїй дослідницькій діяльності. У 60-х роках XIX ст. формується “могутня купка” вчених, які збагатили світову науку великими відкриттями. Це Д.І. Менделєєв, А.Н. Бородин, О.О. Ковалевський та В.І. Ковалевський, І.М. Сеченов.

У 1882 р. І.І. Мечников із дружиною виїжджає в Мессіну. У цьому місті, розташованому на березі Мессінської протоки, І.І. Мечников ставить знаменитий потім дослід з личинкою морської зірки і колючкою китайської троянди.

Згодом учений з гордістю згадує: “В чудовій обстановці Мессінської протоки, відпочиваючи від університетських тривог, я з пристрасстю віддався праці. Одного разу, коли



**Ілля Ілліч Мечников
(1845—1916)**

вся родина пішла до цирку дивитися якихось дивних дресированих мавп, і я залишився сам над своїм мікроскопом, спостерігаючи за життям рухливих клітин у прозорій личинки морської зірки, — мене відразу осяяла нова думка. Мені спало на думку, що подібні клітини в організмі мають протидіяти шкідливим діянням. Почуваючи, що тут криється щось особливо цікаве, я до того схвилювався, що почав ходити по кімнаті і навіть вийшов на берег моря, щоб зібратися з думками. Я сказав собі, що коли моє припущення справедливе, то скалка, вставлена в тіло личинки морської зірки, яка не має ні судинної, ні нервової системи, повинна за короткий час оточитися рухливими клітинами, що налипають на неї, подібно до того, як це спостерігається у людини, яка загнала скалку в палець. Сказано — зроблено. У маленькому садку коло нашого будинку, в якому кілька днів перед тим на мандариновому деревці була влаштована дітям різдвяна “ялинка”, я зірвав кілька трояндових колючок і відразу ж встромив їх під шкіру пишних, як вода прозорих, личинок морської зірки. Звичайно, я всю ніч хвилювався, чекаючи результатів, і наступного дня рано-вранці з радістю констатував удачу досліду. Цей останній і став основою теорії фагоцитів, опрацюванню якої були присвячені наступні 25 років мого життя” [1].

Це відкриття сприяло переорієнтації наукової роботи вченого з галузей ембріології та зоології на медицину та патологію.

Видатною подією в науковому світі того часу вважався вихід у світ (1883 р.) статті Мечникова “Про внутрішньоклітинне травлення у безхребетних”. Вчений вважав, що рухливі клітини, які оточують колючки троянди в тілі личинки морської зірки, виконують захисну функцію і назвав їх фагоцитами. Поряд з цим він довів, що кількість їх зростає і при справжньому інфекційному зараженні. У 1884 році І.І. Мечников виявив фагоцитарну дію лейкоцитів при попаданні бацил сибірки в кров ссавців.

Райдужні плани повернення на батьківщину відкриваються перед ученим, коли його запросили в Одесу директором бактеріологічної станції. Але 2 роки було достатньо Мечникову аби відчути нестерпність ставлення до себе реакціонерів. І ось він приймає рішення виїхати до Парижу. Великий Л. Пастер гаряче привітав приїзд Мечникова й одразу зрозумів, що означає поява в Парижі такого вченого. У 43-річному віці Мечников одержує великий відділ у майбутньому Пастерівському інституті. Лабораторія Мечникова одразу стала центром уваги всіх співробітників інституту, центром, до якого тягнулися вчені. Через 10 років вивчення фагоцитозу в 1891 р. з’явилася праця Мечникова “Лекції з порівняльної патології запалення”. Її справедливо називають найголовнішою в науковій діяльності вченого.

Одержані результати про фагоцитоз фіксованих клітин мезодерми були використані Ашофом для розробки вчення про ретикулоендотеліальну систему. Відомий учений О.О.Богомолець також використав дані І.І. Мечникова для широких експериментів з дослідження фізіологічної системи сполучної тканини.

У 1901 р. була видана фундаментальна праця Мечникова “Несприйнятливість в інфекційних хворобах”, яка містила найширші узагальнення в галузі мікробіології та патології. У численних дослідах він показав наявність хвороб у рослин і тварин на всіх етапах еволюції, встановлення природженої й набутої несприйнятливості.

Однак, подібні ідеї не знайшли підтримки навіть у друзів Е. Ру, Ж. Дюкло, Д. Лістера. Вони зустріли жорстокий опір багатьох видатних учених, які вважали, що лейкоцити фагують лише слабовірулентні чи навіть невірулентні мікроби, мертві мікроорганізми.

Найяскравішим науковим явищем була промова І.І. Мечникова на Всеросійському з’їзді природознавців і лікарів в Одесі “Про цілющі сили організму”, де він сформулював у завершеному вигляді теорію фагоцитозу.

Будучи палким прихильником своїх ідей, І.І. Мечников біля 20 років боровся проти гуморальної теорії. Це було не просто протистояння, а збагачення сміливими гіпотезами, точними експериментами, спалахом цінних думок.

Проїшли роки... Лише в 1902 р. Російська Академія наук з великим запізненням визнала авторитет І.І. Мечникова у світовій науці, обравши його почесним академіком Російської Академії Наук [3].

На схилі віку І.І. Мечников захоплюється проблемами продовження людського життя, а науку, яка покликана розв'язувати ці проблеми, назвав геронтологією.

Мечникову належить тріада науково-філософських праць: “Етюди про людську природу”, “Етюди оптимізму” і 40 років шукання раціонального світогляду”, в яких він висловив свої погляди на життя і його кінцеві завдання.

Життя і діяльність великого вченого можна поділити на два періоди. Перший період пов'язаний з його дослідженнями переважно в галузі зоології та порівняльної ембріології, яким І.І. Мечников віддав понад 25 років творчого життя. Впродовж цього тривалого часу він дослідив походження різних класів тварин і з'ясував філогенетичні зв'язки між хребетними і безхребетними. Застосовуючи диференціювання колоніальних видів одноклітинних тварин, він висунув переконливу гіпотезу походження багатоклітинних. І.І. Мечников встановив, що з окремих зародкових листків утворюються певні групи органів і цим довів єдність і закономірність розвитку як безхребетних, так і хребетних тварин.

Другий період діяльності Мечникова збігся з його діяльністю в Пастерівському інституті. Досягнення в наукових дослідженнях цього періоду відбиті в монографіях “Лекції з порівняльної патології запалення”, “Несприйнятливість в інфекційних хворобах”, у праці “Світогляд і медицина”. Його соратник і друг Е. Ру характеризує роль учення про фагоцитоз так: “Вчення про фагоцитоз — одне з найплототворніших у біології, воно пов'язує явище імунітету з явищами внутрішньоклітинного травлення і пояснює механізм запалень і атрофії. Воно оживило патологічну анатомію, яка до того була чисто описовою наукою, безсилою дати будь-які прийнятні пояснення”[2]. Цей період діяльності І.І. Мечников присвячує дослідженням етіології холерного вібріона, явищам антагонізму бактерій для боротьби з патогенними мікробами, проблемам ефективності вакцинації черевного тифу, патогенезу сифілісу та туберкульозу.

Завершальним науковим інтересом ученого було вивчення проблем продовження життя. На його схилі І.І. Мечников уживав велику кількість молочнокислих продуктів, насамперед культури болгарської палички.

Мечников, як перший професор мікробіології, дав тодішній Україні та Росії велику школу видатних вчених — Л.А. Тарасевича, О.М. Безредки, Я.О. Чистовича, В.Л. Омелянського та ін. Своїми геніальними відкриттями І.І. Мечников залишив нам спомини про себе як про благородну, енергійну людину, великого вченого. Ім'я І.І. Мечникова — геніального українського вченого, полум'яного борця за впровадження в життя передових наукових ідей, буде хвилювати наукові уми ще не одне десятиліття.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мечников И. И. Избранные биологические произведения. — М., 1950.
2. Мечников И. И. Страницы воспоминаний. — М., 1946.
3. Дяченко С. С. І. І. Мечніков. Життя і діяльність. — Київ-Харків, 1946.

S. I. Galantyuk

I.I. MECHNIKOV'S CONTRIBUTION IN BIOLOGY DEVELOPMENT

The well-known Ukrainian scientist I.I. Mechnikov turned to be famous by his research in the whole set of biological and medical spheres. His life and activity causes significant interest. The latter includes two periods: the first is connected with his research in Odessa, and the second — in Paris. The given article is dedicated to his scientific creativity.

Надійшла 26.01.2001

АВТОРИ НОМЕРА

- Андрійчук В.А.** — кандидат технічних наук, доцент кафедри технічної фізики і світлотехніки Тернопільського державного технічного університету імені Івана Пулюя (ТДТУ).
- Арсан В.О.** — аспірант Інституту гідробіології НАН України (ІГ).
- Багнюк К.О.** — кандидат біологічних наук, доцент кафедри теоретичних основ і методики фізичного виховання Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка (ТДПУ).
- Балабан Р.Б.** — науковий співробітник лабораторії екологічної біохімії ТДПУ.
- Банадига Н.В.** — доктор медичних наук, доцент кафедри шпитальної факультетської педіатрії Тернопільської державної медичної академії імені І.Я. Горбачевського (ТДМА).
- Бойчук Б.Р.** — доктор медичних наук, завідувач кафедри гігієни ТДМА
- Бродін С.В.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник кафедри загальної біології ТДПУ.
- Волошин О.С.** — кандидат біологічних наук, асистент кафедри загальної біології ТДПУ.
- Галантюк С.І.** — кандидат біологічних наук, доцент кафедри загальної біології ТДПУ.
- Герц А.І.** — аспірант кафедри загальної біології ТДПУ
- Герц І.І.** — директор Тернопільського обласного еколого-натуралістичного центру.
- Грицак Л.Р.** — кандидат біологічних наук, науковий співробітник лабораторії екології і біотехнології ТДПУ.
- Грубінко В.В.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри загальної біології, проректор з навчальної роботи ТДПУ.
- Гуменюк Г.Б.** — аспірант кафедри загальної біології ТДПУ.
- Зіньковська Н.Г.** — викладач Кременецького державного педагогічного коледжу ім. Тараса Шевченка, аспірант кафедри загальної біології ТДПУ.
- Козак Д.В.** — викладач ТДМА.
- Коновець І.М.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник ІГ.
- Кривокульський О.І.** — асистент кафедри фізичного виховання ТДПУ.
- Курант В.З.** — кандидат біологічних наук, доцент, докторант кафедри загальної біології ТДПУ.
- Рогальський І.О.** — аспірант кафедри шпитальної факультетської педіатрії ТДМА.
- Синюк Ю.В.** — аспірант кафедри загальної біології ТДПУ.
- Сморщок Ю.С.** — кандидат медичних наук, асистент кафедри травматології і ортопедії ТДМА.
- Столяр О.Б.** — кандидат біологічних наук, доцент кафедри хімії ТДПУ.
- Страшнюк Н.М.** — кандидат біологічних наук, доцент кафедри загальної біології ТДПУ.
- Феник С.Й.** — кандидат біологічних наук, асистент кафедри загальної біології ТДПУ.
- Фіра Л.С.** — кандидат біологічних наук, доцент кафедри біохімії ТДМА.
- Хоменчук В.О.** — аспірант кафедри загальної біології ТДПУ.
- Шуст І.В.** — доктор біологічних наук, професор кафедри загальної біології ТДПУ.
- Шуст І.І.** — кандидат біологічних наук, науковий співробітник Medical Research Group Inc., США.
- Яковлєв В.О.** — кандидат біологічних наук, доцент кафедри загальної біології ТДПУ.

ЗМІСТ

Кафедра загальної біології	3
АНАТОМІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН	7
<i>І.В. Шуст, І.І. Шуст</i> ВЗАЄМОДІЯ ЛАКТОЦИТІВ І МІКРОГЕМОСУДИН ПРОТЯГОМ СЕКРЕТОРНОГО ЦИКЛУ І ПОСТЛАКТАЦІЙНОЇ РЕСТРУКТУРИЗАЦІЇ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ	7
<i>О.С. Волошин, Ю.С. Сморцок, С.І. Галантюк</i> АНТИОКСИДАНТИ І ПРОБЛЕМА СТИМУЛЯЦІЇ РЕГЕНЕРАТОРНИХ ПРОЦЕСІВ	16
<i>К.О. Багнюк</i> ДЕЯКІ ФІЗІОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ БОРЦІВ У ЗВ'ЯЗКУ З ВИДОМ БОРОТЬБИ ТА СПОРТИВНИМИ ДОСЯГНЕННЯМИ	16
БІОХІМІЯ.....	19
<i>В.В. Грубінко, В.О. Арсан, І.М. Коновець</i> ЕНЕРГЕТИЧНИЙ СТАТУС ОРГАНІЗМУ РИБ ЗА ІНТОКСИКАЦІЇ АМІАКОМ	19
<i>В.З. Курант, С.В. Бродін, Ю.В. Синюк</i> ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛІЦИНУ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА В УМОВАХ IN VIVO	37
<i>Р.Б. Балабан</i> СТАН РІВНОВАГИ У ГЛУТАМАТДЕГІДРОГЕНАЗНІЙ РЕАКЦІЇ ЗА ДІЇ ІОНІВ МАРГАНЦЮ, ЦИНКУ ТА МІДІ В ТКАНИНАХ КОРОПА	40
<i>О.Б. Столяр</i> ОКИСНЮВАЛЬНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ ГЕПАТОПАНКРЕАСУ І ПЛАЗМИ КРОВІ КОРОПА ЗА ІНТОКСИКАЦІЇ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ	44
<i>Н.Г. Зіньковська</i> ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНО — ПРООКСИДАНТНОГО СТАТУСУ КРОВІ КОРОПА ПРИ ДІЇ ЙОНІВ ЦИНКУ В СУБЛЕТАЛЬНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ	50
<i>Л.С. Фіра, Б.Р. Бойчук, Д.В. Козак, О.І. Кривокульський, О.Б. Столяр</i> ВИКОРИСТАННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІНОВИХ ЛІПОСОМ З ІНКОРПОРОВАНИМ КРЕЗАЦИНОМ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, ВИКЛИКАНИХ РЕНТГЕНІВСЬКИМИ ПРОМЕНЯМИ, ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ТА НІТРИТОМ НАТРІЮ	53
ЕКОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ	59
<i>В.О. Хоменчук</i> ОСОБЛИВОСТІ СУБКЛІТИННОГО РОЗПОДІЛУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В ДЕЯКИХ ТКАНИНАХ КОРОПА ПРИ ДІЇ ЇХ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ	59
<i>Г.Б. Гуменюк</i> СЕЗОННА ДИНАМІКА ВМІСТУ І МІГРАЦІЯ МІДІ, КОБАЛЬТУ, КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ В ЕКОСИСТЕМІ ТЕРНОПІЛЬСЬКОГО СТАВУ	64
<i>А.І. Герц, В.А. Андрійчук, І.І. Герц</i> БІОСИНТЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ТА РІСТ АСТРОРОСЛИНИ <i>BRASSICA RAPA L.</i> ЗА РІЗНИХ РЕЖИМІВ ОСВІТЛЕННЯ	71
<i>Н.М. Страшнюк, Л.Р. Грицак</i> ВИКОРИСТАННЯ КУЛЬТУР КЛІТИН І ТКАНИН ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН	77
ОГЛЯДИ	90
<i>С.Й. Феник</i> УЧАСТЬ СР _x -АТФаз У ТРАНСПОРТІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНИ РОСЛИННИХ КЛІТИН	90
<i>Н.В. Банадига, І.О. Рогальський, О.С. Волошин</i> ПРОБЛЕМА ОСТЕОПОРОЗУ В ПЕДІАТРІЇ	98
ІСТОРІЯ НАУКИ.....	104
<i>В.О. Яковлев</i> УКРАЇНСЬКА ШКОЛА АНАТОМІВ	104
<i>С.І. Галантюк</i> ВКЛАД І.І. МЕЧНИКОВА В РОЗВИТОК БІОЛОГІЧНОЇ НАУКИ	110