

O. Omelchuk, PhD stud, B. Prots, PhD.
State Museum of Natural History, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv

RARE PHYTOCOENOSSES OF THE TRANSCARPATHIAN RIVER VALLEY CORRIDOR

The survey and assessment of the status of rare vegetation communities there is obligatory condition for plants protection due to the increasing transformation of natural ecosystems. The 9 formations and 64 associations of the rare plant communities have been found within the valley river corridors of the Transcarpathia. Of these, the 10 belong to forest type, 5 to meadow and 49 associations are linked to wetland communities. The majority of localities of rare plant communities are under protection, particularly on the territory of the Regional Landscape Park "Prytysianskyi" (6 formations represented 57 associations). Yet, the part of the localities of formation Marsileeta quadrifoliae and Nymphaeeta albae still need to be protected. The 86% of the number of rare plant communities are at high risk of their survival and an urgent active nature protection measures are need to be conducted.

Key words: rare communities, Green Book, distribution, Transcarpathia.

УДК 577.121.7

С. Гірін, канд. біол. наук, І. Савінова, мол. наук. співроб.,
Н. Науменко, мол. наук. співроб., І. Антоненко, мол. наук. співроб.
ТОВ "Каскад-Медікал Референс-Лабораторія UBI" пгт. Глеваха Київської області

ВПЛИВ НАДНИЗЬКИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ГЛЮКСАЛЮ ТА МЕТИЛГЛЮКСАЛЮ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ТА АЗОТИСТИЙ ОБМІН ЛІМФОЦИТІВ *IN VITRO*

*Досліджували дію наднизьких концентрацій гліюксалю ($1,29 \cdot 10^{-12}$ М) і метилгліюксалю ($1,04 \cdot 10^{-12}$ М) на окремі ланки енергетичного та азотистого обміну лімфоцитів *in vitro* протягом 72 годин. Було показано, що дані активні карбонільні сполуки викликають достовірні зміни таких показників, як альдолаза, лактатдегідрогеназа, аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза, піруват і екстрацелюлярна глюкоза. Встановлено зворотна залежність у швидкості утилізації глюкози, між досліджуваними і контрольними культурами лімфоцитів. Виявлено активізація енергетичного обміну при 3-х і 24-х годинному впливі наднизьких концентрацій гліюксалю і метилгліюксалю.*

*Ключові слова: наднизькі концентрації, енергетичний та азотний обміни, лімфоцити, *in vitro*.*

Вступ. Важливим завданням сучасної біології є дослідження різноманітних аспектів метаболізму активних карбонільних сполук (АКС). Найбільш відомими з них є гліюксаль (ГЛ) і метилгліюксаль (МГЛ). Дані сполуки постійно присутні у нормально функціонуючій клітині в якості основних та побічних продуктів окремих метаболічних шляхів: перекисного окиснення ліпідів та білків, не ферментативного окиснення деяких амінокислот та ін. В організмі концентрація ГЛ і МГЛ знаходиться в межах $1 \cdot 10^{-7}$ М – $1 \cdot 10^{-8}$ М [1]. У високих концентраціях (більше $1 \cdot 10^{-7}$ М), ГЛ і МГЛ є цитотоксичними сполуками, з тривалістю життя до однієї години. Вони здатні глікозилувати білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти, порушуючи їх функцію [2]. У клітині існує декілька механізмів інактивації ГЛ та МГЛ, здатних підтримувати концентрації даних АКС на рівні, що близький до фізіологічного. Найбільш важливу роль у даному процесі відіграє система глутатіону. В результаті, в організмі, який нормально функціонує, існує постійний динамічний баланс між процесами утворення та деградації АКС, який може порушуватись з тих чи інших причин. [1, 2]. Так, розвиток багатьох патологій різного ґенезу, а також вплив шкідливих екзогенних факторів, в тому числі іонізуючого опромінення, можуть призводити до накопичення у організмі ГЛ та МГЛ. При цьому їх інтрацелюлярна концентрація зростає, що призводить до структурно-функціональних порушень в організмі. Цей процес дістав назву карбонільного стресу [2, 3]. Високі концентрації ГЛ та МГЛ роблять свій внесок в розвиток атеросклеротичного пошкодження судин, виникнення мікроангіопатій, нефропатій і нейропатій. Вони стимулюють секрецію запальних цитокінів, експресію ендотеліального фактора росту судин та багато іншого [3]. Карбонільний стрес ускладнює перебіг онкологічних захворювань, цукрового діабету I та II типів, катаракти, хвороби Альцгеймера та ін. [4]. На даний час окрім патологічного впливу ГЛ та МГЛ в рамках карбонільного стресу, біологи все більш активно вивчають функції даних високореактивних сполук у різноманітних фізіологічних процесах [2, 4]. Зокрема виявлена важлива роль ГЛ і МГЛ у агрегації тромбоцитів, хемотаксисі моноцитів,

клітинної сигналізації, регуляції експресії генів, імунній відповіді, енергетичному обміні [5]. Доведена участь ГЛ та МГЛ у боротьбі організму з патогенними бактеріями, вірусами, а також раковими клітинами [4]. Akhand A. з колегами показали, що ГЛ та МГЛ ініціюють деякі сигнальні шляхи у культурі ендотеліоцитів людини, що свідчить про участь даних АКС у клітинних месенджерних процесах [4, 6].

Таким чином, ГЛ і МГЛ із впевненістю можна назвати високоактивними інтрацелюлярними сполуками, які відіграють важливу роль у життєдіяльності організму. Здійснюються спроби використання високих (набагато вище за фізіологічні) концентрацій даних АКС з терапевтичною метою. У той же час лишаються маловивченими ефекти наднизьких концентрацій екзогенних ГЛ та МГЛ на різноманітні внутрішньоклітинні процеси. На сьогодні, механізми дії наднизьких концентрацій даних АКС достеменно не відомі. Однак, враховуючи структурно-функціональні особливості ГЛ та МГЛ, закономірним буде очікування найрізноманітніших ефектів у ланках метаболізму за умов дії субфізіологічних концентрацій даних сполук (менше $1 \cdot 10^{-8}$ М).

Беручи це увазі усе вищевикладене, метою нашої роботи було дослідження впливу наднизьких концентрацій гліюксалю та метилгліюксалю на деякі ланки енергетичного та азотистого обміну лімфоцитів *in vitro*.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були лімфоцити людини, які отримували з донорської крові дорослих людей, 8 чоловіків та 8 жінок, у віці від 25 до 62 років, без виражених клінічних симптомів захворювань, серйозних хронічних патологій та шкідливих звичок. Забір периферичної крові проводили з ліктьової вени у вакуумні пробірки з антикоагулянтом EDTA(K₂). Отримання лімфоцитів з донорської крові проводили за допомогою метода седиментації на градієнті щільності Histopaque-1077 Hybri-Max® ("Sigma", США), щільність $1,077 \pm 0,001$ г/мл [7]. Перед нашаровуванням на градієнт щільності кров з антикоагулянтом розводили стерильним PBS без Ca²⁺ і Mg²⁺ ("Sigma", США) 1:1,25. Центрифугування проводили при 400g впродовж 30 хв. Отриману мононуклеарну фракцію трикратно відмива-

ли стерильним PBS без Ca^{2+} і Mg^{2+} . Лімфоцити відокремлювали від моноцитів, використовуючи адгезію останніх до пластику (інкубували мононуклеари у чашці Петрі впродовж 30 хв). В лімфоцитарній фракції проводили підрахунок клітин та оцінку їх життєздатності у камері Горяєва після фарбування трипановим синім. Пул лімфоцитів від одного донора ділили на дві рівні частини, які у подальшому використовували у контрольних та дослідних культурах. Лімфоцити інкубували в середовищі RPMI-1640, яке містило 5% фетальної сироватки теляти, 40 мМ L-глутаміна; 10 тис. ОД пеніциліна і 10 мкг стрептоміцину (усі реактиви "Sigma", США) в 100 мл середовища у стерильних чашках Петрі (Sarstedt AG&Co, Німеччина) за 37°C у атмосфері, що містить 5% CO_2 , та за вологості 95%. Кінцева концентрація лімфоцитів у контрольних та дослідних культурах складала $3 \cdot 10^6$ /мл. Після закінчення шістнадцятигодинного терміну інкубації у дослідні культури лімфоцитів вносили гліоксаль та метилгліоксаль у 0,9% розчині NaCl ("Neel" Німеччина). Кінцеві концентрації гліоксалу та метилгліоксалу складали відповідно $1,29 \cdot 10^{-12}$ М і $1,04 \cdot 10^{-12}$ М. Наведені концентрації є наднизькими [8]. Одночасно у контрольні культури лімфоцитів вносили відповідні об'єми 0,9% розчину NaCl. До внесення гліоксалу та метилгліоксалу у дослідні культури лімфоцитів та 0,9% розчину NaCl у контрольні, а також після закінчення 3, 6, 24, 48 та 72 годин отримували проби культурального середовища, а також суспензії лімфоцитів. Останні отримували шляхом трикратного відмивання від культурального середовища PBS-ом без Ca^{2+} і Mg^{2+} (центрифугування при 1200 g 10 хв.). На наступному етапі з суспензії лімфоцитів отримували проби (лізати) шляхом трикратного заморожування-відтанення.

У лімфоцитах визначали активність ключових ферментів азотистого обміну аланінамінотрансферази (ЕС 2.6.1.2) (АЛТ), аспартатамінотрансферази (ЕС 2.6.1.1) (АСТ). Інтенсивність гліколізу оцінювали за активністю лактатдегідрогенази (ЕС 1.1.1.27) (ЛДГ) та альдолази (ЕС 4.1.2.13) [9], за вмістом піровиноградної кислоти у лімфоцитах, а також за зміною концентрації глюкози у культуральному середовищі [10]. В усіх лізатах визначали вміст білку [10]. Вищенаведені спектрофотометричні методи реалізовували за допомогою наборів реактивів фірм "ELitech", (Франція), "Sentinel Diagnostics", (Італія) та "НПО Абрис+", (Росія). Усі виміри проводили на біохімічному аналізаторі Microlab 300, "Vital Scientific", Нідерланди. Активність ферментів виражали у У/л/г білку, концентрацію глюкози та піровиноградної кислоти, відповідно, у мМоль/л/г білку та мкМоль/л/г білку. Для оцінки статистично значимих змін у дослідних пробах, в порівнянні з контрольними, використовували непараметричний критерій знаків G. Для оцінки характеру та сили взаємозв'язків між контрольною та дослідною групами використовували показники парної кореляції r. Для усіх видів аналізу критичний рівень значимості для статистичних критеріїв приймали таким, що дорівнює $p < 0,05$ [11].

Результати та їх обговорення. В експерименті, що був проведений in vitro протягом 72 годин, було досліджено вплив наднизьких концентрацій ГЛ та МГЛ на енергетичний і азотистий обміни лімфоцитів. Визначали інтрацелюлярну активність ключових ферментів, а також концентрація найбільш важливих метаболітів даних процесів (табл. 1 та 2).

Таблиця 1. Показники енергетичного та азотистого обміну лімфоцитів за умов дії на них гліоксалу та метилгліоксалу ($M \pm m$, $n=16$)

Показник	Лімфоцити	Тривалість досліджу					
		0 годин	3 години	6 годин	24 години	48 годин	72 години
Піруват, мкМоль/л/г білка	контроль	46,07±0,65	80,10±5,22	100,23±7,32	84,36±11,86	74,42±11,81	77,49±14,29
	дослід	46,10±0,07	104,32±7,23*	67,18±7,00*	131,87±25,52*	84,35±16,93	85,92±17,41
Альдолаза, У/л/г белка	контроль	93,55±6,59	74,25±4,53	87,60±17,88	62,08±4,85	78,47±6,05	60,28±4,21
	дослід	93,00±6,01	69,47±4,81	58,99±12,61	81,68±15,38	74,67±4,39	87,99±7,09*
ЛДГ, У/л/г білка	контроль	933,1±38,5	1006,2±31,9	942,3±33,3	1005,6±63,3	1260,7±90,3	1127,5±142,3
	дослід	909,7±30,1	918,2±28,2*	993,4±33,6	1101,8±64,9	1115,9±135,6	1474,2±120,9
АСТ, У/л/г білка	контроль	26,58±1,94	21,21±1,26	22,55±1,58	22,77±1,32	21,85±1,60	34,99±3,81
	дослід	26,59±2,00	21,59±1,16	21,90±1,60	26,09±1,48*	23,00±1,22	44,75±4,86
АЛТ, У/л/г білка	контроль	7,97±1,93	1,68±0,35	2,01±0,42	1,56±0,24	2,97±0,43	3,71±0,96
	дослід	7,98±2,01	1,91±0,36	1,35±0,31	2,43±0,50	0,67±0,09*	1,81±0,78

Примітка: у цій і наступних таблицях вірогідні різниці показників дослідних груп порівняно до контрольної: * – $P < 0,05$ для критерію знаків G.

Таблиця 2. Концентрація глюкози в середовищі культивування лімфоцитів за умов дії на них гліоксалу та метилгліоксалу, мМоль/л/г білка ($M \pm m$, $n=16$)

Група тварин	Тривалість досліджу					
	0 годин	3 години	6 годин	24 години	48 годин	72 години
контрольна	7,71±0,09	7,89±0,05	7,98±0,22	7,91±0,07	8,00±0,13	6,96±0,07
дослідна	7,70±0,08	7,64±0,10*	7,73±0,38	7,54±0,57	7,50±0,14*	7,80±0,26*

Проведений експеримент дозволив виявити значні зміни в концентрації глюкози в культуральному середовищі. Так, вірогідне зниження екстрацелюлярного вмісту даного субстрату гліколізу, спостерігалось вже через 3 години після початку впливу наднизьких доз ГЛ та МГЛ (табл. 2). Тоді як шестигодинне та 24-х годинне культивування лімфоцитів з даними АКС не призвели до вірогідних змін у концентрації глюкози. Однак, вже через 48 годин після початку надслабкого впливу на лімфоцити ГЛ та МГЛ, було виявлено вірогідне зниження в 1,1 рази екстрацелюлярного вмісту глюкози. На

кінцевому етапі експерименту (72 години) в культуральному середовищі спостерігалось вірогідне збільшення концентрації глюкози на 12% ($P < 0,05$) (табл. 2). Методами кореляційного аналізу була виявлена зворотна залежність ($r = -0,67$, при $P < 0,05$) між динамікою дослідного й контрольного екстрацелюлярного вмісту глюкози протягом всього експерименту. На нашу думку, така суттєва різниця в тенденції та швидкості утилізації глюкози, між дослідними та контрольними культурами лімфоцитів, може розцінюватись, як ефект надслабкого впливу ГЛ та МГЛ. В результаті проведених досліджень

було виявлено зростання інтрацелюлярної концентрації одного з ключових метаболітів енергообміну – піровиноградної кислоти більше ніж на 30% ($P < 0,05$) за умов трьох годинного впливу даних АКС (табл. 1). Такі зміни можуть бути результатом окислення в лімфоцитах субстратів, які містяться в культуральному середовищі (глюкоза, амінокислоти). Однак, шестигодинний вплив на лімфоцити обраних АКС привів до вірогідного зниження концентрації піровиноградної кислоти в дослідних пробах на 33% ($P < 0,05$). Ще більш значущі зміни вмісту піровиноградної кислоти були виявлені по закінченню 24 годин інкубації їх в присутності надмалих концентрацій ГЛ та МГЛ. Рівень пірувата при цьому в дослідних пробах був в 1,6 рази вище, ніж в контрольних. 48-ми та 72-х годинний надслабкий вплив даних АКС не супроводжувались вірогідними змінами показників піровиноградної кислоти лімфоцитів (табл. 1). Це може свідчити про однакову інтенсивність утворення та використання даного метаболіту у внутрішньоклітинному диханні.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що активності ферментів, що досліджувались, найменше піддаються надслабкому впливу ГЛ та МГЛ. Це може бути обумовлено дією складної та багаторівневої системи регуляції їх функціонування [12]. Активність одного з ключових ферментів гліколізу – альдолази, зазнала змін лише на завершальному етапі експерименту, за умов 72-х годинного надслабкого впливу ГЛ та МГЛ на лімфоцити. При цьому в дослідних пробах вона була в 1,5 рази вища за контрольні (табл. 1). Рівень активності ЛДГ є інформативним показником, який характеризує інтрацелюлярне перетворення пірувату ↔ лактату. За даних умов проведення досліджень активність ЛДГ зберігалась на контрольному рівні майже протягом усього експерименту. Виключення складає трьохгодинний надслабкий вплив на лімфоцити ГЛ та МГЛ, що призвів до вірогідного зниження активності ЛДГ на 9% ($P < 0,05$) (табл. 1).

АСТ і АЛТ є ключовими ферментами азотистого обміну, які напряду пов'язані з процесом внутрішньоклітинного дихання. В той же час, АСТ і АЛТ є основними ланками, які забезпечують координацію та зв'язок між білковим та вуглеводним обмінами [13]. Нами була виявлена пряма кореляційна залежність між активністю АСТ і АЛТ в дослідних та контрольних культурах лімфоцитів (відповідно $r = 0,97$ і $r = 0,88$ при $P < 0,05$). Це може свідчити про відсутність значного впливу наднизьких концентрацій даних АКС на азотистий обмін лімфоцитів. В той же час, 48-ми годинний надслабкий вплив ГЛ та МГЛ на лімфоцити викликав вірогідне зниження активності АЛТ в 4,4 рази (табл. 1). Проте активність АСТ була статистично значимо вище контролю на 15% ($P < 0,05$) за умов 24-х годинного надслабкого впливу ГЛ та МГЛ (табл. 1). Слід зазначити, що на сьогодні не існує чітко сформульованої теорії, яка б описувала механізми дії наднизьких концентрацій біологічно активних речовин на організм, або на які-небудь його структури. Це, безумовно, ускладнює аналіз результатів будь-яких досліджень, де використовувались би надслабкі впливи факторів різної природи на біологічні об'єкти.

Дослідження, що були проведені, показали, що за умов 3-х годинного впливу на лімфоцити обраних чинників відбуваються найбільш значимі зміни в внутрішньоклітинному енергообміну за весь час проведення експерименту. Так, на цьому етапі спостерігалось вірогідне падіння екстрацелюлярної концентрації глюкози (табл. 2). Це стало результатом інтенсифікації гліколітичного шляху окислення даного субстрату, на користь чого свідчить зростання внутрішньоклітинної концентрації пірувата (табл. 1). Слід відзначити, що за даних

умов (3-х годинний вплив) інгібування ЛДГ (табл. 1), також могло внести свій внесок в підвищення вмісту піровиноградної кислоти в дослідних культурах лімфоцитів. Наведені зміни показників, які характеризують енергетичний обмін, супроводжувались відсутністю вірогідних змін в роботі трансaminaз лімфоцитів (АСТ і АЛТ). Це в свою чергу могло опосередковано сприяти збільшенню концентрації пірувата, шляхом залучення в енергетичний обмін амінокислот, що входять до складу культурального середовища [13]. Як відомо, високий вміст піровиноградної кислоти активує піроватдекарбоксілазний комплекс тим самим, створюючи умови для утворення ацетил-СоА – основного субстрату циклу лимонної кислоти [12]. Тому можливо припустити, що трьохгодинний надслабкий вплив на лімфоцити ГЛ та МГЛ активує не тільки анаеробний, але й аеробний енергетичний обмін.

Шести годинна дія обраних АКС не викликала суттєвих змін в процесі анаеробного дихання, а також азотистого обміну. Практично всі показники, що були досліджені знаходились у межах контрольних значень. Виключення складає рівень піровиноградної кислоти. Її концентрація в лімфоцитах була вірогідно нижче, а ніж в контрольних пробах (табл. 1), що може бути результатом інтенсифікації цілої низки процесів: окислювального декарбоксилування, циклу лимонної кислоти і окислювального фосфорилування – основного етапу аеробного дихання. Також не виключено використання пірувата в анаболічних процесах. Він може витрачатись на синтез амінокислот, зокрема, аланіну [13, 14]. Не зважаючи на знижену внутрішньоклітинну концентрацію піровиноградної кислоти, за умов шестигодинного надслабкого впливу на лімфоцити ГЛ та МГЛ, можна зробити висновок щодо стабільної інтенсивності азотистого та енергетичного обмінів.

На наступному етапі експерименту (24-х годинна дія обраних АКС) було виявлено різке зростання концентрації пірувата, а також активності АСТ (табл. 1). Такі зміни в біохімічному гомеостазі цілком закономірні. Підвищена активність АСТ забезпечила приток додаткової кількості оксалоацетату до мітохондрій, за рахунок утворення його з аспарагінової кислоти [13]. Все це, разом з нормально функціонуючим аеробним гліколізом, призвело до підвищення концентрації пірувата. Слід відзначити, що на даному етапі (24-х годинна дія обраних АКС) було виявлено найбільшу інтрацелюлярну концентрацію піровиноградної кислоти за весь час проведення експерименту, що вказує на значну інтенсифікацію енергетичного обміну лімфоцитів. Закономірно, що такі зміни не могли не вплинути на швидкість енергетичного та азотистого обмінів наступного етапу експерименту. Як результат, 48-ми годинний вплив на лімфоцити обраних АКС завершився падінням активності АЛТ на фоні зниження в культуральному середовищі концентрації глюкози (табл. 1 і 2). При цьому інші показники енергетичного і азотистого обмінів знаходились на контрольному рівні, що свідчить про нормальний перебіг даних процесів. На нашу думку, саме зниження концентрації глюкози стало причиною падіння активності АЛТ, функцією якої є підтримка на фізіологічному рівні пулу внутрішньоклітинного аланіну [12, 13]. В умовах же дефіциту глюкози й вкрай економного витрачання пірувата, закономірним є інгібування АЛТ [13].

72-х годинна дія на лімфоцити обраних АКС призвела до значного збільшення концентрації глюкози в культуральному середовищі (табл. 2). Не виключено, що за даних умов підвищення вмісту глюкози відіграє ефекторну функцію, яка направлена на гексокіназну реакцію гліколізу. В результаті це призвело до активі-

зації всього каскаду гліколітичних реакцій [14, 15], що було виражено в рості альдолазної активності (табл. 1).

Висновки. Таким чином, надслабкий вплив гліоксалу ($1,29 \cdot 10^{-12}$ М) та метилгліоксалу ($1,04 \cdot 10^{-12}$ М) викликає ефекти в окремих ланках енергетичного і азотистого обмінів лімфоцитів *in vitro*, про що свідчать вірогідні зміни активності альдолази, ЛДГ, АСТ, АЛТ й концентрації пірувата, а також вмісту глюкози в культуральному середовищі. Слід зазначити, що за даних умов проведення експерименту азотистий обмін зазнав менших змін, ніж енергообмін. В переважній більшості активності АСТ і АЛТ змінювались внаслідок зрушень, які відбувались в внутрішньоклітинному енергетичному обміні.

Отримані результати дозволили виявити активізацію енергообміну лімфоцитів за умов 3-х та 24-х годинного надслабкого впливу ГЛ та МГЛ, що було виражено в закономірних вірогідних змінах в концентраціях основних його метаболітів: пірувата й глюкози культурального середовища. При цьому спостерігалась значна різниця в метаболізмі глюкози між дослідними й контрольними культурами лімфоцитів ($r = -0,67$, при $P < 0,05$), що є результатом надслабкого впливу ГЛ та МГЛ.

Список використаних джерел

1. Ellis E. M. Reactive carbonyls and oxidative stress: potential for therapeutic intervention // Pharmacol. Ther. – 2007. – Vol. 15, № 1. – P. 13–24.
2. Загайко А.Л., Воронина Л.Н., Красильникова О.А. Состояние системы регенерации оксида азота в условиях карбонильного стресса у крыс // Украинський Біофармацевтичний Журнал. – №5 (10). – 2010. – С. 52–57.

3. Turk Z. Glycotoxines, carbonyl stress and relevance to diabetes and its complications // Physiol. Res. – 2010. – №2. – P. 147–156.

4. Лозінський Л.М., Семчишин Г.М. Біологічні аспекти неензиматичного глікозильовання // Укр. Біохім. Журнал. – 2012. – Т. 84, №5. – С. 16–37.

5. Amore A., Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis // Nephrol. Dial. Transplant. – 2002. – Vol. 17. – № 8. – P. 16–24.

6. Akhand A. A., Hossain K., Kato M. et al. Glyoxal and methylglyoxal induce aggregation and inactivation of ERK in human endothelial cells. Free radicals biology and medicine. – №31; 2001. – P. – 1228–1235.

7. Winchester, R.J., and Ross, G. Methods for enumerating lymphocyte populations in Manual of Clinical Immunology/ Rose, N. R., and Friedman, H. (Eds.), American Society for Microbiology, Washington, D.C. – 1976. – P. 64–76.

8. Бурлакова Е. Б., Конрадов А. А., Мальцева Е. Л. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов // Хим. физика. 2003. – Т. 22, № 2. – С. 21–40.

9. Tietz N.W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition WB Saunders Company, Philadelphia, PA. – 1995. – 374 p.

10. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник/Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р. П. и др.; Под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина. – 1987. – 368 с.

11. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабиц П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: МОРИОН. – 2001. – С. 143–144.

12. Ленинджер А. Основы биохимии. – М.: Мир, 1985. – Т. 1. – 367 с.

13. Рослый И. М., Водолажская М.Г. Правила чтения биохимических анализов: Руководство для врача. – М.: ООО "Издательство Медицинское информационное агентство". 2010. – 96 с.

14. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия: Учебник. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина. – 1998. – 704 с.

15. Казакова В. В., Елкина Н. М., Луцки Е. Г. и др. Характеристика интенсивности гликолиза и образования гликозилированной формы гемоглобина в эритроцитах при кардиомиопатии // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2011. – Т. 1, №2 (2). – С. 23–25.

Надійшла до редакційної колегії 13.03.14

С. Гирин, канд. биол. наук, І. Савинова, мл. науч. сотр., Н. Науменко, мл. науч. сотр., І. Антоненко, мл. науч. сотр.
ООО "Каскад-Медикал Референс-Лаборатория UBI" пгт. Глеваха Киевської області

ДЕЙСТВИЕ СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ГЛИОКСАЛЯ И МЕТИЛГЛИОКСАЛЯ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ И АЗОТИСТЫЙ ОБМЕН ЛИМФОЦИТОВ *in vitro*

Исследовали действие сверхнизких концентраций глиоксала ($1,29 \cdot 10^{-12}$ М) и метилглиоксала ($1,04 \cdot 10^{-12}$ М) на отдельные звенья энергетического и азотистого обменов лимфоцитов *in vitro* на протяжении 72 часов. Было показано, что данные активные карбонильные соединения вызывают достоверные изменения таких показателей, как альдолаза, лактатдегидрогеназа, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, пируват и экстрацеллюлярная глюкоза. Установлена обратная зависимость в скорости утилизации глюкозы, между опытными и контрольными культурами лимфоцитов. Выявлена активизация энергетического обмена при 3-х и 24-х часовом воздействии сверхнизких концентраций глиоксала и метилглиоксала.

Ключевые слова: сверхнизкие концентрации, энергетический и азотистый обмены, лимфоциты, *in vitro*.

S. Girin PhD., I. Savinova, jun.research., N. Naumenko, jun.research., I. Antonenko, jun.research.
"Cascade-Medical Reference Laboratory UBI" v.Glevaha Kiev region

THE INFLUENCE OF GLYOXAL AND METYL GLYOXAL'S ULTRA-LOW-CONCENTRATIONS ON ENERGY AND NITROGEN METABOLISMS OF LYMPHOCYTES *in vitro*

The effect of ultra low glyoxal ($1,29 \cdot 10^{-12}$ M) and methylglyoxal ($1,04 \cdot 10^{-12}$ M) concentrations on separate elements of energy and nitrogen metabolisms in lymphocytes was researched *in vitro* during 72 hours. It was indicated that these active carbonyl compounds cause significant changes of such indices as aldolase, lactic dehydrogenase, alanine aminotransferase, aspartate amino transferase, pyruvate, and extracellular glucose. Inverse relationship was established between glucose utilization speeds in test and control lymphocyte cultures. Energy metabolism activation was discovered in 3 and 24 hour exposures to ultra low glyoxal and methylglyoxal concentrations.

Keywords: ultra low concentrations, energy and nitrogen metabolisms, lymphocytes, *in vitro*.

УДК 615.065 / 616-007-053.1

О. Галушка, ст. науч. співроб., Т. Зазуляк, канд. біол. наук,
О. Кузьмінов, науч. співроб., О. Грушка, науч. співроб.,
І. Паздерська, науч. співроб.

Центральна науково-дослідна лабораторія та лабораторія промислової токсикології
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Львів

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ЛОРАТАДИНУ НА ВАГІТНИХ САМИЦЬ-ЩУРІВ

Встановлено, що антигістамінний препарат лоратадин при пероральному введенні упродовж 20 днів вагітності в дозах 1 мг/кг і 4,8 мг/кг маси тіла у вагітних самиць не викликає ембріотоксичного ефекту.

Ключові слова: лоратадин, ембріотоксичний ефект.

Вступ. Лоратадин широко використовується у медичній практиці як один з найефективніших антигістамінних засобів при лікуванні різної алергічної патології [1,2]. Препарат є блокаторм тривалої дії H1 – гістамінових рецепторів, пригнічує вивільнення гістаміну та

лейкотрієну C4 з опасистих клітин, попереджає розвиток і полегшує перебіг алергічних реакцій, зменшує проникність капілярів, попереджує розвиток набряку тканин, знімає спазми гладкої мускулатури. Протиалергічний ефект розвивається через 30 хв., досягає макси-