МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ЖИТОМИРСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ

ГІДРОЕКОЛОГІЧНЕ ТОВАРИСТВО УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКЕ НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО ПАРАЗИТОЛОГІВ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА

ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2017

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю

«Біологічні дослідження – 2017»

14–16 березня 2017 року

Житомир – 2017

ПП «Рута»

УДК 577
ББК 28.0
Б 63

Рекомендовано до друку вченою радою
Житомирського державного університету імені Івана Франка
(протокол №11 від 31 березня 2017 року)

Рецензенти

Світлана Вікторівна Гордійчук – кандидат біологічних наук, доцент кафедри природничих та соціально-гуманітарних дисциплін, проректор з навчальної роботи Житомирського інституту медсестринства

Ірина Дмитрівна Бойчук – кандидат педагогічних наук, заступник директора з навчальної роботи Житомирського базового фармацевтичного коледжу ім. Г.С. Протасевича

Микола Михайлович Свительський– кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри загальної екології Житомирського національного агроекологічного університету

Біологічні дослідження – 2017: Збірник наукових праць. – Житомир: ПП «Рута», 2017. – 440 с.

У збірнику подаються нові результати теоретичних, прикладних та науково-методичних досліджень провідних учених із широкого спектру біологічних проблем. Видання розраховане на студентів, аспірантів, вчителів, викладачів та науковців.

Редакційна колегія:

Саух Петро Юрійович – ректор ЖДУ імені Івана Франка, д.ф.н., проф. (голова);
Романенко Віктор Дмитрович – директор Інституту гідробіології НАН України, академік НАНУ, д.б.н. (співголова);
Акімов Ігор Андрійович – директор Інституту зоології імені І.І.Шмальгаузена НАНУ; чл.-кор. НАНУ, д.б.н. (співголова);
Сейко Наталія Андріївна – проректор з наукової роботи ЖДУ імені Івана Франка, д.п.н., проф.;
Янович Лариса Миколаївна – проректор з навчальної роботи ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., доц.;
Романенко Олександр Вікторович – зав. кафедри біології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, чл.-кор. НАНУ, д.б.н., проф.;
Афанасьєв Сергій Олександрович - заступник директора Інституту гідробіології НАНУ з наукової роботи, д.б.н., проф.;
Юришинець Володимир Іванович - заступник директора Інституту гідробіології НАНУ з наукової роботи, д.б.н.;
Романчук Людмила Донатівна - проректор з наукової роботи та інноваційного розвитку ЖНАЕУ, д. с.-г. н., проф.;
Корнюшин Вадим Васильович – гол.н.с. відділу паразитології Інституту зоології імені І.І. Шмальгаузена НАНУ, д.б.н., проф.;
Межжерін Сергій Віталійович – зав. відділом еволюційно-генетичних основ систематики Інституту зоології імені І.І. Шмальгаузена НАНУ, д.б.н., проф.;
Грубінко Василь Васильович – зав. кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка, д.б.н., проф.;
Крот Юрій Григорович – пр.н.с. відділу екологічної фізіології водяних тварин Інституту гідробіології НАН України, к.б.н.;
Кутек Тамара Борисівна – декан факультету фізичного виховання і спорту ЖДУ імені Івана Франка, доктор наук з фізичного виховання та спорту, проф.;
Вискушенко Дмитро Андрійович – декан природничого факультету ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Стадниченко Агнеса Полікарпівна – зав. кафедри зоології ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., проф.;
Житова Олена Петрівна – зав. кафедри екології лісу та безпеки життєдіяльності ЖНАЕУ, д.б.н., доц.;
Киричук Галина Євгеніївна – зав. кафедри ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., проф.;
Гарбар Олександр Васильович – зав. кафедри екології та природокористування ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н.;
Корнійчук Наталія Миколаївна – зав. кафедри медико-біологічних основ фізичного виховання та спорту ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Огороднійчук Марія Володимирівна – ст. викладач кафедри медико-біологічних основ фізичного виховання та спорту ЖДУ імені Івана Франка, к.ф.н.;
Гирина Альона Асанівна – старший лаборант кафедри медико-біологічних основ фізичного виховання і спорту.

Матеріали друкуються в авторській редакції. За достовірність фактів, власних імен та інші відомості відповідають автори публікації. Думка редакції може не збігатися із думкою авторів.

ISBN 978-617-581-311-9

©ЖДУ імені Івана Франка, 2017
©ПП «Рута», 2017

Литература

1. Рамазанов В. В. Влияние комбинированных сред на повреждение эритроцитов, замороженных с различным гематокритом / В. В. Рамазанов // Проблемы криобиологии. – 2006. – Т. 16, № 2.–С. 155–163.
2. Рамазанов В. В. Влияние криопротекторов на устойчивость эритроцитов к детергентам при модификации агрегатного состояния белка полосы 3 / В. В. Рамазанов, В. А. Бондаренко // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, № 4. – С. 335–346.
3. Рамазанов В.В. Защитная эффективность комбинированных сред с непроникающими и проникающими криопротекторами при замораживании клеток крови / В.В. Рамазанов, Т.И. Дейнеко, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2011. – № 1 (11) – С. 39-45.
4. Рамазанов В.В. Проявление и устранение эффекта «упаковки» в средах с непроникающими и проникающими криопротекторами / В.В. Рамазанов В.А. Бондаренко // Проблемы криобиологии. – 2009. – Т. 19, № 3 – С. 312–323.
5. Рамазанов В.В. Свойства эритроцитов, замороженных в среде с декстраном, диметилсульфоксидом и глюкозой / В.В. Рамазанов, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2012.– Т. 1, Вип. 3. – С. 241–246.
6. Рамазанов В.В. Свойство эритроцитов, замороженных в среде с полиэтиленгликолем и 1,2-пропандиолом / В.В. Рамазанов, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014.– Т. 2, Вип. 3. – С. 230–236.
7. Kragh-Hansen U. The Mechanism of Detergent Solubilization of Liposomes and Protein–Containing Membranes / U. Kragh-Hansen, M. le Maire, J.V. Møller // Biophys J. – 1998. – Vol. 75, № 6. – P. 2932–2946.
8. Le Maire M. Interaction of membrane proteins and lipids with solubilizing detergents / M. Le Maire, P. Champeil, J.V. Moller // Biochim. Biophys. Acta. – 2000. – Vol. 1508. – P. 86–111.
9. Matson R.S. Use of high–performance size exclusion chromatography to determine the extent of detergent solubilization of human erythrocyte ghosts / R.S. Matson, S.C. Goheen // J Chromatogr. – 1986. – Vol. 359. – P. 285–295.
10. Pegg D. E. Principles of cryopreservation / D. E. Pegg // Meth. Mol. Biol. 2007, V. 368, P. 39–57.
11. Van Dort H.M. Effect of band 3 subunit equilibrium on the kinetics and affinity of ankyrin binding to erythrocyte membrane vesicles / H.M. Van Dort, R. Moriyama, P.S. Low // J Biol Chem. – 1998. – Vol.273, № 24. – P. 14819–14826.
12. Van Dort H.M. Analysis of integral membrane protein contributions to the deformability and stability of the human erythrocyte membrane / H.M. Van Dort, D.W. Knowless, J.A. Chasis, G. Lee, N. Mohandas, P.S. Low // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276, № 50. – P. 46968–46974.

УДК 57.043:615.21/.26:547.426.1:612.111

ЕФЕКТИВНІСТЬ ХЛОРПРОМАЗИНУ В МОДЕЛЬНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАХ І ПРИ ВИДАЛЕННІ ГЛІЦЕРИНУ З КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЕРИТРОЦИТІВ

О.О. Чабаненко[1], К.А. Сєміонова[2], Н.В. Орлова[3], Н.М. Шпакова[4]

[1,3,4]Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАНУ, вул. Переяславська,23, Харків, 61016, Україна

[2]Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи 4, Харків, 61022, Україна

У трансфузійної медицині еритроцити зберігають охолодженими протягом не більш ніж 6 тижнів. В якості альтернативи, кріоконсервація дозволяє зберігати еритроцити протягом багатьох років. В наш час актуальної проблемою є розробка нових підходів до вирішення проблем довготривалого зберігання еритроцитів в умовах

заморожування. Це є цінним підходом для довгострокового зберігання еритроцитів донорів з рідкісними групами крові та для військового контингенту. Тим не менш, накопичення запасів кріоконсервованих еритроцитів також може бути корисним у надзвичайних або клінічних ситуаціях, коли попит перевищує пропозицію [1].

Вплив кріопошкоджуючих факторів на клітини на одному з етапів процесу низькотемпературного консервування, пов'язаним із відігріванням і видаленням проникаючих кріопротекторів, вивчають за допомогою двох моделей: гіпотонічного лізису та постгіпертонічного шоку [2,3].

Раніше було показано, що амфіфільні сполуки знижують пошкодження клітин в умовах дії стресових факторів [4,5]. Зокрема, хлорпромазин знижує рівень пошкодження еритроцитів при гіпертонічному шоці та гіпертонічному кріогемолізі еритроцитів [6]. Захисну дію хлорпромазину пов’язують зі здатністю його молекул вбудовуватися в мембрану і модифікувати її [6]. Таким чином, антигемолітична активність хлорпромазину визначається станом і властивостями еритроцитарних мембран.

Мета – порівняне вивчення ефективності хлорпромазину в умовах гіпотонічного і постгіпертонічного шоку еритроцитів людини та на етапі видалення гліцерину з клітин, що були кріоконсервовані.

Для здійснення гіпотонічного шоку еритроцити переносили у середовища (0,04-0,12 моль/л NaCl, 0,01 моль/л фосфатний буфер, pH 7,4) при температурі 0°С. Постгіпертонічний шок еритроцитів здійснювали перенесенням клітин із гіпертонічного розчину (1,75 моль/л NaCl) в ізотонічне середовище (0,15 міль/л NaCl) при 0ºС. Кінцевий гематокрит складав 0,4%. Хлорпромазин додавали в гіпотонічне та ізотонічне середовища перед внесенням до них еритроцитів. Заморожування суспензії еритроцитів з гліцерином (15%) здійснювали шляхом швидкого занурення в рідкий азот (-196ºС). Для видалення гліцерину з відігрітих клітин використовували NaCl у концентрації 0,6 моль/л (одноразово) і 0,15 моль/л (дворазово) у присутності хлорпромазину [7]. Рівень гемолізу еритроцитів визначали методом спектрофотометрії при довжині хвилі 543 нм.

Для оцінки і порівняння ефективності дії хлорпромазину використовували поняття максимальної антигемолітичної активності ($АГ_{макс}$), яку обчислювали за формулою:

$$АГ_{макс} = \frac{к - a}{к} \times 100\ \%$$, де $к$ – величина гемолізу еритроцитів за відсутності амфіфільної речовини; a – мінімальна величина гемолізу еритроцитів у присутності хлорпромазину.

Ефективну концентрацію хлорпромазину визначали з концентраційних залежностей гіпотонічного шоку і постгіпертонічного шоку як концентрацію речовини, що відповідає середині діапазону концентрацій амфіфільної сполуки, в межах якого спостерігається мінімальний рівень гемолізу еритроцитів.

Встановлено, що величина максимальної антигемолітичної активності хлорпромазину в умовах гіпотонічного шоку еритроцитів людини становить 69 ± 6 %. Діапазон максимально захисних концентрацій хлорпромазину для еритроцитів людини складає 20 – 60 мкмоль/л, значення ефективної концентрації дорівнює 40 мкмоль/л.

В умовах постгіпертонічного шоку еритроцитів хлорпромазин захищає клітини від ушкодження. При використанні хлорпромазину в ефективній концентрації (600 мкмоль/л) антигемолітична активність речовини складає 77 ± 7 %

Для тривалого зберігання еритроцитів людини широко використовується кріоконсервування під захистом гліцерину, який є проникаючим кріопротектором. Перед трансфузією розморожених еритроцитів необхідним є етап відмивання клітин від гліцерину [8]. Це пов'язано з тим, що при перенесенні еритроцитів, насичених гліцерином, в кровоносне русло реципієнта або в ізотонічне середовище (0,15 моль/л

NaCl), клітини руйнуються. Оскільки швидкість входу води вища, ніж швидкість виходу гліцерину з клітини, еритроцити набрякають і, досягши критичного гемолітичного об'єму, лізують. За своєю суттю багатоступеневе видалення гліцерину з еритроцитів є «інструментом» для зниження рівня постгіпертонічного лізису еритроцитів.

У ході поетапного видалення гліцерину з розморожених еритроцитів найбільший рівень ушкодження спостерігається при перенесенні клітин у перше ізотонічне середовище (гемоліз 25%). Використання хлорпромазину в концентрації, яка була ефективною при постгіпертонічному шоці, дозволяє знизити рівень гемолізу клітин в 2-3 рази. Антигемолітична активність речовини складає порядка 70%.

Таким чином, встановлена висока ефективність хлорпромазину при його застосуванні як у двох модельних експериментах (гіпотонічний шок і постгіпертонічний шок), так і при видаленні гліцерину з клітин, які були піддані кріоконсервуванню. При цьому у всіх випадках антигемолітитчна активність хлорпромазину була на рівні 70%, у той час як збіг значень ефективних концентрацій спостерігалося тільки при постгіпертонічному шоці та на етапі видаленні гліцерину з клітин, які були кріоконсервовані.

Оскільки захисний ефект хлорпромазину, який був виявлений у модельному експерименті (постгіпертонічний шок), встановлений і в реальних умовах заморожування-відігрівання еритроцитів (при видаленні гліцерину з клітин), слід говорити про відповідності цієї моделі і доцільності її застосування в подальших експериментах.

Література

1. The effects of cryopreservation on red blood cell rheologic properties / S. Henkelman, J.W. Lagerberg, R. Graaff [et al.] // Transfusion. – 2010. – Vol. 50, № 11. – P. 2393-2401.

2. Hypotonic Lysis of Mammalian Erythrocytes in Chlorpromazine Presence / E.A. Semionova, N.A. Iershova, N.V. Orlova, N.M. Shpakova // Eastern European Scientific Journal. – 2016. – № 2. – P. 7–17

3. Peculiarities of Posthypertonic Lysis in Erythrocytes of Several Mammals / E.A. Semionova, N.A. Yershova, S.S. Yershov [et al.] // Problems of Cryobiology and Cryomedicine. – 2016. – Vol. 26, № 1. – P. 73-83.

4. Ершова Н.А. Влияние фенилгидразина и алкилсульфатов на осмотическую чувствительность эритроцитов млекопитающих / Н.А. Ершова, Н.М. Шпакова, Н.В. Орлова // Доповіді НАН України. – 2012. – № 6. – С. 129-133.

5. Application of alkyl sulfates and heat treated erythrocytes in hypertonic cryohemolysis / N.M. Shpakova, N.A. Iershova, N.V. Orlova [et al.] // Biotechnologia Acta. – 2015. – Vol.8, № 3. – P. 129–136.

6. Вплив катіонних та аніонних амфіфільних сполук на гіпертонічний кріогемоліз еритроцитів ссавців / С.С. Єршов, Н.А. Писаренко, Н.В. Орлова, Н.М. Шпакова // Фізіологічний журнал.– 2007.– Т. 53, № 6.– С. 78–84.

7. Sumida S. Cryopreservation, cryosurgery, cryovaccination and cryoimmunology, transfusion, transplantation, cell and tissue culture, and basis of regenerative therapy / S. Sumida // Low temperature medicine. – 2014. –Vol. 40, № 4. – P. 69–130.

8. Frozen blood products: clinically effective and potentially ideal for remote Australia / A. Holey, D.C. Marks, L. Johnson [et al.] // Anaesth. Intensive Care. – 2013. – Vol. 41, № 1 – P. 10–19.