

Murphy SP, Fernando R, Gardner L, Ahad T, Moffett A// Immunology. 2009;127:26–39.

11. Erlebacher A. Immunology of the maternal-fetal interface. / Erlebacher A. // Annual Review Immunology. 2013;31:387-411. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-100003.

12. Parolini O. Review: Preclinical studies on placenta-derived cells and amniotic membrane: an update. / Parolini O, Caruso M. // Placenta. 2011;32 Suppl 2:S186–S195.

13. Soares MJ. Rat placentation: an experimental model for investigating the hemochorial maternal-fetal interface./ Soares MJ, Chakraborty D, Karim Rumi MA, Konno T, Renaud SJ// Placenta. 2012;33(4):233-43. doi: 10.1016/j.placenta.2011.11.026

14. Konno T. Pregnancy in the brown Norway rat: a model for investigating the genetics of placentation. / Konno T, Rempel LA, Arroyo JA, Soares MJ. // Biology Reproduction. 2007;76(4):709-18.

15. Carter AM. Animal models of human placentation--a review./ Carter AM. // Placenta. 2007;28 Suppl A:S41-7.

16. Ding HF. Therapeutic effect of placenta-derived mesenchymal stem cells on hypoxic-ischemic brain damage in rats./ Ding HF, Zhang H, Ding HF, Li D, Yi XH, Gao XY, Mou WW, Ju XL. // World Journal Pediatric. 2015;11(1):74-82. doi: 10.1007/s12519-014-0531-8.

Надійшла до редколегії 22.12.15

Г. Свитина, асп., Л. Гарманчук, д-р біол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
В. Шаблій, канд. біол. наук
Институт клеточной терапии, Киев, Украина

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ У КРЫС

Плацента является ценным источником мультипотентных стволовых клеток (ПМСК), которые широко используются в клеточной терапии. Таким образом, поиск наиболее оптимального метода получения таких клеток остается открытым. Метод посадки эксплантов и ферментативной обработки позволяют получить ПМСК плодового происхождения, которые сохраняют способность дифференцироваться в мезенхимальных направлениях до 4 пассажа. Аллогенная крысиная сыворотка не поддерживает становление и рост ПМСК, поэтому использование фетальной телячьей сыворотки, ксеногенной по отношению к клеткам, остается широким.

Ключевые слова: плацента, стволовые клетки, клеточная терапия.

G. Svitina, PhD stud., L. Garmanchuk, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
V. Shablyi, PhD
Institute of cell therapy, Kyiv, Ukraine

METHODS OF OBTAINING MULTIPOTENT STEM CELLS OF THE PLACENTA IN RATS

Placenta is a valuable source of multipotent stem cells (PMSC) widely used for cell therapy. Hence, the most optimal method of PMSC obtaining remains questionable. By methods of explant culturing and enzymatic digestion were obtained PMSC of fetal origin and multipotent features at 4th passage. Allogeneic rat serum is not favor PMSC establishment and growth, consequently the use is made of fetal bovine serum, that is xenogeneic for cell cultures.

Key words: Placenta, stem cells, cell therapy.

УДК 582.28.614.876

А. Тугай, пошукач, Т. Тугай, д-р біол. наук
Институт мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ,
Д. Лукашов, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТРЬОХ ОПРОМІНЕНИХ "ПОКОЛІНЬ" ASPERGILLUS VERSICOLOR

Охарактеризовано вплив хронічного опромінення на три "покоління" *Aspergillus versicolor*, які були отримані в модельних умовах з двох батьківських штамів: *A.versicolor* 99 з радіоадаптивними властивостями, що був ізольований з приміщень об'єкту "Укриття" Чорнобильської АЕС, та *A.versicolor* 432 – контрольного. При культивуванні на двох середовищах з різним вмістом джерела вуглецю у досліджених "поколінь" *A. versicolor* 99 та *A. versicolor* 432 виявлено різноспрямовані зміни швидкості радіального росту (від сповільнення до пришвидшення), які за величиною знаходились у межах від 60% до 140% (на сушло-агарі) та від 70% до 230% (на золотному агарі) по відношенню до відповідних неопромінених "поколінь". Виявлені зміни у профілі активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази, каталази, пероксидази, що мають хвилеподібний характер у трьох досліджених "поколінь" *A.versicolor* 432 і *A.versicolor* 99 (за виключенням каталази) та високу амплітуду коливань від зменшення (до 70%) до збільшення (до 900%).

Ключові слова: іонізуюче опромінення, "покоління" *Aspergillus versicolor*, ферменти антиоксидантного захисту.

Вступ. За майже 30 років, які минули після аварії на Чорнобильській АЕС, було встановлено низку радіобіологічних явищ, котрі у своїй сукупності визначають формування віддалених наслідків опромінення на різних рівнях організації біотичних систем [1-4]. Радіонукліди в екосистемі перебувають у постійній міграції, внаслідок чого всі представники біоти, включаючи мікроорганізми, гриби, рослини і тварини, а також людина зазнають додаткового опромінення. Особливий науковий інтерес має дослідження наслідків впливу хронічного опромінення в популяціях мікроміцетів, виділених з приміщень об'єкту "Укриття" ЧАЕС з різним рівнем радіоактивного забруднення, у яких сформувались нові, раніше невідомі радіоадаптивні властивості (позитивний радіотропізм, радіостимуляція, адаптивна відповідь) за дії великих доз опромінення [5, 6, 7]. Найбільш поширеним видом мікроміцетів у приміщеннях об'єкту "Укриття" є *Aspergillus versicolor*, у штамів якого було виявлено ра-

діоадаптивні властивості. *A.versicolor* є звичайним еврибіонтним видом у наземних та водних екосистемах, часто трапляється у вологих закритих приміщеннях, може викликати руйнування конструкційних матеріалів та призводити до захворювань людини [8]. Розуміння механізмів адаптації *A. versicolor* до критичних умов середовища є важливим для оцінки та прогнозу його шкодочинності. Особливої уваги заслуговує дослідження характеру змін фізіолого-біохімічних властивостей у "поколіннях" опромінених мікроміцетів, ступеню їх прояву та стабільності, що дасть інформацію для прогнозів щодо віддалених наслідків дії хронічного опромінення на мікобіоту.

Метою роботи було вивчення біологічної активності у ряду опромінених в модельних умовах генерацій *A.versicolor* на рівні організму – за швидкістю радіального росту та на молекулярному – за активністю ключових ферментів антиоксидантного захисту (каталази, пероксидази, супероксиддисмутази).

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були два штами *A. versicolor* з колекції культур мікроміцетів відділу фізіології та систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України: *A. versicolor* 432 – контрольний, що був виділений з Варязьких печер (Києво-Печерська Лавра, м.Київ) за фонового рівня радіоактивного випромінювання 12 мкР/год ($8,6 \cdot 10^{-13}$ Кл/кг*с) та *A. versicolor* 99 – опромінений, що був виділений з приміщення 4-го блоку ЧАЕС у 2003 році з потужністю експозиційної дози 70 Р/год ($50,2 \cdot 10^{-7}$ Кл/кг*с) та проявляє радіоадаптивні властивості [5-7].

Для проведення довгострокових досліджень у контрольованих умовах була використана раніше створена модельна установка, що імітує хронічне опромінення низької інтенсивності. Джерелом іонізуючого випромінювання слугував ґрунт з 5-кілометрової зони відчуження, що містив $^{137}\text{Cs} - 3,06 \cdot 10^6$ Бк/м², що відповідало енергії $E_\gamma = 0,662$ МэВ. Потужність експозиційної дози на висоті 10 см від поверхні площадки становила 3 мР/год. Фоновий рівень контрольних умов експерименту становив 12 мкР/год ($8,6 \cdot 10^{-13}$ Кл/кг) [9].

Мікроскопічні гриби, для яких характерна швидка зміна "покоління", є зручною моделлю для вивчення механізмів адаптації до дії хронічного опромінення у великій кількості "поколінь". Проте, на сьогоднішній день відсутнє однозначне трактування самого терміну "покоління" для анаморфних мікроміцетів, оскільки для них є характерним вегетативний тип розмноження. Запропоновано кілька назв "індивідуумів" у анаморфних грибів, що розмножуються безстатевим (вегетативним) шляхом, а саме: рамета та клон [10]. У представленому дослідженні, авторами запропоновано методичний підхід, який полягає в проведенні досліджень в порівняльному аспекті, для нівелювання можливих змін в метаболізмі досліджуваних штамів за дії інших, ніж хронічне опромінення, абіотичних факторів. Отримання опромінених та неопромінених "поколінь" від двох батьківських штамів *A. versicolor* 99 та *A. versicolor* 432 проводили синхронно за дії хронічного опромінення в контрольованих модельних умовах та за його відсутності. В останніх надалі величину усіх досліджуваних кількісних параметрів приймали за 100% при порівнянні з такими у "покоління", отриманих в умовах хронічного опромінен-

ня. Тривалість отримання кожного покоління складала 30 днів, що відповідало стаціонарній фазі росту досліджуваних грибів. Саме в такій фазі росту були отримані покоління мікроміцету *Fusarium solani* у роботі Д.М.Гродзинського з співавторами по вивченню впливу хронічного опромінення на мікроскопічні гриби [11].

Для дослідження швидкості радіального росту кожний штам вирощували на двох агаризованих поживних середовищах різного складу: оптимальному – сусло-агарі (СА), та голодному агарі (ГА) – середовищі, що найбільш наближене до реальних умов існування мікроміцетів, з яких вони були виділені [12]. Тривалість дослідів з визначення радіальної швидкості росту складала 25-28 днів.

При дослідженні особливостей функціонування антиоксидантної системи, культивування усіх отриманих "поколінь" проводили при $25 \pm 2^\circ\text{C}$ на модифікованому рідкому середовищі Чапека, яке містило 20 г/л глюкози. Засів проводили суспензією конідій у поживному середовищі, яку готували з розрахунку 1×10^6 конідій/мл (підррахунок конідій проводили за допомогою камери Горяєва). Суспензію конідій вносили в кількості 10% до об'єму поживного середовища (10 мл суспензії на 100 мл середовища). Біомасу мікроміцетів відділяли фільтруванням крізь капроновий фільтр з подальшим багаторазовим промиванням від залишків культуральної рідини дистильованою водою. Клітини руйнували розтиранням у рідкому азоті та суспендували в 0,15 М калій-фосфатному буфері (рН 7,0). Від залишків клітин звільнялись шляхом центрифугування за допомогою центрифуги ОПн-8 при 8000 об/хв. Пероксидазну, каталазну та супероксиддисмутазну активність (СОД) визначали у супернатанті згідно стандартних методів та розраховували на мг білку [13-15]. Визначення концентрації білку проводили за методом Bradford [16]. Усі вимірювання проводили у трикратній повторюваності.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням програми Statistica 6.0. Статистичну значимість відмінностей середніх величин встановлювали за допомогою *t*-критерію Стьюдента ($p \leq 0,05$).

Результати та обговорення. При порівнянні швидкості радіального росту (K_r) міцелію трьох опромінених "поколінь" штамів *A. versicolor* 432 та *A. versicolor* 99 на СА та ГА було виявлено суттєві відмінності (Рис. 1).

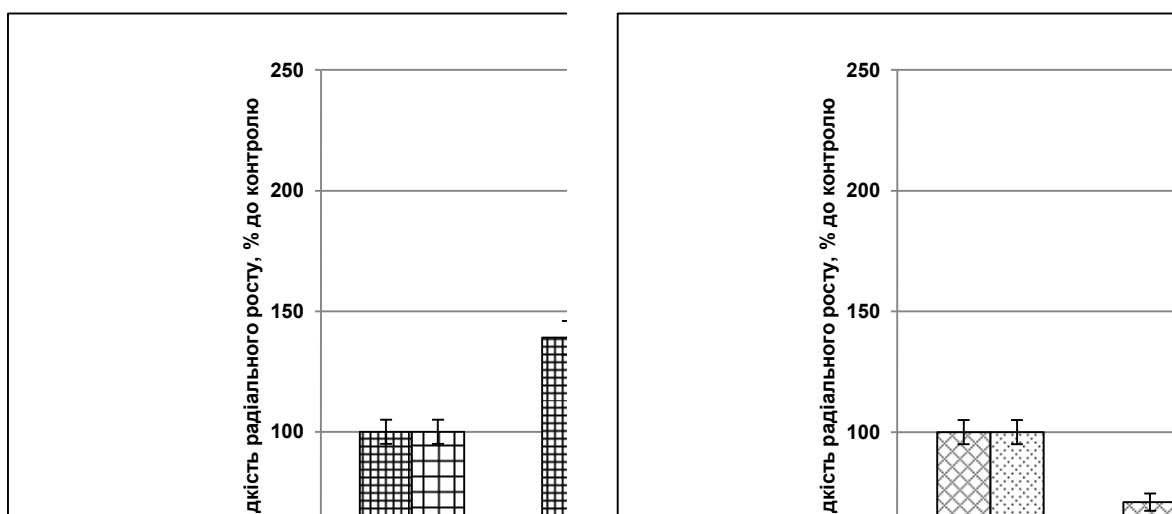


Рис. 1. Швидкість радіального росту трьох "поколінь" (I-III) штамів *A. versicolor* 432 (1) та *A. versicolor* 99 (2) на сусло агарі (а) та голодному агарі (б) в умовах опромінення

При рості на СА ми спостерігали майже однаковий характер змін K_r в "поколіннях" у контрольного

A. versicolor 432 та штаму з радіоадаптивними властивостями *A. versicolor* 99. У *A. versicolor* 432 спостерігається

збільшення K_r у першому "поколінні" та його зниження у другому та третьому "поколінні", а у *A. versicolor* 99 – майже однакова K_r (в порівнянні з відповідними неопроміненими "поколіннями") у першому "поколінні" та зниження у другому та третьому "поколіннях", тобто виявлені аналогічні зміни у другому та третьому опромінених "поколіннях" контрольного штаму *A. versicolor* 432 та штаму *A. versicolor* 99 з радіоадаптивними властивостями.

При рості на ГА ми спостерігали різноспрямовані зміни швидкості росту досліджуваних штамів. У *A. versicolor* 432 було виявлено зниження швидкості росту у порівнянні з контролем у першому та другому "поколінні", та збільшення у 2,3 рази у третьому "поколінні". Для *A. versicolor* 99 було характерне незначне збільшення (до 130%) швидкості радіального росту у першому "поколінні", невелике зниження (до 90%) у другому та підвищення до рівня неопроміненого контролю у третьому "поколінні". У "поколінні" штаму з радіоадаптивними властивостями зміни радіальної швидкості росту менш виражені порівняно з "поколіннями" *A. versicolor* 432.

Таким чином, виявлена суттєва різниця у величині змін у K_r у досліджених "поколінні" *A. versicolor* 99 та *A. versicolor* 432 при культивуванні на СА та ГА. Так, у досліджених "поколінні" штаму *A. versicolor* 99 з радіоадаптивними властивостями зміни у K_r не перевищували 40% як при рості на СА так і на ГА. В той час, як у досліджених "поколінні" штаму *A. versicolor* 432 зміни K_r більш виражені і суттєво відрізнялись в залежності від середовища культивування, а саме: при рості на СА різниця між K_r при різноспрямованих змінах складала 70%, а при рості на ГА – 160%. Отримані дані можуть свідчити на користь того, що у батьківського штаму *A. versicolor* 99 з радіоадаптивними властивостями, виділеного з радіоактивно забруднених територій через 17 років після аварії, сформувались певні адаптаційні властивості до хронічного опромінення, які унаслідуються, що проявляється у відсутності суттєвих змін K_r у досліджених опромінених "поколінні" цього штаму. Штам *A. versicolor* 432, був виділений з територій з фоновим рівнем радіоактивності, а досліджені його "покоління" вперше зазнали опромінення і не були попередньо адаптовані до нього, що, на нашу думку, призвело до більш значних змін K_r , слід зазначити, що їхній напрямок різнився у поколіннях.

Як нами встановлено раніше, у 60% – 80% виділених через 10 – 20 років після Чорнобильської катастрофи штамів мікроміцетів, в тому числі і у популяції *A. versicolor*, за дії опромінення, виявлено пришвидшення росту за дії великих доз опромінення, здатність направлено рости до джерела випромінювання, тобто відбулося формування популяцій з великою стійкістю до хронічного опромінення [6, 17, 18].

На сьогоднішній день питання про наслідування цих властивостей у поколіннях мікроміцетів, зокрема, *A. versicolor*, є відкритим і потребує детального вивчення.

У результаті дії іонізуючого випромінювання в клітині відбувається зростання кількості активних форм кисню (АФК). З метою захисту від надлишку АФК в клітині активуються специфічні компоненти системи антиоксидантного захисту, зокрема – ферментативний комплекс ключових компонентів у складі: СОД, каталаза та пероксидаза. Було виявлено, що СОД-активність в умовах опромінення у першого "покоління" зростала у 2,0 та 2,7 рази у *A. versicolor* 99 і *A. versicolor* 432, відповідно, а

у другому "поколінні" обох штамів зростала у 3,3-3,5 рази. При цьому у третьому "поколінні" активність даного ферменту різко знижувалася (у 2 рази). У доступній нам літературі відсутні дані щодо змін СОД-активності у "поколіннях" мікроміцетів, проте є відомості щодо різного рівня СОД-активності в онтогенезі грибів. Так, було встановлено, що у *Neurospora crassa*, у *Fusarium decemcellulare* та *F. equiseti* загальна активність СОД зростала при переході до стаціонарної фази росту [19-20]. На відміну від них, у патогенних видів *A. flavus*, *A. niger* та сапрофітів *A. nidulans*, *A. terreus* внутрішньоклітинна СОД-активність була найвищою на початку експоненційної фази росту грибів [21].

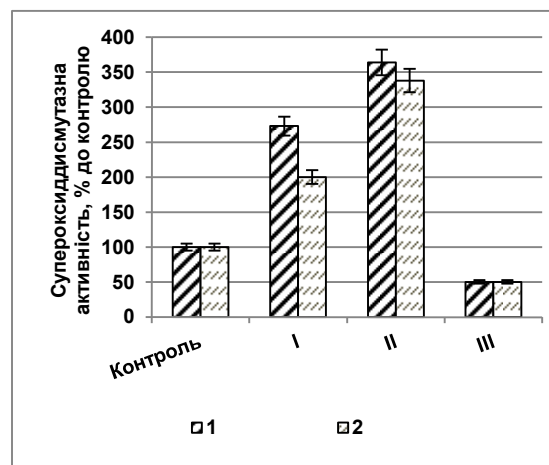


Рис. 2. Ферментативна активність трьох "поколінні" (I-III) штамів *A. versicolor* 432 (1) та *A. versicolor* 99 (2) в умовах опромінення

За дії радіоактивного опромінення було виявлено різноспрямовані зміни каталазної активності у "поколіннях" контрольного штаму та штаму з радіоадаптивними властивостями (рис. 3а). У контрольного штаму виявили зниження ферментативної активності у першому та третьому "поколіннях" та підвищення у другому. На протипагу цьому, у першому "поколінні" штаму з радіоадаптивними властивостями були відсутні зміни у каталазній активності в порівнянні з контролем та виявлено збільшення ферментативної активності у 4-5 разів у другому та третьому "поколіннях". Слід зазначити, що каталазна активність у досліджених штамів *A. versicolor* у кілька разів вище ніж у *Neurospora crassa* та близька за величиною у *Blakeslea trispora* [22]. Висока каталазна активність є фізіологічною особливістю *A. versicolor*, та, ймовірно, може відігравати певну роль у реалізації його адаптації до хронічного опромінення.

У досліджених "поколінні" *A. versicolor* 432 та *A. versicolor* 99 спостерігали однотипові зміни у пероксидазній активності – суттєве (на 50%) зменшення у першому та третьому "поколіннях" та значне збільшення у другому "поколінні" (до 240% та 900%, відповідно) (рис. 3б). Слід зазначити, що найбільш відрізняється характер змін каталазної та пероксидазної активності у "поколіннях" штаму з радіоадаптивними властивостями.

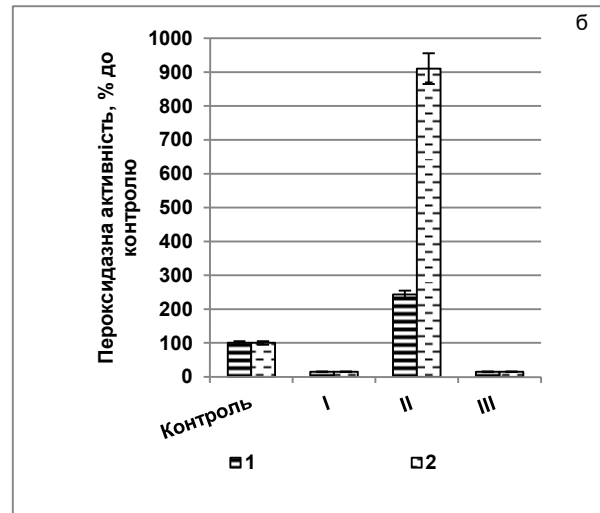
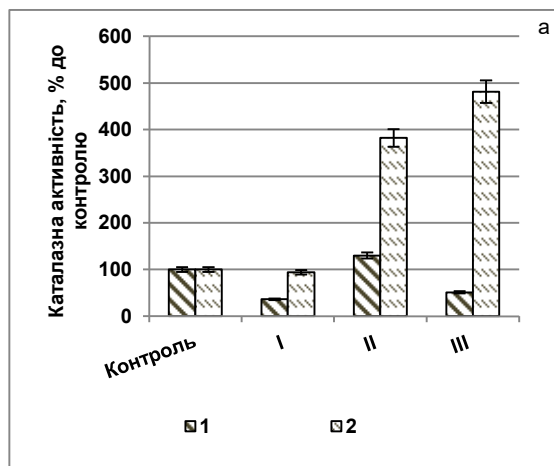


Рис. 3. Ферментативна активність (а), (б) трьох "поколінь" (I-III) штамів *A.versicolor* 432 (1) та трьох "поколінь" штаму *A.versicolor* 99 (2) в умовах опромінення

Таким чином, встановлено, що зміни у профілі антиоксидантних ферментів у досліджених "поколінь" *A. versicolor* 432 та *A. versicolor* 99 мають не однонаправлений, а хвилеподібний характер (за виключенням каталазної активності), з максимумом підвищення ферментативних активностей у другому "поколінні". Слід зазначити, що каталазна активність значно вища в 3 та 9 разів у другому та третьому "поколіннях" *A. versicolor* 99 з радіоадаптивними властивостями ніж у відповідних "поколінь" *A. versicolor* 432, а пероксидазна активність вище в 4 рази лише у другому "поколінні".

Підсумовуючи отримані дані, можна констатувати, що сумарна величина змін каталазної та пероксидазної активностей у "поколіннях" штаму з радіоадаптивними властивостями значно вища, ніж у "поколіннях" контрольного штаму. Раніше нами були описані хвилеподібні зміни активності антиоксидантних ферментів, які були характерні для "поколінь" *Hormoconis resinae*, що домінував у приміщеннях об'єкту "Укриття" з різним рівнем у радіоактивного забруднення та проявляв радіоадаптивні властивості [23]. При комплексному дослідженні впливу хронічного опромінення на ферментативну складову антиоксидантної системи у мікроміцетів, що часто зустрічались у різних екоотопах зони відчуження та проявляли радіоадаптивні властивості, зокрема, видів *H. resinae*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Paecilomyces lilacinus* показано суттєві зміни в активності ферментів на онтогенетичному рівні [18,24].

Висновки. Показано, що незалежно від середовища культивування, у досліджених "поколінь" штаму *A. versicolor* 99 з радіоадаптивними властивостями зміни у K_r не перевищували 40%. На противагу цьому, у досліджених "поколінь" штаму *A. versicolor* 432 спостережалося різноспрямовані зміни у K_r , величина яких залежала від типу середовища та становила при рості на СА 70%, а при рості на ГА – 160%, тобто зміни у K_r більш виражені у "поколінь" контрольного штаму.

Встановлено, що профіль змін активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази, каталази, пероксидази має хвилеподібний характер та високу амплітуду коливань у трьох досліджених "поколінь" *A.versicolor* 432 і *A.versicolor* 99 (за виключенням каталази). Проте збільшення каталазної активності у другого та третього "поколінь" та пероксидазної активності у другого "покоління" *A. versicolor* 99 з радіоадаптивними властивостями було у 3 і 9 рази та 4 рази вище за таке у відповідних "поколінь" *A.versicolor* 432, тобто зміни в

активності антиоксидантних ферментів більш виражені у "поколінь" штаму з радіоадаптивними властивостями.

Список використаних джерел

1. Гудков І.М. Стан фітоценозів в зоні радіаційного впливу аварії на Чорнобильській АЕС / І.М. Гудков // Радіобіологічні і радіоекологічні аспекти Чорнобильської катастрофи: міжнародна конфер., 11–14 квіт. 2011 р.: тези доп. – Славутич, 2011. – С. 73.
2. Дмитриева С.А. Изучение адаптации природных популяций растений к хроническому облучению, вызванному аварией на Чернобыльской АЭС // Цитология и генетика. – 1996. – Т. 30, № 4. – С. 3–11.
3. Журавская А.Н. Энзимологические механизмы адаптации растений к условиям повышенного естественного радиационного фона / А.Н. Журавская, Б.М. Кершенгольц, Т.Т. Курилюк, Т.М. Щербакова // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1995. – Т. 35, Вып. 3. – С. 349–355.
4. Котеров А.Н. Молекулярные и клеточные механизмы адаптивного ответа у эукариот / А.Н. Котеров, А.В. Никольский // Укр. биохим. журн. – 1999. – Т. 71, № 3. – С. 13–25.
5. Жданова Н.Н. Грибное поражение помещений объекта "Укрытие" / Н.Н. Жданова, В.А. Захарченко, Т.И. Тугай [и др.] // Проблемы безопасности атомных электростанций и Чернобыля. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 78–86.
6. Tugay T. The influence of ionizing radiation on spore germination and emergent hyphal growth response reactions of microfungi / T. Tugay, N.N. Zhdanova, V.A. Zheltonozhsky [et al.] // Mycologia. – 2006. – Vol. 98, № 4. – P. 521–527.
7. Тугай Т.И. Проявление радиоадаптивных свойств у микроскопических грибов, длительное время находившихся на территориях с повышенным радиационным фоном после аварии на ЧАЭС / Т.И. Тугай, Н.Н. Жданова, В.А. Желтоножский [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2007. – Т. 47, № 5. – С. 543–549.
8. Jussila J., Spores of *Aspergillus versicolor* isolated from indoor air of a moisture-damaged building provoke acute inflammation in mouse lungs / J. Jussila, H. Komulainen, V.M. Kosma [et al.] // Inhal Toxicol. 2002 Dec;14(12):1261-77.
9. Тугай Т.И. Закономерности влияния низких доз опромінення на микроскопічні гриби / Т.И. Тугай, А.В. Тугай, М.В. Желтоножська [та ін.] // Ядерна фізика та енергетика. – 2012. – Т.13, № 4. – С. 396–402.
10. Leslie J.F. Female fertility and mating type effect on effective population size and evolution in filamentous fungi / J.F. Leslie, K.K. Klein // Genetics. – 1996. – Vol. 144. – P. 557–567.
11. Тверской Л.А. Исследование биологического эффекта хронического действия радиации с низкой мощностью доз на фитопатогенные грибы / Л.А. Тверской, Д.М. Гродзинский, Л.В. Кейсевич // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1997. – Т. 37, № 5. – С. 797–803.
12. Кочкина Г.А. Радиальная скорость роста колоний грибов в связи с их экологией. / Г.А. Кочкина, Е.Г. Мирчинк, П.А. Кожевин [и др.] // Микробиология. – 1978. – Т. 47, № 5. – С. 964–965.
13. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутази, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопр. мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С.88–91.
14. Королюк М.А. Методы определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С.16–19.
15. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков – М.: Агропромиздат, 1987. – 170 с.
16. Bredford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein – Dye Binding / M. M. Bredford // J. Analytical Biochemistry. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

17. Zhdanova N.N. Ionizing radiation attracts soil fungi / N.N. Zhdanova, T. Tugay, J. Dighton [et al.] // Mycol. Res. – 2004. – Vol. 108, № 9. – P. 1089–1096.

18. Тугай Т.І. Адаптація мікроміцетів до хронічного іонізуючого опромінення : Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра біол. наук. – К., 2013 – 41с.

19. Гесслер Н.Н. Сравнительное исследование компонентов антиоксидантной защиты в процессе роста мицелия дикого типа *Neurospora crassa* и мутантов *white collar 1* и *white collar 2* / Н.Н. Гесслер, О.А. Леонovich, Я.М. Рабинович [и др.] // Прикл. биохим. Микробиол. – 2006. – Т. 42, № 3. – С. 354–358.

20. Меденцев А.Г. Адаптация фитопатогенного гриба *Fusarium decemcellulare* к окислительному стрессу / А.Г. Меденцев, А.Ю. Аринбасарова, В.К. Акименко [и др.] // Микробиология. – 2001. – Т. 70, № 1. – С. 34–38.

21. Holdom M.D. The Cu,Zn superoxide dismutases of *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidullans*, *Aspergillus terreus*: purification and biochemical comparison with the *Aspergillus fumigatus* Cu, Zn superoxide dismutase / M.D. Holdom, R.J. Hay, A.J. Hamilton // Infect. Immun. – 2006. – Vol. 64, № 8. – P.3326–3332.

22. Гесслер Н.Н. Активные формы кислорода в регуляции развития грибов / Н.Н. Гесслер, А.А. Аверьянов, Т.А. Белозерская // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 10. – С. 1342–1363.

23. Тугай А.В.. Влияние хронического облучения в малых дозах на *Normoconis resinae* Радиобиология: антропогенные излучения / А.В.Тугай, Л.С. Гиренко, Л.О. Пидгерская [и др.] // Матер. междунар. науч. конф. Гомель, 2014. – Гомель, 2014.

24. Тугай Т.І. Функціонування антиоксидантної системи *Aspergillus versicolor* з радіоадаптивними властивостями за дії іонізуючого опромінення / Т.І. Тугай // Микробиол. журн. – 2011. – Т. 73, №5. – С. 28–35.

Надійшла до редколегії 27.12.15

А. Тугай, соискатель, Т. Тугай, д-р биол. наук

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев, Украина,

Д. Лукашов, д-р биол. наук

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТРЁХ ОБЛУЧЁННЫХ "ПОКОЛЕНИЙ" *ASPERGILLUS VERSICOLOR*

Охарактеризовано влияние хронического облучения на три "поколения" *Aspergillus versicolor*, которые были получены в модельных условиях из двух родителских штаммов: *A.versicolor* 99 с радиоадаптивными свойствами, был изолирован из помещений объекта "Укрытие" Чернобыльской АЭС и *A.versicolor* 432 – контрольный. При культивировании на двух средах с различным содержанием источника углерода у исследованных "поколений" *A. versicolor* 99 и *A. versicolor* 432 выявлено разнонаправленные изменения скорости радиального роста (от замедления к ускорению), которые по величине находились в пределах от 60% до 140% (на сусло-агаре) и от 70% до 230% (на голодном агаре) по отношению к соответствующим необлученным "поколениям". Выявлены изменения в профиле активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы, которые имеют волнообразный характер у трех исследованных "поколений" *A.versicolor* 432 и *A.versicolor* 99 (за исключением каталазы) и высокую амплитуду колебаний от уменьшения до 30% к увеличению до 900%.

Ключевые слова: ионизирующее облучение, "поколения" *Aspergillusversicolor*, ферменты антиоксидантной защиты.

A. Tugay, applicant., T. Tugay, DSc

Institute of Microbiology and Virology. DK Zabolotny National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine,

D. Lukashov, DSc.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

INFLUENCE OF LOW CHRONIC EXPOSURE ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF THREE IRRADIATED GENERATIONS *ASPERGILLUS VERSICOLOR*

Exposure of chronic radiation on three generation *Aspergillus versicolor*, which were obtained in the model conditions from two parental strains: *A.versicolor* 99 with radioadaptive properties isolated from location "Shelter" Chernobyl NPP and *A.versicolor* 432 – control were characterized. In investigated generation *A. versicolor* 99 and *A. versicolor* 432 were found opposite changes of the growth rate (from deceleration to acceleration) under the cultivating in two medium with different content of carbon source, which value was in the range from 60% to 140% (on wort agar) and from 70% to 230% (on depleted nutrients agar) in comparison with non-irradiated generations. In three investigated generations *A.versicolor* 432 and *A.versicolor* 99 were found changes in the profile of activity of the antioxidant enzymes superoxidisedismutase, catalase, peroxidase, which had wavy like character (except catalase) and high amplitude of oscillation from decreasing to 70% up to an increase to 900%.

Key words: ionizing radiation, generations *Aspergillus versicolor*, enzymes of antioxidant system.

УДК: 57.612.3+616-008+3

Д. Воєйкова, асп., Л. Степанова, канд. біол. наук,
О. Савчук, д-р біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
М. Кондро, канд. мед. наук

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

СКЛАД БІЛКІВ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ

Охарактерезовано низько-, середньо- та високомолекулярні фракції гепатоцитарних білків за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та корекції нанокристалічним діоксидом церію і піоглітазоном. Білкові фракції були розділені за допомогою диск-електрофорезу за методом Laemmli у градієнті ПААГ з додецилсульфатом натрію. За умов глутамат-індукованого ожиріння пул білків гепатоциту змінюється, а саме зменшується вміст високомолекулярних білків на фоні підвищення вмісту низькомолекулярних. Характер змін у пулі гепатоцитарних білків узгоджуються з раніше встановленими даними про зміни вмісту білків у гепатоцитах під впливом ВКД багатой жири і вуглеводи. За умов корекції діоксидом церію було відмічено схожі зміни у пулі білків гепатоциту, але у порівнянні з глутамат-індукованим ожирінням вміст низькомолекулярних білків був нижчим. Піоглітазон не показав позитивного впливу на пул гепатоцитарних білків, що може бути пов'язане з коротким терміном введення.

Ключові слова: глутамат-індуковане ожиріння, діоксид церію, піоглітазон, білкові фракції, гепатоцити.

Вступ. Ожиріння є великою проблемою сьогодення, що пов'язано з порушенням системи харчування, хаотичним режимом прийому їжі та широким використанням у продуктах харчових добавок, зокрема, таких як L-глутамат натрію (ГН). Вище зазначені фактори впливають на обмін речовин та призводять до розвитку "пандемий" аліментарного або дієтичного ожиріння [15]. В умовах надлишкової ваги абдомінального типу, збільшення маси вісцерального жиру призводить до

надходження в кровеносне русло, і далі у печінку, надлишкової кількості вільних жирних кислот, що, в свою чергу, призводить до ряду порушень вуглеводного і жирового обміну. Одним з найбільш небезпечних є розвиток інсулінорезистентності і печінковий стеатоз, які негативно впливають на функціонування печінки [7, 12]. Паралельний розвиток запальних процесів та окисного стресу веде до посилення патологічних процесів, які пов'язані з кількісними і якісними змінами пулу білків.