

Подано експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводяться науковцями біологічного факультету в галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено також нові дані стосовно біохімічних та біофізичних основ регуляції у клітинах та органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів, наведено результати нових методичних розробок.

Collection of articles written by the scientists of biological faculty contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР	Л.І.Остапченко, д-р біол. наук, проф.
РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ	М.Є. Кучеренко, д-р біол. наук, проф., акад. НАН України; Т.Л. Проценко, канд. біол. наук (відп. секр.); І.В. Якубцова (техн. секр.); В.М. Войціцький, д-р біол. наук, проф.; С.В. Демидов, д-р біол. наук, проф.; М.Е. Держинський, д-р біол. наук, проф.; М.С. Мірошніченко, д-р біол. наук, проф.; М.М. Мусієнко, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. УААН; В.К. Позур, д-р біол. наук, проф.; І.Ю. Костіков, д-р біол. наук, доц.; В.В. Серебряков, д-р біол. наук, проф.; М.Ю. Макарчук, д-р біол. наук, проф.; В.П. Поліщук, д-р біол. наук, проф.
Адреса редколегії	01033, м. Київ-33, Проспект акад. Глушкова, 2, корп. 12, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, біологічний факультет ☎ (38044) 266-9367
Затверджено	Вченою радою біологічного факультету 3 грудня 2003 року (протокол № 7)
Атестовано	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/7 від 9.06.99
Зареєстровано	Міністерством інформації України. Свідоцтво про державну реєстрацію КІ № 251 від 31.10.97
Засновник та видавець	Київський національний університет Імені Тараса Шевченка, Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет" Свідоцтво внесено до державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02
Адреса видавця	01030, Київ-30, 6-р Т.Шевченка, 14, кімн. 43 ☎ (38044) 239 3172, 239 3222; факс 234 0105

УДК 612.017.1:578.223:663.0.35/038

І.В. Ткаченко, асп.,  
О.В. Карпов, д-р біол. наук,  
К.Г. Гаркава, д-р біол. наук,  
С.В. Антоненко, д-р біол. наук,  
Ю.М. Миронюк, асп.

## ВИВЧЕННЯ ІМУНОМОДУЛЮЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ ДРІЖДЖОВА РНК – ТИЛОРОН

У досліджах *in vivo* з використанням реакції бласттрансформації вивчали здатність до імуномодулюючої дії молекулярного комплексу дріжджова РНК – тилорон (МК). Виявлося, що МК сам по собі підвищує трансформацію лімфоцитів у бласти на рівні поліклонального мітогену фітогемаглютинін (ФГА), збільшуючи потенційну здатність імунної системи в реакціях на антигени. У реакціях ФГА-індукованої бласттрансформації було відмічено супресивну дію МК. Можливі механізми імуномодулюючої дії МК обговорюються. Зроблено висновок щодо здатності МК до підвищення загальної імунологічної реактивності організму.

*The immunomodulative activity of yeast RNA – tilorone molecular complex (MC) has been studied in vivo. MC was showed to increase a lymphocyte transformation into blasts on polyclonal mitogen level. That rises immune system ability to antigen reactions. A suppressing action of MC was marked in the FGA-induced blasttransformation reactions. The possible mechanisms MC immunomodulative activities have been discussed. The conclusion concerning ability of MC to increase immunity reactance of an organism.*

**Вступ.** Різнобічний модулюючий вплив препаратів інтерферонів (ІФН) на всі ланки імунної системи організму є феноменом, який достатньо висвітлений в літературі [1]. Відомо також, що всім індукторам ІФН в тій чи іншій мірі притаманні імуномодулюючі властивості [2]. Не є виключенням з цього правила й препарати дріжджової РНК, відомі, як досить слабкі інтерферогени [3] і водночас потужні імуномодулятори [4], а також перший з відомих синтетичних індукторів ІФН в умовах *in vivo* – 2,7-біс[2-(діетиламіно-етоксі)-флуорен]-9-он дигідрохлорид (тилорон). Молекулярні комплекси, які утворюються під час взаємодії синтетичного низькомолекулярного ліганду тилорону з дріжджовою РНК (МК), здатні до індукції  $\alpha/\beta$  – інтерферонів ( $\alpha/\beta$  – ІФН) [5].

Метою даної роботи було вивчення впливу інтерфероніндукуючого молекулярного комплексу дріжджова РНК – тилорон на функціональну активність популяції лімфоїдних клітин по їх здатності до трансформації в бласти.

**Об'єкт та методи досліджень.** Як нуклеїновий компонент МК використовували комерційний препарат дріжджової РНК (НПО "Біохімреактив", Олайн, Латвія), який додатково очищували потрібною фенольною депротейнізацією з наступним осадженням етанолом. МК в співвідношенні 1/10 (тилорон/РНК фосфат)(М/М) готували за допомогою прямого змішування розчинів дріжджової РНК певної концентрації в буфері, який містив 0,01 моль/л трис-НСІ (рН 6,8) і 0,05 моль/л NaCl, з розчином тилорону ("Sigma", США) заданої концентрації в тій же буфері. Перед проведенням досліджень розчини МК стерилізували шляхом фільтрації через мембранні фільтри з діаметром пор 0,22 мкм ("Синпор", Словачія).

Дослідження проводили на білих нелінійних мишах віком 2-3 місяці та масою 18-20 г (20 особин), які певний час утримувалися на карантині та не мали ознак захворювання. Під час дослідів тварини знаходилися у звичайних умовах. Препарат МК вводили внутрішньочеревинно в дозах від 0,0125 до 125 мг/кг ваги тварин, що відповідає максимальному інтерферогенезу. Контролем слугували тварини, яким вводили рівні об'єми фізіологічного розчину. Мишей забивали шляхом цервікальної дислокації під легким ефірним наркозом.

Імуномодулюючу дію МК вивчали на моделі лімфоцитів селезінки мишей. Для цього на 3 та 7 добу після введення препарату МК у мишей вилучали селезінку та готували суспензію спленоцитів шляхом гомогенізації.

Клітини двічі промивали поживним середовищем RPMI-1640 Лімфоцити селезінки виділяли з одержаної суспензії клітин, центрифугуючи в градієнті щільності фікол-урографіну при 1,5 тис. об/хв протягом 40 хв [6]. Отримані зразки лімфоцитів у концентрації  $10^6$  клітин в 1 мл поживного середовища RPMI 1640 з додаванням 10 % ембріональної телячої сироватки (ЕТС) ("Serva", Німеччина), 25 ммоль/мл 4-(2-гідроксіетил)-1-піперазіно-етансульфонової кислоти (HEPES) ("Serva", Германія), 10 ммоль/мл L-глутаміну та антибіотиків – пеніциліну і стрептоміцину (по 100 од/мл кожного), інкубували в лунках 96-лункових планшетів "Falcon" (США) протягом 72 год при 37 °С в атмосфері 5 % CO<sub>2</sub>. До зразків додавали стандартний мітоген – ФГА ("Sigma", США) у концентрації 50 мкг/мл. Далі визначали проліферативну активність МК та його вплив на здатність лімфоцитів до бласттрансформації у відповідь на дію мітогену згідно зі стандартною методикою [6]. За 4 год до закінчення інкубації в лунки з лімфоцитами вносили H<sup>3</sup>-тимідин у дозі 1 мкКи/мл. Клітинну суспензію наносили на фільтри "Synpor" №6, промивали дистильованою водою, охолодженою 5 % трихлороцтовою кислотою та 96 % етанолом. Фільтри висушували під вакуумом і розміщували у флакони з толуоловим сцинтилятором. Включення радіоактивної мітки реєстрували на  $\beta$ -спектрометрі "Rackbeta 1219" (LKB, Швеція). Ефективність включення радіоактивних попередників наводили в імп/хв.

Індекс стимуляції (ІС) клітин обраховували згідно з [6]:

$$IC = \frac{\text{радіоактивність стимульованих лімфоцитів (імп/хв)}}{\text{радіоактивність нестимульованих лімфоцитів (імп/хв)}}$$

Оцінювали проліферативну активність МК, виходячи з отриманих значень ІС.

**Результати та їх обговорення.** Для виявлення імуномодулюючих властивостей МК і його впливу на імунну систему використовували реакцію бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ), оскільки дана реакція є одним з інформативних показників дії імуномодуляторів на клітинну та гуморальну ланки імунітету [6]. Наявність на поверхні Т- і В-лімфоцитів рецепторів до різних неспецифічних стимуляторів бластогенезу дає можливість виявити функціональну активність популяції даних клітин по їх здатності до трансформації в бласти. Для виявлення імуномодулюючих властивостей МК вивчали його вплив на рівні сумарної проліферативної відповіді

лімфоїдних тканин клітин миші в нормі та при мітогеному стимулюванні.

Як видно з таблиці, на третю добу спостереження МК у всіх досліджених дозах спричиняє досить незначний проліферативний ефект на лімфоїдні тканини організму, що виявляється в підвищенні величин ІС на 0,27-0,65 ум. од. При цьому найдієвішою виявилася доза 1,25 мг/кг маси тварини. Характерно, що подальше збільшення дози МК призводить до зворотного ефекту – зменшення величини ІС. Беручи до уваги відому здатність компонентів МК – дріжджової РНК та тилорону – збільшувати кількість антиліоутворювальних клітин селезінки мишей, можливо припустити, що виявлена стимуляція проліферації клітин під дією МК може бути зумовлена як поліклональною активацією, так і активацією певного клону лімфоцитів. На сьому добу спостереження

проліферативний ефект МК пропорційно зменшувався, що може бути відображенням тенденції до відновлення вихідного рівня проліферації.

При вивченні впливу різних доз МК на ФГА-індуковану проліферацію (табл.), нами був виявлений досить суттєвий супресивний ефект цього препарату. Супресивна дія МК достатньо виражена у всіх дослідних концентраціях. Зниження викликаного ФГА проліферації клітин щодо контролів у цьому випадку досягає 6–46 % та 45–63 % відповідно на третю та сьому добу спостереження. Такий ефект МК, який можна розглядати як імунокорегуючий, пояснюється, на наш погляд, або прямим блокуючим ефектом МК на частину пулу Т-лімфоцитів, що є чутливими до дії ФГА, або стимуляцією супресорів, які контролюють активність згаданих клітин.

Визначення проліферативної активності спленоцитів мишей у РБТЛ

	Доба, після імунізації	Концентрація МК, мг/мл					Контроль
		0,0125	0,125	1,25	12,5	125	
		Індекс стимуляції, ум. од.					
МК без додаткової стимуляції	3 доба	0,27±0,03	0,45±0,042	0,65±0,063	0,6±0,054	0,58±0,056	0,68±0,014
	7 доба	0,25±0,022	0,42±0,038	0,53±0,052	0,44±0,023	0,42±0,011	1,08±0,03
МК+ФГА	3 доба	0,59±0,032	0,5±0,03	0,34±0,024	0,34±0,017	0,35±0,021	0,68±0,014
	7 доба	0,6±0,04	0,59±0,037	0,56±0,039	0,4±0,014	0,42±0,023	1,6±0,2

Різниця з контролем вірогідна: – p < 0,05

**Висновки.** 1. МК у всіх досліджених дозах спричиняє досить незначний проліферативний ефект на лімфоїдні тканини організму без додаткової стимуляції мітогенами. 2. У реакціях ФГА-індукованої бласттрансформації була відмічена супресивна дія МК. 3. На основі одержаних даних можна припустити, що МК притаманні імуномодулюючі властивості.

1. De Maeyer E. // In interferon general and applied aspects / Ed. R.M. Friedman. – Elsevier; Amsterdam; N.Y.; Oxford, 1984. – P. 167-188.  
 2. Johnson H.M. // In Interferon and interferon inducers / Ed. D.A. Stringfellow. – N. Y., 1980. – P. 263-293. 3. Балезина Т.И., Фадеева Л.Л., Земсков В.Л. и др. // Антибиотики. – 1976. – № 3. – С. 250-254. 4. Земсков А.И., Земсков В.М., Никитин А.В. // Иммунология. – 1981. – № 1. – С. 50-55. 5. Карпов А.В., Жолобак Н.М. // Вопр. вирусол. – 1996. – Т. 41, № 1. – С.1 3-16. 6. Федосеева В.Н., Горядин Г.В., Ковальчук А.И. и др. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. – М., 1993.

Надійшла до редколегії 04.11.03

УДК 579.871.1:8.04.615.28

О.С. Радченко, канд. біол. наук,  
 Л.Г. Степура, канд. техн. наук,  
 Л.О. Михальський, канд. біол. наук,  
 І.М. Фуртат, канд. біол. наук

### ЗМІНА ДЕЯКИХ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ CORYNEBACTERIUM VARIABILIS ПІСЛЯ АДАПТАЦІЇ ДО КАТІОННОЇ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ГІАМІНУ

Наведено результати адаптації *Corynebacterium variabilis* УКМ Ас-717 до катіонної поверхнево-активної речовини гіаміну 2389. Установлено, що під впливом цього дезинфектанту у бактерії відбуваються суттєві зміни у складі клітинної стінки та формується мультирезистентність до деяких антибіотиків

In this article the results of the adaptation of *Corynebacterium variabilis* UCM Ac-717 to cationic surfactant Hyamine 2389 are presented. The significant changes of cellular wall structure and antibiotic sensitivity to under influence of this compound were established.

**Вступ.** До речовин, які мають виражену антимікробну дію, крім антибіотиків належить і більшість синтетичних катіонних поверхнево-активних речовин (КПАР), які в силу свого застосування у складі дезинфектантів та антисептиків часто контактують з мікрофлорою організму людини [1-4]. У разі тривалого контакту завдяки мутагенним властивостям ці ксенобіотики здатні змінювати геном мікроорганізмів таким чином, що в останніх спочатку виникає стійкість до цих сполук, а згодом і здатність включати їх у свій метаболізм [3]. З літератури відомо, що формування стійкості бактерій до КПАР часто супроводжується значними морфологічними, фі-

зіологічними та ультраструктурними змінами в клітинах. Так, *Pseudomonas aeruginosa*, що була резистентною до бензалконій хлориду в концентрації 1 мг/мл, втрачала рухливість та здатність окиснювати глюкозу, давала негативну цитохромоксидазну реакцію, збільшувалася час генерації. Клітини, стійкі до цієї сполуки, також виявляли підвищену чутливість до антибіотиків та аніонних ПАР [5]. При концентрації в середовищі четвертинних амонійних сполук у кількості 1 г/л розмір резистентних клітин зменшувався на 30 % [6], при концентрації 207 мг/л у стійких клітинах продукувалося на 77 % більше загальних ліпідів, ніж у чутливих [7]. *Enterobacter*

Наукове видання



**ВІСНИК**  
**КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

**БІОЛОГІЯ**

**Випуски 42-43**

Редактор В.Філь

Оригінал-макет виготовлено Видавничо-поліграфічним центром "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, економіко-статистичних даних, власних імен та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали. Рукописи та дискети не повертаються.

Засновник та видавець – Київський національний університет імені Тараса Шевченка. Свідоцтво Міністерства інформації України про державну реєстрацію засобів масової інформації КІ № 251 від 31.10.97. Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", директор Г.Л.Новікова. Адреса ВПЦ: 01033, Київ, б-р Тараса Шевченка, 14, кімн. 43. ☎ (38044) 239 3172, 239 3222; факс 234 2290



Підписано до друку 01.02.04. Формат 60x84<sup>1/8</sup>. Вид. № 11. Гарнітура Arial. Папір офсетний.  
Друк офсетний. Наклад 500. Ум. друк. арк. 13,02. Обл.-вид. арк. 20,0. Зам. № 24-2350.

Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет"  
01033, Київ, б-р. Т. Шевченка, 14, кімн. 43,  
☎ (38044) 239-3222; (38044) 239-3172; факс (38044) 224-0105.  
e-mail: vydav\_pollgraph@univ.kiev.ua  
<http://vpc.univ.kiev.ua>  
Свідоцтво внесено до державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02.