

мами, на агаризованому BBV разом з водоростями спостерігався ріст прозорих колоній. Для очистки зазначених зразків культури мікроводоростей було пересіяно на агаризоване середовище методом виснажливого штриха з подальшим перенесенням окремих колоній в пробірки з рідким середовищем BBV.

Слід зауважити, що альговіруси здатні ефективно інфікувати лише ті культури, які знаходяться на активній стадії росту. З цією метою за 2 – 3 доби до біотестування проводиться попередня підготовка зразків мікроводоростей. У пробірки вносять по 1 мл семиденної суспензії культур водоростей та додають 3 мл поживного середовища BBV.

**Результати та їх обговорення.** Біотестування віібраних проб проводилося за такою схемою: у пробірки додають по 2 мл попередньо підготовлених зразків мікроводоростей *Planophila* sp., *Chlorella* sp., *Carteria crucifera*, *Chlorococcum* sp., *Chlamydomonas heterogama*, *Scenedesmus* sp., *Borodinella* sp., *Oocystis* sp. та 2 мл профільтрованих через бактеріальний фільтр проб води.

Оскільки за літературними даними альговіруси в природних місцях росту мікроводоростей зустрічаються у досить високих концентраціях, очікуваний ефект лізису може спостерігатися на 5 – 7 добу. Також було проведено біотестування проб на агаризованому поживному середовищі. В чашку Петрі вносимо 1 мл. мікроводорості та розділяємо скляним стерильним шпателем по поверхні середовища. Після утворення рівномірного газону дно чашки ділимо на 10 секторів і на кожен з них наносимо по 0,1 мл профільтрованих проб води.

Біотестування проб на агаризованому поживному середовищі не дало однозначних результатів, можливо, це пов'язано з невеликою кількістю проб води, нанесених на газон тест-культур.

За результатами біотестування проб води в рідкому середовищі було виявлено, що зразки, віібрані з системи озер Опечень Оболонського району (оз. Вербне (№1), оз. Великий Опечень (№2)) та системи озер парку ім. Рильського (№6), здатні лізувати тест культури *Planophila* sp. та *Chlamydomonas heterogama*.

Таблиця 1. Результати біотестування проб на тест-культурах

|                                 | Віібрані з оз. Вербного | Віібрані з оз. Великий опечень | Віібрані з системи озер парку ім. Рильського | Контроль |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------|----------|
| <i>Planophila</i> sp.           | -                       | -                              | -                                            | +        |
| <i>Chlorella</i> sp.            | +                       | +                              | +                                            | +        |
| <i>Carteria crucifera</i>       | +                       | +                              | +                                            | +        |
| <i>Chlorococcum</i> sp.         | +                       | +                              | +                                            | +        |
| <i>Chlamydomonas heterogama</i> | -                       | -                              | -                                            | +        |
| <i>Scenedesmus</i> sp.          | +                       | +                              | +                                            | +        |
| <i>Borodinella</i> sp.          | +                       | +                              | +                                            | +        |
| <i>Oocystis</i> sp.             | +                       | +                              | +                                            | +        |
| Контроль                        | -                       | -                              | -                                            | -        |

Примітки: – -лізис тест культури (відсутність росту);  
+ -нормальний ріст тест-культури.

У подальшому зразки, які призвели до лізису культур водоростей, досліджувалися методом електронної мікроскопії. В результаті проведення електонно-мікроскопічних досліджень нам не вдалося ідентифікувати в культуральному лізаті вірусоподібні частки. На нашу думку, це пов'язано з тим, що концентрація часток не достатня для їх виявлення на електронно-мікроскопічних зображеннях, а об'єм лізату не достатній для проведення диференційного центрифугування та концентрації вірусних часток.

Вивчення екології альговірусів має як наукове, фундаментальне, так і практичне значення. Успіхи останніх років, пов'язанні з широким вивченням біологічних, морфологічних, генетичних та молекулярно-біологічних особливостей вірусів, в основному стосуються лише представників, що інфікують морські мікроводорості. За

результатами біотестування проб води в рідкому середовищі було виявлено, що зразки віібрані з оз. Вербного, оз. Великий Опечень (система озер Опечень Оболонського району) та системи озер парку ім. Рильського здатні лізувати тест культури *Planophila* sp. та *Chlamydomonas heterogama*.

1. Castderly T. Algal viruses: Characteristics and ecological effects. – PY: Dep.of Micr., University of Bergen, 2001. – 204 p. 2. Степанова О.А. "Екология аллохтонных и автохтонных вирусов Черного моря". – Севастополь: "Мир", 2004. – 308 с. 3. Keizo Nagasaki, Yuji Tomaru, Noriaki Katanozaka, Yoko Shirai, Kensho Nishida, Shigeru Itakura, and Mineo Yamaguchi. Isolation and Characterization of a Novel Single-Stranded RNA Virus Infecting the Bloom-Forming Diatom *Rhizosolenia setigera* // Applied and Environmental Microbiology, February 2004, p. 704-711, Vol. 70, No. 2 4. Willie Wilson Giant algal viruses: lubricating the great engines of planetary control // Microbiology to dayvol 29/NOV02

Надійшла до редколегії 26.10.09

УДК 616.33:577.125.33

К. Дворщенко, канд. біол. наук, С. Вакал, студ.,  
У. Савко, студ.

## ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У СУБКЛІТИННИХ ФРАКЦІЯХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВИКЛИКАНОЇ ВИРАЗКИ

*Показано, що за умов експериментальної виразки шлунка найбільш інтенсивно відбувались процеси перекисного окиснення ліпідів у мітохондріальній фракції слизової оболонки шлунка щурів.*

*It fixed that at experimental stomach ulcer most intensively lipid peroxidation processes taken place in the mitochondrial fraction of gastric mucosa of rats.*

**Вступ.** За умов дії на організм людини негативних факторів (стрес, паління, використання нестероїдних протизапальних препаратів тощо) підвищується небезпека розвитку ерозивно-виразкових ушкоджень слизо-

вої оболонки шлунка (СОШ). Значну роль у механізмі розвитку деструктивних процесів у СОШ відіграє активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), в

результаті якої спостерігається накопичення в клітинах вільних радикалів [6, 7].

Для отримання цілісного уявлення про зміни окисно-антиоксидантної рівноваги у епітеліоцитах шлунка за умов розвитку виразкових уражень доцільно дослідити процеси ПОЛ на субклітинному рівні. Метою нашої роботи було визначити вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки.

**Об'єкт та методи досліджень.** У дослідях використовували щурів лінії Вістар обох статей вагою 180–230 г., яких утримували на стандартному раціоні віварію. Для створення стресової виразки шлунка у тварин використовували модель імобілізаційного водоімерсіонного холодового стресу [9]. Після імобілізації щурів у спеціальних патронах, тварин розміщували в резервуарах з водою, температура якої складала 23°C. Через 3 години щурів виймали з патронів та декапітували. Етанолову модель виразки шлунка створювали за методом [8]. Для цього щурам перорально вводили етиловий спирт (1 мл 96% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH на 200 г ваги) та через 1 годину декапітували. Після декапітації тварин, з гомогенату слизової оболонки шлунка щурів виділяли субклітинні

фракції (ядра, мітохондрії та цитозоль) загальноприйнятим методом [3]. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом [1], шиффових основ – флюориметричним методом [2]. Вміст ТБК-активних сполук визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [5]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [4]. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

**Результати та їх обговорення.** Інтенсивність ліпідної пероксидації у субклітинних фракціях СОШ за умов експериментальної виразки оцінювали за вмістом продуктів ПОЛ: первинних – дієнових кон'югатів, проміжних – ТБК-активних продуктів та кінцевих – шиффових основ.

Встановлено, що при впливі стресового фактору вміст дієнових кон'югатів у субклітинних фракціях СОШ зростає: у ядрах – на 69%, у мітохондріях – на 146% та цитозолі – на 76% відносно контролю (табл. 1). За умов дії етанолу також спостерігалось збільшення рівня первинних продуктів ПОЛ: у ядрах – на 46%, у мітохондріях – на 54% та цитозолі – на 35% по відношенню до контрольних тварин (табл. 1).

**Таблиця 1.** Вміст дієнових кон'югатів у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки, нМоль х мг білка<sup>-1</sup>, (M ± m, n=10)

| Група тварин | контроль       | стрес           | етанол          |
|--------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Фракції      |                |                 |                 |
| Ядра         | 179,57 ± 15,28 | 304,16 ± 30,54* | 261,22 ± 24,11* |
| Мітохондрії  | 174,08 ± 15,23 | 428,24 ± 39,15  | 268,08 ± 25,83  |
| Цитозоль     | 85,23 ± 8,09   | 150,24 ± 14,17  | 114,69 ± 9,52   |

\*- p<0,05 щодо контролю

Показано, що за умов обох моделей експериментальної виразки шлунка вміст проміжних продуктів ПОЛ був статистично значиме збільшений лише у мітохондріях СОШ, відповідно при стресі – на 89% та при дії етанолу – на 63% відносно контролю (табл. 2). У ядер-

ній та цитозольній фракції СОШ достовірно зростання цього показника зафіксовано лише при стресовій виразці. Так, при стресі рівень ТБК-активних сполук зростає у ядерній фракції – на 75%, а у постмітохондріальній – на 41% по відношенню до контролю (табл. 2).

**Таблиця 2.** Вміст ТБК-активних сполук у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки, нМоль х мг білка<sup>-1</sup>, (M ± m, n=10)

| Група тварин | контроль       | стрес           | етанол         |
|--------------|----------------|-----------------|----------------|
| Фракції      |                |                 |                |
| Ядра         | 247,04 ± 23,05 | 432,59 ± 41,83* | 295,36 ± 27,12 |
| Мітохондрії  | 324,19 ± 26,14 | 612,72 ± 55,39  | 527,33 ± 51,19 |
| Цитозоль     | 364,55 ± 33,71 | 513,73 ± 46,94* | 425,31 ± 40,15 |

\*- p<0,05 щодо контролю

При дослідженні кінцевих продуктів ПОЛ у субклітинних фракціях СОШ за умов дії обох ульцерогенних чинників виявлено статистично значиме накопичення шиффових основ у мітохондріальній та цитозольній фракціях СОШ. Так, при стресовій виразці вміст кінцевих продуктів ПОЛ збільшувався у мітохондріях – на

56%, цитозолі – на 42%, при етаноловій виразці їх рівень зростає у мітохондріальній фракції – на 29%, цитозольній – на 25% відносно контрольних величин (табл. 3). У ядерній фракції СОШ вміст шиффових основ збільшувався лише при дії стресового фактора, відповідно на 48% по відношенню до контролю.

**Таблиця 3.** Вміст шиффових основ у субклітинних фракціях слизової оболонки шлунка щурів за умов експериментальної виразки, ум. од. х мг білка<sup>-1</sup>, (M ± m, n=10)

| Група тварин | контроль    | стрес         | етанол       |
|--------------|-------------|---------------|--------------|
| Фракції      |             |               |              |
| Ядра         | 5,49 ± 0,51 | 8,15 ± 0,87*  | 6,36 ± 0,62  |
| Мітохондрії  | 6,95 ± 0,58 | 10,82 ± 0,93* | 8,93 ± 0,78* |
| Цитозоль     | 5,18 ± 0,47 | 7,34 ± 0,68*  | 6,48 ± 0,61* |

\*- p<0,05 щодо контролю

Встановлене зростання кількості утворених продуктів ПОЛ у досліджуваних фракціях СОШ за умов експери-

ментальної виразки свідчить про порушення збалансованої взаємодії про- та антиоксидантних процесів у епі-

теліоцитах шлунка. В результаті дії на організм таких пошкоджуючих факторів, як стрес та етанол, відбувається надмірне утворення активних форм кисню у клітинах СОШ та ослаблення системи антиоксидантного захисту.

Виявлено, за умов дії стресового фактору епітеліоцити шлунка більш уразливі, ніж при дії етанолу, що проявляється у більш вираженій відповіді ПОЛ на стрес.

**Висновки.** В результаті проведених експериментальних досліджень встановлено, що за умов експериментальної виразки процеси ПОЛ найбільш активні у мітохондріальній фракції слизової оболонки шлунка щурів, що вказує на визначальне значення мітохондрій у розвитку виразкового процесу.

1. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лабораторное дело. – 1988. – № 2. – С. 60-63.

2. Колесова О.Е., Маркин А.А., Федорова Т.Н. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах // Лабораторное дело. – 1984. – № 9. – С. 540-546.  
3. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во Моск. Универ., 1989. – С. 406.  
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Информполиграф, 2002. – 305 с.  
5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.  
6. Kwiecien S., Pawlik M.W., Sliwowski Z. et al. Involvement of sensory afferent fibers and lipid peroxidation in the pathogenesis of stress-induced gastric mucosa damage // J. Physiol. Pharmacol. – 2007. – Vol.58, Suppl 3. – P. 149-162.  
7. Olaleye S.B., Adaramoye O.A., Erigbali P.P. and Adeniyi O.S. Lead exposure increases oxidative stress in the gastric mucosa of HCl/ethanol-exposed rats // World J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13(38). – P. 5121-5126.  
8. Robert A., Nezamis J.E., Lancaster C. and Hanchar A.J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury // Gastroenterology. – 1979. – Vol. 77(3). – P. 433-443.  
9. Takagi K. and Okabe S. The effects of drugs on the production and recovery process of the stress ulcer // J. Pharmacol. – 1968. – Vol. 18. – P. 9-18.

Надійшла до редколегії 15.10.09

УДК 615.324

О. Вороніна, канд. біол. наук, Т. Берегова, д-р біол. наук,  
М. Дзержинський, д-р біол. наук

## ВПЛИВ АГОНІСТА PPAR $\gamma$ -РЕЦЕПТОРІВ ПІОГЛІТАЗОНУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ПІЛОРИЧНОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКА ЩУРІВ ПРИ ТРИВАЛІЙ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

*Досліджували вплив агоніста PPAR $\gamma$ -рецепторів піоглітазону на слизову оболонку пілоричного відділу шлунка щурів. При тривалій гіпергастринемії спостерігаються явища дисплазії в слизовій оболонці пілоричного відділу щурів. Введення агоніста PPAR $\gamma$ -рецепторів піоглітазону може призупинити розвиток непластичної трансформації шляхом блокади трофічної дії гастрину*

*The effects of PPAR $\gamma$ -receptors agonist pioglitazone on the gastric pyloric mucosa were investigated in rats. Following long-term experimental hypergastrinaemia, dysplasia of pyloric gastric mucosa was observed. The administration of pioglitazone was found to decrease the neoplastic transformation, presumably by blocking of gastrin trophic action.*

**Вступ.** Одним з основних патогенетичних механізмів розвитку метаплазії та гіперплазії слизової оболонки шлунка при гіпоацидних станах є підвищення рівня гастрину в крові. Гіпергастринемія є реакцією G-клітин антрального відділу шлунка і переднього відділу тонкого кишечника на підвищення внутрішлункового рН (продукція гастрину регулюється по механізмі зворотного зв'язку – чим менше кислотність шлункового соку, тим більше виробляється гастрин) і являє собою фізіологічний компенсаторний механізм, направлений на підвищення секреції соляної кислоти. Однак, окрім посилення секреції HCl, підвищення рівню гастрину приводить до гіперплазії ECL- та G-клітин, що в подальшому може стати причиною розвитку метаплазії та карциноїдних пухлин.

В експериментальних умовах гіпергастринемію викликають введенням блокаторів H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази апікальної мембрани парієтальних клітин (омепразол), запобігаючи при цьому виходу іонів H<sup>+</sup> у порожнину шлунка.

Можна припустити, що методами профілактики розвитку гіперплазії та карциноїдів шлунку може бути розробка методів блокади проліферуючої дії гастрину. Перспективним в даному відношенні є агоніст PPAR $\gamma$  рецепторів піоглітазон, який контролює клітинну диференціацію, і блокує проліферуючу дію гастрину [8-14].

Останнім часом, вивченню закономірностей пухлинного процесу присвячена більша частина робіт, проведених в патоморфології з використанням лектинів. Це зумовлено тим, що більшість асоційованих з пухлинами антигенів є вуглеводвмісними біополімерами. Синтез специфічних цукрів, що покривають поверхню клітин, в здоровому організмі знаходиться під суворим контролем. В пухлинних тканинах ця рівновага порушена. Генетичний матеріал ракової клітини спотворений, і вона у знач-

ній мірі втрачає контроль над синтезом поверхневих цукрів, виробляючи їх в значно більшій кількості, ніж треба. Через високий ступень глікозилювання, ракові клітини значно піддаються аглютинуючій дії лектинів [3, 5, 7].

**Матеріали та методи.** У роботі представлені результати експерименту, що проводились на трьох групах самців щурів 5-місячного віку. Контрольну групу представляють щурів, які одержували ін'єкції 0,25 мл ізотонічного розчину NaCl протягом 28 днів. В другій групі щурів була відтворена модель гіпергастринемії. Для цього піддослідним щурам вводили препарат Омез® виробництва "Д-р Редді'с Лабораториз Лтд" (Індія), діюча речовина якого – омепразол. Препарат розчиняли у 0,25 мл ізотонічного (0,9%) розчину NaCl та вводили щурам внутрішньоочеревинно в дозі 14 мг/кг. Третю групу склали щурів, яким одночасно з омепразолом вводили препарат піоглітазон – агоніст PPAR-рецепторів, в дозі 30 мг/кг тіла тварини.

Всіх тварин утримували разом в умовах віварію, на стандартному раціоні з вільним доступом до комбікорму та води, при температурі приміщення +25°C.

Після закінчення експерименту шлунок піддослідних тварин був досліджений за допомогою морфологічних методів. Для цього шлунок тварин фіксували у 10%-му нейтральному розчині формаліну протягом 2 днів, після чого їх заливали в парафін. На санному мікротомі робили зрізи товщиною 5 мкм. Оглядові препарати зафарбовували гематоксиліном-еозином (за Бюмером).

Для дослідження глікокон'югатів слизової оболонки пілоричного відділу шлунка застосовували лектиногістохімічний метод. Найважливішими ознаками епітеліальних пухлин травного каналу вважають збільшення кількості рецепторів лектина зародку пшениці (WGA, специфічний NAcDGlc) та лектину виноградного слима-