

Неоднакова чутливість різних видів роду *Chlamydomonas* до дії біхромату калію, може бути пов'язана з різними розмірами їх фоторецепторних систем, що є мішенями, відповідаючими за ураження рухливих реакцій. При характеристиці фоторецепторного апарату цих видів *Chlamydomonas* слід враховувати можливі існуючі відмінності у товщині пігментованих та непігментованих шарів, а також оточеного мембраною тилакоїду, що прилегає до внутрішньої поверхні кожного пігментованого шару стигми. Аналізуючи аналогічні зміни відмічені для різних видів роду *Dunaliella* вважають [5], що різниця на внутрішньому рівні не торкається структурних особливостей фоторецепторних систем, а також механізмів фоторецепції, сенсорного перетворення світлового сигналу та рухливих реакцій, а є наслідком з одного боку екологічних адаптацій, з другого може бути пов'язана з розмірними характеристиками клітин та їхніх органел. Враховуючи структуру стигми у представників роду *Chlamydomonas* можна передбачити, що крім модуляційного механізму, суттєву роль в їх виживанні може відігравати інтерференція світлового потоку [9] й комплекс фотобіологічних процесів.

Висновки. Отримані експериментальні дані свідчать про специфічність реакції різних видів роду *Chlamydomonas* до дії біхромату калію. Найбільш стійким виявився *Chl. aculeata*. Ступінь токсичності біхромату калію суттєво змінювалась: чим довшим був час контакту, тим суттєвіше проявлялася негативна реакція водорості. Утворення краплин олії у нестійкого виду *Chl. pilschmannii* свідчило про прискорення старіння клітин та сильне їх пошкодження токсичною речовиною.

УДК 616.384.015.46.07:616.155.32

Можливо цей механізм можна розглядати, як захисну реакцію до дії несприятливих факторів довкілля.

В цілому слід зазначити, що вивчення особливостей фоторуху водоростей представляє безперечний інтерес для вивчення їх екології та географії, особливо для аутоекології. Подальші роботи в цьому напрямку дозволять уточнити характеристики окремих видів, стосовно їх відношення до параметрів світла, визначення оптимумів, максимумів та мінімумів факторів довкілля для параметрів фоторуху різних видів. Це буде використовуватись при застосуванні розділення водоростей на групи тінюлюбивих та світлолюбивих, тінювитривалих та світлостійких організмів, а також допоможе більш глибокому розумінню закономірностей їх розподілу на планеті Земля та можливостей виживання в різних умовах середовища.

1. Бегма А.А., Власенко В.В., Мацківський В.И. и др. Устройство для измерения параметров движения клеток. А.с. № 1782125, 1992.
2. Брянцева Ю.В., Лях А.М., Сергеева А.В. Расчет объемов и площадей поверхности одноклеточных водорослей Черного моря. – Севастополь, 2005.
3. Дмитриева А.Г., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. Физиология растительных организмов и роль металлов. – М., 2002.
4. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. – К., 2000.
5. Масюк Н.П., Посудин Ю.И., Лулицкая Г.Г. Фотодвижение клеток *Dunaliella* Teod. (*Dunaliellales*, *Chlorophyceae*, *Viridiplantae*). – К., 2007.
6. Паршикова Т.В. Поверхнево-активные речовини як фактор регуляції розвитку водоростей. – К., 2004.
7. Суренко Л.А., Рыбак Н.В., Паршикова Т.В. Коллекция живых культур микроскопических водорослей (акроним коллекции HPDP). – К., 2005.
8. Barsanti L., Gualtieri P. Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. – Boca Raton, 2006.
9. Hegemann P., Fischer M. Algal Eyes // Encyclopedia of Life Science. – Macmillan, 2001.

Надійшла до редколегії 24.12.07

С. Демидов, д-р біол. наук,
Н. Дергай, пров. інж.,
С. Шкляр, пров. інж.,
К. Скрипка, пров. інж.

ВПЛИВ ТИМАГЕНУ, ТИМАЛІНУ, ВИЛОЗЕНУ НА СИСТЕМУ ВТОРИННИХ ПОСЕРЕДНИКІВ ПРИ РОЗВИТКУ АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ

*Вивчався вплив препаратів тимуса на систему циклічних нуклеотидів при сенсibiliзації і анафілактичному шоці.
It was explored influence of thymus preparations on cyclic nucleotides system under sensibilization and anaphylactic shock.*

Виявлено, що тималін, тимоген і вилазен змінюють внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів який виражається в зниженні співвідношення цАМФ/цГМФ яке приводить до активації метаболізму імунокомпетентних клітин, що веде до проліферації і диференціювання Т-лімфоцитів. При анафілактичному шоці введення препаратів з тимуса приводить також до перерозподілу циклічного нуклеотида, в результаті чого підвищується функціональна активність супресорних нуклеотидів.

Вступ. Епідеміологічне обстеження з оцінкою імунологічного статусу населення спрямовано на ранню діагностику імунозалежних патологічних станів на донозологічному етапі [1]. Мета наших досліджень виявлення змін імунної системи, які передують розвитку патологічних станів. При вивченні молекулярного механізму дій тималіну встановлено, що його вплив опосередковується змінами внутріклітинного вмісту циклічних нуклеотидів і активності ферментів анаболізму і катаболізму циклічних нуклеотидів [2]. З літератури відомо, що експресія специфічних рецепторів на поверхню Т-лімфоцитів пов'язана з збільшенням рівня цАМФ, що слугує пусковим механізмом, який визначає диференціювання Т-лімфоцитів.

Таким чином, активація ферментів і наступний комплекс цАМФ-залежних метаболічних процесів є першими біохімічними ланцюгами в процесі придбання клітинною імунокомпетентності [3].

Раніше нами було показано, що препарати з тимуса стимулюють імунологічну реактивність Т-лімфоцитів при ГНТ. Такий ефект може бути зумовлений зміною активності процесів метаболізму в клітині, а також основних регуляторних систем. Як відомо регуляція ефектів, викликаних дією різних біологічно активних речовин, гормонів, фармакологічних засобів, опосередкована системою циклічних нуклеотидів і Ca^{2+} обміну. Очевидно, що активація Т-лімфоцитів буде здійснюватися за участю універсальної системи регуляції – системи циклічних нуклеотидів. У зв'язку з вищезгаданим нам здалося цікавим вивчення впливу препаратів тимуса на систему циклічних нуклеотидів при сенсibiliзації і анафілактичному шоці.

Матеріали і методи. Дослід проведений на 240 мурчаках вагою 250 ± 25 г (самця). Т-лімфоцити селезінки розділяли на колонках з нейлоною ватою за методом [4]. Внутріклітинний вміст цАМФ та цГМФ визначали за допомогою наборів Amersham (Англія).

В групу "контроль 1" увійшли інтактні мурчаки, які на протязі досліду та в попередній період не отримували яких-небудь впливів.

Другу групу "контроль 2" складали сенсibilізовані тварини, третю "контроль 3" – тварини у яких було викликано анафілактичний шок, четверту – тварини які були сенсibilізовані з послідовним введенням препаратів з тимуса, п'яту – тварини у яких був викликаний анафілактичний шок, які отримували препарати з тимуса. Препарати з тимуса вводили тваринам на протязі 10 днів після сенсibilізації, в дозах: тималін – 0,2 мг/кг, тимоген – 0,02 мг/кг, вілозен – 2мг/кг.

Для розвитку стану сенсibilізації мурчакам одноразово вводили кінську сироватку по 0,5 мл під шкіру. Тварин забивали на 21 день сенсibilізації. Анафілактичний шок у імунізованих тварин відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення 2 мл кінської сироватки. Тварин забивали через 30 хвилин після введення кінської сироватки.

Визначення внутріклітинного вмісту цАМФ та цГМФ.

Внутріклітинна концентрація циклічних нуклеотидів виявляється радіоімуносорбентним способом, використовуючи набори, виготовлені фірмою Amersham (Англія). Єство вказаного метода виявляється в інкубації досліджуваних зразків з відомою кількістю міченого ^3H – цАМФ чи ^3H – цГМФ та акцептуючих білків чи антитіл. Комплекс, що утвориться (циклічний нуклеотид- акцептуючий білок) відокремлюють від вільного нуклеотида за допомогою активуючого вугілля чи розчину сульфата амонію 60% насичення.

Сипаровані Т- та В –лімфоцити (10^7 клітин в мл) інкубують в середовищі Ігла 500 мкл, рН 7,2, яка містить різні концентрації досліджуваних препаратів. Зразки центрифугують при 150g 10 хвилин, до осаду додають розчин, який містить 50 мМ Трис НСІ, 4 мМ ЄДТА, рН 7,5 і витримують 3 хв. в киплячій водяній бані. Денатуровані частки видаляють центрифугуванням при 260g 15 хв. Супернатант зберігають при -20°C і використовують для виявлення цАМФ та цГМФ.

Порядок визначення цАМФ проводять згідно рекомендації в специфікації до набору. Серію пробірок одноразового застосування розміщують в льодовій бані ($2-4^\circ\text{C}$). В перші дві додають 150 мкл буфера. Вони слугували контролем для визначення радіоактивного фону. В 3-4 пробірки вносили по 50 мкл буфера. Ці проби необхідні для визначення зв'язування міченого нуклеотида у відсутності не міченого стандартного нуклеотида.

В кожному парі десяти наступних пробірок з 5-ї по 14-у вносять по 50 мкл розчину стандартного неміченого цАМФ в розведеннях: 16, 8, 4, 2, 1 пікомоль. Починаючи з 15-ї, в кожні пару додають по 50 мкл досліджуваного зразка. У всі пробірки починаючи з третьої, додають по 50 мкл ^3H – цАМФ, а потім по 100 мкл зв'язуючого білку. Пробірки закривають пробками і перемішують їх вміст перекиданням (5 сек.). Штатив розміщують в холодильнику при $2-4^\circ\text{C}$ на дві години. Потім до всіх пробірок на холоді додають по 100 мкл водяної суспензії активованого вугілля, попередньо охолодженої і ретельно перемішаної за допомогою магнітної мішалки. Для осадження вугілля, адсорбуючого не зв'язаний з білком цАМФ, проби центрифугують при 1000g 5 хв. і відбирають по 200 мкл надосадкової рідини у флаконі з сцинтиляційною рідиною (ЖС –8). Радіоактивність вимірюють на рідинному сцинтиляційному лічильнику СБС –2. За допомогою побудованого калібрувального графіка визначають рівень цАМФ у всіх досліджуваних зразках, перераховують на кількість клітин у кожному зразку і проводять статистичну обробку результатів.

Методика визначення цГМФ дотримують описаної вище, з тією різницею, що розподіл комплексу цГМФ–антисироватка від вільного нуклеотида проводили сульфатом амонію 60% насичення. Проби центрифугують при 1000g 10 хв., до осаду додають 1,1 мл води і переносять 1 мл аліквоти в сцинтиляційні флакони с ЖС – 8.

Результати та їх обговорення. В результаті проведених експериментів, встановлено, що введення тималіну, тимогену та вілозену приводить до незначного перерозподілу внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів Т-лімфоцитів селезінки мурчаків (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив тималіна, тимогена і вілозена цАМФ і цГМФ в Т-лімфоцитах селезінки мурчаків при сенсibilізації і анафілактичному шоці (пмоль цАМФ чи цГМФ $\times 10^7$ кл.)

Групи спостереження	№ пп	цАМФ	цГМФ	цАМФ/цГМФ
Інтактні тварини	1	23,40 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,4	5,2
	2	26,9 $\pm$ 0,2 ^х	5,5 $\pm$ 0,08 ^х	4,9
	3	27,6 $\pm$ 0,1 ^х	6,0 $\pm$ 0,1 ^х	4,6
	4	25,0 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 0,08	5,0
Сенсibilізовані тварини	1	31,2 $\pm$ 0,2	8,2 $\pm$ 0,08	3,8
	2	89,1 $\pm$ 5,4 ^х	17,8 $\pm$ 0,3 ^х	3,2
	3	90,64 $\pm$ 2,9 ^х	32,5 $\pm$ 0,7 ^х	3,0
	4	45,0 $\pm$ 1,1 ^х	15,0 $\pm$ 0,08 ^х	3,4
Тварини з викликаним анафілактичним шоком	1	28,9 $\pm$ 0,3	6,9 $\pm$ 0,1	4,2
	2	74,5 $\pm$ 0,1 ^х	20,7 $\pm$ 0,1 ^х	3,6
	3	84,7 $\pm$ 1,5 ^х	24,9 $\pm$ 1,04 ^х	3,4
	4	43,9 $\pm$ 1,3	10,2 $\pm$ 0,08 ^х	4,3

Примітка: 1-тварини які не отримали препарат; Х- достовірність розбіжностей в контрольній і дослідній групі складала $p < 0,05$.

З метою оптимізації оцінки дії препаратів з тимуса на вміст циклічних нуклеотидів Т-лімфоцитів селезінки тварин, а також для порівняння ступеня впливу тималі-

на, тимогена і вілозена на зміну складу циклічних нуклеотидів у клітині ми використали відношення, яке називається індексом стимуляції (I_c).

$$I_c = \frac{\text{цАМФ/цГМФ}_{\text{нестимульованих клітин}}}{\text{цАМФ/цГМФ}_{\text{Т-лімфоцитів стимульованих препаратами}}}$$

Індекс стимуляції при введенні тималіна дорівнює – 1,06, тимогена-1,13, вілозена – 1,04. Як видно з наведених даних, препарати із тимуса одно направлено діють на характер змін внутріклітинної концентрації ци-

клічних нуклеотидів, змінюючи відношення цАМФ/цГМФ в бік його зменшення. Це приводить до активації процесів метаболізму у Т-лімфоцитах з послідовною проліферацією і диференціровкою.

При вивченні перерозподілу внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів в умовах імунізації тварин кінською сироваткою встановлено, що рівень цАМФ збільшувався на 133%, а рівень цГМФ в Т-лімфоцитах збільшувався на 182%. Такий перерозподіл вмісту циклічних нуклеотидів приводить до зниження співвідношення цАМФ/цГМФ з 5,2 у інтактних до 3,8 у сенсibilізованих тварин, що вказує на активацію метаболічних процесів у Т-лімфоцитах специфічним антигеном (табл. 1).

Введення препаратів з тимуса приводить до ще більшого зниження співвідношення цАМФ/цГМФ. Так, введення тималіну приводить до зниження співвідношення до 3,2, тимогена до 3,0, вілозена до 3,4, що свідчить про активацію процесів метаболізму в імунотентних клітинах.

Дозволяючи введення кінської сироватки приводить тварин до анафілактичного шоку і супроводжується також зміною складу циклічних нуклеотидів у всіх вивчаємих групах (табл.1).

При оцінці індексу стимуляції, яка дозволяє порівняти ступінь змін внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів встановлено, що найбільшою активністю володіють тималін і тимоген, меншою – вілозен (табл.2).

Таблиця 2. Вплив тималіна, тимогена і вілозена на індекс стимуляції в Т-лімфоцитах селезінки мурчаків при сенсibilізації і анафілактичному шоці

Групи спостережень	№ п/п	Індекс стимуляції
Сенсibilізовані тварини	1	1,4
	2	1,6
	3	1,8
	4	1,5
Тварини з викликанням анафілактичним шоком	1	1,2
	2	1,5
	3	1,5
	4	1,2

УДК 576.311.347:612.353

Фізіологічне значення цього показника зводиться до того, що підвищення його відповідає активації Т-лімфоцитів. В наших дослідженнях кінська сироватка значно змінює внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів. Застосування препаратів приводить до збільшення рівня цАМФ та цГМФ у всіх досліджених групах тварин. Такий перерозподіл циклічних нуклеотидів веде до зниження співвідношення цАМФ/цГМФ, що свідчить про активацію процесів метаболізму у Т-лімфоцитах.

Висновки. Таким чином, тималін, тимоген і вілозен змінюють внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів, що виражається в зниженні співвідношення цАМФ/цГМФ, який приводить до активації метаболізму імунотентних клітин, що приводить до проліферації і диференціюванню Т-лімфоцитів. Фізіологічне розуміння активації метаболічних процесів Т-лімфоцитів при анафілактичному шоку полягає в перерозподілі субпопуляційного складу Т-лімфоцитів в бік збільшення ефektorної ланки імунотентних клітин.

Тималін при впливі на Т-лімфоцити збільшує рівень цАМФ в незрілих клітинах і практично не змінює його в диференційованих лімфоцитах, при чому рівень цАМФ збільшується тільки до рівня диференційованих лімфоцитів.

1. Орадовская И.В., Пинегина Б.В. // Иммунология. – М. – 1990, №2, с. 70–72. 2. Михалевич В.С., Гриценко Б.И., Яненко В.М., Атеев К.М., Голлинг О.В., Демидов С.В., Костромин А.П. // Моделирование функционирования развивающихся систем с изменяющейся структурой: Сб. научн. труд. – К., 1989. – с. 56–78. 3. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Некрасов А.В. и др. // Иммунология. – 2000, №3. – с. 63–66. 4. Ткачук В.А., Лазаревич В.Г., Мельников М.Ю., Северин В.С. // Биохимия. – 1978. – 4, № 9. – с. 1622–1620.

Надійшла до редколегії 23.02.08

К. Дворченко, канд. біол. наук,
У. Савко, студ.,
О. Бервен, студ.,
С. Вакал, студ.

НЕСПЕЦИФІЧНА ПРОНИКНІСТЬ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ МЕМБРАН КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ

Встановлено зростання неспецифічної проникності мембран мітохондрій клітин слизової оболонки шлунка за умов обох моделей експериментальної виразки.

The increase of permeability transition of mitochondria membranes of gastric mucosa cells fixed at both models of an experimental ulcer.

Вступ. Провідне місце серед захворювань травної системи займає виразкова хвороба шлунка. При розвитку виразкового процесу на рівні клітин порушується система функціонування фізико-хімічних та біохімічних процесів. Важливе значення в патогенезі виразкової хвороби відіграють зміни енергетичного статусу клітин, що на пряму пов'язано з функціонуванням мітохондрій. Порушення енергопродукції може призвести до пригнічення процесів, які потребують енергії АТФ, та розвитку необоротних біохімічних змін в клітинах слизової оболонки шлунка (СОШ) [7].

На молекулярному рівні мітохондріальна дисфункція характеризується гальмуванням транспорту електронів по дихальному ланцюгу, порушенням окисного

фосфорилування, зниженням вмісту аденіннуклеотидів, а також виникненням неселективної проникності внутрішньої мембрани мітохондрій [6, 8].

Метою даної роботи було дослідити неспецифічну проникність мітохондріальних мембран в загальній фракції клітин СОШ щурів за умов експериментальної виразки.

Матеріали і методи. У дослідках використовували щурів лінії Вістар вагою 180–230 г, яких утримували на стандартному раціоні виварю. Модель експериментальної гострої виразки шлунка у щурів створювали за методом Окабе [2]. Для цього щурам перорально вводили 1 мл 80% етанолу і через годину декапітували. Для моделювання стресової виразки шлунка у тварин, використовували модифіковану методику "імобілізацій-