

– *Acroperus harpae* (480 екз./м³), *Alona affinis* (240 екз./м³), *Camptocercus rectirostris* (80 екз./м³), *Chydorus sphaericus* (2200 екз./м³), *Graptoleberis testudinaria* (80 екз./м³) і *Pleoroxus aduncus* (80 екз./м³); веслоногі – *Acanthocyclops viridis* (80 екз./м³), *Eucyclops serrulatus* (160 екз./м³), *Eurytemora velox* (80 екз./м³) і *Heteroscope caspia* (80 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Ostracoda (3840 екз./м³), Chironomidae (80 екз./м³) і Nematoda (3700 екз./м³).

На незарослій ділянці в конічну сітку потрапили представники всього 2 видів кладоцер: *Ch.sphaericus* (20 екз./м³) і *G. testudinaria* (20 екз./м³). Серед інших груп гідробіонтів зустрічались: Chironomidae (20 екз./м³), Diptera larva (40 екз./м³) і Nematoda (60 екз./м³).

Висновки. 1. Видовий склад зоопланктону Канівсько-го водосховища у весняний період 2006 року був представлений 42 видами. 2. Основні групи зоопланктону в межах 14 станцій мали різну представленість, але загалом по водосховищу вона була майже рівнозначною: коловертки – 15 видів, гіллястовусі ракоподібні – 14, веслоногі ракоподібні – 13. 3. Загалом щільність зоопланктону по водосховищу була низькою (до 1000 екз./м³), хоча в домінантів на окремих станціях

вона була середньою (від 1000 до 10000 екз./м³): Проміжна станція №1 – 5 видів, №2 – 1, №6 – 2, Базова станція V – 1 вид, VI – 1. 4. Тільки в межах незарослого біотопу Проміжної станції №4 домінант мав досить високу щільність (більше 10000 екз./м³) – *Heteroscope caspia* (17920 екз./м³).

1. Березина Н.А. Практикум по гидробиологии. – М.: Агропромиздат, 1989. – 208 с. 2. Беспозвоночные и рыбы Днепра и его водохранилищ / Зимбалевская Л.Н., Сухойван П.Г., Черногоренко М.И., Гусынская С.Л. и др. – К.: Наук. думка, 1989. – 248 с. 3. Денисова А.И. Формирование гидробиологического режима водохранилищ Днепра и методы его прогнозирования. – К.: Наук. думка, 1979. – 292с. 4. Жадин В.Н. Методы гидробиологического исследования. – М.: Высшая школа, 1960. – 192 с. 5. Кутикова Л.А. Коловратки фауны СССР. – Л.: Наука, 1970. – 744 с. 6. Мануйлова Е.Ф. Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР. – М. – Л.: Наука, 1964. – 327с. 7. Монченко В.И. Щелепнороті циклоподібні, циклопи. – К.: Наукова думка, 1974. – 450 с. – (Фауна України; Т. 27, вип. 3). 8. Монченко В.И. Свободоживущие циклопообразные копеподы Понто-Каспийского бассейна. – К.: Наукова думка, 2003. – 351 с. 9. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 287 с. 10. Трохимец В.М., Алексієнко В.Р., Серебряков В. В. Методика вивчення розподілу і поведінки зоопланктону та молоді риб у прибережній зоні водоем // Вісник Київського університету (Біологія). – 2001. – № 34. – С. 23 – 26.

Надійшла до редколегії 04.06.09

УДК: 616.34-002

Г. Толстанова, канд. біол. наук

ЛОКАЛІЗАЦІЯ VEGF В ТОВСТІЙ КИШЦІ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ КОЛІТІ

Встановлено, що в нормі основним джерелом VEGF білку є ендотеліальні клітини кровоносних судин, якими добре васкуляризована стінка товстої кишки. При розвитку запального процесу, за умов експериментального виразкового коліту – епітеліальні клітини слизової оболонки товстої кишки та інфільтровані лейкоцити.

The main source of VEGF in normal colon is the endothelial cells of blood vessels which vascularized colonic wall. Development of inflammatory process during experimental ulcerative colitis associated with increased expression of VEGF by epithelial cells and infiltrated leucocytes.

Вступ. VEGF-A – це високо-специфічний фактор росту ендотелію, який стимулює проліферацію, міграцію ендотеліоцитів, формування кровоносної трубки та проникність кровоносних судин, вважається, що саме VEGF-A відіграє провідну роль в патологічному ангіогенезі [3, 4]. VEGF-A належить до родини VEGF, що складається з 5 членів: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, фактору росту плаценти (PlGF) [3]. Всі вони мають загальну структуру по восьми цистеїновим залишкам та опосередковують свою дію через VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR/Flk-1) та VEGFR-3 (Flt-4). VEGFR-1 та VEGFR-2 мають найбільшу спорідненість до VEGF-A. Існують 4 різні ізоформи VEGF-A: VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆ у людей, яким відповідають VEGF₁₂₀, VEGF₁₆₄, VEGF₁₈₈, VEGF₂₀₅ у мишей. VEGF₁₆₅ являється домінуючою формою та часто під VEGF мається на увазі саме VEGF₁₆₅. При запальному процесі VEGF може бути синтезований різними типами клітин, а саме: ендотеліальними, гладко-м'язовими, епітеліальними клітинами, а також макрофагами, нейтрофілами, тромбоцитами, фібробластами, активованими Т лімфоцитами [4, 8].

Роботами останніх років, а також нашими дослідженнями [1, 5, 10] було знайдено позитивна кореляція між експресією VEGF та загостренням протікання хвороби у хворих на запальні захворювання кишечника (ЗЗК) та експериментальних моделях ЗЗК. Ми показали, що у ІЛ-10 нокаутованих мишей, у яких ЗЗК виникає спонтанно та характеризується хронічним протіканням та погіршенням стану з віком, відбувається прямо пропорційне підвищення експресії білку та mРНК VEGF з віком тварини [1]. Не дивлячись на, чисельність даних, щодо підвищеного рівня VEGF при ЗЗК, відомості про його клітинну локалізацію обмежені, також відсутні дані, щодо визначення клітин, які є основним джерелом VEGF при ЗЗК [6, 11]. Мета роботи: дослідити імуногістохімічну локалізацію VEGF в слизовій оболонці товстої кишки

щурів та визначити індекси ступеню прояву позитивного забарвлення на VEGF різними типами клітин в процесі розвитку запалення при експериментальному коліті.

Об'єкт та методи дослідження. Дослідження проведено на щурах самицях лінії Sprague-Dawley вагою 160-200 г. Виразковий коліт викликали одноразовим ректальним введенням 0,1 мл 6%-го розчину йодоацетаміду (Sigma, США) розчиненого в 1%-ному розчині метилцелюлози (Sigma, США) (7 см від анального отвору, використовуючи гумовий катетер S8 (Rüsch, Німеччина)), контрольній групі тварин вводили 0,1 мл 1%-го розчину метилцелюлози [9]. Щурів уживали через 0,5 та 6 год. після введення ІА, видаляли ділянку товстої кишки 7 см від анального отвору та фіксували у 10% буферному формаліні. Зафіксований сегмент товстої кишки обробляли за традиційними гістологічними методами для виготовлення парафінових зрізів.

Імуногістохімічне забарвлення виконували на парафінових зрізах товстої кишки товщиною 3 мкм. Зрізи депарафінізували, обезводнювали та блокували ендогенні пероксидази 3% H₂O₂/H₂O. Відновлення епітопів здійснювали шляхом підігрівання в мікрохвильовій печі використовуючи Dako відновлюючий розчин pH=10.00 (BD Pharmingen, США). Охолодженні зрізи інкубували 12 год. при температурі 4°C з первинним антитілом проти VEGF-A (1:200; Santa Cruz Biothec., США). В якості вторинного антитіла використовували біотинильоване антитіло, з наступною інкубацією в стрептавідин-біотином мічені пероксидази. Для детекції використовували ABC (авідин-біотин-пероксидаза комплекс) метод. Для визначення специфічності первинного антитіла, виконували імуноабсорбцію антитіла як контроль. Імуногістохімічно забарвлені ділянки товстої кишки аналізували на системному мікроскопі Olympus CX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія). Позитивно забарвлені клітини рахували при збільшенні x 400. В кожному пре-

© Толстанова Г., 2010

параті аналізували не менше 5-ти полів зору. Для оцінки результатів імуногістохімічного дослідження тканини на наявність та характер локалізації VEGF білку нами було запропоновано визначення індексів ступеню прояву позитивного забарвлення тканинних структур на зазначений глікопротеїн. Індеси являли собою відношення відсоткового вмісту (%) позитивно забарвлених елементів до відповідних елементів, але з негативним забарвленням. Таким чином підраховували зазначені індекси для епітеліоцитів ($I_{\text{епітеліоцити}}$), лейкоцитів ($I_{\text{лейкоцити}}$) та ендотеліоцитів як структурних елементів судин слизового та підслизового шарів ($I_{\text{ендотелій}}$). Так, $I_{\text{епітеліоцити}} = \% \text{ VEGF-позитивних стовпчастих епітеліоцитів} / \% \text{ VEGF-негативних стовпчастих епітеліоцитів}$; $I_{\text{ендотелій}} = \% \text{ VEGF-позитивних судин} / \% \text{ VEGF-негативних судин}$;

$I_{\text{лейкоцити}} = \% \text{ VEGF-позитивних лейкоцитів} / \% \text{ VEGF-негативних лейкоцитів}$.

Статистичну обробку результатів проводили за t -тестом Ст'юдента. Дані представлені у вигляді $M \pm \sigma$, n – кількість тварин у групі. Статистично значущою для всіх показників вважали різницю $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. В результаті проведеного імуногістохімічного дослідження тканини товстої кишки ми констатували, що особливості синтезу та локалізації VEGF білку корелюють з рівнем функціональної активності зазначеної тканини, а отже відрізняються в нормі та на різних стадіях перебігу запального процесу при експериментальному виразковому коліті. Після введення метилцелюлози (контрольна група) нами відмічалася переважно ендотеліальна локалізація VEGF протеїну (рис. 1Б).

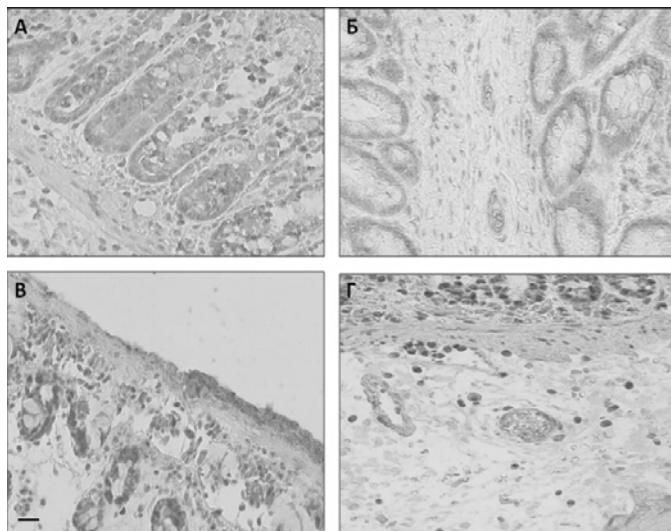


Рис. 1. Імуногістохімічна локалізація VEGF в стінці товстої кишки щурів в різний термін йодоацетамід-викликаного виразкового коліту. А-негативний контроль; Б – 1% метилцелюлоза (норма); 0,5 год. (В) та 6 год. (Г) після введення йодоацетаміду. $n=5$; $X200$, лінійка=25 мкм

Однак, треба відмітити, що ендотеліальні клітини далеко не всіх судин характеризувалися позитивним забарвленням на зазначений білок. Так, індекс ступеню прояву позитивного забарвлення на VEGF для даної локалізації ($I_{\text{ендотелій}}$) склав $1,27 \pm 0,023$. Іншими словами, в середньому лише 56% судин характеризувалися наявністю ендотеліоцитів, які синтезували VEGF. В той же час в кожному препараті відмічалися поодинокі лейкоцити з позитивним забарвленням на зазначений глікопротеїн, при цьому відповідний індекс ($I_{\text{лейкоцити}}$) склав в середньому $0,14 \pm 0,072$ при межах коливання індивідуальних показників від 0,10 до 0,47. Внутрішньоепітеліальна локалізація VEGF характеризувалася коливанням показника $I_{\text{епітеліоцити}}$ від 0 (86% препаратів) до 0,08 (14% випадків), що в середньому становило $0,011 \pm 0,003$. При цьому, виходячи з інтенсивності забарвлення, епітеліальні клітини характеризувалися повільним, неактивним синтезом зазначеного глікопротеїну.

На відміну від попередньої групи, при дослідженні тканини товстої кишки через 0,5 год. після введення йодоацетаміду нами було документовано переважно внутрішньоепітеліальну локалізацію VEGF (рис. 1В) зі значенням відповідного індексу – $2,8 \pm 0,004$ ($p \leq 0,5$, відносно контролю). Однак внутрішньоендотеліальна локалізація VEGF також мала місце в усіх досліджених препаратах, проте відповідний індекс був вірогідно нижчим – $0,69 \pm 0,011$ ($p \leq 0,05$, відносно контролю). Крім того, всі препарати зазначеної групи тварин характеризувалися достовірним збільшенням кількості лейкоцитів з позитивним забарвленням на VEGF. Індекс прояву

відповідного забарвлення лейкоцитів при межах коливання від 0,72 до 3,1 в середньому дорівнював $1,56 \pm 0,048$ ($p \leq 0,05$, відносно контролю). Це означає, що майже дві третини всієї популяції лейкоцитів (в середньому 61% клітин) характеризувалися синтезом VEGF.

Імуногістохімічна картина стінки товстої кишки через 6 год. після введення йодоацетаміду виразно відрізнялася від такої попередньої досліджуваної групи за рахунок зміни локалізації VEGF білку. Так, якщо у групі тварин, взяття матеріалу яких відбувалося через 0,5 год. після введення йодоацетаміду, VEGF локалізувався переважно в стовпчастих епітеліоцитах, то через 6 год. відповідно ми відмічали його локалізацію здебільшого в поліморфноядерних лейкоцитах, кількість яких помітно зростає у цей період (рис. 1Г). Так, $I_{\text{лейкоцити}}$ при межах коливання від 4,9 до 10,1 в середньому склав $7,3 \pm 0,026$ ($p \leq 0,05$, відносно 0,5 год. після введення йодоацетаміду). Відповідний індекс для епітеліоцитів при загальному зменшенні кількості зазначених клітин на одиницю площі був дещо нижчим попередньої досліджуваної групи та становив $2,0 \pm 0,091$. Достовірно зменшувався також індекс ступеня прояву позитивного забарвлення ендотеліоцитів на VEGF – в середньому $0,35 \pm 0,007$ ($p \leq 0,05$, відносно 0,5 год. після введення йодоацетаміду).

Отримані нами дані, щодо збільшення експресії VEGF білку інфільтрованими лейкоцитами при 33К, співпадають з даними інших авторів. Так, Гріга та співав. [5] показали, що моноцити пацієнтів з активною формою хвороби Крона чи виразкового коліту продуку-

ють значно більше VEGF в порівнянні з цим показником в період ремісії. Цією ж групою дослідників [6] було встановлено кореляція між імуністохімічним забарвленням для лейкоцитів та VEGF. Відомо, що VEGF, окрім про-ангіогенних властивостей, здатний стимулювати експресію молекул адгезії лейкоцитів і тим самим сприяти акумулюванню лейкоцитів та їх інфільтрації [7]. Отже за умов ЗЗК, створюється своєрідне замкнене коло, коли збільшена експресія VEGF лейкоцитами сприяє ще більшій їх інфільтрації, що призводить спочатку, до пролонгування, а в решті решт, хронізації процесу запалення. Також, ми спостерігали вірогідне збільшення експресії VEGF колоноцитами в перші години розвитку запалення, коли за нормальних умов VEGF переважно експресується ендотеліоцитами. На користь наших даних є дослідження на культурах клітин кишечника (T84, LS174, Caco2/TC7 та INT407) в яких інфікування клітин *E. coli* штамм C1845 призводило до збільшення експресії VEGF білку та мРНК [2].

Висновки. 1. За нормальних умов, основним джерелом VEGF білку є ендотеліальні клітини судин, якими добре васкуляризована стінка товстої кишки. 2. При розвитку запального процесу за умов експериментального виразкового коліту, збільшується експресія VEGF епітеліальними клітинами слизової оболонки товстої кишки та інфільтрованими лейкоцитами.

Подяка Танасійчук І.С. (Інститут сорбції і проблем ендоекології НАН України, лабораторія ендоекології та техногенно-індукованої патології) за допомогу при підготовці статті.

Виконана за рахунок гранту президента України (розпорядження від 17.11.2008р. № 319/2608-рп "Про призначення грантів

Президента України для обдарованої молоді на 2009 рік"). Проект здійснено за кошти гранту.

1. Толстанова Г.М., Берегова Т.В., Остапенко Л.І. Зміни експресії васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) та VEGFR-2 рецептора при експериментальних запальних захворюваннях кишечника // *Фізика живого*. – 2009. – Т.17, №1. – С.150-154.
2. Cane G., Moal V.L., Pagès G., Servin A.L., Hofman P., Vouret-Craviari V. Up-regulation of intestinal vascular endothelial growth factor by Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli* // *PLoS ONE*. – 2007. – Vol. 2. – P. 1359.
3. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress // *Endocr Rev*. – 2004. – Vol. 25. – P. 581-611.
4. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors // *Nat Med*. – 2003. – Vol. 9. – P. 669-676.
5. Griga T., Gutzeit A., Sommerkamp C., May B. Increased production of vascular endothelial growth factor by peripheral blood mononuclear cells in patients with inflammatory bowel disease. // *Eur J Gastroenterol Hepatol*. – 1999. – Vol.11. – P. 175-179.
6. Griga T., May B., Pfisterer O., Müller K.M., Brasch F. Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor in colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease // *Hepatogastroenterology*. – 2002. – Vol. 49. – P. 116-23.
7. Kim I., Moon S.-Ok, Park S.K., Chae S.W., Koh G.Y. Angiopoietin-1 Reduces VEGF-Stimulated Leukocyte Adhesion to Endothelial Cells by Reducing ICAM-1, CAM-1, and E-Selectin Expression // *Circ Res*. – 2001. – Vol. 89. – P. 477-479.
8. Mor F., Quintana F.J., Cohen I.R. Angiogenesis-inflammation cross-talk: vascular endothelial growth factor is secreted by activated T cells and induces Th1 polarization // *J Immunol*. – 2004. – Vol. 172. P. 4618-2623.
9. Satoh H., Sato F., Takami K., Szabo S. New ulcerative colitis model induced by SH blockers in rats and the effects of antiinflammatory drugs on the colitis. // *Jpn J Pharmacol*. – 1997. – Vol. 73. – P. 299-309.
10. Scaldaferrì F., Vetrano S., Sans M., Arena V., Straface G., Stigliano E., Repici A., Sturm A., Malesci A., Panes J., Yla-Herttuala S., Focchi C., Danese S. VEGF-A links angiogenesis and inflammation in inflammatory bowel disease pathogenesis // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 136. – P. 585-595.
11. Tsiolakidou G., Koutroubakis I.E., Tzardi M., Kouroumalis E.A. Increased expression of VEGF and CD146 in patients with inflammatory bowel disease // *Dig Liver Dis*. – 2008. – Vol. 40. – P. 673-679.

Надійшла до редколегії 25.05.09

УДК 612.821.83; 612.821

Т. Куценко, канд. біол. наук, Н. Філімонова, канд. фіз.-мат. наук, О. Новицька, студ.

ЕФЕКТ НАВЧАННЯ ПРИ БАГАТОРАЗОВОМУ ПРОХОДЖЕННІ ЕМОЦІЙНОГО СТРУП-ТЕСТУ

При багаторазовому проходженні емоційного Струп-тесту із введеним гальмівним подразником ефект навчання проявляється внаслідок поступового зменшення часу реакції на нейтральні подразники, як менш біологічно значущі для організму, тоді як час реакції на емоційні подразники залишається незмінним внаслідок їх вищої біологічної значущості.

Under multiple performance of emotional Stroop test with inhibiting stimulus training effect appears due to successive decrease of reaction time on neutral stimuli as less biologically significant to the organism, while reaction time on emotional stimuli remain without changing due to their higher biological significance.

Вступ. Суть дослідження ефекту Струпа полягає у тому, що обстежуваному подається слово, яке означає певний колір, написане або відповідним кольором (напр., "червоне" – червоним), або білим кольором (нейтральне), або невідповідним кольором ("червоне" – зеленим). При співпадінні семантичного значення і кольору реакції здійснюються найшвидше, при неспівпадінні – найповільніше, при реагуванні на нейтральні подразники латентний період реакції (ЛП) займає проміжне значення. В оригінальному тесті була використана дещо інша методика [9], але саме явище, яке полягає у інтерференції або підсиленні інформаційних потоків, від цього не змінюється. Емоційний ефект Струпа за своїми механізмами, ймовірно, дещо відрізняється від звичайного ефекту Струпа [6]. В будь-якому випадку, і в емоційних Струп-тестах спостерігається взаємодія декількох потоків інформації. Ідея базується на тому, що емоційно значуща інформація довгий час обробляється в нейронних мережах, оскільки вона зачіпає значущі для організму стимули, на відміну від нейтральних [6, 8, 10]. У осіб із різним рівнем креативності інформація теж по-різному обробляється в емоційних системах мозку [7]. Нейронні мережі у осіб із високим рівнем креативності більш розгалужені, що дозволяє генерувати більшу кількість ідей. Особливості тесту, який був нами

використаний для дослідження емоційного ефекту Струпа [2], полягають в тому, що обстежуваний має аналізувати значення слів, на які він реагує, віддиференціюючи гальмівний подразник. Отже, в даному випадку активована когнітивна компонента, яка може пригнічувати емоційну. Нами було показано, що введення гальмівного подразника при дослідженні ефекту Струпа пригнічує цей ефект, і при першому проходженні тесту він не проявляється; при повторних проходженнях тесту емоційний ефект Струпа було виявлено лише для висококреативних обстежуваних [4]. Але постає питання: за рахунок чого проявляється ефект Струпа при його чотириразовому проходженні – за рахунок зміни ЛП реакції на нейтральні подразники, на емоційні подразники, чи на ті і інші? Вирішенню цього питання і присвячена дана стаття.

Об'єкт і методи. Обстежено 60 студентів біологічного факультету віком 18 – 22 роки, 30 чоловіків та 30 жінок. Обстеження проводились за наступними тестами: тест на вербальну креативність "Трійки слів" [1] та тест на вербальну креативність "Незвичне використання предмету" [5]. Для складання каталогу відповідей для тестів "Трійки слів" та "Незвичне використання" було обстежено 128 студентів біологічного факультету віком 18 – 22 роки. Каталог відповідей складався з ме-