

джень встановлено, що інтенсивність забруднення першої клітки становила, в середньому, 4 яйця трихостронглідів та 3,2 личинки на 1г зскрібка, другої – 3,4 та 3,5, контрольної – 3,8 та 3,8 відповідно.

В лабораторних умовах було проведено досліди щодо вивчення впливу нанорідини на культуру яєць трихостронглідів кролів та їх личинки.

Отримані відмиті яйця нематод у кількості по 50 штук помістили у чашки Петрі, додали по 2 см³ дослідної нанорідини. Контролем слугували яйця *T. instabilis*, вміщені у дистильовану воду. Експозицію встановлювали експериментально. Високу ефективність виявляли при експозиції 120 хвилин.

Після витримки культури яєць в нанорозчині певної концентрації і визначеної експозиції їх відмивали двічі водою, центрифугували протягом 5 хвилин при 5 тис. обертах за хвилину. Після цього здійснювали культивування культури яєць у відстояній водопровідній воді в термостаті при температурі 25⁰С.

Аналогічні дослідження проводили із личинками трихостронглідів кролів, оскільки саме вони є інвазивними.

Протягом 10 днів чашки Петрі і з культурою яєць нематод та їх личинками досліджували під малим (окуляр х15, об'єктив х8) та великим (окуляр х20, об'єктив х40) збільшенням мікроскопу щодня. При цьому виявляли та фіксували деформовані та мертві яйця за розривом оболонки, її прогинанням, станом плазми.

У дослідних групах не було виявлено розвитку яєць до стадії личинки, а у чашках Петрі з личинками були виявлені лише нежиттєздатні екземпляри.

Другий етап дослідів проводили у виробничих умовах.

Кролів обох дослідних груп дегельмінтизували антгельмінтним препаратом з діючою речовиною – левамизол (розрахунок дози проводили згідно інструкції по застосуванню) та пересадили у чисті клітки. Звільнені від тварин дерев'яні клітки із металевими решітками підлягали ретельному механічному очищенню, оскільки гній, сміття та інші забруднення надійно захищають яйця та личинки гельмінтів від дії хімічних засобів при дезінвазії.

Першу клітку обробляли нанобіокмполитом у концентрації 100 мг/дм³, другу – дезінфекційним засобом Хлорантоїн 1% (вміст активного хлору – 26 %). Розрахунок робочого розчину складав 1 дм³ на 1м² площі клітки. Метод обробки – зрошення. Третю клітку (контрольну) – не дезінвазували. Через тиждень після обробки здійснили відбір проб для проведення санітарно-паразитологічного контролю ефективності дезінвазії.

Дослідженнями встановлено, що у зскрібках з першої дослідної клітки яйця та личинки нематод були відсутні, у другій – виявлено 5 яєць нематод та 2 личинки, а у пробах контрольної клітки їх виявлено по 5,6 яйця на 1г зскрібка та 3 личинки (табл.1).

Таблиця 1. Порівняльна ефективність дезінвазії кліток для утримання кролів

Дезінвазійний засіб	ЕІ, %	ІІ екз. яєць та личинок	Санітарно-гельмінтологічні дослідження кліток до дезінвазії, екз./1 г.		Санітарно-гельмінтологічні дослідження кліток після дезінвазії, екз./1 г.	
			яйця	личинки	яйця	личинки
Нанорозчин	100	14,1	4,0	3,2	-	-
Хлорантоїн	100	11,3	3,4	3,5	5,0	2,0
Контроль	100	8,3	3,8	3,0	5,6	3,0

Як показано в наведеній таблиці, овоцидний та ларвоцидний ефект колоїдів нанокластерів металів дорівнює 100 %, в той час як застосування Хлорантоїну дезінвазійних властивостей не проявляє.

Позитивним аспектом застосування аквахелатів нанометалів є те, що вони можуть бути застосовані як універсальні сполуки, які володіють комплексом дезінфекційних та дезінвазійних властивостей.

Висновки: на основі проведених досліджень щодо дії нанорозчину на яйця та личинки *T. instabilis* можна зробити висновок, що колоїдний розчин наночастинок біоцидних металів, поряд з вираженими дезінфекційними властивостями, має дезінвазійну дію у концентрації 100 мг/дм³ при його однократному застосуванні. Ефективність запропонованого способу знешкодження збудника трихостронгільозу кролів дорівнює 100 %.

1. Атлас гельмінтів тварин / І. С. Дахно, А. В. Березовський, В. Ф. Галат та ін. – К.: Ветінформ, 2001. – 118 с.
2. Березовський А. В. Екологічні проблеми сучасної паразитології (аналітичний огляд) // Науковий вісник НАУ. – 2006. – Т. 98. – С. 19-28.
3. Нанотехнологии в медицине и биологии: материалы научно-практической конференции с международным участием ["Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины"], (Новосибирск, 11-12 октября 2007г.) / Сибирский университет потребительской кооперации, 2007. – 167 с.
4. Пат. на корисну модель 34566 Україна, МПК (2006) А 61L 2/00, А 61L 9/14. Спосіб дезінфекції приміщень із застосуванням наночастинок бактеріцидних металів / Каплуненко В.Г., Бусол В.О.; Заявник та патентоволодар Національний аграрний університет; заявл. 13.04.08; опубл. 11.08.08., Бюл. № 15. 5. Пат. 2038320 Российская Федерация, МПК 6С 02F 1/46, С 02F 11/00. Способ обеззараживания сточных вод / Гузов И. П., Худичков Н. М.; заявитель и патентообладатель Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики. – № 4921557/26; заявл. 25.03.91; опубл. 27.06.95, Бюл. № 26. 6. Сорока Н.М., Галат В.Ф. Лабораторні методи діагностики хвороб тварин: Навчальний посібник. – К.: НАУ, 1997. – 22 с. 7. Черниченко І. А., Сердюк А. М., Литвиченко О. Н. Гигиеническое регламентирование и риск // Гигиена и санитария. – 2006. – №1. – С. 30-32.

Надійшла до редколегії 10.06.09

УДК 577.391 + 57.045

Л. Остапченко, д-р біол. наук, проф., В. Чайка, канд. біол. наук, К. Лаврова, канд. біол. наук, І. Компанець, канд. біол. наук

ВПЛИВ ІНДУКТОРІВ ІНТЕРФЕРОНУ НА АКТИВНІСТЬ 2',5'-ОЛІГОАДЕНІЛАТ-СИНТЕТАЗИ В ЛІМФОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ ТРАНСФОРМОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА

Встановлено, що біологічно активні препарати на базі індукторів інтерферону стимулюють активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах тимусу щурів, що свідчить про посилення компенсаторних реакцій імунної системи у відповідь на дію мікрогравітації.

It was established, that biologically active preparations on base of interferon inducers stimulate 2',5'-oligoadenylate-synthetase activity in rats lymphocytes that testifies to strengthening compensatory reactions of immune system in reply to microgravitation action.

Вступ. У наш час стає нагальною проблемою дослідження молекулярних механізмів прояву реакції органі-

зму людини на дію пошкоджуючих факторів оточуючого середовища, які мають місце за умов перебування в

© Остапченко Л., Чайка В., Лаврова К., Компанець І., 2009

космосі. Відомо, що в першу чергу ураження зазнає імунна система, яка є найбільш чутливою до будь-яких стресових факторів, таких як іонізуюча радіація, зміна температури, гравітації та ін. Для оцінки імунних реакцій і розробки шляхів корекції порушень актуальними є дослідження функціонування імунокомпетентних клітин і, зокрема, вивчення процесів сигнальної трансдукції як показника функціонального стану цих клітин.

Особливу увагу звертають на себе месенджерні каскади, що індукуються інтерфероном – цитокином, залученим до процесів захисту організму від вірусів, онкологічних процесів, а також до механізмів активації імунної системи [1,5,6]. Ключовий ферменти системи інтерферону 2',5'-олігоаденілат-синтетаза зазнає істотних змін за умов патологічного стану, і тому за певних умов виникає необхідність в корекції рівню її активності. У зв'язку з цим цей фермент може бути зручною мішенню для дії різних фармакологічних препаратів. Серед препаратів, які б ефективно впливали на активність досліджуваного ферменту особливий інтерес становлять індуктори інтерферону. У зв'язку з цим метою даної роботи було проаналізувати особливості реакції інтерферон-індукованої системи в імунокомпетентних клітинах в різних експериментальних моделях на дію трансформованого середовища.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єкти дослідження: в роботі використовували білих щурів лінії Вістар обох статей масою 130-150 г. У системі *in vivo* було вивчено вплив наступних індукторів інтерферону: полі(I)-полі(C), циклоферону та тилорону, які вводили щурам внутрішньочеревинно в дозах 50 мг/кг ваги, 62 мг/кг ваги та 60 мг/кг ваги 2 рази на добу, відповідно, на протязі 4-х днів за описаними методиками [9,3,2]. Лімфоцити, виділені з тимусу щурів, кліноштатували протягом 60 хв на горизонтальному кліноштаті "Цикл-2". Активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах визначали спектрофотометричним методом Justensen [7]. Ферментативну активність виражали в наномолях неорганічного пірофосфату за 1 хв на 1 мг білка. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі та ін. Статистичну обробку результатів і побудову графіків проводили на ЕОМ із застосуванням стандартних пакетів прикладних програм.

Результати та їх обговорення. Сигнальна система 2',5'-олігоаденілату, індукована інтерфероном, є одним з ключових метаболічних шляхів, що визначають стан лімфоїдних клітин. Відомо, що система 2',5'-олігоаденілату має широкий спектр біологічних функцій, які охоплюють багато регуляторних процесів, зокрема антивірусний та антипроліферативний захист клітин, а

також регуляція їх росту і диференціації, процесингу пре-mРНК, реакції клітин на зміну гормонального статусу та ін. [6]. По-перше, каскад 2,5A опосередковує антивірусну дію інтерферону, гальмуючи, зокрема, реплікацію вірусів. Відомо, що реплікація багатьох вірусів блокується 2',5'-олігоаденілатом. Наступною важливою властивістю системи 2,5A є її антипроліферативна активність. Показано, що інтерферон характеризується здатністю інгібувати ріст клітин, що корелює з проявом антипроліферативних ефектів [8]. Регуляція росту клітин під дією інтерферону опосередковується певними білками, зокрема РНКазою L та протеїнкіназою R, які індукуються інтерфероном [4]. Тому для з'ясування впливу стресових факторів космічного середовища на імунокомпетентні клітини тварин є важливим не тільки дослідити функціонування цієї сигнальної системи, а й провести пошук нових біологічних препаратів на баз індукторів інтерферону, які б могли використовуватися з профілактичною та лікувальною метою. Це дозволить скорегувати наслідки пошкоджуючої дії на імунітет космічної радіації та невагомості, а також підвищити стійкість організму до інших несприятливих факторів. На сьогодні синтезована велика кількість індукторів інтерферону, які характеризуються потужною антивірусною та антипроліферативною активністю. До їх числа належать аміксин (індукує IFN- α/β в Т-клітинах), циклоферон (індукує IFN- α в В-клітинах і макрофагах), дсРНК, яка здатна індукувати різні види інтерферону в лімфоцитах, а також ларифан, кагоцел і рагозин [10]. Широкий спектр біологічної дії індукторів інтерферону (антипроліферативна, радіозахисна, антивірусна тощо) обумовлює їх потенційне використання при корекції впливу негативних факторів космічного польоту. У якості індукторів інтерферону нами було обрано препарати циклоферону (індуктор IFN- α), полі(I)-полі(C) (індуктор IFN α/β), та тилорону (індуктори IFN- γ).

Нами було встановлено, що годинний вплив моделюваної мікрогравітації призводить до зростання активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази на 30% в лімфоцитах тимусу щурів (рис.1). Можна припустити, що посилення активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази під впливом мікрогравітації є компенсаторною реакцією лімфоїдних клітин на дію цього стресового фактору. Це корелює з раніш встановленими нами даними стосовно загибелі лімфоцитів при кліноштатуванні: при зменшенні кількості клітин стимулюються біохімічні регуляторні системи, що, зокрема, може призвести до підвищення активності інтерферон-індукованого ферменту 2',5'-олігоаденілат-синтетази.

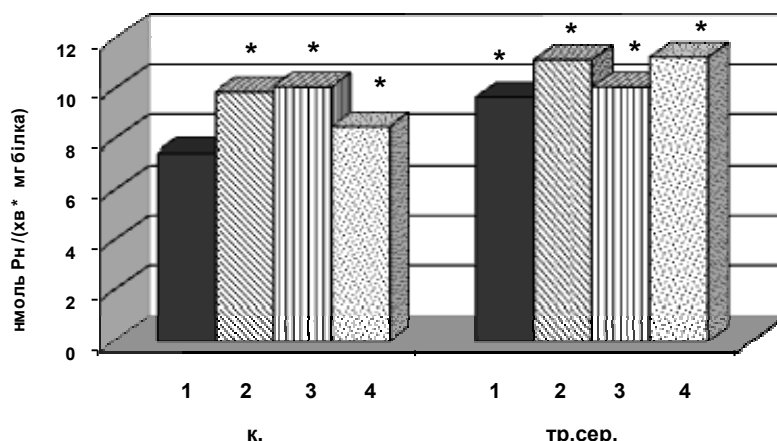


Рис. 1. Вплив індукторів інтерферону на активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах тимусу щурів (к.) та за умов дії трансформованого середовища (тр.сер.):

1 – без індуктора, 2 – введення циклоферону, 3 – введення тилорону, 4 – введення полі(I)-полі(C)

*- $p < 0,05$ по відношенню до групи без індуктора

Введення індукторів циклоферону циклоферону, тилорону та полі(І)полі(С) призводило до зростання активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази на 32%, 34% та 14%, відповідно, у порівнянні з контролем (рис.1).

При дослідженні впливу мікрогравітації на активність 2,5А-синтетази тимоцитів щурів за умов преінкубації з індукторами інтерферону нами було встановлено, що введення циклоферону, тилорону та полі(І)полі(С) призводило до зростання активності ферменту на 49%, 35% та 50%, відповідно, у порівнянні з контрольними значеннями (рис.1). Максимальну зміну активності 2,5А-синтетази викликало введення тилорону, внаслідок якого активність ферменту зросла на 35 % у порівнянні з контролем без кліноостатування та на 10 % у порівнянні з контролем за умов кліноостатування. Активацію ферменту 2',5'-олігоаденілат-синтетази можна оцінити як виявлення компенсаторних механізмів імунотептентних клітин на вплив пошкоджуючого фактору космічного середовища (мікрогравітації), що, можливо, є пов'язаним із стимуляцією синтезу інтерферону. Оскільки різні індуктори інтерферону посилюють активуючу дію цього фактору на 2',5'-олігоаденілат-синтетазу, це дає підстави припустити, що їх дія викликає підвищення вмісту ендогенного інтерферону в клітинах.

Висновки. Таким чином, за умов дії мікрогравітації відбувається зростання активності ключового ферменту

системи 2',5'-олігоаденілату – 2,5А-синтетази. Це дає підставу вважати, що за умов дії трансформованого середовища відбувається активація процесів сигнальної трансдукції в інтерферон-індукованій системі 2',5'-олігоаденілату, яка може реалізуватися через індукцію інтерферону в лімфоцитах та, як наслідок, посилення експресії генів індукваних ним ферментів. Введення індукторів інтерферону різного спектру дії призводить до подальшого зростання активності цього ферменту, що дозволяє провести корекцію патологічних змін в клітинах та посилити компенсаторні реакції імунної системи у відповідь на дію факторів космічного польоту.

1. Гамалея Н.Ф., Шишко Е.Д., Горобець О.Б. // Космічна наука і технологія. – 2004. – т. 10, № 5/6. – С. 204 – 207. 2. Головенко М.Я., Борисюк І.Ю. // Клінічна фармація. – 2005, №4 (9). – С. 32-35. 3. Лобенко А.О., Тавар-ткладзе Н.Є. // Вісник морської медицини- 2000, № 3 (11). – С.13-17. 4. Соколова К.М., Лопатина О.А., Носик Н.Н. и др. // Бюл. Эксп. Биол. Мед. – 1993. – т. 115, № 6. – С. 633-634. 5. Cogoli A. // J. Leukoc. Biol. – 1993. – v. 44, № 3. – P. 259-268. 6. Cogoli A., Cogoli-Greuter M. // Adv. Space Biol. Med. – 1997. – v. 6. – P. 33-79. 7. Justensen J., Kjeldgaard N. O. // Anal. Biochem. – 1992. – v. 207, № 1. – P. 90-93. 8. Justesen J., Ferbus D., Thang M. N. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1980. – 77, N 8. – P. 4618-4622. 9. Popovich I. G., Zabezhinski M. A., Kovalenko A.L. et al. // Cancer. Lett.-2000. – 148, N 2. – P.215- 219. 10. Sangfelt O., Ericson S., Grandt D. // J. Interferon. Res. – 2000. – v. 10. – P. 198-215.

Надійшла до редколегії 27.03.09

УДК 577.151.645:575.174.015.3

Д. Радіонов, зав. лаб., А. Андрієвський, канд. біол. наук, доц.,
І. Козерецька, канд. біол. наук, доц.

АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ ІЗОФОРМ ЕСТЕРАЗ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* З ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ УКРАЇНИ

Використовуючи метод лужного електрофорезу у поліакриламідному гелі, розділяли форми карбоксиестераз самців та самок Drosophila melanogaster із восьми природних популяцій України. Провели порівняння рівня експресії чотирьох ізоформ карбоксиестераз в досліджуваних популяціях. Проаналізовано полові та міжпопуляційні різниці в активності вивчаємих молекулярних форм карбоксиестераз.

The variety of carboxyesterases' molecular forms of male and female of Drosophila melanogaster from eight natural populations of Ukraine has been studied by the method of polyacrylamide gel alkaline electrophoresis. The expressions of four isoforms of carboxyesterases have been compared. Sex and interpopulation differences of carboxyesterases activity have been analyzed.

Вступ. Адаптація до умов навколишнього середовища супроводжується численними фізіологічними та біохімічними змінами, які торкаються більшості систем і структур організмів. Зміна активності ферментів є важливим і швидким засобом змінити функціональну активність біологічних систем, що сприяє пристосуванню тварин до впливу різних зовнішніх факторів [2]. Одну з головних ролей у цих процесах відіграє регуляція активності гідролітичних ферментів, які виконують в організмі функцію підтримання фізіологічного балансу різних біологічно активних речовин. Тому вивчення стану цих ферментативних систем у організмів, що мешкають на територіях з різними екологічними умовами, є ефективним методом оцінювання їх адаптивних можливостей. Одним з найбільш зручних і недостатньо вивчених ферментів у *Drosophila melanogaster* є естерази, що характеризуються широким спектром ізоформ і аллоформ [1, 3, 6].

У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення спектру ізоформ карбоксиестераз і аналіз їхньої активності у самців і самок імаго *Drosophila melanogaster* з різних природних популяцій України.

Об'єкт та методи досліджень. Для досліджень використовували імаго *Drosophila melanogaster* трьохдобового віку восьми лабораторних популяцій, яких розводили методом масових схрещувань протягом 4-х поколінь, засновники яких були вилучені в 2008 році з природних популяцій на різних територіях України: Водойма – охолоджувач ЧАЕС, Чорнобиль, Пирятин,

Одеса, Магараж, Київ, Варва і Лубни. Розвиток мух відбувався при температурі 25 °С на стандартному поживному середовищі [4].

Для отримання екстрактів тканин окремо взятих 8 самців і 7 самок з кожної популяції (попередньо наркотизованих дітиловим ефіром) гомогенізували протягом 2 хвилин в 10 мкл гліцин – NaOH буферу рН 9,0 що містить 1% тритон Х-100. Гомогенати центрифугували при 12 000 г протягом 15 хвилин при + 4 °С. До приготованих екстрактів додавали 5 мл 0,01% розчину бромфенолового синього, після чого здійснювали електрофоретичний розподіл в системі лужного (рН 8,3) вертикально-пластинчатого 7,5% поліакриламідного гелю, далі гелеві блоки відмивали дистильованою водою. Наявність різних молекулярних форм естераз визначали за допомогою реакції азосполучення продуктів розщеплення α - та β -нафтилацетатів з сіллю діазонія використовуючи як інкубаційне середовище 25 мл 0,1 М тріс – гліциновий буфер рН 7,4.

Через 20 хвилин інкубації ферменти інактивували термічною обробкою. Активність і рухливість в гелевому блоці ферментів визначали за допомогою ліцензійної комп'ютерної програми аналізатора спектрів зображень "АнаІС" (Поджарський, Рибалка, 2004, Україна) і відображали в одиницях оптичної щільності ($\Delta \bar{D} \circ$) і одиницях рухливості (Rf) відповідно. Статистичну обробку отриманих даних проводили, користуючись комп'ютерною програмою "Excel" з пакета "MS Office" [5].