

ISSN 0206-5657

ВІСНИК
ЛЬВІВСЬКОГО
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 92

2024

VISNYK | **ВІСНИК**
OF THE LVIV | **ЛЬВІВСЬКОГО**
UNIVERSITY | **УНІВЕРСИТЕТУ**

Series Biology | **Серія біологічна**

Issue 92 | **Випуск 92**

Scientific journal | Збірник наукових праць

Published 3–4 issues per year | Виходить 3–4 рази на рік

Published since 1962 | *Видається з 1962 року*

Ivan Franko | Львівський національний
National University of Lviv | університет імені Івана Франка

2024

Друкується за ухвалою Вченої ради
Львівського національного університету
імені Івана Франка
Протокол № 73/10 від 30 жовтня 2024 р.

Реєстрація суб'єкта у сфері друкованих медіа:
Рішення Національної ради України з питань
телебачення і радіомовлення № 1877 від
30.05.2024 р. Ідентифікатор медіа R 30-04890.
Видання включене до Thomson Scientific Mas-
ter Journal List (список ISI)

У “Віснику Львівського університету. Серія біологічна” опубліковані статті з актуальних проблем біології. Для наукових працівників, аспірантів і студентів старших курсів.

Papers on current problems in biology are published in the Visnyk. For scientific staff, Ph. D. students and Bachelors.

Редакційна колегія:

д-р біол. наук, проф. *В. Федоренко* – головний редактор; д-р біол. наук, проф. *В. Манько* – заступник головного редактора; *Н. Цимбалюк* – секретар; д-р біол. наук *А. Бабський*; канд. біол. наук, доц. *З. Мамчур*; д-р біол. наук, проф. *Н. Сибірна*; д-р біол. наук, проф. *Д. Санагурський*; канд. біол. наук, проф. *С. Гнатуш*; д-р біол. наук, проф. *Л. Тасенкевич*; д-р біол. наук, проф. *О. Терек*; д-р біол. наук, проф. *Й. Царик*; д-р біол. наук, проф. *Ю. Чорнобай* (Державний природознавчий музей НАН України); д-р біол. наук, проф. *Г. Антоняк*; д-р біол. наук *Б. Осташ*, канд. біол. наук, доц. *В. Гончаренко*; канд. біол. наук *М. Ватаманюк*; канд. біол. наук *О. Ватаманюк*; д-р біол. наук, проф. *М. Доліба*; д-р біол. наук *А. Лужецький*; канд. біол. наук, проф. *І. Медина*

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Fedorenko* – Editor-in-Chief

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Manko* – Assistant Editor

N. Tymbalyuk – Managing Editor

Відповідальні за випуск: *В. Федоренко, Н. Цимбалюк*

Адреса редколегії:

Львівський національний університет
імені Івана Франка, біологічний факультет
вул. Грушевського, 4
Львів 79005, Україна
тел.: (032) 239-47-86

Editorial office address:

Ivan Franko National University
of Lviv, Biology faculty
4, Hrushevskyy St.
Lviv 79005, Ukraine
tel. (032) 239-47-86

E-mail: biovisnyk@lnu.edu.ua

<http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/index>

<https://doi.org/10.30970/vlubs.2024.92>

Редактор: Л. СІДЛОВИЧ

Комп'ютерна верстка: В. ДЕМЧУК

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ, ВИДАВЦЯ І ВИГОТОВЛЮВАЧА:

Львівський національний університет
імені Івана Франка
вул. Університетська, 1, Львів 79000, Україна
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої
справи до Державного реєстру видавців,
виготівників і розповсюджувачів видавничої
продукції. Серія ДК № 3059 від 13.12.2007 р.

Формат 70x100^{1/16}
Ум. друк. арк. 12,7
Наклад 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет
імені Івана Франка, 2024



Мирон ДЕРКАЧ
(1931 – 2014)



Ірина ШОСТАКОВСЬКА
(1924 – 1996)



Борис ДЕМКІВ
(1924 – 1992)

На 2024 рік припадає декілька славних ювілеїв з історії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. 50 років тому відомий український фізіолог і біофізик Мирон Деркач заснував кафедру біофізики та математичних методів у біології. У заснуванні й розвитку кафедри важливу роль відіграли інші підрозділи факультету, зокрема, кафедра фізіології людини і тварин, кафедра біохімії та група біоніки. Кафедру фізіології людини і тварин у той час очолювала професор Ірина Шостаковська. Вони разом з Мироном Деркачем у 1960-80 рр. ще й по чергово керували факультетом на посаді декана впродовж майже 20 років. Цього року ми відзначаємо 100-річчя від дня народження проф. Шостаковської, співзасновниці наукової школи біоенергетики та електрофізіології секреторних клітин. Одним із викладачів, «делегованих» на новостворену кафедру біофізики, був доцент Борис Демків, колега й однокурсник проф. І. В. Шостаковської по Львівському медичному інституту. Він очолив кафедру біофізики відразу після від'їзду проф. М. П. Деркача на роботу в структури ЮНЕСКО і керував нею впродовж 10 років. Кожен із цих яскравих науковців і викладачів зробив свій неповторний внесок у розвиток факультету та біологічної науки загалом. Світлій пам'яті на правду історичних постатей в історії біологічного факультету Львівського університету імені Івана Франка – проф. Мирона Деркача, проф. Ірини Шостаковської та доцента Бориса Демківа – присвячений цей випуск «Вісника Львівського університету. Серія біологічна».

ЮВІЛЕЇ ТА ДАТИ

УДК 577; 004.5

**МИРОН ПИЛИПОВИЧ ДЕРКАЧ (1931–2012).
ТОЙ, ЩО ПОЧАВ РОЗМОВЛЯТИ З КОМП'ЮТЕРОМ...**

А. Бабський, Р. Гумецький

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: andriy.babsky@lnu.edu.ua; andriy.babsky@gmail.com.ua*

Мирон Деркач – вчений світового рівня у галузі біофізики та інформаційних аспектів мовної комунікації: аналізу, синтезу і розпізнавання мовних сигналів. Засновник наукового напрямку, який сформулював принципи дедуктивної стратегії слухового сприймання мови. У 1976 р. створив одну з перших кафедр біофізики в Україні на базі біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Автор перших університетських підручників українською мовою з біофізики та математичних методів у біології, які й досі не втратили своєї актуальності.

Ключові слова: Мирон Деркач, біофізика, мовна комунікація, математичні методи в біології, ЮНЕСКО

Видатний український біофізик і педагог професор Мирон Пилипович Деркач походить з відомої львівської родини мово- та літературознавців Пилипа і Марії Деркачів. Пилип Деркач під час Першої світової війни служив у Легіоні УСС, а в 1918 р. брав участь у боях за Львів. Освіту здобув у Віденському (Австрія) та Карловому (Чехія) університетах. Автор «Короткого словника синонімів української мови» (К., 1960). Мати Марія, кандидат філологічних наук, багато років працювала у бібліотеках і літературних інститутах АН УРСР. Авторка низки публікацій про Лесю Українку, І. Франка, М. Павлика, О. Кобилянську, О. Рошкевич та ін., активістка жіночого руху в Західній Україні. Добре знаною у культурних колах була і сестра Мирона Деркача, скрипалька та педагог Леся Деркач, заслужений діяч мистецтв України, багатолітня завідувачка кафедри у Львівській консерваторії. Вона активно популяризувала твори українських композиторів – С. Людкевича, А. Кос-Анатольського, В. Барвінського, М. Колесси та ін.

У такому середовищі зростав і формувався Мирон Деркач. У 1952 р. він закінчив з відзнакою біологічний факультет Львівського університету імені Івана Франка. Того ж року вступив на навчання в аспірантуру до всевітньо відомого Інституту фізіології АН СРСР ім. І. П. Павлова, яку успішно закінчив захистом кандидатської дисертації на тему «Дослідження безумовних та умовних рефлексів розширення судин у людини» і став кандидатом біологічних наук [1].

Середина ХХ ст. була періодом, коли формувалася нова самостійна наука – біофізика. Фундаментальні досягнення фізиків кінця ХІХ – початку ХХ ст., теорія походження видів Чарльза Дарвіна, з'ясування структури ДНК та інші революційні відкриття того часу, здавалося б, наблизили людство до повного розуміння принципів функціонування живого на засадах загальних фізичних законів. Науковий світ жваво дискутував книгу Нобелівського лауреата з фізики Е. Шредінгера «Що таке життя з точки зору фізики?» [6]. У різних країнах Європи і Америки виникали організації, товариства, інститути й кафедри біофізичного профілю. Львів також «не пас задніх» у цьому процесі.



Мирон Деркач у своєму кабінеті. Львів, кінець 1970-х рр.

Захистивши дисертацію, Мирон Деркач повернувся до Львова й очолював на біологічному факультеті Львівського університету Проблемну лабораторію радіаційних методів у біології (1958–1960). Лабораторія спеціалізувалася на застосуванні нових на той час методів “мічених атомів”, радіостимуляції іонізуючими випромінюваннями біологічних об’єктів та на дослідженні радіопротекторів.

Це був також період розгортання холодної війни між США і СРСР, які погрожували один одному ядерною зброєю, а у 1962 р., в період т. зв. Карибської кризи світ узагалі стояв на межі ядерної катастрофи глобального масштабу. (На жаль, подібна загроза спалахнула з новою силою і в наші дні). Не дивно, що дослідження впливу радіації на живі організми у 1960-х роках були надзвичайно актуальними.

У лабораторії, яку адміністрував М. Деркач, також розпочали дослідження дії іонізуючої радіації (насамперед летальних доз) на функції організму тварин. Опромінення провадили за допомогою рентгенівських установок РУМ-11 і РУМ-17. Наукові групи, в яких досліджували вплив іонізуючої радіації, очолювали професори Ірина Шостаковська, Борис Сухомлінов і ст. н. сп. Геннадій Кузнецов. Фінансування цих досліджень було державним, і вони часто мали закритий характер, який не передбачав публікацій у науковій періодиці. У 1960-х роках на біологічному факультеті створили ізотопний блок, де за допомогою радіоізотопів водню, карбону, кальцію, фосфору та ін. досліджували важливі біофізичні процеси. Слід зазначити, що першим започаткував ізотопні дослідження у Львові наш видатний земляк, вчений світового рівня Яків Парнас.



Мирон Деркач і Мирослава Чабан "розмовляють" з комп'ютером. Львів, 1960-ті рр.

На початку 1960-х років молодого науковця Мирона Деркача, фізіолога за базовою освітою, почали цікавити і питання слухового сприймання мови людиною та ідея мовної комунікації з комп'ютером. У 1963 р. при Проблемній лабораторії радіаційної та фізико-хімічної біології М. Деркач організував Науково-дослідну групу біоніки та моделювання фізіологічних процесів. Тут починають проводити новаторські на той час роботи в галузі біофізики мовної комунікації, зокрема, вивчення та комп'ютерне моделювання процесу сприймання мовних сигналів. Комплексне дослідження біофізичних та інформаційних механізмів цього процесу було на той час революційним підходом у

розробці принципів автоматичного розпізнавання мови. Серед піонерів цього напрямку були колеги Мирона Деркача: Мирослава Чабан, Роман Гумецький, Лев Мішин, Богдана Гура-Паляниця. Тоді на біологічному факультеті з'явився й перший комп'ютер – ЕОМ «Промінь». Завдяки великій практичній значущості автоматичного розпізнавання мови для голосового керування технічними системами, ця тематика входила у п'ятирічні плани важливих державних наукових програм Мінвузу СРСР і АН СРСР з проблем «Біофізика» та «Кібернетика». За результатами досліджень цього періоду М. Деркач захистив докторську дисертацію на тему «Дослідження мовного сприймання в розпізнавальних моделях» (1971).

Для виконання таких специфічних наукових робіт М. Деркач зумів згуртувати спеціалістів із різних галузей знань. Під його керівництвом у різний час працювали біологи (М. Чабан, Л. Мелень, Г. Вандакурова, А. Стець), інженери (Р. Гумецький, Л. Мішин, В. Мазур, Б. Баб'як), фізики (Р. Григорчук) і математики-програмісти (М. Оверченко, Б. Гура, Д. Марчук, І. Маслій).

Наукова діяльність лабораторії під керівництвом Мирона Пилиповича була представлена в численних доповідях на тогочасних республіканських, всесоюзних і міжнародних симпозиумах: періодичних школах-семінарах АРСО – “Автоматичне розпізнавання слухових образів” (1969–1984), акустичних конференціях (1971–1977), міжнародних конгресах психологів (1976) і фонетиків (1980). Про визнання наукових досягнень колективу лабораторії свідчить те, що Всесоюзний семінар АРСО-8 у 1974 р. було проведено у Львівському університеті, на базі науково-дослідної групи біоніки та створеної цього ж року кафедри біофізики, за участю понад 300 науковців, зокрема, і з-за кордону. М. Деркача і його співробітників запрошували на конференції з мовної комунікації до США (1972, 1976), Швеції (1974), Франції (1976), Польщі (1980, 1981). Незважаючи на значні труднощі з одержанням у ті часи закордонного відрядження, Мирон Пилипович усе ж мав нагоду попрацювати в наукових центрах із дослідження мови за кордоном – у Королівському технологічному інституті (Швеція, 1970) та Університеті Флориди (США, 1979). А до Львова в лабораторію М. Деркача приїжджали вчитися “читати” спектрограми “видимої мови” спеціалісти з Москви, Ленінграда, Грузії, Румунії [5].

Ось деякі заголовки з численних публікацій Мирона Деркача – “того, що почав розмовляти з комп'ютером”, – від перших статей «Статистичне дослідження істотних ознак в спектрі голосних звуків мови», «Синтез звуків мови по характеристичних спектрально-амплітудних ознаках фонем», «Спосіб автоматичного розпізнавання ізольованих звуків мови» (у Вісниках ЛДУ з 1960-х) до програмної статті «Багаторівнева модель з самоорганізацією сприймання слів звукової мови» та колективних монографій «Сприйняття мови в розпізнаючих моделях» (1971) і «Динамічні спектри мовних сигналів» (1983). Показовими є підсумкові наукові публікації в міжнародних виданнях: «Hierarchical models of words and sentences recognition», «On developing hierarchical models of speech perception», у т. ч. прикладного спрямування «Automatic recognition of simplified sentences constructed of the limited lexicon», «Systeme de dialogue de l'enseignement des operations sur l'ordinateur avec l'interrogation de voix et la reponse» (1972–1984).

Досі професор М. Деркач справедливо вважається вченим світового рівня у галузі біофізики й інформаційних аспектів мовної комунікації – аналізу, синтезу та розпізнавання мовних сигналів. Він є засновником наукового напрямку, який сформулював принципи дедуктивної стратегії слухового сприймання мови (Deductive approach to automatic recognition of spoken sentences).

У Мирона Деркача була мрія створити кафедру біофізики на біологічному факультеті. Цю мрію було реалізовано в 1974 р. Кадрове ядро новоствореної кафедри він сформував із викладачів кафедр фізіології людини і тварин (Борис Демків, Мирослава Чабан), біохімії (Ярослав Олійник) і працівників наукової групи біоніки (Роман Гумецький), а згодом і з молодих вихованців кафедри (Віри Отчич, Марії Градюк та ін.).

У перші навчальні роки на кафедрі читали, окрім загальних курсів «Біофізика» та «Математичні методи в біології», такі спеціальні курси: «Біоніка», «Медична апаратура», «Біокібернетика», «Молекулярна біофізика», «Кінетика ферментних процесів», «Становлення структури і функції в онтогенезі», «Біофізика модної комунікації» та ін. Однак повноцінний педагогічний процес можна було зреалізувати за наявності не тільки новітніх на той час спецкурсів, але й відповідної методичної літератури та підручників. За авторством М. Деркача, Р. Гумецького і М. Чабан виходять друком українською мовою перші навчальні посібники та підручники з біофізики, біоніки та біометрії: «Основи біофізики» (1967), «Основи біоніки» (1972), «Основи біометрії» у 3-х частинах (1972, 1973, 1974) і «Курс варіаційної статистики» (1977) [2, 3]. Ця навчальна література й досі не втратила своєї актуальності.



Професор М. Деркач

Для впровадження в наукову роботу й навчальний процес сучасних математичних і комп'ютерних методів на факультеті з ініціативи проф. М. Деркача було організовано Міжкафедральну комп'ютерну лабораторію математичних методів у біології. На базі цієї лабораторії діяла НДЛ математичного моделювання біофізичних систем, яка під керівництвом доц. Р. Гумецького продовжувала виконувати держбюджетні та договірні НДР із зазначеної вище мовної, а також з іншої біофізичної тематики, яку започаткував Мирон Деркач.

Педагогічний стиль професора Деркача вирізнявся своїм демократизмом. Випускники факультету, які слухали складний і насичений інформацією курс «Біофізика», ще й досі пам'ятають, що професор дозволяв користуватися на екзаменах власними конспектами. Це, з одного боку, стимулювало відвідувати і конспектувати лекції, а з іншого – знімало зайвий стрес і хвилювання під час іспиту. Професіоналізму викладача цілком вистачало, щоб об'єктивно оцінити знання студента.

Наукову та викладацьку діяльність Мирон Деркач ефективно поєднував із педагогічною й адміністративною роботою. Він понад десять років (1960–1965 та 1968–1974) був деканом біологічного факультету Львівського університету ім. Івана Франка і запам'ятався своїми новаторськими починаннями. За багаторічну діяльність в Університеті Мирон Деркач був нагороджений медаллю «Ветеран праці» (1982).

Подальший успішний розвиток кафедри продовжили учні й соратники Мирона Деркача, наступні завідувачі його кафедри Борис Демків, Омелян Гойда, Дмитро Санагурський, Андрій Бабський, а також нова плеяда біофізиків Львівського національного університету імені Івана Франка, у т. ч. вихованці кафедри. З часом профіль кафедри осучаснився вже під назвою «Кафедра біофізики та біоінформатики».

Серед випускників кафедри, яку створив проф. Деркач, є відомі у науковому світі вчені: Ігор Медина та Роман Тизьо зі Середземноморського інституту нейробиологічних

досліджень у Марселі (Франція); науковий співробітник американських і європейських університетів Віктор Чабан; завідувач кафедри медичної біофізики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького професор Роман Фафула; перший випускник кафедри, який захистив кандидатську дисертацію в Інституті біологічної фізики АН СРСР, Ігор Гузар; професор Львівського державного університету фізичної культури імені Івана Боберського Марія Сибіль; багатолітній директор Львівського інституту післядипломної педагогічної освіти, відомий реформатор школи Роман Шиян та ін. Загалом на кафедрі за роки її існування захищено понад 30 докторських і кандидатських дисертацій.

Незважаючи на видатні досягнення в освітньо-науковій галузі, Мирон Деркач завжди ставив перед собою нові професійні завдання. Як справжній львів'янин він говорив з приємним галицьким акцентом, однак також вільно володів англійською мовою, що у 1980-х роках не було поширеним. Цей факт став одним із важливих чинників у призначенні його в 1982 р. на керівні посади в ЮНЕСКО. Для цього треба було спочатку перемогти у складному конкурсі серед десятків гідних претендентів із Москви, Ленінграда та інших міст СРСР.

З 1982 по 1992 рр. М. Деркач працював провідним спеціалістом з фундаментальних наук Секретаріату ЮНЕСКО (в Парижі), директором Регіонального бюро ЮНЕСКО для Південної та Центральної Азії (в Нью-Делі) і представником ЮНЕСКО в Індії. Робота у цьому постколоніальному регіоні, насиченому політичними, релігійними, демографічними, гендерними, екологічними, економічними та культурними проблемами, не була простою. Проте вона була надзвичайно важливою з огляду на історичну значущість і культурну спадщину регіону. І сьогодні, спостерігаючи за економічним, культурним і науковим ренесансом азійських країн, можемо з гордістю вважати, що до цього причетний і наш краєнин.



Проф. М. Деркач на Міжнародній конференції зі створення організації Women's Agency for Generating Employment (WAGE). Нью-Делі, Індія, 1990 р.

Робота в ЮНЕСКО потребувала й дипломатичного хисту. Є легенда про заключну прес-конференцію Мирона Деркача у штаб-квартирі ЮНЕСКО в Парижі перед поверненням додому. Журналісти запитали українця: «Професоре, ви ж розумна людина і відомий вчений, тож не можете не бачити, що на Заході у вас набагато більше можливостей, ніж удома. Чому ви повертаєтесь?». Питання було провокативне, але уроджений львів'янин не розгубився і з усмішкою відповів: «Мені там простіше».

Після повернення до Львова Мирон Деркач створив і очолював Львівський обласний клуб ЮНЕСКО. У цей час Мирон Пилипович займався також публіцистичною діяльністю в галузі екології, охорони природної та культурної спадщини, проблемами універсалізму і наукової етики. За внесок у розвиток науки професора М. Деркача номінували Почесним званням доктора наук Міжнародного університету ООН (1992).



Про Мирона Деркача пам'ятають у Львові та на його рідному факультеті. На базі Львівського національного університету імені Івана Франка 27–29 квітня 2020 р. відбулася XVI Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», присвячена 90-й річниці від дня народження проф. М. П. Деркача. У рамках конференції були представлені цікаві доповіді з різноманітних галузей сучасної біології: біофізики, біохімії, ботаніки, фізіології рослин, генетики, біотехнології, екології, зоології, молекулярної та клітинної біології, мікробіології, вірусології, імунології та фізіології людини і тварин [4]. У 2024 р. університетська спільнота і біофізики України готуються урочисто відзначити 50-річчя створення кафедри біофізики на біологічному факультеті Львівського національного університету імені Івана Франка, першим завідувачем якої був наш видатний земляк Мирон Деркач.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Деркач Мирон Пилипович // Encyclopedia. Львівський національний університет імені Івана Франка: в 2 т. Т. 1: А-К. Львів: ЛНУ ім. Івана Франка, 2011. С. 435.
2. Деркач М. П. Основи біофізики: навч. посіб. Львів: Вища школа, 1967. 278 с.
3. Деркач М. П. Курс варіаційної статистики: навч. посіб. / М. П. Деркач, Р. Я. Гумецький, М. Є. Чабан ; під ред. М. П. Деркача. К.: Вища школа, 1977. 207 с.
4. Молодь і поступ біології: Тези допов. XVI Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів, присв. 75-й річниці створення біол. ф-ту Львів. нац. ун-ту ім. Івана Франка та 90-й річниці від дня народж. проф. М. П. Деркача (27–29 квітня 2020 р., Львів). Львів, 2020. 312 с.
5. Паляниця Б., Гумецький Р. Наукова діяльність Мирона Деркача. До відзначення його 80-річчя (1931–2011) // Інформ.-аналіт. часопис Львів. нац. ун-ту ім. Ів. Франка «Каменярь», № 5, травень 2011 р. С. 5.
6. Schrödinger E. What is life? The physical aspect of the living cell. Cambridge: University Press, 1944. 147 p.

**MYRON PYLYPOVYCH DERKACH (1931–2012).
THE ONE WHO STARTED TO TALK TO THE COMPUTER...****A. Babsky, R. Humetsky**

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: andriy.babsky@lnu.edu.ua; andriy.babsky@gmail.com.ua*

Myron Derkach is a world-class scientist in the field of biophysics and informational aspects of speech communication – analysis, synthesis and recognition of speech signals. He is the founder of the scientific direction, who formulated the principles of the deductive strategy of auditory language perception. In 1976, he created one of the first biophysics departments in Ukraine on the basis of the biological faculty of Ivan Franko University of Lviv. Dr. Myron Derkach is the author of the first university textbooks in Ukrainian on biophysics and mathematical methods in biology, which have not lost their relevance to this day.

Keywords: Myron Derkach, biophysics, verbal communication with the computer, mathematical methods in biology

FECI QUOD POTUI, FACIANT MELIORA POTENTES¹
СВІТЛІЙ ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА, ДОКТОРА МЕДИЧНИХ НАУК
ІРИНИ ВАСИЛІВНИ ШОСТАКОВСЬКОЇ

С. К. Гордій, Г. К. Старостюк

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

Ірина Василівна Шостаковська народилася 23 травня 1924 р. в м. Перемишлі (Польща). Батько Ірини Василівни – Василь Шостаковський – був відомим адвокатом Перемишля, мати Анна – домогосподарка. Батька Ірини Василівни у червні 1941 року² під час артилерійського обстрілу міста було поранено. Рана виявилася смертельною.

Початкову освіту Ірина Василівна здобула у Перемишльській школі імені Маркіяна Шашкевича³, у 1936–1939 рр. була ученицею Українського інституту для дівчат⁴, у 1939–1941 рр. навчалася в середній школі № 2⁵. У 1943 р. закінчила Українську державну школу⁶ в Перемишлі. Працювала у «Союзи кооперативів» бухгалтером, у 1944–1945 рр. – помічником режисера Українського Перемишльського театру, з яким у 1945 р. переїхала до Львова⁷.

У 1945 р. вступила на лікувальний факультет Львівського медичного інституту. У 1950–1953 рр. навчалася в аспірантурі кафедри нормальної фізіології. З 1954 до 1958 р. працювала асистентом цієї кафедри. У 1954 р. захистила кандидатську дисертацію на тему «Вплив кори головного мозку на зовнішньосекреторну функцію підшлункової залози»⁸. З 1958 р. – доцент кафедри фізіології людини і тварин Львівського університету.

¹ «Я зробила, що змогла, хай ті, хто може, зроблять більше» – цією фразою завершила свій звіт про перебування на посаді завідувача кафедри фізіології людини і тварин Львівського державного університету імені Івана Франка проф. Ірина Шостаковська. Стаття є передруком публікації Степана Гордія і Ганни Старостюк у матеріалах Міжнародної конференції, присвяченої пам'яті проф. І. В. Шостаковської (Львів, 2002. С. 5). Тут і далі примітки Володимира Манька.

² З 29 вересня 1939 р. до 28 червня 1941 р. та з 27 липня 1944 р. до 1 жовтня 1945 р. Перемишль був центром Перемишльського району у складі УРСР.

³ Шашкевичівка – народна (приватна) школа з українською мовою навчання у Перемишлі, заснована у 1910 р., з 1917/1919 н. р. – 7-річна.

⁴ Руський (після Першої світової війни – Український) інститут для дівчат у Перемишлі відкритий 18 жовтня 1985 р., який діяв з 1896 р. як виділкова восьмирічна школа. У 1903 р. перетворений на ліцей, згодом на реальну гімназію, а в 1917 р. – на гуманітарну (класичну) гімназію. В Інституті вчилися дівчата із родин світської інтелігенції, священників, учителів, селян і міщан.

⁵ Середня школа № 2 ім. Й. Сталіна з українською мовою навчання, утворена у листопаді 1939 р. через злиття школи імені Маркіяна Шашкевича, чоловічої української гімназії та жіночої гімназії (Українського інституту для дівчат). У приміщеннях Українського інституту для дівчат організовано середню школу № 1 ім. В. І. Леніна з російською мовою навчання.

⁶ Торговельну школу (ліцей?) у Перемишлі з українською мовою навчання і державним фінансуванням. На відкриття української гімназії у Перемишлі німецька окупаційна влада не давала згоди. Лише у жовтні 1943 р. було організовано «Матуральний курс» для колишніх учнів української гімназії, радянської десятирічки чи інших шкіл Холмщини і Волині. Іспит зрілості відбувся у травні-червні 1944 р. У списку кандидатів і кандидаток відділу гуманістичного А (без зазначення, хто склав іспит, а хто ні) під номером 68 значиться запис «Шостаковська Ірина, з Перемишля».

⁷ Український театр у Перемишлі працював як професійний колектив при Народному Домі до травня 1945 р.

⁸ Науковий керівник директор Інституту фізіології АН УРСР, чл.-кор. АН УРСР, д-р мед. наук, проф.



Ірина Василівна Шостаковська
(орієнтовно середина 1980-х рр.)

У 1960–1991 рр. завідувала цією ж кафедрою. У 1968 р. захистила докторську дисертацію «Экспериментальный анализ работоспособности поджелудочной железы»⁹, у 1969 р. отримала звання професора. У 1965–1968 рр. і 1974–1990 рр. – декан біологічного факультету Львівського університету. За час її роботи деканом біологічного факультету було створено нові кафедри: біологічної хімії¹⁰, біологічної фізики¹¹ та генетики¹². Ірина Василівна до кінця свого життя працювала професором кафедри і науковим керівником лабораторії «Біоенергетики та біологічно активних речовин». Під її керівництвом створено новий науковий напрям – дослідження нейрогуморальних механізмів регуляції метаболічного забезпечення секреції травних залоз. Професор І. В. Шостаковська сприяла впровадженню у науковий напрям кафедри досліджень з електрофізіології секреторних клітин¹³.

Дослідження Ірини Василівни охоплювали всі розділи фізіології травлення; вона розробила кілька оригінальних методів хірургічної підготовки

тварин до фізіологічного експерименту, дослідила роль холінергійних і адренергійних механізмів регуляції енергетичного та пластичного обміну підшлункової залози, виконала оригінальні дослідження механізмів дії іонізуючої радіації на органи травного тракту, а також з'ясувала роль нейромедіаторів у регуляції енергетичних перетворень в інтактному й опроміненному організмі.

Професор І. В. Шостаковська – автор понад 190 наукових праць, у тому числі колективної монографії «Совершенствование условий труда на промышленных предприятиях»¹⁴ і навчального посібника «Фізіологічні механізми клітинної інтеграції»¹⁵. З 1992 р. – дійсний член Академії наук Вищої школи України. Підготувала 21 кандидата

Анатолій Воробйов.

⁹ Наукові консультанти завідувач кафедри нормальної фізіології Львівського медичного інституту д-р мед наук, проф. Яків Скларов і завідувач кафедри біохімії Львівського медичного інституту д-р біол. наук, проф. Богдан Собчук, колишній співробітник проф. Якова Парнаса.

¹⁰ Кафедра біохімії відновлена (виокремлена з кафедри фізіології людини і тварин) у 1963 р. під керівництвом д-ра біол. наук Бориса Сухомлінова.

¹¹ Кафедру біофізики та математичних методів у біології створено у 1974 р. під керівництвом проф. Мирона Деркача. Теперішня назва – кафедра біофізики та біоінформатики.

¹² Кафедру генетики (тепер кафедра генетики та біотехнології) створено у 1976 р. під керівництвом доц. Олени Білоконь.

¹³ Обидва напрями об'єднано в рамках наукової школи Львівського університету «Біоенергетика та електрофізіологія секреторних клітин».

¹⁴ Совершенствование условий труда на промышленных предприятиях / отв. ред. Н. Н. Покровский. К.: Наук. думка, 1979. 235 с.

¹⁵ Гордій С. К., Шостаковська І. В. Фізіологічні механізми клітинної інтеграції. Львів: Ред.-вид. група Львів. ун-ту, 1985. 82 с.

біологічних наук¹⁶ і 3 докторів біологічних наук¹⁷.

Ірина Василівна завжди була життєрадісною людиною, активною у громадському житті. Була багаторічним членом «Просвіти» й товариства «Надсяння». Завдяки її великим зусиллям підготовано та видано історичні нариси становлення і розвитку Українського дівочого інституту в Перемишлі^{18, 19} та історія становлення гімназії в Перемишлі²⁰.

І. В. Шостаковська була членом бюро Львівського обласного товариства «Знання», правління Українського фізіологічного товариства та багатьох спеціалізованих вчених рад із захисту дисертацій. У 1971 р. за досягнення у науковій і педагогічній роботі нагороджена орденом Трудового Червоного Прапора, а у 1984 р. – медаллю «Ветеран праці».

Професор І. В. Шостаковська була не лише визначним педагогом і науковцем, а й організатором наукових напрямів на кафедрі та в її підрозділах, наукової роботи на біологічному факультеті. Будучи людиною великої душі, щирою і чуйною, сповненою творчого неспокою, вона віддавала всі свої сили й енергію вихованню молодих спеціалістів. Колектив кафедри та численні учні завжди відчували її потужний творчий потенціал, академічну ерудицію, доброзичливе й вимогливе ставлення до наукових пошуків і водночас материнську турботу.

Запроваджені Іриною Василівною напрями наукових досліджень продовжують плідно розвиватися, збагачуючи вітчизняну науку значними здобутками.

Не стало Ірини Василівни Шостаковської 28 червня 1999 р. Похована на Янівському цвинтарі²¹ у Львові.



¹⁶ За іншими даними – 19 кандидатів наук: Й. Д. Кліманський (1967), Омелян Гойда (співкерівник Є. Гончаренко, 1968), Ганна Старостюк (1970), Хоанг Као Тай (1970), Михайло Тимочко (1971), Степан Гордій (1973), Леонід Дубицький (1985), Андрій Бабський (співкерівник М. Кондрашова, 1985), Микола Доліба (1986), Марія Гальків (1988), Мирослава Гриньків (1989), Дбаг Мрван Мустафа (1990), Дзвеніслава Бергтраум (1990), Федір Музика (1992), Абдулла Мухамед Ахмед Лакаль (співкерівник М. Доліба, 1994), Марко Ватаманюк (співкерівник М. Доліба, 1996), Оксана Горинь (співкерівник М. Доліба, 1996), Наталія Кургалюк (1996), Богдан Луговий (співкерівник В. Юкало, 2001).

¹⁷ За іншими даними – 2 доктори наук: Мирон Клевець (співконсультант М. Шуба, 1993), Микола Доліба (1993).

¹⁸ *Шостаковська І. Український (Руський) інститут для дівчат у Перемишлі // Український інститут для дівчат у Перемишлі. 1895–1995: Ювілейна книга пам'яті до сторіччя заснування. Дрогобич: Відродження, 1995. С. 5–20.*

¹⁹ *Шостаковська Ірина. Руський (Український) Інститут для дівчат у Перемишлі – його роль в культурному житті Галичини // Перемишль і Перемиська земля протягом віків: зб. наук. праць і мат.-лів Міжнар. наук. конф., організованої НТШ в Польщі (24–25 червня 1994 р. в Перемишлі). Перемишль, 1996. С. 289–297.*

²⁰ *Українська державна чоловіча гімназія у Перемишлі. 1895–1995 / упор. І. Гнаткевич; Львів. рег. сусп.-культ. т-во “Надсяння”; Мале спільне наук.-вир. підпр. “Некрополіс”. Дрогобич: Відродження, 1995. 304 с. 1895–1995. Ірина Шостаковська входила до складу редакційної колегії.*

²¹ *Поле 36 (недалеко від межі між полями 34 і 35; 49°51'13.5"N 23°59'51.1"E) Янівського цвинтаря (вул. Шевченка, 128).*

НАУКОВИЙ ДОРОБОК ПРОФЕСОРА І. В. ШОСТАКОВСЬКОЇ¹

М. Ю. Клевець

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

Ірина Василівна Шостаковська здобула вищу медичну освіту у Львівському медичному інституті (1950), тут же закінчила аспірантуру (1953). Її вчителем був професор А. М. Воробйов, який керував кафедрою нормальної фізіології з 1945 до 1951 р.² Основний напрям наукових досліджень кафедри полягав у вивченні нервової регуляції органів шлунково-кишкового тракту. У рамках цього напрямку Ірина Василівна написала перші публікації, захистила кандидатську та докторську дисертації, сформувалась як науковець. У 1954 р. вона захистила кандидатську дисертацію на тему «Вплив кори головного мозку на зовнішньосекреторну функцію підшлункової залози»³. Після закінчення аспірантури працювала асистентом кафедри нормальної фізіології.

У 1958 р. Ірина Василівна перейшла на роботу до Львівського державного університету імені Івана Франка. Спочатку вона працювала на посаді доцента кафедри фізіології людини і тварин, а з 1960 до 1991 р. завідувала цією ж кафедрою.

Щоб з'ясувати механізми реалізації нервових впливів на секреторні органи травного тракту, Ірина Василівна розпочала у Львівському університеті дослідження метаболічних процесів у цих органах і впливу на них нейрогормональних чинників. Ці дослідження проведено з використанням методу мічених атомів.

Ірині Василівні вдалося встановити, що у збудженій секреторній тканині зростає рівень біосинтетичних процесів, обмін АТФ і креатинфосфату. Порівняння змін обміну нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, АТФ, креатинфосфату після застосування збудників секреції на фоні адренотропних і холінотропних речовин свідчить про участь обох ланок вегетативної нервової системи у регуляції метаболізму. Це дало підстави зробити висновок, що секреторний процес у підшлунковій залозі регулюється як холінергічною, так і адренергічною системами. За матеріалами цих досліджень у 1968 р. Ірина Василівна захистила докторську дисертацію на тему «Експериментальний аналіз работоспособности поджелудочной железы».

Цими дослідженнями Ірина Василівна започаткувала новий науковий напрям, спрямований на з'ясування реалізації клітинних механізмів нейрогормонального регулювання метаболічного забезпечення секреції травних залоз. Цей напрям продовжує розвиватись і на сьогодні, у його рамках з'явилися нові підходи, вийшло багато публікацій і захищено низку кандидатських та докторських дисертацій.

¹ Стаття є передруком публікації Мирона Клевця у матеріалах Міжнародної конференції, присвяченої пам'яті проф. І. В. Шостаковської (Львів, 2002. С. 6–7). Тут і далі примітки Володимира Манька.

² Після завідування кафедрою нормальної фізіології Львівського медичного інституту чл.-кор. АН УРСР Анатолій Воробйов протягом 1953–1955 рр. (на час захисту кандидатської дисертації Іриною Шостаковською) був директором Інституту фізіології АН УРСР (Київ).

³ Дисертацію написано українською мовою, автореферат дисертації – традиційно на той час російською.

4. Розв'язок наукових проблем: під керівництвом проф. П. В. Мис-
 ласького за період з 1947-1952 рр. на кафедрі розробле-
 на проблема фізіології перинки шл. селеринки
 а також вивчаються ^{посліди} впливи умовних джерел
 та впливу на них лікарських речовин.
 З 1952-1956 рр. вивчається вплив ^{регуляторної} законспірої
 регуляторної функції перинки, а з 1956 року за сприяння
 цього дня про вивчаються ^{регуляторної} симетричної
 діяльності кори ^{великих і великих} мозку (доц. Мережинський І. Ф.)
 З 1958 року на кафедрі розробляється проблема
 впливу речовин залозистих тканин при різно-
 му їх функціональному стані (доц. Мисако-
 вська І. В.)
 Починаючи з 1958 року Кафедра приймає участь
 в розробці тематик радіобіології, що стосуються
 радіоугнетення та радіорезистентності машин та
 організмів. Кафедра приймає участь в розробці
 комплексної тематики по комплексному пасо-
 виску та продуктивності тварин в окремих
 районах Карпат.

Рис. 1. Автограф⁴ другої сторінки рукопису Ірини Шостаковської «Історія кафедри фізіології людини і тварин ЛДУ», де вперше згадано започаткований нею новий напрям досліджень



Колектив кафедри 1968 р.

1 ряд: сидять Г. К. Старостюк, Б. Я. Креймер, І. В. Шостаковська, Б. Ф. Демків, М. М. Роман
 2 ряд: С. К. Гордій, М. Ф. Тимочко, М. Н. Вознюк, працівник віварію, Х. В. Гаврилишин, ?,
 С. Т. Зубарева, Хоанг Као Тай, М. П. Деркач

⁴ Із архіву кафедри. Написаний, мабуть, у 1960 р., коли доц. І. В. Шостаковська стала завідувачем кафедри.

Значна кількість публікацій Ірини Василівни (понад 22) присвячена дослідженню дії ацетилхоліну та катехоламінів на секреторні органи, зміни їхнього вмісту в секреторних тканинах, активності ферментів, що гідролізують медіаторні речовини, дії холіно- й адреноміметиків, холіно- і адренолітиків. Такі дослідження під керівництвом Ірини Василівни проводили Г. К. Старостюк, Хоанг Као Тай, С. К. Гордій, Л. О. Дубицький, М. О. Гальків, які стали кандидатами біологічних наук.



Колектив кафедри 1973 р.

1 ряд : Г. К. Старостюк, Б. Ф. Демків, І. В. Шостаковська, Б. Я. Креймер, С. К. Гордій
2 ряд: Л. О. Дубицький, М. Ф. Тимочко, С. Т. Зубарева, Х. В. Гаврилишин, М. Д. Мельникова, М. О. Гальків, Фроляк, М. Ю. Клевець

Завдяки працям С. К. Гордія (1973)⁵ цей напрям збагатився дослідженнями енергетичного забезпечення секреторного процесу, а мітохондрії стали об'єктом інтенсивного вивчення. А. М. Бабський (1985) з'ясував адренергійну регуляцію окисного фосфорилування⁶, а М. М. Доліба (1986) – холінергійну. Регулювання енергетичного обміну в мітохондріях різних органів досліджували також Дбаг Мрван Мустафа (1990), Ф. В. Музика (1992), Абдулла Мохамед Лакаль (1994), М. З. Ватаманюк (1996), О. В. Горинь (1996), Н. М. Кургалюк (1996), І. Г. Ставровська⁷ (1998). Під керівництвом Ірини Василівни Шостаковської вони підготували кандидатські дисертації⁸, а М. М. Доліба – докторську (1993)⁹. Завдяки цим роботам стало зрозуміло, що ацетилхолін підсилює окислення альфа-

⁵ Тут і далі після прізвища зазначено рік захисту кандидатської чи докторської дисертації.

⁶ Андрій Бабський захистив докторську дисертацію «Функціональний стан тканин і зміни вмісту іонів натрію за умов патологічної гіпоксії та канцерогенезу» у 2009 р., науковий консультант проф. Мирон Клевець.

⁷ Проф. Шостаковська була науковим керівником аспірантури..

⁸ Наталія Кургалюк захистила докторську дисертацію «Роль інтермедіатів циклу трикарбонних кислот у процесах енергозабезпечення та антиоксидантного захисту клітин при дії на організм екстремальних факторів» у 2003 р., науковий консультант проф. Володимир Рибальченко.

⁹ Докторська дисертація «Холінергічна регуляція енергетичного обміну в міокарді і травних залозах»

кетоглутарату, а катехоламіни – сукцинату. Результати цих досліджень висвітлено у понад 24 публікаціях.

За сприяння І. В. Шостаковської з 1971 р.¹⁰ на кафедрі розпочалися дослідження електрофізіологічних властивостей секреторних клітин травних залоз. Ірина Василівна розуміла доцільність проведення таких досліджень, оскільки дія регулюючих нейрогуморальних факторів на секреторні клітини реалізується через плазматичну мембрану за рахунок зміни її іонної проникності та мембранного потенціалу¹¹. На кафедрі було налагоджено¹² спочатку методику внутрішньоклітинного відведення мембранного потенціалу секреторних клітин, а згодом – методику реєстрації трансмембранних іонних струмів в умовах фіксації мембранного потенціалу та внутрішньоклітинної перфузії.

За допомогою цих методів встановлено величину мембранного потенціалу багатьох типів секреторних клітин і його залежність від іонних градієнтів, виміряно електричний опір та ємність плазматичної мембрани, виявлено електрогенний ефект натрій-калієвої помпи. Досліджено також роль кальцію, температури та кислотності в регуляції іонної проникності плазматичної мембрани. Було ідентифіковано та досліджено властивості різних типів іонних каналів і натрій-кальцієвого обмінника.



Ірина Василівна Шостаковська (орієнтовно середина 1970-х рр.)

Електрофізіологічні досліди поєднували з дослідженням секреції травних ферментів *in vitro*. Ці дослідження завершилися захистом докторської дисертації (М. Ю. Клевець, 1993)¹³. У рамках електрофізіологічних досліджень секреторних клітин невдовзі захистили

(1993), науковий консультант проф. І. В. Шостаковська.

¹⁰ Після приходу на кафедру канд. біол. наук Мирона Клевця (на запрошення проф. І. В. Шостаковської).

¹¹ У секреторних клітинах (зокрема, екзокринних залоз) ефекти первинних агоністів не завжди опосередковані через зміну мембранного потенціалу. Здебільшого активація метаболічних рецепторів змінює внутрішньоклітинні процеси, внаслідок чого змінюється і мембранний потенціал клітин.

¹² Мироном Клевцем.

¹³ Докторська дисертація «Електричні властивості секреторних клітин травних залоз і механізми

кандидатські дисертації В. В. Манько (1995)¹⁴, Н. В. Федірко (1997)¹⁴, Т. В. Король (2000)¹⁴, О. А. Ларіна (2002)¹⁴.

За сприяння Ірини Василівни у 1985 р. було розпочато дослідження ролі катіонів Ca^{2+} як універсального вторинного посередника у реалізації дії нейрогуморальних факторів на секреторні клітини. За матеріалами цих досліджень у 1989 р. М. Я. Гриньків захистила кандидатську дисертацію. Вивченню Ca^{2+} -транспортних систем мембран секреторних клітин присвятили свої дослідження Л. О. Дубицький¹⁵, В. В. Манько¹⁶, Н. В. Федірко¹⁷, Л. С. Вовканич¹⁸.

Таким є доробок Ірини Василівни та її учнів у галузі дослідження реалізації на клітинному і субклітинному рівнях нейрогуморальних впливів на клітини травних залоз. За матеріалами цих досліджень кафедра випустила три тематичних Вісники Львівського університету: вип. 9, 1975; вип. 16, 1985; вип. 19, 1989.^{19, 20, 21} Ці дослідження мають фундаментальний характер і отримали міжнародне визнання. Свідченням цього слугує той факт, що її учні М. М. Доліба²², А. М. Бабський²³, М. З. Ватаманюк²⁴ і О. В. Горинь²⁵ продовжують дослідження у лабораторіях США. Ірина Василівна приділяла увагу також прикладним аспектам фізіології. Наприклад, вона написала розділ «Психофізіологіческие основы активации экстрезии их ферментів» (1993), наукові консультанти – академік НАН України Михайло Шуба і проф. І. В. Шостаковська.

¹⁴ Науковий керівник – проф. Мирон Клевець.

¹⁵ Докторська дисертація «Енергозалежні Ca^{2+} -транспортувальні системи секреторних клітин екзокринних залоз та механізми взаємодії їх з катіонами металів» (2006), науковий консультант чл.-кор. НАН України Сергій Костерін.

¹⁶ Докторська дисертація «Системи трансмембранного транспортування кальцію у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* Linnaeus» (2008), науковий консультант проф. Мирон Клевець.

¹⁷ Докторська дисертація «Механізми підтримання кальцієвого гомеостазу в ацинарних клітинах підщелепної слинної залози» (2006), наукові консультанти академік НАН України Платон Костюк і проф. Мирон Клевець.

¹⁸ Кандидатська дисертація «Вплив лужноземельних і перехідних металів на функціонування мітохондрій печінки шурів» (1999), науковий керівник доц. Леонід Дубицький.

¹⁹ Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 1975. – Вип. 9: Нейрогормональна регуляція клітинних механізмів секреторного процесу. – 56 с.

²⁰ Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 1985. – Вип. 16: Нейрогуморальна регуляція клітинних механізмів секреторного процесу. – 91 с.

²¹ Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 1989. – Вип. 19: Нейрогуморальна регуляція клітинних механізмів секреторного процесу. – 70 с.

²² Тепер Микола Доліба є професором із науки відділу біохімії та біофізики Пенсильванського університету (Філадельфія, США).

²³ Андрій Бабський – науковий співробітник відділу біохімії/біофізики (1995–2001) і відділу радіології (2001–2002) Пенсильванського університету, науковий співробітник відділу радіології (2002–2006) і професор з наукової роботи (2006–2011) Індіанського університету (США), професор кафедри фізіології людини і тварин (з 2012 р.) та завідувач кафедри біофізики та біоінформатики (з 2016 р.) Львівського національного університету імені Івана Франка.

²⁴ Тепер Марко Ватаманюк є старшим науковим співробітником Коледжу сільського господарства та науки про життя Корнельського університету (Ітака, США).

²⁵ Тепер Оксана Горинь є науковим співробітником відділу дитячого розвитку та реабілітаційної медицини Дитячого госпіталю Філадельфії (США). А також Богдан Луговий є професором Університету Гори Святого Вінсента (Канада), Ірина Ставровська – науковцем відділу нейрохірургії Жіночої лікарні Бригама (Бостон, США).

трудовах процессов» у книгу «Совершенствование условий труда на промышленных предприятиях»²⁶ (К., 1979). Вісім її публікацій присвячено дії нітритів на фізіологічні процеси. Найбільшу кількість наукових публікацій Ірини Василівни (51) присвячено радіобіологічній тематиці.

Радіобіологічну лабораторію на біологічному факультеті організовано у 1957 р. Співробітники кафедри та проблемної лабораторії досліджували вплив рентгенівського опромінення і радіопротекторів на фізіологічні процеси в організмі тварин. Спочатку досліджували дію рентгенівського опромінення у високих дозах, а після Чорнобильської аварії – у малих дозах. У радіобіологічних дослідженнях брали участь Г. К. Старостюк, М. Ф. Тимочко²⁷, С. К. Гордій, Хоанг Као Тай, Х. В. Гаврилишин, М. О. Гальків, Н. М. Кургалюк. Результати досліджень публікували у збірнику «Біологічна дія радіації». У 1965 р. на біологічному факультеті проведено республіканську конференцію, присвячену механізмам дії іонізуючої радіації на живі системи. Ірина Василівна написала статті про розвиток фізіології та вклад у цей процес окремих учених. Вона має публікації навчально-методичного характеру. Серед усіх публікацій І. В. Шостаковської – 61 стаття, 113 тез доповідей, 160 публікацій у співавторстві, 73 українською мовою. За 45-річний період наукової діяльності щорічно виходило понад 4 публікації. Найбільша кількість публікацій (11) побачила світ у 1992 р. Ірина Василівна є співавтором 29 публікацій з С. К. Гордієм, 29 – з Н. М. Кургалюк, 27 – з А. М. Бабським, 26 – з М. Ф. Тимочком, 25 – з Хоанг Као Таєм, 24 – з М. М. Долібою, 18 – з Х. В. Гаврилишин, 18 – з М. Ю. Клевцем, 17 – з Г. К. Старостюк, 15 – з Л. О. Дубицьким, 13 – з М. О. Гальків. Із наведеного видно, що професор І. В. Шостаковська та її учні зробили вагомий внесок у розвиток фізіологічної науки. Ірина Василівна підготувала 17 кандидатів біологічних наук, 2 докторів філософії та 4 докторів біологічних наук²⁸, керувала 30-ма науково-дослідними темами. На основі наукових досліджень проф. І. В. Шостаковської сформувалася наукова школа «Біоенергетики та електрофізіології секреторних клітин», яка продовжує розвивати започатковані нею наукові напрями.

²⁶ Совершенствование условий труда на промышленных предприятиях / отв. ред. Н. Н. Покровский. К.: Наук. думка, 1979. 235 с.

²⁷ Михайло Тимочко захистив докторську дисертацію «Метаболічні аспекти формування перехідних адаптаційно-компенсаторних процесів при екстремальній дії гіпоксії» у 2006 р., працюючи у Львівському державному медичному інституті.

²⁸ За іншими даними – 19 кандидатів і 2 доктори наук (див. посторінкові примітки до попередньої статті).

БИОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ ПРООКСИДАНТНО-Антиоксидантного стану плазми крові щурів за дії гістаміну і кверцетину

Н. Гарасим¹, Н. Тойлієв¹, Н. Боднарчук¹, А. Зинь²

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

²Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр
Міністерства внутрішніх справ України
вул. Конюшинна, 24, Львів 79040, Україна

e-mail: garasymnatalya@gmail.com; nataliya.harasym@lnu.edu.ua

Досліджували закономірності впливу гістаміну у концентраціях 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ, а також їхню поєднану дію на прооксидантно-антиоксидантний стан плазми крові щурів, застосовуючи кластерний і факторний біометричні аналізи. Встановили, що експериментальні групи за досліджуваними показниками (ТБК-позитивні продукти, гідропероксиди ліпідів, карбонільні групи протеїнів нейтрального й основного характеру, супероксидний аніон-радикал, супероксиддисмутаза, каталаза, відновлений глутатіон, АТФ) розподілилися між 13 кластерами (згідно з кластерним аналізом). В одній групі подібності виявилася дія гістаміну в концентраціях 0,01 мкМ і 1 мкМ. Подібний вплив на показники прооксидантно-антиоксидантного стану плазми крові чинять кверцетин у концентрації 0,5 мМ і гістамін у концентрації 0,1 мкМ. Поєднане додавання до крові гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3 мМ зумовлюють однакові зміни зазначених досліджуваних показників. Кластерний аналіз також об'єднав поєднану дію гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1 і 3 мМ. Важливо зазначити, що у тих кластерах, до експериментальних груп крові яких додавали і гістамін, і кверцетин, встановлено зниження вмісту карбонільних груп протеїнів, що свідчить про зменшення ураження протеїнів унаслідок процесів вільнорадикального окиснення. Застосовуючи факторний аналіз, встановили наявність трьох прихованих факторів, які впливають на процеси вільнорадикального окиснення крові за дії гістаміну і кверцетину. Виявлено високу кореляцію фактора I з карбонільними групами протеїнів, відновленим глутатіоном, супероксидним аніон-радикалом. Фактор II найбільше корелює з АТФ, супероксиддисмутазою, гідропероксидами ліпідів. Висока тіснота взаємозв'язку є між фактором III і ТБК-позитивними продуктами й каталазою. Враховуючи тісноту взаємозв'язку, факторові I було надано назву «фактор дії на білки», факторові II – «фактор дії на біоенергетику та ініціатор процесів пероксидного окиснення ліпідів», факторові III – «фактор посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів». Встановлено, що кверцетин активує фактор I (вплив на білки, зумовлюючи їхнє окиснення) та фактор III (посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів) залежно від концентрації препарату. Кверцетинові у концентрації 1 мМ належать властивості обох факторів (I і III).

Ключові слова: плазма крові, гістамін, прооксидантно-антиоксидантний стан, кверцетин, кластерний аналіз, факторний аналіз

Активізація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) відбувається за дії різних шкід-

ливих чинників. Пускові механізми стресового пошкодження порушують клітинний метаболізм, уражують клітинні та субклітинні мембрани. Малоновий діальдегід (МДА) є основним кінцевим продуктом у процесах пероксидного окиснення ліпідів. Він має тривалий термін «життя» і високу реакційну здатність, що дає йому змогу взаємодіяти з протеїнами. Збільшення вмісту МДА у клітинах пов'язане з різними процесами, які можуть спричиняти тканинні пошкодження у разі запалення, раку та старіння. Крім того, його використовують як маркер пошкодження, спричиненого окиснювальним стресом [10, 11].

Модифікація протеїнів може бути наслідком кількох метаболічних процесів і часто індукується незбалансованою функцією клітин або запальними й окиснювальними факторами. Модифіковані протеїни накопичуються в периферичній крові, ймовірно, через фізіопатологічні стани. Підвищений окиснювальний стрес індукує посттрансляційні модифікації протеїнів, включаючи глікацію, глікооксидацію, ліпооксидацію і карбонілювання. Оксидативний стрес визначають як дисбаланс між концентрацією вивільнених оксидантів і активністю антиоксидантних процесів в організмі. Отже, оксидативний стрес сприяє окисненню молекул, зокрема, ДНК, ліпідів і протеїнів. У крові окиснюванню піддаються альбуміни, ліпопротеїни низької щільності [11].

Для нейтралізації надлишку ПОЛ та підтримання постійної внутрішньоклітинної концентрації вільних радикалів і ліпопероксиду спрацьовує система антиоксидантного захисту [12]. Система антиоксидантного захисту сформована з ферментативних і неферментативних антиоксидантів. До ферментативних антиоксидантів належать супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза і глутатіонредуктаза, які відіграють вирішальну роль у гомеостазі активних форм кисню в організмі. Супероксиддисмутаза каталізує перетворення $O_2^{\cdot-}$ до H_2O_2 . Глутатіонпероксидаза і глутатіонредуктаза є членами родини ферментів глутатіонової ланки (GSH). Глутатіонпероксидаза використовує GSH як субстрат, що забезпечує розкладання H_2O_2 до H_2O , тоді як GSH перетворюється на окиснений глутатіон (GSSG). GSSG згодом знову перетворюється на GSH за допомогою протонів, що надаються NADPH, під дією глутатіонредуктази. Неферментативні антиоксиданти в основному включають вітамін С, вітамін Е, β -каротин, каротиноїди, селен, цинк, таурин і GSH, які відіграють важливу роль у гомеостазі активних форм кисню *in vivo* [16].

Останніми роками приділяють багато уваги речовинам рослинного походження (поліфеноли як антиоксиданти). Відомо, що флавонол кверцетин має антиоксидантну, антиішемічну, мембрано-стабілізуювальну й імуномодулювальну дію. Кверцетин є антиоксидантом, який ефективно регулює енергетичний обмін у міокарді, знижує його потребу в кисні, стабілізує цитоплазматичні мембрани та спричиняє антиаритмічні й анаболічні ефекти. Препарат здатний знижувати концентрацію виділення вільних радикалів і токсичних продуктів пероксидного окиснення [12].

Поліфеноли вважають ефективними протиалергічними засобами, здатними впливати на множину біологічних шляхів і функцій імунних клітин під час алергічної імунної відповіді. Серед найбільш досліджуваних поліфенольних сполук рослинного походження (флавоноїдів) є кверцетин, який має сильний вплив на клітинний і гуморальний імунітет. Взаємодія поліфенолів із протеїнами може модулювати процес алергічної сенсibiлізації та їхній прямий вплив на алергічні ефекторні клітини, такі як тканинні базофіли, пригнічуючи вивільнення медіатора, що забезпечує полегшення симптомів. Поліфеноли, зокрема, флавоноїди, пригнічують вивільнення гістаміну з базофілів людини і тканинних базофілів миші. Флавоноїди також пригнічують вивільнення хімічних медіаторів; додатково знижують синтез інтерлейкінів (IL)-4 та IL-13 (цитокінів типу Th2), стимульованих алергеном

або антитілами до IgE клітин, що експресують рецептори (наприклад, базофіли периферичної крові або тканинні базофіли). Вони також можуть впливати на диференціювання глікопротеїну CD4 (кластер диференціації 4) Т-клітин (лейкоцитів) через інгібуючий вплив на активацію арил вуглеводного рецептора. Інгібіторна активність флавоноїдів на експресію ліганду IL-4 і CD40, ймовірно, пов'язана з їхньою інгібіторною дією на активацію ядерних факторів активованих Т-клітин і AP-1 (білок-активатор-1) [9, 15, 23].

Флавоноли, отримані з рослин, пригнічують вивільнення гістаміну та деяких цитокінів із базофілів і тканинних базофілів гризунів. Базофіли крові більшою мірою відповідають за баланс наявності гістаміну на певному рівні у крові, ніж тканинні базофіли. Флавоноли можна розглядати як потужні природні речовини для лікування алергії. На сьогодні увагу приділяють імуномодуючим і протизапальним властивостям кверцетину, таким як стимуляція імунної системи, протівірусна активність (щодо вірусу герпесу типу I), інгібування вивільнення гістаміну, інгібування активації ядерного фактора (NF-κB), прозапальних цитокінів і лейкотрієнів. Кверцетин індукуює значну експресію генів і вироблення інтерферону (IFN)-γ, що продукується Th-1 клітинами, а також пригнічення продукції IL-4, що стимулює перетворення Т-хелперів (Th0) на Th-2 клітини. Протизапальна дія кверцетину зумовлена пригніченням ферментів, таких як ліпоксигенази, й інгібуванням медіаторів запалення. Кверцетин впливає на імунітет і на процес запалення, діючи головно на лейкоцити й націлюючись на багато внутрішньоклітинних сигнальних кіназ і фосфатаз, ферменти, мембранні білки, часто важливі для клітинної специфічної функції. Кверцетин пригнічує вироблення та вивільнення гістаміну й інших алергічних і запальних речовин, можливо, шляхом стабілізації клітинних мембран тканинних базофілів. Зокрема, кверцетин є інгібітором алергічного (IgE-опосередкованого) вивільнення медіатора з тканинних базофілів і базофілів крові, іншого типу лейкоцитів, які беруть участь в імунних реакціях. Кверцетин також є інгібітором тканинних базофілів людини, які активуються через пригнічення надходження Ca²⁺, вивільнення гістаміну, лейкотрієнів та простагландинів і активацію протеїнкінази. Тканинні базофіли є важливими імунними клітинами для патогенезу алергічних реакцій і аутоімунних захворювань. Вони також здійснюють свій ефект через залучення у запальні реакції таких цитокінів як IL-8 і фактор некрозу пухлин (TNF). Це є причиною придатності кверцетину для лікування алергічних запальних захворювань, спричинених тканинними базофілами, таких як астма, синусит і ревматоїдний артрит [15].

Сучасні наукові дані свідчать, що хворі на рак, які приймали антигістамінні препарати під час імунотерапії, значно покращували виживаність. Виявлено, що кількість гістаміну і H1 рецепторів до гістаміну часто збільшується в мікрооточенні пухлини. Крім цього, вони індукують дисфункцію Т-клітин. Алергія через H1-рецептор-гістамін-опосередкований шлях сприяла росту пухлини та спричиняла резистентність до імунотерапії у мишей і людей. Важливо, що хворі на рак із низьким рівнем гістаміну у плазмі крові мали більш ніж утричі більшу об'єктивну відповідь на лікування анти-PD-1, порівняно з пацієнтами з високим рівнем гістаміну у плазмі [13].

Гістамін [2-(4-імідазоліл)-етиламін] входить до групи біогенних амінів [22]. Ключовим ферментом, відповідальним за розпад гістаміну, є діаміноксидаза. Накопичення гістаміну у плазмі може впливати на численні органи і тканини завдяки дії на чотири гістамінові рецептори, унаслідок чого виникає безліч симптомів, зокрема, й шлунково-кишкових, і позакишкових (тобто дерматологічні, респіраторні, неврологічні та гемодинамічні скарги). Дефіцит діаміноксидази може мати генетичне походження та пов'язаний із одонуклеотидними поліморфізмами, що кодують білок зі зниженою здатністю до деградації гіста-

міну. З іншого боку, порушення активності діаміноксидази також може бути тимчасовим і оборотним, виникає як побічна дія деяких широко застосовуваних фармакологічних препаратів (наприклад, квалуанової кислоти або ацетил цистеїну) або вторинним симптомом розладів, зокрема, і шлунково-кишкових [21].

Отже, гістамін спричиняє різні патологічні стани, включаючи і порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, кверцетин виступає антиоксидантним чинником, який мав би регулювати вільнорадикальні процеси в організмі, а також знижувати вивільнення гістаміну й інших біологічно активних сполук тканинними базофілами та базофілами крові. Важливо вивчити поєднаний вплив гістаміну та кверцетину різних концентрацій і виявити подібність змін показників прооксидантно-антиоксидантного стану крові за різних комбінацій концентрацій зазначених чинників і встановити характер впливу гістаміну й кверцетину на вільнорадикальні процеси, застосовуючи кластерний та факторний аналізи.

Мета: вивчити закономірності впливу гістаміну і кверцетину на показники прооксидантно-антиоксидантного стану плазми крові щурів за допомогою кластерного та факторного аналізів.

Матеріали та методи

У досліджах використовували цільну кров безпородних білих щурів-самців масою тіла 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. До цільної крові додавали кверцетин, щоби остаточні концентрації становили 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ. Слід зазначити, що концентрації кверцетину 1 та 3 мМ є терапевтичними дозами цієї речовини у фармацевтичних препаратах («Quercetin», «Квертин»). Кверцетин розчиняли у теплому фізіологічному розчині (37 °С). У другій серії дослідів до крові додавали розчин гістаміну (0,01; 0,1; 1; 10 мкМ). Ці концентрації ми обрали, опираючись на літературні дані, в яких йдеться про ефекти посилення вивільнення активних форм кисню нейтрофілами. Розчини готували, використовуючи 0,9 % NaCl. У третьому випадку до цільної крові додавали гістамін (у концентраціях 0,01 і 10 мкМ) і кверцетин (у концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ). Зокрема, поєднували мінімальну концентрацію гістаміну із зазначеними концентраціями кверцетину. Те саме стосується і максимальної концентрації гістаміну. Так, було сформовано ще вісім експериментальних груп. Для комбінованої дії препаратів було обрано концентрації гістаміну – 0,01 і 10 мкМ та кверцетину – 0,1; 0,5; 3 і 5 мМ. Як контроль ми використовували кров, до якої додавали 0,01 мл фізіологічного розчину. Інкубували 5 хв, після чого центрифугували за 3000 об/хв (1000 g) упродовж 10 хв для осадження еритроцитів. Для аналізу відбирали плазму крові. У відібраних зразках вивчали інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів за вмістом гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів [2, 6], рівень оксидативної модифікації протеїнів за методом І. Ф. Мецишена [5], (який базується на тому, що кінцеві продукти вільнорадикального окиснення протеїнів можуть кількісно реагувати з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання; оптичну густину утворюваних динітрофенілгідразонів реєстрували за 370 та 430 нм проти контролю; альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру реєструються за 370 нм (карбонільні групи протеїнів нейтрального характеру), а основного характеру – за 430 нм (карбонільні групи протеїнів основного характеру), визначали вміст супероксидного аніон-радикала [3], АТФ [1]. Стан антиоксидантної системи вивчали за активністю супероксиддисмутази за методом В. А. Костюка [2], каталази за методом М. А. Королюка [4], вмістом відновленого глутатіону [8]. Концентрацію протеїну визначали за методом Лоурі [17].

За результатами дослідження обчислювали середні значення, похибку та ступені вірогідності різниці (р) між показниками з використанням програми «Excel-2010» для Windows. Для кластерного та факторного аналізу всі абсолютні значення перераховували у відносні показники (у відсотки, %) щодо контролю. Кластерний і факторний аналізи виконували, застосовували статистичну програму SPSS.

Результати і їхнє обговорення

Для визначення подібності впливу на показники прооксидантно-антиоксидантного стану у плазмі крові щурів за дії гістаміну, кверцетину і поєданого впливу цих речовин нами було застосовано кластерний аналіз. За кроками алгомеризації визначали число кластерів, тобто загальну кількість подібних експериментальних груп в експерименті щодо змін вивчених показників. Отже, для визначення кількості груп подібності ми віднімали від 18-ти (кількість досліджуваних груп) 5 (номер етапу, за якого коефіцієнт кроків агломерації змінився стрибкоподібно) (табл. 1). Отримали 13 кластерів.

Таблиця 1

Середні зв'язки (між експериментальними групами)

| Етап | Кроки агломерації | | | | | |
|------|----------------------|-----------|-------------|----------------------------|-----------|----------------|
| | Кластер об'єднаний з | | Коефіцієнти | Етап першої появи кластера | | Наступний етап |
| | Кластер 1 | Кластер 2 | | Кластер 1 | Кластер 2 | |
| 1 | 15 | 17 | 1,902 | 0 | 0 | 6 |
| 2 | 8 | 10 | 1,943 | 0 | 0 | 7 |
| 3 | 3 | 9 | 2,814 | 0 | 0 | 7 |
| 4 | 11 | 12 | 3,508 | 0 | 0 | 5 |
| 5 | 11 | 13 | 5,211 | 4 | 0 | 8 |
| 6 | 15 | 16 | 6,167 | 1 | 0 | 12 |
| 7 | 3 | 8 | 6,218 | 3 | 2 | 11 |
| 8 | 11 | 14 | 6,835 | 5 | 0 | 13 |
| 9 | 2 | 4 | 7,096 | 0 | 0 | 14 |
| 10 | 5 | 6 | 7,974 | 0 | 0 | 13 |
| 11 | 3 | 7 | 8,077 | 7 | 0 | 14 |
| 12 | 15 | 18 | 9,204 | 6 | 0 | 16 |
| 13 | 5 | 11 | 11,089 | 10 | 8 | 15 |
| 14 | 2 | 3 | 12,665 | 9 | 11 | 15 |
| 15 | 2 | 5 | 19,251 | 14 | 13 | 16 |
| 16 | 2 | 15 | 20,327 | 15 | 12 | 17 |
| 17 | 1 | 2 | 30,575 | 0 | 16 | 0 |

У табл. 2 представлено приналежність кожної експериментальної групи до відповідного кластера (групи подібності), який позначений цифрою. Встановлено, що програма об'єднала в один кластер групи, до крові яких додавали кверцетин у концентрації 0,5 мМ, а також тільки гістамін у концентрації 0,1 мкМ (3-й кластер). Одну групу подібності складає вплив гістаміну у концентрації 1 мкМ та незалежний вплив гістаміну в концентрації 0,01 мкМ (8-й кластер). Програма також об'єднала в один кластер поєдане введення до крові гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3 мМ (9-й кластер). Одну групу подібності за показниками ТБК-позитивних продуктів, гідропероксидів ліпідів, карбонільних груп протеїнів, супероксидного аніон-радикала, супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону, АТФ становлять групи з поєднаним вливанням гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 0,1 і 3 мМ (11-й кластер) (табл. 2).

Нами встановлено, що у 3-му кластері (до нього входять групи: кверцетин у концентрації 0,5 мМ, гістамін у концентрації 0,1 мкМ) відбувається зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, значне підвищення вмісту супероксидного аніон-радикала та

значне зниження активності каталази (табл. 3). У 8-му кластері (до одної групи подібності входять: гістамін у концентрації 1 мкМ, гістамін у концентрації 0,01 мкМ) виявлено зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, зростання вмісту гідропероксидів ліпідів, значне підвищення вмісту супероксидного аніон-радикала та зниження АТФ і активності каталази (табл. 3).

Таблиця 2

Приналежність експериментальних груп до кластерів

| Спостереження | Кластери |
|--|----------|
| 1: Кверцетин, 0,1 мМ | 1 |
| 2: Кверцетин, 0,3 мМ | 2 |
| 3: Кверцетин, 0,5 мМ | 3 |
| 4: Кверцетин, 1 мМ | 4 |
| 5: Кверцетин, 3 мМ | 5 |
| 6: Кверцетин, 5 мМ | 6 |
| 7: Гістамін, 10 мкМ | 7 |
| 8: Гістамін, 1 мкМ | 8 |
| 9: Гістамін, 0,1 мкМ | 3 |
| 10: Гістамін, 0,01 мкМ | 8 |
| 11: Гістамін, 10 мкМ + Кверцетин, 0,1 мМ | 9 |
| 12: Гістамін, 10 мкМ + Кверцетин, 0,5 мМ | 9 |
| 13: Гістамін, 10 мкМ + Кверцетин, 3 мМ | 9 |
| 14: Гістамін, 10 мкМ + Кверцетин, 5 мМ | 10 |
| 15: Гістамін, 0,01 мкМ + Кверцетин, 0,1 мМ | 11 |
| 16: Гістамін, 0,01 мкМ + Кверцетин, 0,5 мМ | 12 |
| 17: Гістамін, 0,01 мкМ + Кверцетин, 3 мМ | 11 |
| 18: Гістамін, 0,01 мкМ + Кверцетин, 5 мМ | 13 |

У 9-му кластері (до нього входять групи з дією гістаміну в концентрації 10 мкМ, кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3 мМ) виявлено значне зростання вмісту супероксидного аніон-радикала, значне зниження активності каталази та зростання вмісту АТФ у плазмі крові щурів (табл. 3).

В 11-му кластері (поєднаний вилив гістаміну (0,01 мкМ) та кверцетину в концентрації 0,1 і 3 мМ) відбувається зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації (ТБК-позитивних продуктів), значне підвищення вмісту первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, значне зростання вмісту супероксидного аніон-радикала, АТФ, значне зниження активності каталази, зниження вмісту відновленого глутатіону (табл. 3).

Нами встановлено, що такі досліджувані впливи, як: кверцетин у концентраціях 0,1; 0,3; 1; 3; 5 мМ, гістамін у концентрації 10 мкМ, поєднана дія гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 5 мМ, поєднаний вплив гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 0,5 мМ, поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 5 мМ зумовлюють оригінальний вплив на показники прооксидантно-антиоксидантного стану плазми крові щурів, про що свідчить виведення цих впливів у окремі незалежні кластери.

Отже, у 3-му, 8-му, 9-му, 11-му кластерах виявлено спільні зміни, зокрема, зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів, супероксидного аніон-радикала, значне зниження активності каталази. На фоні таких змін є індивідуальні особливості для кожного кластера: у 3-му кластері знижується вміст відновленого глутатіону, тоді як у 8-му кластері вміст відновленого глутатіону підвищується, проте знижується вміст АТФ. У 9-му кластері виявлено зниження вмісту карбонільних груп протеїнів нейтрального й основного характеру, а 11-й кластер характеризується зниженням вмісту карбонільних груп протеїнів основного характеру, відновленого глутатіону та підвищенням активності супероксиддисмутази.

Таблиця 3

Середні значення досліджуваних показників по кластерах

| Середній зв'язок (між експериментальними групами) | ТБК-ПП | ГП | КГПн.х. | КГПо.х. | САР | СОД | КАТ | ВГ | АТФ |
|---|---------|----------|---------|---------|-----------|---------|---------|---------|----------|
| 1 M±m, p | 188,4±0 | 169,2±0 | 122,1±0 | 107,9±0 | 5622,6±0 | 132,7±0 | 102,6±0 | 66,5±0 | 208,6±0 |
| N | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 M±m, p | 119,8±0 | 144,6±0 | 151,6±0 | 135,9±0 | 24371,6±0 | 156,8±0 | 16,1±0 | 61,5±0 | 502,0±0 |
| N | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 3 M±m, p | 36,5 | 438,4 | 126,7 | 111,2 | 25923,0 | 100,4 | 7,7±3,5 | 62,1 | 205,3 |
| n | ±25,1 | ±295,3 | ±16,5* | ±13,7* | ±349,4*** | ±17,1 | | ±0,8*** | ±33,3 |
| 4 M±m, p | 126,9±0 | 200,0±0 | 194,4±0 | 169,6±0 | 28641,3±0 | 113,1±0 | 86,5±0 | 61,9±0 | 498,9±0 |
| n | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 5 M±m, p | 167,7±0 | 169,2±0 | 87,1±0 | 22,9±0 | 34052,3±0 | 81,8±0 | 15,2±0 | 127,2±0 | 743,9±0 |
| n | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 6 M±m, p | 97,9±0 | 303,1±0 | 73,1±0 | 39,6±0 | 37178,5±0 | 152,1±0 | 61,4±0 | 114,4±0 | 406,5±0 |
| n | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7 M±m, p | 70,8±0 | 569,2±0 | 199,8±0 | 121,1±0 | 38641,2±0 | 94,2±0 | 3,5±0 | 124,1±0 | 498,0±0 |
| n | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 8 M±m, p | 52,9 | 905,3 | 144,4 | 124,5 | 20809,0 | 88,8 | 4,1±0,7 | 122,8 | 71,6 |
| n | ±9,5 | ±285,3 | ±17,1* | ±13,3* | ±693,1*** | ±19,4 | | ±3,4 | ±10,8 |
| 9 M±m, p | 74,6 | 1828,7 | 34,4 | 23,8 | 30151,3 | 90,3 | 1,2±0,9 | 133,1 | 539,7 |
| n | ±28,0 | ±106,7** | ±6,8** | ±5,5 | ±4438,2** | ±2,2*** | | ±5,2*** | ±132,7 |
| 10 M±m, p | 69,1±0 | 1526,1±0 | 18,3±0 | 10,8±0 | 49280,2±0 | 79,4±0 | 0,9±0 | 97,7±0 | 498,8±0 |
| n | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 11 M±m, p | 76,3 | 2574,1 | 102,9 | 42,1 | 24282,6 | 225,7 | 0,8±0,4 | 72,2 | 1146,7 |
| n | ±1,5** | ±248,1* | ±1,1*** | ±1,2** | ±5370,1 | ±1,6*** | | ±6,8* | ±87,3** |
| 12 M±m, p | 42,2±0 | 2194,9±0 | 118,5±0 | 79,9±0 | 32734,4±0 | 136,1±0 | 2,0±0 | 79,5±0 | 1045,0±0 |
| n | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 13 M±m, p | 46,1±0 | 2366,8±0 | 146,9±0 | 127,2±0 | 14574,8±0 | 177,2±0 | 1,8±0 | 67,4±0 | 507,9±0 |
| n | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Примітка: ТБК-ПП – ТБК-позитивні продукти; ГП – гідропероксиди ліпідів; КГПн.х. – карбонільні групи протеїнів нейтрального характеру; КГПо.х. – карбонільні групи протеїнів основного характеру; САР – супероксидний аніон-радикал; СОД – супероксиддисмутаза; КАТ – каталаза; ВГ – відновлений глутатіон; АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

3-й кластер об'єднує вплив кверцетину в концентрації 0,5 мМ та гістаміну в концентрації 0,01 мкМ. Подібні зміни за досліджуваними показниками прооксидантно-антиоксидантного стану відбуваються, ймовірно, в результаті певної подібності впливу цих чинників, який виражається у дії на судини (гіпотензивний вплив), бактерицидному ефекті, хоча механізми впливу є різними [14, 20]. 8-й кластер об'єднує вплив гістаміну різних концентрацій, а саме 0,01 і 1 мкМ, тоді як гістамін у концентраціях 0,1 і 10 мкМ виявляється у зовсім інших кластерах. Це відбувається тому, що на різних клітинах крові є домінація у чисельності різних рецепторів до гістаміну і, відповідно, різна концентрація гістаміну буде по-різному активувати гістамінові рецептори, які поділяються на гальмівні (H3 і H4) й активуючі (H1 і H2). Від переважання дії гістаміну на ті чи інші рецептори проявляється

різна відповідь клітин [7]. У 9-му кластері виявлено подібний вплив спільної дії гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину, який виражається у зниженні вмісту карбонільних груп протеїнів нейтрального й основного характеру. Це свідчить про те, що знижується негативна оксидативна дія гістаміну та кверцетину на протеїнові молекули. За незалежної дії гістаміну, попри активацію рецепторів до гістаміну, залучається в роботу і ферментативна система, спрямована на знищення гістаміну. До цієї системи належить робота гістамінази, гістамін-N-метилтрансферази, моноаміноксидази. Унаслідок роботи гістамінази утворюються шкідливі сполуки, такі як NH_3 , імідазолацетатальдегід, H_2O_2 [18, 22]. Гістамін також діє на активацію фосфоліпаз, які відщеплюють певні частини ліпідів (через H_1 рецептор), зумовлює ушкодження роботи моноаміноксидаз [19]. Кверцетин діє на АТФ-зв'язуючі сайти білків (АТФаз); кверцетин може переходити у радикальну форму; кверцетин може автоокиснюватись і продукувати супероксидний аніон-радикал, пероксид водню. Отже, за незалежної дії гістаміну і кверцетину можливі утворення шкідливих сполук, які спричиняють ушкодження клітин. Ймовірно, за наявності гістаміну та кверцетину в середовищі відбувається їхня взаємодія й утворюються метаболіти (імідазолілетилгідроксил, 7-дегідроксикверцетин), які знижують негативну незалежну дію цих сполук. Важливо зазначити, що в 11-му кластері (за поєднаної дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину) у плазмі крові відбувається зниження вмісту карбонільних груп протеїнів основного характеру, проте вміст карбонільних груп протеїнів нейтрального характеру перебуває в межах норми.

За допомогою факторного аналізу можна виявити приховані «фактори», які відповідають за наявність лінійних статистичних зв'язків (кореляцій) між досліджуваними показниками у досліджуваних групах. Для виявлення придатності факторного аналізу для опрацювання результатів дослідження нами проведено тест, який визначив міру вибіркової адекватності Кайзера-Майера-Олкіна. Значення адекватності Кайзера-Майера-Олкіна становить 0,5, що свідчить про придатність факторного аналізу для опрацювання результатів експерименту (табл. 4).

Таблиця 4

Показники адекватності факторного аналізу для опрацювання результатів дослідження

| | | |
|----------------------|--|--------|
| Критерій сферичності | Міра вибіркової адекватності Кайзера-Майера-Олкіна | 0,5 |
| Бартлетта | Наближ. Хі-квадрат | 96,693 |
| | Ст.св. | 36 |
| | Знч. | 0,000 |

Критерій сферичності Бартлетта, за результатами експерименту, дорівнює 0,000 (тобто P менше 0,05), що свідчить також про можливість застосування факторного аналізу в комплексному біометричному аналізі (табл. 4).

За табл. 5 визначено кількість власних факторів, які перевищують одиницю (див. по колонці «Разом», яка базується на відсотку дисперсії). Кількість факторів становить 3 (табл. 5). У подальшому програма буде формувати лише три модельні фактори впливу.

У табл. 6 відображена матриця факторних навантажень, які є кореляційними коефіцієнтами між змінними і факторами. Отже, фактор I корелює найсильніше з карбонільними групами протеїнів основного характеру ($r = 0,917$), карбонільними групами протеїнів нейтрального характеру ($r = 0,88$), відновленим глутатионом ($r = -0,719$), супероксидним аніон-радикалом ($r = -0,584$). Фактор II найбільше корелює з АТФ ($r = 0,859$), супероксиддисмутазою ($r = 0,853$), гідропероксидами ліпідів ($r = 0,715$). Фактор III корелює з ТБК-позитивними продуктами ($r = 0,93$), каталазою ($r = 0,844$).

Таблиця 5

| Повна пояснена дисперсія | | | | |
|--------------------------|---------------------------|-------------|--|----------------|
| Компонента | Початкові власні значення | | | |
| | Разом | % дисперсії | | Кумулятивний % |
| 1 | 3,231 | 35,894 | | |
| 2 | 2,292 | 25,461 | | |
| 3 | 1,551 | 17,228 | | |
| 4 | 0,819 | 9,103 | | 87,687 |
| 5 | 0,480 | 5,335 | | 93,022 |
| 6 | 0,275 | 3,052 | | 96,074 |
| 7 | 0,210 | 2,335 | | 98,409 |
| 8 | 0,123 | 1,367 | | 99,776 |
| 9 | 0,020 | 0,224 | | 100,000 |

Метод виділення: Аналіз головних компонент.

Фактор I можна пов'язати з дією на оксидативну модифікацію протеїнів, відновлений глутатіон і утворення супероксидного аніон-радикала (умовна назва цього фактора «фактор дії на білки»). Фактор II впливає на зміну вмісту АТФ, активність супероксиддисмутази й утворення первинних продуктів ліпопероксидації (гідропероксидів ліпідів) у плазмі крові (умовна назва фактора II «фактор дії на біоенергетику й ініціації процесів пероксидного окиснення ліпідів»). Фактор III впливає на накопичення вторинних продуктів ліпопероксидації (ТБК-позитивні продукти) й активність каталази (умовна назва фактора III «фактор посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів»).

Фактор I характерний для груп за впливу кверцетину в концентраціях 0,3; 0,5 та 1 мМ (факторні значення становлять 1,01; 1,09; 1,31 відповідно), а також для групи за одночасної дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентрації 5 мМ (табл. 7). Фактор I впливає на ушкодження протеїнів.

Таблиця 6

Матриця факторних навантажень (матриця повернутих компонент)

| Змінні | Компонента | | | |
|--|------------|--------|---|--------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Карбонільні групи протеїнів основного характеру | 0,917 | -0,344 | | -0,012 |
| Карбонільні групи протеїнів нейтрального характеру | 0,880 | -0,180 | | -0,011 |
| Відновлений глутатіон | -0,719 | -0,401 | | -0,150 |
| Супероксид-аніон радикал | -0,584 | -0,140 | | -0,258 |
| АТФ | -0,211 | 0,859 | | -0,063 |
| Супероксиддисмутаза | 0,369 | 0,853 | | 0,056 |
| Гідропероксили ліпідів | -0,249 | 0,715 | | -0,502 |
| ТБК-позитивні продукти | -0,089 | -0,002 | | 0,930 |
| Каталаза | 0,306 | -0,140 | | 0,844 |

Метод виділення: Аналіз методом головних компонент.

Метод обертання: Варімакс із нормалізацією Кайзера.

а. Обертання зійшлося за 5 ітерацій.

Фактор II характерний для групи за одночасного впливу гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 0,1 мМ та 3 мМ. Фактор II пов'язаний з енергетичним станом і утворенням первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

Фактор III характерний для груп за впливу кверцетину різних концентрацій (0,1; 1; 3; 5 мМ). Фактор III впливає на утворення вторинних продуктів ліпопероксидації та механізм знешкодження пероксиду водню.

Отже, кверцетин спричиняє активацію фактора I (впливу на протеїни, зумовлюючи

Таблиця 7

Результати експериментальних показників (виражені у відсотках) і факторні значення

| | ТБК- ПП | ГП | КГП н.х. | КГП о.х. | САР | СОД | КАТ | ВГ | АТФ | Фак- тор I | Фак- тор II | Фак- тор III |
|---------------------------------|------------|---------|-------------|-------------|----------|--------|--------|--------|---------|---------------|----------------|-----------------|
| Кверцетин 0,1 мМ | 188,47 | 169,23 | 122,07 | 107,97 | 5622,69 | 132,78 | 102,69 | 66,51 | 208,69 | 0,81 | -0,06 | 2,69 |
| Кверцетин 0,3 мМ | 119,90 | 144,62 | 151,64 | 135,99 | 24371,66 | 156,89 | 16,14 | 61,55 | 502,01 | 1,01 | 0,05 | 0,50 |
| Кверцетин 0,5 мМ | 11,40 | 143,08 | 143,27 | 125,00 | 26272,43 | 117,52 | 11,21 | 62,90 | 171,96 | 1,09 | -0,79 | -0,89 |
| Кверцетин 1 мМ | 126,99 | 200,00 | 194,41 | 169,62 | 28641,34 | 113,19 | 86,55 | 61,92 | 498,94 | 1,31 | -0,44 | 1,26 |
| Кверцетин 3 мМ | 167,72 | 169,23 | 87,19 | 22,93 | 34052,34 | 81,82 | 15,25 | 127,23 | 743,98 | -1,30 | -0,33 | 1,23 |
| Кверцетин 5 мМ | 97,91 | 303,08 | 73,14 | 39,70 | 37178,53 | 152,07 | 61,43 | 114,46 | 406,52 | -0,72 | -0,16 | 1,05 |
| Гістамін 10 мкМ | 70,88 | 569,23 | 199,81 | 121,05 | 38641,27 | 94,21 | 3,55 | 124,10 | 498,04 | 0,33 | -0,98 | -0,69 |
| Гістамін 1 мкМ | 43,39 | 620,00 | 127,46 | 111,21 | 20115,96 | 69,42 | 4,89 | 126,26 | 60,81 | 0,24 | -1,42 | -0,76 |
| Гістамін 0,01 мкМ | 61,77 | 733,85 | 110,13 | 97,41 | 25573,61 | 83,37 | 4,19 | 61,26 | 238,65 | 0,45 | -0,61 | -0,42 |
| Гістамін 0,01 мкМ | 62,43 | 1190,77 | 161,48 | 137,91 | 21502,13 | 108,37 | 3,41 | 119,42 | 82,52 | 0,70 | -0,97 | -0,77 |
| Гіст. 10 мкМ +Кверц.0,1 мМ | 57,61 | 1920,22 | 27,49 | 18,61 | 24062,37 | 89,43 | 3,05 | 123,08 | 788,37 | -1,19 | 0,32 | -0,31 |
| Гіст. 10 мкМ +Кверц.0,5 мМ | 36,90 | 1950,13 | 48,15 | 35,06 | 38789,26 | 94,63 | 0,19 | 135,75 | 496,31 | -1,22 | -0,28 | -0,88 |
| Гіст. 10 мкМ +Кверц.3 мМ | 129,36 | 1615,85 | 27,75 | 18,00 | 27602,32 | 87,06 | 0,56 | 140,57 | 334,57 | -1,54 | -0,32 | 0,40 |
| Гіст. 10 мкМ +Кверц.5 мМ | 69,17 | 1526,15 | 18,31 | 10,87 | 49280,24 | 79,47 | 0,93 | 97,73 | 498,86 | -1,57 | -0,21 | -0,35 |
| Гіст. 0,01 мкМ +Кверц.0,1 мМ | 77,85 | 2326,09 | 104,12 | 43,38 | 29652,72 | 227,38 | 1,35 | 65,34 | 1234,07 | 0,09 | 2,24 | -0,13 |
| Гіст. 0,01 мкМ +Кверц.0,5 мМ | 42,28 | 2194,92 | 118,56 | 79,90 | 32734,45 | 136,07 | 2,02 | 79,52 | 1045,04 | 0,11 | 0,96 | -0,83 |
| Гіст. 0,01 мкМ +Кверц.3 мМ | 74,75 | 2822,10 | 101,86 | 40,91 | 18912,51 | 224,16 | 0,37 | 79,09 | 1059,35 | 0,16 | 2,18 | -0,23 |
| Гіст. 0,01 мкМ +Кверц.5 мМ | 46,06 | 2366,86 | 146,92 | 127,30 | 14574,87 | 177,21 | 1,87 | 67,40 | 507,91 | 1,26 | 0,83 | -0,87 |

Примітка: ТБК-ПП – ТБК-позитивні продукти; ГП – гідропероксиди ліпідів; КГПн.х. – карбонільні групи протеїнів нейтрального характеру; КГПо.х. – карбонільні групи протеїнів основного характеру; САР – супероксидний аніон-радикал; СОД – супероксиддисмутаза; КАТ – каталаза; ВГ – відновлений глутатіон; АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

їхнє окиснення) та фактора III (зокрема, посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів) залежно від концентрації препарату. Важливо відзначити, що кверцетинові в концентрації 1 мМ належить властивість обох факторів (I і III). Кверцетин у концентрації 1 мМ є терапевтичною разовою мінімальною дозою. Проте ми в наших дослідженнях, застосовуючи факторний аналіз, виявили її негативний ефект на протеїни і ліпіди плазми крові.

Поєднане введення гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентраціях 0,1 та 3 мМ активує фактор II у крові щурів, де у плазмі виявляють підвищення вмісту АТФ, зростання активності ферменту супероксиддисмутази та підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів. Відомо, що під час гіпоксичних станів АТФ виступає ендogenousим

внутрішньоклітинним і міжклітинним регулятором функцій клітини. Зокрема, вона впливає на шлях передачі рецепторного сигналу і модифікує метаболізм клітини.

Отже, за результатами кластерного аналізу всі досліджувані групи формують 13 кластерів подібності за показниками вільнорадикальних процесів і АТФ. Подібну дію на досліджувані показники плазми крові чинить гістамін у концентраціях 0,01 і 1 мкМ, а також одночасний вплив гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3 мМ. Подібний ефект на показники прооксидантно-антиоксидантного стану чинить сумісна дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 0,1 і 3 мМ. Факторний аналіз дав змогу виявити три приховані фактори впливу на показники прооксидантно-антиоксидантного стану, АТФ: фактор дії на протеїни, фактор впливу на біоенергетику й ініціатор процесів пероксидного окиснення ліпідів, фактор посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів. Кверцетин активує фактор I (впливу на протеїни) та фактор III (посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів). Одночасне додавання гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентраціях 0,1 та 3 мМ активують фактор II (вплив на біоенергетику) у плазмі крові щурів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Воронкова Ю. С.* Біохімічні характеристики еритроцитів щурів пухлиноносіїв за введення цисплатину та кластерних сполук ренію: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.04. Дніпропетровськ, 2015. 161 с.
2. *Гарасим Н. П., Бура М. В., Боднарчук Н. О.* Великий практикум з біофізики. Лабораторний практикум: навч.-метод. посіб. для здобувачів вищої освіти за спеціальністю 091 – Біологія. Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2023. 200 с.
3. *Денисенко С. В., Костенко В. А.* Изменения продукции активных форм кислорода в семенниках белых крыс в условиях хронической интоксикации нитратом натрия // *Сучасні проблеми токсикології.* 2005. № 4. С. 44–46.
4. *Єфіменко Н. В.* NO-залежна регуляція морфофункціонального стану тромбоцитів та еритроцитів крові за умов алкогольної інтоксикації: дис. ... д-ра філософії (канд. біол. наук): 03.00.04. Львів, 2017. 193 с.
5. *Мецишен І. Ф.* Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // *Буковин. мед. вісн.* 1998. Т. 2. № 1. С. 156–158.
6. *Олексюк Н. П., Янович В. Г.* Активність про- і антиоксидантних систем у печінці прісноводних риб у різні пори року // *Укр. біохім. журн.* 2010. № 82 (3). С. 41–48.
7. *Радченко О. М.* Гістамін як життєво важливий універсальний регулятор // *Раціональна фармакотерапія.* 2017. № 4 (45). С. 5–9.
8. *Сибірна Н. О., Маєвська О. М., Барська М. Л.* Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2006. 60 с.
9. *Amalia Di Petrillo, Germano Orrù, Antonella Fais, Massimo C. Fantini.* Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: A comprehensive review // *Phytother. Res.* 2022. Vol. 36 (1). P. 266–278. doi: 10.1002/ptr.7309.
10. *Atze van der Pol, Wiek H. van Gilst, Adriaan A. Voors, Peter van der Meer.* Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future // *Eur. J. Heart Fail.* 2019. Vol. 21. P. 425–435. doi:10.1002/ejhf.1320
11. *Carracedo J., Ramirez-Carracedo R., Martínez de Toda I. et al.* Protein Carbamylation: A Marker Reflecting Increased Age-Related Cell Oxidation // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19. P. 1495. doi:10.3390/ijms19051495. <https://doi.org/10.3390/ijms19051495>

12. *Demkovych A.* Effects of flavonol quercetin on activity of lipid peroxide oxidation in experimental bacterial-immune periodontitis // *Interv. Med. Appl. Sci.* 2019. Vol. 11 (1). P. 55–59. doi: 10.1556/1646.10.2018.48
13. *Hongzhong Li., Yi Xiao, Qin Li.* et al. The allergy mediator histamine confers resistance to immunotherapy in cancer patients via activation of the macrophage histamine receptor H1 // *Cancer Cell.* 2022. Vol. 40 (1). P. 36–52. doi: 10.1016/j.ccell.2021.11.002. Epub 2021 Nov 24.
14. *Jinbong Park* Anti-Anaphylactic Activity of Isoquercitrin (Quercetin-3-O-β-d-Glucose) in the Cardiovascular System of Animals // *Biomedicines.* 2020. Vol. 8. P. 139. doi:10.3390/biomedicines8060139
15. *Jiri Mlcek, Tunde Jurikova, Sona Skrovankova, Jiri Sochor.* Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response // *Molecules.* 2016. Vol. 21. P. 623. doi:10.3390/molecules21050623
16. *Junzhi Liang, Yingzhuo Gao, Ziyi Feng.* et al. Reactive oxygen species and ovarian diseases: Antioxidant strategies // *Redox Biology.* 2023. Vol. 62. P. 102659 <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102659>
17. *Lowry O. H.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193 (1). P. 404–415.
18. *Oriol Comas-Basté, Sònia Sánchez-Pérez, Maria Teresa Veciana-Nogués* et al. Histamine Intolerance: The Current State of the Art // *Biomolecules.* 2020. Vol. 10. P. 1181. doi:10.3390/biom10081181.
19. *Rui-Qi Xu, Ling Ma, Timson Chen* et al. Sophorolipid inhibits histamine-induced itch by decreasing PLC/IP3R signaling pathway activation and modulating TRPV1 activity // *Sci. Rep.* 2023. Vol. 13 (1). P. 7957. doi: 10.1038/s41598-023-35158-9.
20. *Shangze Gao, Keyue Liu, Wenhan Ku* et al. Histamine induced high mobility group box-1 release from vascular endothelial cells through H₁ receptor // *Front Immunol.* 2022. Vol. 5 (13). P. 930683. doi: 10.3389/fimmu.2022.930683.
21. *Sònia Sánchez-Pérez, Oriol Comas-Basté, Adriana Duelo* et al. Intestinal Dysbiosis in Patients with Histamine Intolerance // *Nutrients.* 2022. Vol. 14. P. 1774. <https://doi.org/10.3390/nu14091774>
22. *Wolfgang J. Schnedl, Dietmar Enko.* Histamine Intolerance Originates in the Gut // *Nutrients.* 2021. Vol. 13. P. 1262. <https://doi.org/10.3390/nu13041262>
23. *Yao Li, Jiaying Yao, Chunyan Han* et al. Quercetin, Inflammation and Immunity // *Nutrients.* 2016. Vol. 8. P. 167. doi:10.3390/nu8030167.

Стаття надійшла до редакції 13.05.24

доопрацьована 28.06.24

прийнята до друку 01.07.24

**BIOMETRIC ANALYSIS OF INDICATORS OF PROXYDANT AND
ANTIOXIDANT STATUS OF BLOOD PLASMA OF RATS
UNDER THE EFFECT OF HISTAMINE AND QUERCETIN****N. Harasym¹, N. Toyliiev¹, N. Bodnarchuk¹, A. Zyn²***¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine**²Lviv Research Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine
24, Konyushinna St., Lviv 79040, Ukraine**e-mail: garasymnataly@gmail.com; nataliya.harasym@lnu.edu.ua*

The regularities of the effect of histamine in concentrations of 0.01; 0.1; 1; 10 μM were studied and quercetin in concentrations of 0.1; 0.3; 0.5; 1; 3; 5 mM, as well as their combined effect on the prooxidant-antioxidant state of blood plasma of rats, using cluster and factor biometric analyses. It was established that the experimental groups according to the investigated indicators (TBA-positive products, lipid hydroperoxides, carbonyl groups of neutral and basic proteins, superoxide anion radical, superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione, ATP) were distributed among 13 clusters (according to cluster analysis). In one group of similarities, the effect of histamine in concentrations of 0.01 μM and 1 μM was revealed. Quercetin at a concentration of 0.5 mM and histamine at a concentration of 0.1 μM have a similar effect on the indicators of the prooxidant-antioxidant state of the blood plasma. Combined addition to the blood of histamine at a concentration of 10 μM and quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3 mM lead to the same changes in the indicated studied indicators. Cluster analysis also combined the combined effects of 0.01 μM histamine and 0.1 and 3 mM quercetin. It is important to note that a decrease in the content of carbonyl groups of proteins was found in those classes whose experimental blood groups were added to histamine and quercetin, which indicates a decrease in protein damage due to free radical oxidation processes. Using factor analysis, it was established the presence of three hidden factors that affect the processes of free radical oxidation of blood under the action of histamine and quercetin. A high correlation of factor I with protein carbonyl groups, reduced glutathione, superoxide anion radical was revealed. Factor II is most correlated with ATP, superoxide dismutase, lipid hydroperoxides. There is a close relationship between factor III and TBA-positive products and catalase. Taking into account the closeness of the relationship, factor I was given the name "factor of action on proteins", factor II – "factor of action on bioenergetics and initiator of lipid peroxidation processes", factor III – "factor of enhancement of lipid peroxidation processes". It was established that quercetin activates factor I (influence on proteins, causing their oxidation) and factor III (intensification of lipid peroxidation processes) depending on the concentration of the drug. Quercetin in a concentration of 1 mM has the property of both factors (I and III).

Keywords: blood plasma, histamine, prooxidant-antioxidant status, quercetin, cluster analysis, factor analysis

**ВМІСТ ТБК-ПОЗИТИВНИХ ПРОДУКТІВ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА
MISGURNUS FOSSILIS L. НА РІЗНИХ ЕТАПАХ РОЗВИТКУ ЗА ВПЛИВУ
АМІНОКИСЛОТНИХ ПОХІДНИХ 1,4-НАФТОХІНОНУ**

***А. Генега¹, А. Тарновська¹, М. Яремчук¹, А. Будевич¹, О. Семочко²**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: anastasiya.heneha@lnu.edu.ua; anastasiyah2@gmail.com

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна

Нафтохінони відіграють важливу роль серед природних речовин і їхніх синтетичних похідних, оскільки вони мають широкий спектр біологічної активності. Амінокислотні похідні 1,4-нафтохінону мають перспективи практичного використання в медицині та фармакології. Для з'ясування можливого механізму дії амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону досліджено вміст ТБК-позитивних продуктів у зародкових клітинах в'юна *Misgurnus fossilis L.* упродовж ембріогенезу. Зародки прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis L.* є зручною й адекватною системою для з'ясування механізмів дії фізичних і хімічних факторів.

Встановлено, що глутамінове похідне 1,4-нафтохінону має найкраще виражені біологічні ефекти та викликало достовірне зростання ТБК-позитивних продуктів упродовж ембріогенезу щодо контролю на стадії 2 та 256 бластомерів (60-та і 270-та хв розвитку зародків) на 47 % і 43 %, відповідно ($p \geq 0,99$). На стадіях 16 і 64 бластомери спостерігається тенденція до підвищення вмісту МДА за дії глутамінового похідного 1,4-нафтохінону в концентрації 10^{-5} М, порівняно з контролем. Також на стадії 10-го поділу за впливу глутамінового похідного 1,4-нафтохінону вміст МДА щодо контрольного зразка знижується на 2 %, ймовірно, за рахунок активації ферментативних систем антиоксидантного захисту. Підвищення інтенсивності процесів ліпопероксидації стимулює активацію ферментів антиоксидантної системи. Тому для аналізу прооксидантно-антиоксидантного стану зародків в'юна необхідно дослідити активність ферментів, які забезпечують антиоксидантний захист.

Отримані результати дають змогу припустити, що за дії похідного 1,4-нафтохінону відбувається активація процесів перекисного окиснення ліпідів у зародкових клітинах в'юна *Misgurnus fossilis L.* упродовж ембріогенезу.

Ключові слова: ТБК-позитивні продукти, зародки, амінокислотні похідні 1,4-нафтохінону, ембріональні клітини, в'юни

Одним із розділів сучасної фармацевтичної та органічної хімії, який активно розвивається, є хімія хіноїдних сполук, де важливе місце займають нафтохінон і його похідні. Цей клас сполук привертає увагу завдяки їхнім фізіологічним, хімічним, фізико-хімічним властивостям, зокрема, їхній здатності до зворотного окисно-відновного процесу, що забезпечує різноманітну високу біологічну активність похідних 1,4-нафтохінону [10].

Нафтохінони як група органічних сполук відіграють важливу роль серед природних речовин і їхніх синтетичних похідних, оскільки вони мають широкий спектр біологічної активності [7, 8]. Вчені описали протиракову активність амідних похідних 1,4-нафтохінону на клітинах різних ліній, таких як KB (рак ротової порожнини), NCI-H187 (дрібноклітинний рак легень), MCF-7 (рак молочної залози) та лінії клітин Vero (епітелій нирки мавпи) [10].

Механізми, за допомогою яких нафтохінони можуть викликати ці ефекти, досить складні. Відомо, що хінони мають високу відновну активність і можуть брати участь у редокс-циклі через їхні семіхінонові/гідрохінонові радикали, що забезпечує утворення активних форм кисню, таких як супероксид, пероксид водню і, особливо, гідроксильний радикал [7]. 1,4-Нафтохінони можуть виступати як акцептори у реакції Міхаеля, що зумовлює алкілювання життєво важливих клітинних білків та/або ДНК [14].

Синтетичні *N*-похідні 1,4-нафтохінону мають перспективи практичного використання в медицині та фармакології, оскільки є низькотоксичними, проявляють активність у реакціях як із пероксидними, так і з алкільними радикалами, гальмують окиснення за надлишкового й низького тиску O_2 , частково захищають ліпіди у разі гіпоксії та за безпеки виникнення інфаркту [8, 10, 12]. У зв'язку з особливою цінністю нафтохінонів і амінокислот незаперечний інтерес становлять дослідження зі синтезу сполук, що містять одночасно амінокислотні фрагменти і хіноїдну систему зв'язків, оскільки вони можуть бути потенційними лікарськими засобами [12, 14].

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) у нормі є життєво важливою ланкою в регуляції багатьох мембранозалежних процесів – у регуляції проникності і транспорту речовин крізь мембрану, регуляції мембраноасоційованих ферментів та ліпідного складу мембран, у синтезі простагландинів, лейкотрієнів, тромбоксанів, стероїдних гормонів, холестеролу, в метаболізмі катехоламінів [1–6]. Проте відомо, що під час багатьох захворювань підсилюється оксидативний стрес [1, 2, 5], у результаті чого активуються процеси ПОЛ, а це спричиняє значні зміни в обмінних процесах клітини та структурно-функціональній цілісності клітинних мембран, супроводжується дисбалансом ферментативних і неферментативних компонентів системи антиоксидантного захисту, вивільненням лізосомних ферментів, зміною транспорту іонів Ca^{2+} [1–6].

У мітохондріях унаслідок вільнорадикальних реакцій можуть пошкоджуватись як ферменти матриксу, так і компоненти дихального ланцюга. Це призводить до втрати енергетичного потенціалу, електростимулювальної функції, порушення контролю за іонними потоками та медіаторними системами. Через це у тканинах можуть виникати такі патологічні стани, як запальні, нейродегенеративні та злоякісні зміни, що можуть призвести до загибелі клітин.

Щоб уникнути розвитку різних ускладнень у ході захворювань, важливо своєчасно блокувати пусковий механізм патології, знижуючи інтенсивність вільнорадикальних процесів у організмі за допомогою антиоксидантів. Експериментальна та клінічна медицина мають значний досвід у розробці та застосуванні препаратів із антиоксидантною дією для лікування різних патологій.

Отже, детальне вивчення впливу амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону на процеси біологічного окиснення ліпідів мембран зародкових клітин прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. в період раннього ембріогенезу є актуальним і перспективним. Це дослідження сприятиме кращому розумінню механізмів біологічної дії цих речовин, а також покращенню їхніх лікувальних властивостей, що матиме значення для фармакології та медицини.

Матеріали та методи

У ході проведених досліджень використовували зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам 500 од. хоріогонічного гонадотропіну. Сім'яники виділяли після декапітації та розтину черевної порожнини самців. Ікру отримували через 36 год після стимуляції та запліднювали в чашках Петрі

суспензією спермійів за Нейфахом [2, 3, 6]. Зародки в'юна в умовах контролю інкубували у фізіологічному розчині Гольтфретера; за умовами дослідів – зародки розвивались у розчині амінокислотної похідної 1,4-нафтохінону (рис. 1) у відповідній концентрації, далі відбирали клітини на досліджуваних стадіях (2, 16, 64, 256 та 1024 бластомери). Стадії розвитку контролювали візуально під біокулярним мікроскопом МБС-9.

Принцип методу визначення вмісту ТБК-активних продуктів ґрунтується на активуванні ПОЛ іонами двовалентного заліза до рівня, який можна зареєструвати спектрофотометрично. За високої температури в кислому середовищі МДА реагує з ТБК, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс із максимумом поглинання за 532 нм [5]. Кількість білка у пробах визначали за методом Лоурі.

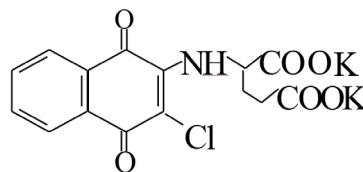


Рис. 1. Структурна формула калієвої солі 2-глутамін-3-хлор-1,4-нафтохінон (глутамінове похідне 1,4-нафтохінону)

Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів *Microsoft Excel*, достовірність змін встановлювали за *t*-критерієм Стьюдента. Зокрема, визначали середнє арифметичне значення (*M*), стандартну похибку (*m*) та середнє квадратичне відхилення (σ). Критичні рівні достовірності під час перевірки статистичних гіпотез у дослідженнях відповідали значенням 0,95, 0,99 та 0,999.

Результати і їхнє обговорення

Встановлено, що дія досліджуваного глутамінового похідного в концентрації 10^{-5} М упродовж раннього ембріогенезу веде до виражених змін вмісту малонового діальдегіду (МДА) (вторинного продукту перекисного окиснення ліпідів), порівняно з контролем.

Під час аналізу отриманих даних встановили, що на стадії 2 бластомерів за впливу глутамінового похідного у концентрації 10^{-5} М вміст МДА щодо контролю зростає на 47 % ($p \geq 0,99$).

На стадіях 16 та 64 бластомери за впливу даного похідного вміст МДА більший, ніж у контрольному значенні, проте дані статистично є недостовірними. Достовірне підвищення МДА (на 43 %, $p \geq 0,99$) спостерігаємо на стадії 8 поділу щодо контролю.

Також на стадії 10 поділу спостерігається тенденція до зниження вмісту МДА за впливу глутамінового похідного 1,4-нафтохінону щодо контрольного зразка.

Відомо, що підвищення інтенсивності процесів ліпопероксидації стимулює активацію ферментів антиоксидантної системи. Тому для аналізу прооксидантно-антиоксидантного стану зародків в'юна необхідно дослідити активність ферментів, які забезпечують антиоксидантний захист.

Отримані дані свідчать про активацію процесів перекисного окиснення ліпідів за дії глутамінового похідного 1,4-нафтохінону на 60-ту (2 бластомери) та 270-ту хв розвитку зародків (256 бластомерів). Надмірна активація процесів ПОЛ призводить до порушення структури мембран, дисбалансу у ліпідному обміні, токсичного впливу на тканини. Відомо, що через 1,5 год після запліднення яйцеклітин в'юна зростають вільнорадикальні процеси, а це відображається у збільшенні вмісту МДА. Це може бути пов'язано з інтенсивним

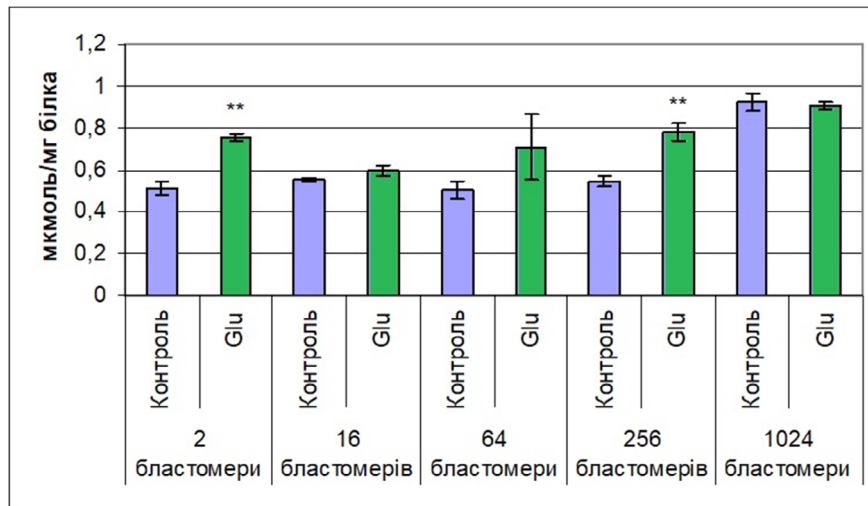


Рис. 2. Вміст ТБК-позитивних продуктів у зародків в'юна за дії глютамінового похідного у концентрації 10^{-5} М на різних стадіях розвитку ($p \geq 0,99$)

поділом бластомерів. На 6-ту год розвитку зародків спостерігається зростання інтенсивності процесів ліпопероксидації, що пов'язують з десинхронізацією поділів зародкових клітин в'юна. Пояснення механізмів впливу похідних 1,4-нафтохінону на пероксидні процеси в зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. на різних етапах поділу бластомерів слід шукати в активації антиоксидантної ензиматичної системи.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Боднарчук Н. О., Мандзинець С. М., Петрух Л. І., Санагурський Д. І. Стан системи антиоксидантного захисту зародків в'юна за впливу флуоренідиду // Біологія тварин. 2016. Т. 18. № 2. С. 9–17
2. Боднарчук Н. О., Мандзинець С. М., Петрух Л. І., Санагурський Д. І. Вміст первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації у зародках в'юна за дії флуоренідиду // Біол. студії / Stud. Biologica. 2016. Т. 10. № 1. С. 53–60.
3. Гойда О. А. Біофізичні аспекти раннього онтогенезу тварин. К.: Наук. думка, 1993, 224 с.
4. Гончарук Є. Г. Коршун М. М. Вільнорадикальне окиснення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) // Журнал Акад. мед. наук України. 2004. Т. 10. № 1. С. 131–150.
5. Головачук Н. П., Тарновська А. В., Коцюмбас Г. І., Санагурський Д. І. Процеси перекисного окиснення ліпідів у живих організмах: монографія. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2012. 252 с.
6. Тарновська А., Генеза А., Семочко О., Яремчук М. Перекисне окиснення ліпідів у зародках в'юна протягом раннього ембріогенезу за впливу антибіотика фторхінолонового ряду бороцину // Молодий вчений. 2018. Т. 9 (2). С. 290–293.
7. Klotz L., Xiaoqing H., Claus J. 1,4-naphthoquinones: from oxidative damage to cellular and inter-cellular signaling // Molecules. 2014. Vol. 19. Issue. P. 14902–14918.
8. Liu Z., Shen Z., Xiang S. et al. Evaluation of 1,4-naphthoquinone derivatives as antibacterial agents: activity and mechanistic studies // Front Environ. Sci. Eng. 2023. Vol. 17 (3). P. 31.

9. *Otoni F. M., Gomes E. R., Pádua R. M.* et al. Synthesis and cytotoxicity evaluation of glycosidic derivatives of lawsone against breast cancer cell lines // *Bioorg Med. Chem. Lett.* 2020. Vol. 30 (2). P. 126817.
10. *Pradidphol N., Kongkathip N., Sittikul P.* et al. First synthesis and anticancer activity of novel naphthoquinone amides // *Eur. J. Med. Chem.* 2012. Vol. 49. P. 253–270.
11. *Santos E. W. P., Sousa R. C., Franca M. N. F.* et al. Inhibitory effect of O-propargyllawsone in A549 lung adenocarcinoma cells BMC // *Complement Med Ther.* 2023. Vol. 23 (1). P. 333
12. *Shen X., Liang X., He C.* et al. Structural and pharmacological diversity of 1,4-naphthoquinone glycosides in recent 20 years // *Bioorg Chem.* 2023. Vol. 138. P. 106643.
13. *Wang Y., Luo Y. H., Piao X. J.* et al. Novel 1,4-naphthoquinone derivatives induce reactive oxygen species-mediated apoptosis in liver cancer cells // *Mol. Med. Rep.* 2019. Vol. 19 (3). P. 1654–1664.
14. *Wellington K. W.* Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones // *RSC Advances.* 2015. N 5. P. 20309–20338.

Стаття надійшла до редакції 11.06.24

доопрацьована 05.07.24

прийнята до друку 09.07.24

THE CONTENT OF TBA-POSITIVE PRODUCTS IN EMBRYOS OF LOACH *MISGURNUS FOSSILIS* L. AT DIFFERENT STAGES OF DEVELOPMENT UNDER THE INFLUENCE OF AMINO ACID DERIVATIVES OF 1,4-NAPHTHOQUINONE

A. Heneha*¹, A. Tarnovska¹, M. Yaremchuk¹, A. Budevych¹, O. Semochko²

¹*Ivan Franko Lviv National University*

4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine

e-mail: anastasiya.heneha@lnu.edu.ua; anastasiyah2@gmail.com

²*Danylo Halytsky Lviv National Medical University*

69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine

Naphthoquinones play an important role among natural substances and their synthetic derivatives, as they have a wide range of biological activity. Amino acid derivatives of 1,4-naphthoquinone have prospects for practical use in medicine and pharmacology. To clarify the possible mechanism of action of amino acid derivatives of 1,4-naphthoquinone, the content of TBA-positive products in embryonic cells of the loach *Misgurnus fossilis* L. during embryogenesis was investigated. Embryos of the freshwater fish loach *Misgurnus fossilis* L. are a convenient and adequate system for elucidating the mechanisms of action of physical and chemical factors.

It has been established that the glutamine derivative of 1,4-naphthoquinone has the most pronounced biological effects and caused significant changes in TBK-positive products during embryogenesis relative to the control at stages 2 and 256 blastomeres (60 and 270 minutes of embryo development) by 47 % and 43 %, respectively ($p \geq 0.99$). At stages 16 and 64 blastomeres, there is a tendency to increase the content of MDA under the action of the glutamine derivative of 1,4-naphthoquinone at a concentration of 10^{-5} M compared to the control. Also, at the 10th division stage under the influence of the glutamine derivative of 1,4-naphthoquinone, the MDA content decreases by 2 % compared to the control sample, possibly due to the activation of enzymatic systems of antioxidant protection. Increasing

the intensity of lipid peroxidation processes stimulates the activation of antioxidant system enzymes. Therefore, to analyze the prooxidant-antioxidant state of loach embryos, it is necessary to study the activity of enzymes that provide antioxidant protection.

The obtained results allow us to suggest that under the action of the derivative of 1,4-naphthoquinone, activation of lipid peroxidation processes occurs in embryonic cells of the loach *Misgurnus fossilis* L. during embryogenesis.

Keywords: TBA-positive products, embryos, amino acid derivatives of 1,4-naphthoquinone, embryonic cells, loach

**ВПЛИВ ЧЕРВОНОГО ТА СИНЬОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО
ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КАТАЛАЗНУ АКТИВНІСТЬ ЗАРОДКІВ В'ЮНА
*MISGURNUS FOSSILIS L.***

О. Семочко¹, А. Генегга^{2*}, М. Яремчук³, А. Тарновська², В. Іванюк²

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна

²Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: anastasiya.heneha@lnu.edu.ua; anastasiyah2@gmail.com

³Львівський національний університет ветеринарної медицини та
біотехнологій імені С.З. Гжицького
вул. Пекарська, 50, Львів 79010, Україна

Фотобіомодуляційна терапія широко застосовується з метою лікування різних патологічних станів. Дана терапія базується на використанні монохроматичного світлового випромінювання. Світло видимого спектру індукує різноманітні – як терапевтичні, так і токсичні – біологічні ефекти на молекулярному та клітинному рівнях. Отриманий ефект залежить від довжини хвилі випромінювання, експозиції та ін. Один із можливих механізмів цього впливу – регуляція прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Для з'ясування механізму дії електромагнітного випромінювання (ЕМВ) різного спектрального складу досліджено каталазну (КАТ) активність у зародкових клітинах в'юна *Misgurnus fossilis L.* упродовж ембріогенезу, оскільки зародки в'юна є адекватною системою, яка відображає фізіологічний стан клітини як у нормальних умовах, так і у результаті впливу різноманітних фармакологічних, фізичних та хімічних агентів.

Отримані зиготи опромінювали (10 хв) синім і червоним світлодіодами ($\lambda = 460$ та 660 нм відповідно). Активність КАТ визначали за здатністю гідроген пероксиду утворювати зі солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Встановлено, що ЕМВ червоного спектру має найбільш виражені біологічні ефекти та викликає достовірні зміни каталазної активності упродовж ембріогенезу щодо контролю та синього світла. Максимум зростання показника припадає на стадію 16 бластомерів, а на стадії 8 і 10 поділів спостерігається поступове зменшення ензиматичної активності. Світло синього спектру тривалістю 10 хв не викликало достовірних змін каталазної активності щодо контролю на ранніх етапах ембріогенезу в'юна. Отримані результати дають змогу припустити, що КАТ, один із ключових ферментів системи антиоксидантного захисту (АОЗ), піддається фотоактивації під впливом червоного світла.

Ключові слова: каталаза, зародки, ембріональні клітини, електромагнітне випромінювання, світлодіоди

Останніми роками для лікування різноманітних патологічних станів застосовують фотодинамічну терапію, в основі якої лежить використання монохроматичного світлового випромінювання [5]. В оториноларингології, стоматології, дерматології, кардіології, неврології та ін. виявлено фототерапевтичні ефекти низькоінтенсивного видимого світла [8].

Пошук об'єкта дослідження для встановлення можливих механізмів дії ЕМВ є актуальним питанням на сьогодні. Одним із чутливих тестів, що відображають фізіологічний стан клітини як у нормальних умовах, так і у результаті впливу різноманітних фармакологічних, фізичних та хімічних агентів [6], є розвиток зародків в'юна.

Живі організми постійно перебувають під дією активних форм кисню [13], їхній надлишок спричиняє ушкодження мембрани клітин [4, 9, 13]. Розвиткові окисного стресу протидіє система антиоксидантного захисту, у якій каталаза виконує важливу роль у знешкодженні гідроген пероксиду за його надмірної продукції [9]. Світло видимого спектру може бути модулятором біологічних процесів у живих організмах [11]. Вплив синього світла спричиняє зростання активних форм кисню у культурі фібробластів, зниження рівня експресії каталази [11], ЕМВ видимого діапазону ($\lambda = 460$ нм та 660 нм) викликає дозозалежне зростання інтенсивності процесів ліпопероксидації зародків в'юна на різних стадіях розвитку [4, 9, 13]. Проте немає даних про наявність мішеней дії ЕМВ видимого діапазону в зародкових клітинах. Зручність і адекватність такої тест-системи, як зародки риби в'юна, зумовили доцільність її використання у дослідженні впливу ЕМВ на деякі метаболічні процеси ембріональних клітин. Відтак, є необхідність оцінити можливі регуляторні ефекти монохроматичного світла видимого діапазону нетеплових інтенсивностей щодо змін каталазної активності упродовж раннього розвитку ембріональних клітин.

Матеріали та методи

У ході проведених досліджень використовували яйцеклітини та зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L. [2]. Стадії розвитку контролювали візуально під біокулярним мікроскопом МБС-9.

Отримані зиготи опромінювали синім і червоним світлодіодами ($\lambda = 460$ та 660 нм), потужністю 1 Вт з рефлектором «Гаєн» – FC-M2-XR79-OR для фокусування випромінювання у площині. Зародки в'юна в умовах контролю та дослідів інкубували у фізіологічному розчині Гольцфретера; за умовами дослідів – опромінювали одноразово одразу після запліднення протягом 10 хв, з відбором клітин на досліджуваних стадіях. Контрольні зародки перебували в умовах опромінення повного спектру. Тривалість експозиції становила 10 хв, зважаючи на наші попередні дослідження та ґрунтуючись на даних, отриманих авторами, фотомодуляційні ефекти випромінювання залежать від дози опромінення. Наприклад, підвищення інтенсивності світла чи низька експозиція не мають вірогідного впливу на сомітогенез ембріонів перепела [8].

Для вивчення стану прооксидантно-антиоксидантної системи визначали АКТИВНІСТЬ КАТ у лізаті клітин (гідроген-пероксидаза: гідроген-пероксид оксидоредуктаза (КФ 1.11.1.6)).

Принцип методу базується на здатності H_2O_2 утворювати зі солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення перекисних сполук молібдену залежить від кількості H_2O_2 у розчині. Каталаза, розкладаючи гідроген пероксид, зменшує інтенсивність забарвлення у зразку [3, 4].

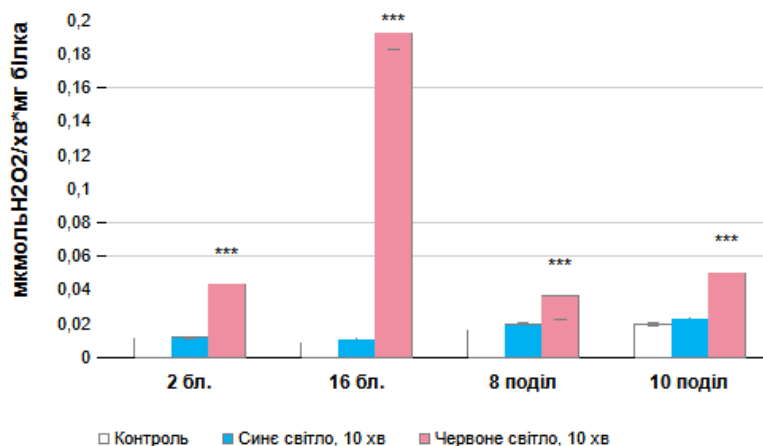
Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів *Microsoft Excel*, достовірність змін встановлювали за t-критерієм Стюдента. Зокрема, визначали середнє арифметичне значення (M), стандартну похибку (m) та середнє квадратичне відхилення (σ). Критичні рівні достовірності під час перевірки статистичних гіпотез у дослідженнях відповідали значенням 0,95, 0,99 та 0,999.

Результати і їхнє обговорення

За дії ЕМВ синього спектру тривалістю 10 хв не спостерігали достовірних змін каталазної активності щодо контролю на ранніх етапах ембріогенезу в'юна, стадіях 2, 16 бластомерів і 8 (256 бластомерів) та 10 (1024 бластомери) поділу (див.рисунок). Не виключеним є прояв інгібуючого впливу синього світла на каталазну активність зародків в'юна, оскільки у літературі описано зниження рівня експресії КАТ у культурі фібробластів людини через 24 год після опромінення (453 нм, 80 Дж/см²), тоді як через 1 та 4 год зміни були недостовірними [11]. Синє світло, залежно від інтенсивності випромінювання, виявляє вірогідний стимулюючий (за інтенсивності світлового потоку 0,1 мВт/см²) і пригнічуючий (1 мВт/см²) вплив на ембріональний розвиток перепела, більш виражені стимулюючі ефекти спостерігали за зниженої температури [8]. На відміну від синього, червоне монохроматичне світло спричиняло достовірне зростання ензиматичної активності на всіх досліджуваних стадіях розвитку зародків. Очевидно, що отримані зміни можуть бути спричинені фотоактивацією чи інгібуванням активності каталази ЕМВ різного діапазону, а також зростанням рівня гідроген пероксиду та процесів перекисного окиснення ліпідів.

Світло у видимій ділянці спектру поглинається переважно хроматофорними групами білкових молекул і частково киснем, тому гемоглобін, меланін та мідь- і залізовмісні ферменти (КАТ, супероксиддисмутаза), ферменти окисно-відновного циклу, цитохроми, пігменти й інші речовини можуть бути мішенями ЕМВ [1].

У змінах каталазної активності зародків в'юна на ранніх етапах розвитку за дії червоного ЕМВ встановлено певну закономірність: максимум зростання показника припадає на стадію 16 бластомерів, а на наступних стадіях спостерігається поступове зменшення активності ензиму. Це може вказувати на розвиток адаптаційних процесів у зародках, а також може пояснюватися підвищенням концентрації гідроген пероксиду на фоні загальної інтенсифікації процесів ліпопероксидації [13]. Аналогічні результати спостерігали у попередніх наших дослідженнях, за дії світла синього та зеленого діапазону тривалістю 20 хв [4, 9, 13].



Каталазна активність у зародках в'юна за впливу червоного та синього ЕМВ порівняно з контролем

У скелетних м'язах ембріонів бройлерів, інкубованих за дії синього світла, спостерігали зростання активності ферментів АОЗ, зокрема і КАТ, а також зниження рівня малонового діальдегіду [12].

Виражене зростання активності КАТ спостерігали у клітинах 38-год перепелиних ембріонів за дії монохроматичного червоного світла LED ($\lambda = 630 \div 650$ нм) протягом 180 с під час інкубації, порівняно з дією низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокочастотного діапазону (стандарту GSM 900 МГц), що вказує на протективні властивості й антиоксидантні ефекти ЕМВ [7, 14]. У скелетних м'язах ембріонів бройлерів, інкубованих за дії червоного світла, спостерігали протилежні ефекти, зниження активності ферментів АОЗ, зокрема, і КАТ на фоні зростання рівня малонового діальдегіду [12], що може корелювати зі стадією розвитку і тривалістю експозиції під час інкубації. Один із імовірних механізмів активації КАТ є фотоакцепція ферменту внаслідок поглинання ним енергії випромінювання, що спричиняє його перехід в активний стан, і активація системи антипероксидного захисту [1].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Пантьо В. В., Ніколайчук В. І., Пантьо В. І. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на біологічні об'єкти та чутливість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів // Фотобіологія та фотомедицина. 2010. Т. 7. № 1–2. С. 80–87. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ftf_2010_7_1-2_19
2. Семочко О., Бура М., Мандзинець С. Морфологічні зміни зародків та личинок в'юна *Misgurnus fossilis* L. за дії світлодіодів із синім типом світла // Вісн. Харків. ун-ту. Біофіз. вісн. 2010. Вип. 24. № 1. С. 103–110.
3. Семочко О. М., Мандзинець С. М., Бура М. В. Вплив випромінювання синього та зеленого спектра на процеси ліпопероксидації зародків в'юна // Фізика живого. 2011. Т. 19. № 2. С. 24–31.
4. Семочко О. М., Яремчук М. М. Зміни ферментативної активності супероксиддисмутази та каталази ембріональних клітин в'юна як індикатори впливу монохроматичного світла // Клінічна фармація в Україні та світі: Матеріали Всеукр. наук.-практ. Internet-конф. з міжнарод. участю, присв. 30-річчю заснування кафедри клін. фармакології та клін. фармації НФаУ (16–17 березня 2023 р., м. Харків). Харків, 2023. С. 164–165. https://clinpharm.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2023/04/tezi_kf_30_rokiv_2023.pdf
5. Сімонова Л. І., Герман В. З. Перспективи застосування фотометричних технологій для лікування місцевих променевих ушкоджень // Журн. укр. радіол. 2008. № 16. С. 455–460.
6. Целевич М. В., Мандзинець С. М., Санагурський Д. І. Na^+ , K^+ –АТФ-азна активність мембран зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. при дії антибіотиків // Фізіол. журн. 2004. Т. 50. № 5. С. 64–68.
7. Цибулін О. С., Якименко І. Л., Сидорук Є. П. Захисний ефект монохроматичного червоного світла LED від оксидативної дії надвисокочастотного електромагнітного випромінювання // Доп. НАН України. 2016. № 4. С. 118–124. <http://jnas.nbuv.gov.ua/uk/article/UJRN-0000814810>
8. Якименко І. Л., Цибулін О. С. Регуляторна дія низькоінтенсивного видимого світла на сомітогенез птиці // Доп. НАН України. 2007. № 2. С. 163–167.
9. Яремчук М. М., Семочко О. М., Генега А. Б. Вміст вторинних продуктів ліпопероксидації у зародках в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання // Експеримент. та клін. фізіологія і біохімія. 2020. Вип. 2 (90). С. 30–35. https://web.archive.org/web/20201210121957id_/http://ecpb.org.ua/pdf/90/2/90.02.030.pdf
10. Evans W. H. Preparation and characterization of mammalian plasma membranes. Amsterdam; N.Y.; Cambridge: North-Holland Publ. Co., 1980. P. 177–183.

11. *Krassovka J. M., Suschek C. V., Prost M.* The impact of non-toxic blue light (453 nm) on cellular antioxidative capacity, TGF- β 1 signaling, and myofibrogenesis of human skin fibroblasts // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. 2020. Vol. 209. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134420304024>
12. *Li Jie Li Jie, Yang Xiu Juan, Yang Xiu Juan.* Effect of monochromatic light on antioxidative capacity of skeletal muscle in broiler during late-embryonic stage // *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*. 2018. Vol. 49. N 9. P. 1998–2004 ref. 26
13. *Tarnovska A., Heneha A., Semochko O, Yaremchuk M.* Free Radical Processes in Cold-Blooded and Warm-blooded Animals under the Action of Physico-Chemical Factors // *Ekologia w dyskursie. Wokół Animal Studies. Wieloautorska praca monograficzna pod redakcją Daniela Kalinowskiego i Sebastiana Szmyjdy*. Słupsk: Wydawnictwo Naukowe Akademii Pomorskiej w Słupsku, 2023. 271–293 st.
14. *Tsybulin O, Sidorik E., Kyrylenko S.* Monochromatic red light of LED protects embryonic cells from oxidative stress caused by radiofrequency radiation // *Oxid. Antioxid. Med. Scie*. 2016. Vol. 5. N 1. P. 1–7. <https://www.ejmoams.com/abstract/monochromatic-red-light-of-led-protects-embryonic-cells-from-oxidative-stress-caused-by-radiofrequency-radiation-47752.html>

Стаття надійшла до редакції 13.06.24

доопрацьована 23.09.24

прийнята до друку 25.09.24

THE INFLUENCE OF RED AND BLUE ELECTROMAGNETIC RADIATION ON THE CATALASE ACTIVITY OF *MISGURNUS FOSSILIS* L.

O. Semochko¹, A. Heneha^{2*}, M. Yaremchuk³, A. Tarnovska², V. Ivanyuk²

¹*Danylo Halytsky Lviv National Medical University
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine*

²*Ivan Franko Lviv National University
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

e-mail: anastasiya.heneha@lnu.edu.ua; anastasiyah2@gmail.com

³*Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies of Lviv
50, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine*

Photobiomodulation therapy is widely used to treat various pathological conditions. This therapy is based on the use of monochromatic light radiation. The light of the visible spectrum induces different biological effects at the molecular and cellular levels, both therapeutic and toxic. The obtained effect depends on the length of radiation, exposure, etc. One of the possible mechanisms of such influence is the regulation of pro-oxidant-antioxidant homeostasis.

In order to clarify the mechanism of action of electromagnetic radiation (EMR) of different spectral composition, catalase (CAT) activity was investigated in germ cells of loach *Misgurnus fossilis* L. during embryogenesis. Since, loach embryos are an adequate system that reflects the physiological state of the cell both under normal conditions and as a result of the influence of various pharmacological, physical and chemical agents.

The resulting zygotes were irradiated (10 min) with blue and red LEDs ($\lambda = 460$

and 660 nm, respectively). The activity of CAT was determined by the ability of hydrogen peroxide to form a stable colored complex with molybdenum salts. It was established that EMR of the red spectrum has the most pronounced biological effects and caused significant changes in catalase activity during embryogenesis relative to control and blue light. The maximum increase of the indicator occurs at the stage of 16 blastomeres, and at the stage of 8 and 10 divisions, a gradual decrease in enzymatic activity is observed. Irradiation by the light of the blue spectrum lasting 10 min did not cause significant changes in catalase activity relative to the control at the early stages of loach embryogenesis. The obtained results suggest that CAT, one of the key enzymes of the antioxidant defense system, undergoes photoactivation under the influence of red light.

Keywords: catalase, embryos, embryonic cells, electromagnetic radiation, LEDs

EFFECT OF A THIAZOLE DERIVATIVE ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN MURINE LYMPHOMA CELLS

Ya. Shalai¹, V. Koberenko¹, M. Ilkiv², Yu. Ostapiuk¹, A. Babsky¹

¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

²Ivan Boberskyi Lviv State University of Physical Culture
11, Kostyushko St., Lviv 79000, Ukraine

*e-mail: Yaryna.Shalay@lnu.edu.ua

Previous *in vitro* studies have demonstrated a pronounced cytotoxic effect of the thiazole derivative N-(5-Benzyl-13-thiazole-2-yl)-35-dimethyl-1-benzofuran-2-carboxamide (BF1) on tumor cells. Additionally, it has been determined that scavengers of reactive Oxygen species (ROS) significantly reduce the cytotoxic effect of BF1. In this study, the influence of BF1 on the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), both normally and in the presence of ascorbic acid, in mouse Nemeth-Kellner lymphoma (NK/Ly) cells has been studied to evaluate the possible role of antioxidant activity during the action of this substance.

The experiments were performed using nonlinear male mice weighing 20–30 g. Intraperitoneal inoculation of 10–15 million cancer cells into the mice induced the ascites form of lymphoma. The thiazole derivative (BF1) was dissolved in dimethyl sulfoxide and added to the test samples at 1, 10, and 50 μM final concentrations. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were determined spectrophotometrically in a homogenate of the lymphoma cells after incubation with the drug for 30 minutes.

The baseline level of SOD in the lymphoma of the mice was 0.33 ± 0.02 activity units/min \times mg protein. BF1 significantly increased the enzyme activity by 35 % and 29 % at concentrations of 10 ($p < 0.01$) and 50 μM ($p < 0.05$), respectively. The baseline level of CAT activity was 4.61 ± 0.17 nmoles H_2O_2 /min \times mg protein, and this significantly decreased by 15 % ($p < 0.05$) and 20 % ($p < 0.01$) following the action of the thiazole derivative at a concentration of 10 and 20 μM , respectively. The increase of SOD activity, coupled with a decrease or absence of changes in CAT activity, may be cytotoxic to cancer cells. Simultaneously, upon the addition of ascorbic acid as a scavenger of ROS to the environment, the activities of SOD and CAT did not change under the action of BF1 at any of the investigated concentrations.

Therefore, the effect of the thiazole derivative BF1 has been canceled in the presence of ROS scavengers in the environment. This may indicate the dependence of the cytotoxic effect of BF1 on the presence of ROS in tumor cells.

Keywords: tumor, thiazole derivative, antioxidant enzymes, ROS scavengers

It is well known that disturbances in redox homeostasis can lead to the development of various pathologies in the organism. Under these conditions, the ratio of lipid peroxidation (LPO) and the activity of antioxidant defense enzymes are often disturbed. The antioxidant defense system of the body controls all stages of free radical reactions, from their initiation up to the formation of end products, such as hydroperoxides and malondialdehyde. The intensity of free radical processes is determined by the balance of prooxidant and antioxidant reactions in cells. This balance can be affected by various factors: substances containing thiol groups and vitamins (A, E, P, and C), chelating agents (e.g., deferoxamine), inhibitors of superoxide ions (e.g., xanthine

oxidase), superoxide scavengers (e.g., flavonoids), scavengers of hydroxyl radicals, and drugs of plant and synthetic origin. Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) are key conjugated enzymes of antiradical defense, for which hydroperoxide (H_2O_2) is both a substrate and a product, respectively.

Oxidative stress-enhancing chemotherapeutic agents are toxic to cancer cells, as they are involved in biological processes such as cell cycle arrest, DNA damage, and induction of apoptosis. Free radicals, which negatively affect the effects of anticancer drugs, can cause oxidative stress in cells, damage DNA, and induce cell death [8].

At the same time, antioxidant enzymes can be targets for anticancer drugs, since changes in enzymatic activity affect the levels of primary and secondary LPO products, which can be toxic to cancer cells. Meanwhile, the level of reactive Oxygen species (ROS) and superoxide radical products is regulated by the activity of antioxidant defense enzymes, it was important to determine the effect of the thiazole derivative BF1 on the activity of key enzymes of the antioxidant defense system in lymphoma cells, both normally and in the presence of the ROS scavenger – ascorbic acid.

Materials and Methods

The activity of antioxidant enzyme systems was estimated in non-linear male mice weighing 20–30 g (a total of 10 individuals, 5 for each series of experiments), with implanted NK/Ly lymphoma. The animals were kept under stationary conditions in a vivarium at a constant temperature on a standard diet. All animal manipulations were carried out by the national «General Ethical Principles for Animal Experimentation» adopted by the First National Congress on Bioethics (Kyiv, Ukraine, 2001), which are consistent with the provisions of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes» (Strasbourg, France, 1985). The ascitic form of lymphoma was induced by the intraperitoneal injection of 10–15 million cancer cells into the mice. Ascitic fluid was collected by draining the abdominal cavity with a sterile syringe under ether anesthesia on the 7th to 10th day after inoculation. Lymphoma samples were immediately frozen in a freezer at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and later used for research. The protein content in each sample was determined by the method of Lowry et al. [5].

The 2,5-disubstituted thiazoles used in the study were synthesized at the Department of Organic Chemistry of Ivan Franko Lviv National University (head – Dr. of Chem. Sci., Professor M. Obushak). The synthesis steps are described in detail in [6]. From the number of synthesized compounds N-(5-benzyl-1,3-thiazol-2-yl)-3,5-dimethyl-1-benzofuran-2-carboxamide (BF1) was used as the most cytotoxic to tumor cells [4].

The derivative of thiazole BF1 was dissolved in dimethyl sulfoxide (final concentration of DMSO did not exceed 5 %) and added to the test sample (liver homogenate or lymphoma homogenate) at active concentrations of 1, 10, and 50 μM and incubated for 10 minutes. Catalase activity was determined spectrophotometrically according to the method of Bolann et al. [2] at an absorbance wavelength of 410 nm. The enzyme activity was expressed in $\text{nmol of } H_2O_2/\text{min} \times \text{mg protein}$. SOD activity ($\text{U}/\text{min} \times \text{mg protein}$) was determined according to the method of Bournonville et al. [3].

Statistical analysis of the research results was performed using MS Excel 2013. To assess the significance of the difference between the statistical characteristics of two alternative sets of data, the Student's t-test was calculated. A difference with $p < 0.05$ was considered significant. The distribution of experimental data was normal. A two-way ANOVA is used to estimate the dependence of the effect of BF1 on SOD and CAT activity in the presence or absence of ROS scavenger.

Results and Discussion

It is known that the levels of SOD and CAT activity differ between cancerous and normal cells due to lower mitochondrial activity in cancer cells [1]. After examining the level of SOD activity in mouse lymphoma, it was found that this activity was 0.32 ± 0.02 U/min \times mg protein and significantly increased by 35 % and 29 % under the action of BF1 at concentrations of 10 and 50 μ M, respectively (Fig. 1, A). At the same time, upon the addition of ascorbic acid (AA) as a scavenger of ROS, the activity of SOD did not change under the action of BF1 at any of the investigated concentrations (Fig. 1, B).

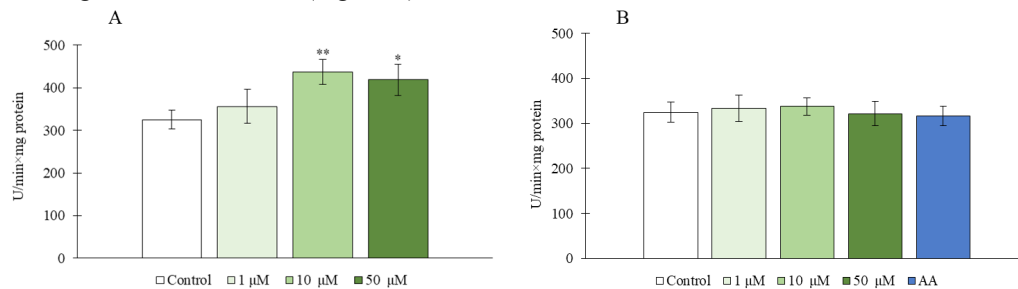


Fig. 1. SOD activity in mouse lymphoma under the action of BF1 without (A) and in the presence of AA (B). $M \pm m$, $n=5$. Significance: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ vs Control

The control level of CAT was 4.61 ± 0.17 nmol H_2O_2 /min \times mg protein (Fig. 2, A). It significantly decreased by 15 % and 20 % under the action of BF1 at a concentration of 10 and 50 μ M. In contrast, other concentration of the drug did not cause significant changes in the activity of the investigated enzyme (Fig. 2, A). AA also nullified the effect of BF1 on CAT activity in lymphoma cells (Fig. 2, B).

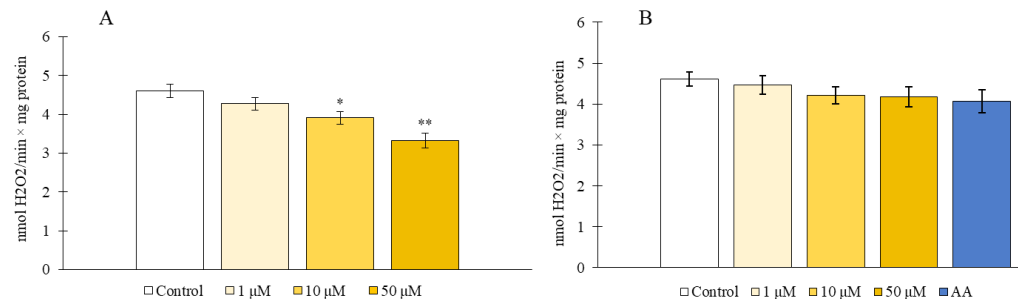


Fig. 2. CAT activity in mouse lymphoma under the action of BF1 without (A) and in the presence of AA (B). $M \pm m$, $n=5$. Significance: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ vs Control

Fig. 3 represents the data of variance analysis of the effect of BF1 on SOD (A) and CAT (B) activity in the presence of ROS scavenger. It was established that in the presence of AA, the share of influence of the scavenger was 72.9 %, and the share of influence of BF1 under investigation was 9.12 % for the study of the activity of SOD. According to the results of variance analysis, it was established that the share of influence of AA was 64.2 % for the study of the activity of CAT. The share of influence of BF1 was 21.2 %. It is important to note that the share of influence of unaccounted factors did not exceed 5.37 %.

The activity of antioxidant enzymes can change under the conditions of tumor growth. It is acknowledged SOD utilizes ROS, forming H_2O_2 . Cell viability needs to establish a balance between the activity of SOD and enzymes that oxidize H_2O_2 , such as CAT. In particular, too rapid

growth of SOD activity in the cell without corresponding activation of CAT or peroxidases is in itself cytotoxic [1].

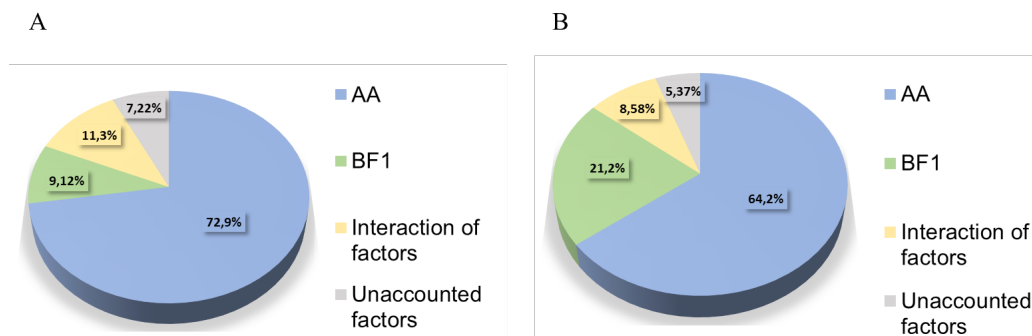


Fig. 3. Variance analysis of the effect of BF1 and ROS scavenger AA on the SOD (A) and CAT (B) activity in NK/Ly cells. $M \pm m$, $n=5$ (for each series of experiments)

It is known that SOD activity in non-Hodgkin lymphoma cells leads to the activation of a mitochondrial type of apoptosis [7]. That is why SOD and CAT, as key enzymes of antioxidant defense, can be targeted for anticancer drugs since changes in enzymatic activity will affect the level of primary and secondary lipid peroxidation products, which can be toxic to cancer cells.

It was previously established that under the action of BF1, the amount of hydrogen peroxide and superoxide radical in tumor cells increases [4]. It is also known that the cytotoxicity of the substance to tumor cells decreased when scavengers of ROS were added to the medium. In our study, we also observed a decrease in the effect of BF1 on the antioxidant enzymes of lymphoma cells. This indicates a dependence of the cytotoxic effect of BF1 on the presence of ROS in the cells. The results of this study also demonstrate that the activity levels of SOD and CAT differ significantly between cancerous and normal cells, potentially due to the low mitochondrial activity in cancer cells. The variance analysis of the effects of BF1 on SOD and CAT activities in the presence of ROS scavengers provided further insights. These findings suggest that BF1 exerts its cytotoxic effects through modulation of oxidative stress by increasing SOD activity and decreasing CAT activity, leading to an imbalance in ROS homeostasis. The presence of ROS scavengers like AA moderates these effects, indicating the potential therapeutic application of ROS modulation in cancer treatment. The low share of influence of unaccounted factors (<7.22 %) in the variance analysis confirms the significance of the observed effects of BF1 and ROS scavengers.

Overall, this study highlights the critical role of ROS in the cytotoxic mechanism of BF1 and underscores the potential for antioxidant enzymes as targets for cancer therapy. Further research is needed to elucidate the detailed molecular pathways involved and to explore the therapeutic implications of combining BF1 with ROS modulators in the treatment of lymphoma and other cancers.

REFERENCES

1. *Belenichiev I., Levitsky Y., Gubsky Y. et al. Antioxidant defense system // Modern Probl. Toxicol. 2002. Vol. 3. P. 21–31.*
2. *Bolann B. J., Tangerås A., Ulvik R. J. Determination of Manganese Superoxide Dismutase Activity By Direct Spectrophotometry // Free Radical Research. 1996. Vol. 25 (6). P. 541–546. <https://doi.org/10.3109/10715769609149075>*

3. *Grellet Bournonville C. F., Díaz-Ricci J. C.* Quantitative determination of superoxide in plant leaves using a modified NBT staining method // *Phytochemical Analysis*. 2011. Vol. 22 (3). P. 268–271. Portico. <https://doi.org/10.1002/pca.1275>
4. *Ilkiv M. V., Shalai Ya. R., Mitina N. E.* et al. Effect of a novel thiazole derivative and complex with polymeric carriers on the processes of lipid peroxidation in lymphoma cells // *Studia Biologica*. 2022. Vol. 16 (2). P. 19–28. [dx.doi.org/10.30970/sbi.1602.682](https://doi.org/10.30970/sbi.1602.682)
5. *Lowry Oliver H., Rosebrough, Nira J., Farr A. L., Randall Rose J.* Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193 (1). P. 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
6. *Ostapiuk Y. V., Obushak M. D., Matiychuk V. S.* et al. ChemInform Abstract: A Convenient Method for the Synthesis of 2-[(5-Benzyl-1,3-thiazol-1-yl)imino]-1,3-thiazolidin-4-one Derivatives // *ChemInform*. 2012. Vol. 43 (21). Portico. <https://doi.org/10.1002/chin.201221124>
7. *Wang Y.-H., Yang X.-L., Han X.* et al. Mimic of manganese superoxide dismutase to induce apoptosis of human non-Hodgkin lymphoma Raji cells through mitochondrial pathways // *Int. Immunopharmacol.* 2012. Vol. 14 (4). P. 620–628. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.09.019>
8. *Yang F., Teves S. S., Kemp C. J., Henikoff S.* Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* // *Reviews on Cancer*. 2014. Vol. 1845 (1). P. 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2013.12.002>

Стаття надійшла до редакції 18.06.24

доопрацьована 02.09.24

прийнята до друку 09.09.24

ВПЛИВ ПОХІДНОГО ТІАЗОЛУ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У КЛІТИНАХ МИШАЧОЇ ЛІМФОМИ

Я. Шалай¹, В. Коберенко¹, М. Ільків², Ю. Остап'юк¹, А. Бабський¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

²Львівський державний університет фізичної культури
імені Івана Боберського

вул. Костюшка, 11, Львів 79000, Україна

*e-mail: Yaryna.Shalay@lnu.edu.ua

Раніше було досліджено виражену цитотоксичну дію похідного тіазолу N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду (БФ1) на пухлинні клітини *in vitro*. Крім того, було встановлено, що перехоплювачі активних форм Оксигену (АФО), зокрема, аскорбінова кислота, суттєво знижують цитотоксичну дію БФ1. У цьому дослідженні було вивчено вплив БФ1 на активність супероксиддисмути та каталази у клітинах мишачої лімфоми Немета-Келнера (NK/Ly) без та за наявності аскорбінової кислоти в середовищі, щоб оцінити ймовірну роль ферментів антиоксидантної системи у механізмі дії речовини.

Експерименти проводили на нелінійних мишах-самцях вагою 20–30 г. Асцитну форму лімфоми прищеплювали внутрішньочеревним введенням мишам 10–15 мільйонів пухлинних клітин. Похідне тіазолу (БФ1) розчиняли в диметилсульфоксиді та додавали до досліджуваних зразків у кінцевих концентраціях 1; 10 і 50 мкМ. Концентрація аскорбінової кислоти становила 50 мкМ. Активність

супероксиддисмутази і каталази визначали спектрофотометрично в гомогенаті клітин лімфони після інкубації з препаратом протягом 30 хв.

Контрольний рівень активності супероксиддисмутази в лімфомі мишей становив $0,33 \pm 0,02$ од. активності/хв \times мг білка. Речовина БФ1 підвищувала активність ферменту на 35 % і 29 % у концентраціях 10 і 50 мкМ, відповідно. Контрольний рівень активності каталази становив $4,61 \pm 0,17$ нмоль H_2O_2 /хв \times мг білка і знижувався на 15 % та 20 % за дії досліджуваного похідного тіазолу в концентрації 10 і 50 мкМ, відповідно. Підвищення активності супероксиддисмутази за зниження або відсутності змін активності каталази може бути токсичним для ракових клітин. Водночас за додавання до середовища інкубації аскорбінової кислоти як перехоплювача АФО активність досліджуваних ферментів не змінювалася за дії БФ1 у жодній із досліджуваних концентрацій.

Отже, дія похідного тіазолу БФ1 нівелюється за наявності в середовищі інкубації перехоплювачів АФО. Це може вказувати на залежність цитотоксичної дії БФ1 від наявності АФО у пухлинних клітинах.

Ключові слова: пухлина, похідне тіазолу, антиоксидантні ферменти, перехоплювачі АФО

МЕТАБОЛІЧНИЙ СИНДРОМ: МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ

М. Нагалєвська, Н. Сибірна

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: mariia.nagaliavska@lnu.edu.ua*

Метаболічний синдром – це стан, якому властиві інсулінорезистентність і наявність двох із таких факторів ризику: ожиріння, гіперліпідемія (гіпертригліцеридемія, зниження вмісту холестеролу ліпопротеїнів високої щільності), гіпертонія або мікроальбумінурія. Багатофакторна природа метаболічного синдрому ускладнює створення адекватної експериментальної моделі, яка би найкраще представляла весь спектр патофізіології цього стану. Огляд має на меті узагальнити сучасні літературні дані щодо патофізіологічних механізмів виникнення метаболічного синдрому в контексті розвитку інсулінорезистентності, ожиріння, дисліпідемії, порушення толерантності до глюкози та запалення. Також у статті підсумовано сучасні підходи до індукції метаболічного синдрому у гризунів, серед яких найпоширенішими є маніпуляції з дієтою, генетичні модифікації та використання фармацевтичних препаратів. Як генетичні моделі метаболічного синдрому найчастіше використовують гризунів із дефіцитом лептину або рецептора до лептину, зокрема, лептин-дефіцитні миші (ob/ob), миші, дефіцитні за рецептором до лептину (db/db), щурі лінії Цукер з ожирінням (ZF), діабетичні щурі лінії Цукер з ожирінням (ZDF) та інші. До фармацевтичних препаратів, які можуть бути використані для індукції метаболічного синдрому, належать ендогенні глюкокортикоїди й антипсихотичні препарати. Цілу низку маніпуляцій з дієтою використовують для індукції метаболічного синдрому у лабораторних тварин. Зокрема, застосовують один тип дієти або комбінацію дієт, наприклад, дієти з високим вмістом фруктози, сахарози та жиру, або дієту з високим вмістом як фруктози, так і жирів, чи сахарози та жирів. Маніпуляції зі складом продуктів, які вживають піддослідні тварини, дають можливість змодельовати розвиток метаболічного синдрому, оскільки дієта впливає на метаболізм усього організму, метаболізм глюкози та шляхи ліпідного обміну, а також опосередковує розвиток резистентності до інсуліну.

Ключові слова: метаболічний синдром, дієта, тваринні моделі, інсулінорезистентність, дисліпідемія, запалення

Метаболічний синдром (MetS) – це кластер метаболічних аномалій, який включає гіпертонію, центральне ожиріння (відкладання жирової клітковини в абдомінальній ділянці), інсулінорезистентність і атерогенну дисліпідемію. MetS тісно асоційований з підвищеним ризиком розвитку серцево-судинних захворювань [5]. Останніми роками в усьому світі MetS набуває дедалі більшої актуальності, що обумовлено експоненціальним збільшенням кількості людей, які страждають на ожиріння. MetS страждає одна п'ята або й більше населення США та близько чверті населення Європи [19].

Концепція метаболічного синдрому існує щонайменше 80 років. Ця сукупність порушень обміну речовин, усіх факторів ризику розвитку серцево-судинних захворювань, вперше описана у 1920-х роках шведським лікарем Е. Кулін як стан зі сукупним перебігом гіпертонії, гіперглікемії та подагри. Пізніше, в 1947 р., J. Vague описав, що ожиріння верх-

ньої частини тіла (андроїдний, або чоловічий тип ожиріння) як загальний фенотип ожиріння пов'язане з порушеннями обміну речовин, що асоційоване з цукровим діабетом 2 типу і серцево-судинними захворюваннями [7].

Хоча концепція метаболічного синдрому була прийнята й активно обговорювалася дослідниками та клініцистами, лише в 1998 р. було висунуто ініціативу розробити визначення цього синдрому. Щоб досягнути певної уніфікації, а також забезпечити інструменти для клініцистів і дослідників, ВООЗ запропонувала набір критеріїв для діагностування MetS. Після цього Національна освітня програма з холестеролу: лікувальна панель III для дорослих (National Cholesterol Education Program's: Adult Treatment Panel III, NCEP: ATP III) та Європейська група з вивчення резистентності до інсуліну сформулювали визначення MetS. Ці визначення узгоджуються за важливими ключовими компонентами – порушення толерантності до глюкози, ожиріння, гіпертонічна хвороба і дисліпідемія, але відрізняються у деяких деталях та критеріях (табл. 1) [7].

Таблиця 1

Порівняння визначень метаболічного синдрому [7]

| | |
|---|---|
| ВООЗ, 1999 | Діабет / порушення глікемії натще / порушення толерантності до глюкози / інсулінорезистентність (гіперінсулінемія) Плюс 2 або більше з таких: Ожиріння: індекс маси тіла >30 або відношення об'єму талії до об'єму стегна >0,9 (чол.) або >0,85 (жін.) Дисліпідемія: тригліцериди $\geq 1,7$ ммоль/л або холестерол ліпопротеїнів високої щільності <0,9 (чол.) або <1,0 (жін.) ммоль/л Гіпертонія: артеріальний тиск >140 / 90 мм рт. ст. Мікроальбумінурія: екскреція альбуміну >20 мкг/хв |
| Європейська група з вивчення інсулінової резистентності, 1999 | Резистентність до інсуліну – гіперінсулінемія Плюс 2 або більше з таких: Ожиріння: окружність талії ≥ 94 см (чол.) або ≥ 80 см (жін.) Дисліпідемія: тригліцериди >2,0 ммоль/л або холестерол ліпопротеїнів високої щільності <1,0 ммоль/л Гіпертонія: артеріальний тиск $\geq 140 / 90$ мм рт. ст. Глюкоза плазми натще $\geq 6,1$ ммоль/л |
| ATP III, 2001 | 3 або більше з таких: Ожиріння: окружність талії >102 см (чол.), >88 см (жін.) Дисліпідемія: гіпертригліцеридемія: тригліцериди $\geq 1,7$ ммоль/л, холестерол ліпопротеїнів високої щільності: <1,0 ммоль/л (чол.), <1,3 ммоль/л (жін.) Гіпертонія: артеріальний тиск $\geq 135 / 85$ мм рт. ст. Глюкоза плазми натще $\geq 6,1$ ммоль/л |

Цілу низку додаткових діагностичних критеріїв MetS, які можна використати у клінічній практиці, було запропоновано такими дослідницькими групами: Американська асоціація ендокринологів (American Association of Endocrinologists – AACE), Європейська група з вивчення інсулінової резистентності (European Group for the Study of Insulin Resistance – EGIR), Американська Асоціація Серця / Національний Інститут Серця, Легенів та Крові (American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute - AHA / NHLBI), Турецька асоціація ендокринології і метаболізму (Turkish Association of Endocrinology and Metabolism – TEMD) та ін. [2, 3].

Проте найбільшого поширення набуло визначення ВООЗ, згідно з яким MetS – це стан, що характеризується інсулінорезистентністю (зростання концентрації глюкози натще, порушення толерантності до глюкози або цукровий діабет 2 типу) та наявністю двох із таких факторів ризику: ожиріння (відношення талія/стегно або індекс маси тіла),

дисліпідемія (гіпертригліцеридемія, зниження вмісту холестеролу ліпопротеїнів високої щільності), гіпертонія або мікроальбумінурія [22].

Патофізіологічні механізми розвитку метаболічного синдрому

Механізми розвитку MetS є складними і залишаються не повністю з'ясованими. На сьогодні все ще відкрите питання про те, чи ключові порушення метаболізму за MetS є окремими патологіями, чи всі вони разом є проявами загального патологічного механізму. Незважаючи на велику увагу до визначення різних аспектів розвитку MetS, до теперішнього часу остаточно не вирішено проблему його патогенетичної основи.

Географічна поширеність цього захворювання, а також тенденція до збільшення кількості хворих на метаболічний синдром у країнах, що розвиваються, підкреслюють важливість впливу якості життя на розвиток цього патологічного стану. Припускають, що такі фактори, як споживання надмірних калорій і відсутність фізичної активності є основними причинами виникнення метаболічного синдрому. Продемонстровано, що інсулінорезистентність і вісцеральне ожиріння є основними тригерами більшості патологічних шляхів, залучених у розвиток MetS [22].

Найбільш прийнятна й уніфікована гіпотеза, яку на сьогодні пропонують для опису патофізіології метаболічного синдрому, – *інсулінорезистентність*. Традиційно визначення інсулінорезистентності дають із глюкозоцентричної точки зору, тобто в результаті дефекту функціонування інсуліну натще виникає гіперінсулінемія, спрямована на підтримку еуглікемії. Проте поруч із розвитком гіперінсулінемії спостерігають ще й постпрандіальну гіперінсулінемію.

Основний внесок у розвиток інсулінорезистентності робить надлишок циркулюючих жирних кислот. У кров жирні кислоти, де вони зв'язані з альбуміном, надходять, головним чином, з тригліцеридів жирової тканини під контролем гормоночутливого цАМФ-залежного ферменту ліпази. Джерелом жирних кислот також може бути активація ліполізу, за рахунок функціонування ліпопротеїнової ліпази у багатих на тригліцериди тканинах. Інсулін важливий як для антиліполізу, так і для стимуляції ліпопротеїнової ліпази. Варто наголосити, що найчутливішим шляхом дії інсуліну є інгібування ліполізу в жировій тканині. Таким чином, коли розвивається інсулінова резистентність, відбувається посилення ліполізу тригліцеридів жирової тканини, з відповідним продукуванням більшої кількості жирних кислот, які також можуть додатково пригнічувати антиліполітичну дію інсуліну, з подальшим посиленням ліполізу.

У чутливих до інсуліну тканинах надлишкова кількість жирних кислот зумовлює розвиток резистентності до інсуліну шляхом появи додаткового метаболічного субстрату і зміни внутрішньоклітинного сигналювання. У м'язових клітинах жирні кислоти порушують активацію протеїнкінази С- λ і протеїнкінази С- ζ [13]. Крім того, утворення надлишку ацил-КоА або похідних ацил-КоА, таких як церамід, може зумовлювати пригнічення активації Akt1 [6]. У сукупності ці зміни призводять до зниження поглинання глюкози м'язовими клітинами [22]. У печінці щурів, які перебували на дієті з високим вмістом жирів, інсулінова резистентність може бути зумовлена дефектом інсуліностимульованого субстрату інсулінового рецептора-1 і фосфорилуванням тирозину субстрату інсулінового рецептора-2. Ці порушення призводять до активації протеїнкінази С- ϵ і c-Jun N-термінальної кінази-1 [12, 23]. Посилення активації протеїнкіназ у печінці призводить до активації глюконеогенезу та ліпогенезу. Вільні жирні кислоти також є ліпотоксичними щодо бета-клітин підшлункової залози, зумовлюючи зниження секреції інсуліну [22]. У сумі всі ці зміни призводять до виникнення гіперінсулінемічного стану, спрямованого на підтримання

еуглікемії. Зрештою, компенсаторний механізм вичерпує свій потенціал, що призводить до зниження секреції інсуліну.

Аналіз патологічних змін у людей з ожирінням та/або цукровим діабетом 2 типу, зі встановленою резистентністю до інсуліну, а також у людей похилого віку, виявив дефекти у мітохондріальному окисному фосфорилуванні, що призводить до накопичення тригліцеридів та інших ліпідів у м'язах. Більш того, на мишах з ожирінням було встановлено, що ендоплазматичний ретикулум може бути залучений у розвиток інсулінорезистентності. Так, у мишей, дефіцитних по ХВР1 (X-box binding protein 1) ендоплазматичного ретикулуму, встановлено гіперактивацію c-Jun N-термінальної кінази-1, посилення фосфорилування серину субстрату інсулінового рецептора-1 і, відповідно, резистентність до інсуліну [20]. Ці біохімічні зміни, що відбуваються в інсулін-опосередкованих сигнальних шляхах, призводять до пригнічення транспорту глюкози і порушення метаболізму за MetS [7].

Значна частина фахівців вважає, що головна причина розвитку MetS – *ожиріння*. Хоча перший опис метаболічного синдрому датується початком ХХ ст., епідемія ожиріння у всьому світі стала найважливішою рушійною силою в поширенні цього синдрому [7]. Між ризиком розвитку MetS і поширеністю ожиріння є чіткий кореляційний зв'язок: зростання індексу маси тіла до 35 кг/м² підвищує ризик MetS у 42 рази в чоловіків і у 92 рази – в жінок. Жировій тканині властива виражена ендокринна активність, і адипокіни, які вона продукує, залучені у всі процеси, котрі формують основні компоненти синдрому [1]. Незважаючи на важливість ожиріння в розвитку MetS, варто наголосити, що у людей із вагою тіла у межах норми також може розвиватись інсулінорезистентність.

Особлива роль у розвитку MetS належить вісцеральному ожирінню та накопиченню жирових клітин у ектопічних зонах: інтраперикардіально, навколо судин, у печінці та скелетних м'язах [1]. Збільшення маси інтраабдомінальної або вісцеральної жирової тканини призводить до зростання швидкості потоку вільних жирних кислот із жирової тканини до печінки за рахунок інтенсифікації їхньої вісцеральної циркуляції. Водночас збільшення кількості підшкірного абдомінального жиру призводить до посиленого вивільнення продуктів ліполізу в системний кровообіг, таким чином уникається прямий вплив на їхній метаболізм у печінці (тобто на продукцію глюкози, синтез ліпідів і секрецію протромботичних білків, таких як фібриноген та інгібітор активатора плазміногену 1).

Незважаючи на ці потенційні відмінності в механізмах впливу різної за локалізацією жирової тканини на розвиток MetS, під час встановлення клінічного діагнозу цієї патології найчастіше різницю впливу підшкірного та вісцерального жиру не враховують [7].

Адипоцити вісцеральної жирової тканини мають підвищену ліполітичну здатність, унаслідок чого масивний потік вільних жирних кислот і адипокінів через порталну систему потрапляє у печінку з подальшим розвитком інсулінорезистентності й дисліпідемії [1]. Збільшення рівня вільних жирних кислот призводить до посилення синтезу тригліцеридів і утворення аполіпротеїн-В-вмісних, багатих на тригліцериди ліпопротеїнів дуже низької щільності в печінці. Збільшення вмісту холестеролу ліпопротеїнів низької щільності та зниження холестеролу ліпопротеїнів високої щільності – це непрямі ефекти інсулінорезистентності, викликані порушенням ліпідного обміну в печінці [22].

За умов вираженої гіпертрофії вісцеральної жирової тканини спостерігають її інфільтрацію макрофагами, що супроводжується підвищеним виділенням прозапальних цитокінів.

Контроль цих процесів у нормі відбувається завдяки рецептору активації проліферації пероксисом γ (PPRA- γ), який міститься, головним чином, у жировій тканині

та регулює проліферацію і диференціацію адипоцитів, виступаючи основним чинником розвитку їхньої гіперплазії та гіпертрофії. Крім того, в абдомінальному жировому депо утворюється значно менше адипонектину – природного регулятора ожиріння та чутливості до інсуліну [1].

Вісцеральна жирова тканина також є метаболічно активнішою і синтезує більш високі концентрації біоактивних секреторних білків, наприклад, інгібітор активатора плазміногену, який сприяє розвитку протромботичного стану, і HBEGF (heparin binding epidermal growth factor like growth factor) фактор росту, який сприяє проліферації гладеньких м'язових клітин і ремоделюванню судин [22].

Деякі експериментальні й епідеміологічні дослідження вказують на генетичну основу розвитку синдрому, серед яких одиничні дефекти генів рецептора активації проліферації пероксисом γ , ламіну A/C, 1-ацилгліцерол-3-фосфату, O-ацилтрансферази, сейпіну, β 2-адренергічного рецептора й адипонектину [10].

Абдомінальне ожиріння пов'язане з розвитком *дисліпідемії*, що супроводжується зростанням концентрації атерогенних ліпопротеїнів із великою молекулярною масою, які призводять до підвищення в'язкості крові та зумовлюють зростання артеріального тиску. В умовах гіперінсулінемії та зниження чутливості до інсуліну в жировій тканині, особливо у вісцеральній, відбувається посилення ліполізу та збільшення надходження вільних жирних кислот у печінку, що веде до збільшення продукції холестеролу ліпопротеїнів низької щільності, гіпертригліцеридемії та зниження вмісту холестеролу ліпопротеїнів високої щільності.

Посилене надходження вільних жирних кислот із периферії до печінки в умовах інсулінорезистентності стимулює печінковий синтез тригліцеридів, що, у свою чергу, призводить до збирання та секреції тригліцеридвмісних ліпопротеїнів дуже низької щільності й посилення продукції аполіпопротеїну-V (apo-V) білка в печінці. У людини за нормоліпідемічних умов на секрецію ліпопротеїнів дуже низької щільності впливає доступність тригліцеридів і холестеролу, а останні дослідження свідчать про зв'язок між синтезом холестеролу й утворенням дрібних часток ліпопротеїнів дуже низької щільності. При цьому інсулін пригнічує утворення великих часток ліпопротеїнів дуже низької щільності. За умов резистентності до інсуліну висока концентрація цього гормону робить печінку стійкою до інгібуючого впливу інсуліну на секрецію ліпопротеїнів дуже низької щільності [14].

Інсулін також має ліпогенні властивості, зумовлюючи посилення транскрипції багатьох генів і активності ферментів, які беруть участь у біосинтезі тригліцеридів [8]. Крім цього, розвиток резистентності до інсуліну може зумовлювати зниження вмісту ліпопротеїнліпаз у периферичних тканинах. Зміна вмісту ліпопротеїнліпаз також робить внесок у розвиток гіпертригліцеридемії, хоч і менш вагомий порівняно з надпродукцією ліпопротеїнів дуже низької щільності. Гіпертригліцеридемія є чітким відображенням розвитку резистентності до інсуліну й одним із важливих критеріїв діагностики метаболічного синдрому.

Важливим проявом дисліпідемії за метаболічного синдрому є зниження вмісту холестеролу ліпопротеїнів високої щільності, що обумовлено змінами у складі й метаболізмі ліпопротеїнів низької щільності. За гіпертригліцеридемії зменшення вмісту холестеролу ліпопротеїнів дуже високої щільності виникає внаслідок зниження концентрації ефіру холестеролу та збільшення вмісту тригліцеридів у внутрішньому ядрі ліпопротеїну. Такий перерозподіл ліпідів робить ліпідні частки малими і щільними та супроводжується

відповідним порушенням транспортування ефірів холестеролу. Зміна ліпопротеїнової композиції також призводить до збільшення кліренсу ліпопротеїнів високої щільності з циркуляції. Припускають, що такі зміни вмісту ліпопротеїнів високої щільності, ймовірно, не є прямим наслідком розвитку інсулінорезистентності, а виникають унаслідок змін метаболізму багатих на тригліцериди ліпопротеїнів.

За інсулінорезистентності рівень ліпопротеїнів низької щільності зазвичай перебуває у межах нормальних значень, проте їхній компонентний склад модифікується аналогічним до ліпопротеїнів високої щільності чином [14]. Такі зміни ліпопротеїнів низької щільності пояснюють відносним виснаженням вмісту неетерифікованого й етерифікованого холестеролу і фосфоліпідів, при цьому концентрація тригліцеридів ліпопротеїнів низької щільності залишається на сталому рівні або зростає [15]. Малі щільні ліпопротеїни низької щільності є більш атерогенними, порівняно з більшими, немодифікованими ліпопротеїнами низької щільності. Це зумовлено їхньою вищою токсичністю щодо ендотелію та кращою здатністю до транзиту крізь ендотеліальну базальну мембрану, а також ці ліпопротеїни добре прикріплюються до глікозаміногліканів. Крім цього, модифіковані ліпопротеїни низької щільності більше схильні до окиснення та / або більш селективно зв'язуються з фагоцитарними рецепторами на макрофагах. Таким чином, змінені за композиційним складом ліпопротеїни є факторами ризику розвитку серцево-судинних захворювань [7].

Ще одним критерієм розвитку MetS є *порушення толерантності до глюкози*. Дефектне функціонування інсуліну щодо метаболізму глюкози зумовлює пригнічення здатності гормону до інгібування синтезу глюкози печінкою та нирками, а також пригнічення опосередкованого інсуліном поглинання і метаболізму глюкози в інсуліночутливих тканинах (м'язовій і жировій тканині). Для компенсації такого стану та підтримки еуглікемії необхідною є реалізація певних модифікацій у секреції та / або кліренсі інсуліну. Якщо такі компенсаторні механізми вичерпують свій потенціал, розвивається резистентність до інсуліну та порушується його секреція.

Інсулінова резистентність у β -клітинах острівців підшлункової залози зумовлює пригнічення внутрішньоклітинних сигнальних мереж, що опосередковують глюкозозалежну секрецію інсуліну. Встановлено, що основними речовинами, які можуть зумовлювати розвиток такого стану, є вільні жирні кислоти. У фізіологічно нормальних концентраціях вільні жирні кислоти можуть стимулювати секрецію інсуліну, проте збільшена та пролонгована експозиція високих концентрацій жирних кислот призводить до пригнічення секреції інсуліну [7].

Очевидно, що порушення функцій β -клітин за умов хронічної гіперліпідемії обумовлена ліпотоксичністю. Механізми, які опосередковують ці зміни, залишаються остаточно не з'ясованими, але є численні гіпотези, що продовжують вивчатися. Зокрема, припускають, що може відбуватися активація циклу Рендла (цикл глюкози-жирних кислот, метаболічний процес залучений у конкуренцію глюкози та жирних кислот за субстрати) або можуть виникати дефекти у функціонуванні критичних ферментів (гормоночутлива ліпаза, карнітинпальмітоїл трансфераза 1 і ацил-КоА карбоксилаза). Рецептор, що активується проліфераторами пероксисом (PPAR), і мітохондріальний білок UCP2 (Uncoupling protein 2) можуть здійснювати негативний вплив на β -клітини, аналогічним чином, як і підвищений вміст тригліцеридів у острівцевих клітинах, що, можливо, призводить до їхнього апоптозу. Крім того, інгібування експресії генів інсуліну за рахунок підвищеного вмісту вільних жирних кислот також робить вагомий внесок у розвиток метаболічного синдрому, опосередкованого інсулінорезистентністю. Однак на сьогодні переважає

думка, що ці фактори не є взаємовиключними і що деякі або всі вищезгадані механізми реалізуються одночасно та призводять до порушення секреції інсуліну [26].

Добре встановленим є факт взаємозв'язку між резистентністю до інсуліну та гіпертонією, і це обумовлено кількома механізмами. Важливо зазначити, що інсулін є вазодилататором під час внутрішньовенного введення людям з нормальною масою тіла, крім цього, він опосередковано впливає на реабсорбцію натрію в нирках. За умов інсулінорезистентності вазодилатуючий ефект інсуліну втрачається, але вплив на реабсорбцію натрію у нирках зберігається. Жирні кислоти, кількість яких зростає за умов інсулінорезистентності, також можуть опосередковувати відносну вазоконстрикцію. Інсулін також підвищує активність симпатичної нервової системи [7]. Інсулінорезистентність викликає збільшення в'язкості сироватки, індукцію протромботичного стану і вивільнення прозапальних цитокінів із жирової тканини, що підвищує ризик розвитку серцево-судинних захворювань [22].

Активация різних проатерогенних шляхів за MetS завершується спільним шляхом запалення, що врешті призводить до клінічних проявів цього патологічного стану. Підвищення рівня вільних жирних кислот у крові провокує розвиток системного запалення. Запалення відіграє важливу роль у патогенезі серцево-судинних захворювань, а рівень цілої низки прозапальних маркерів підвищується у пацієнтів з MetS. На сьогодні залишається нез'ясованим, чи зростання рівня прозапальних маркерів відбувається внаслідок розвитку MetS, чи вони надпродуковуються вже під час маніфестації захворювання [22].

Зокрема, за MetS встановлено збільшення вмісту таких прозапальних цитокінів, як інтерлейкіни, резистин, фактор некрозу пухлин (TNF) і С-реактивний білок [7].

Макрофаги жирової тканини секретують фактор некрозу пухлини альфа (TNF- α), і його утворення зростає зі збільшенням маси жирової тканини. Надлишок вільних жирних кислот здатний активувати макрофаги й адипоцити через toll-like рецептори (TLR4), що супроводжується зростанням синтезу в них TNF- α , який реалізує свій вплив опосередковано через активацію ядерного фактора κ B з подальшою експресією генів, відповідальних за розвиток запалення. TNF- α пригнічує експонування GLUT-4 транспортера глюкози на мембрані інсулінозалежних клітин, що є головною причиною розвитку їхньої інсулінорезистентності [1]. TNF- α зумовлює фосфорилування й інактивацію інсулінових рецепторів як у клітинах жирової тканини, так і в клітинах гладеньких м'язів. У цих клітинах TNF- α індукує ліполіз із подальшим зростанням вмісту вільних жирних кислот, які інгібують вивільнення адипонектину [22]. Адипонектин – це протизапальний цитокін, що продукується виключно адипоцитами. Адипонектин підвищує чутливість до інсуліну і пригнічує багато етапів запального процесу. У печінці адипонектин пригнічує експресію ферментів глюконеогенезу і швидкість утворення ендогенної глюкози. У м'язах він збільшує транспорт глюкози та посилює окиснення жирних кислот, ефекти, які частково обумовлені активацією AMP-кінази [7]. TNF- α також є потужним індуктором синтезу основного прозапального цитокіну – інтерлейкіну 6 (IL-6) [1]. IL-6 є цитокіном, що синтезується адипоцитами й імунними клітинами та опосередковує складні регуляторні механізми. Синтез IL-6 зростає зі збільшенням об'єму жирової тканини та з посиленням інсулінорезистентності [22]. IL-6 порушує дію інсуліну в жировій тканині, знижуючи здатність адипоцитів захоплювати й депонувати жирні кислоти і, навпаки, сприяє ліполізу та вивільненню вільних жирних кислот у циркуляцію [1]. Цей цитокін, впливаючи на печінку, кістковий мозок і ендотелій, зумовлює збільшення кількості білків гострої фази запалення в печінці, до головних із яких належить С-реактивний білок. Також IL-6 індукує

підвищення рівня фібриногену, що призводить до розвитку протромботичного стану. IL-6 також сприяє експресії молекул адгезії ендотеліальних клітин і активації локальних RAS шляхів [22].

У тканинах печінки TNF- α та IL-6 активують ліпогенез і блокують окиснення вільних жирних кислот. У результаті посилюється продукція білка apo-B і секреція ліпопротеїнів дуже низької щільності. Паралельно з цим TNF- α та IL-6 пригнічують активність ліпопротеїнової ліпази, затримують катаболізм хіломікронів і ліпопротеїнів дуже низької щільності, що призводить до розвитку значної гіпертригліцеридемії [1].

Отже, за надмірного накопичення жирової тканини відбувається її посилені інфільтрація макрофагами, які, своєю чергою, спричинюють хронічну активацію імунної системи шляхом продукції прозапальних сполук, таких як TNF- α , IL-6, індуцибельна синтаза оксиду нітрогену та C-реактивний білок, що зумовлюють розвиток інсулінорезистентності, як безпосередньо, так і через порушення обміну ліпідів і ліпопротеїнів з розвитком вираженої дисліпідемії, зокрема, гіпертригліцеридемії [1]. Крім того, в гіпертрофованих адипоцитах, переважаних тригліцеридами, активується мембранна НАДФ-оксидаза і внаслідок цього посилюється продукція активних форм оксигену. Підвищення концентрації вільних радикалів оксигену активує ядерний фактор κB (NF- κB) у макрофагах, який індукуює активацію більше 400 генів, відповідальних за розвиток запальної відповіді, з подальшим розвитком інсулінорезистентності й додатковою активацією ліполізу [11].

Відкриття ендокринних та імунних властивостей адипоцитів дало змогу зрозуміти механістичний характер розвитку MetS. Адипокіни, що вивільнюються з висцеральної жирової тканини, безпосередньо пов'язані з розвитком MetS і з розвитком серцево-судинних захворювань. Лептин є адипокіном, який контролює енергетичний гомеостаз, опосередкований гіпоталамусом, і стимулює активацію імунних клітин. За умов ожиріння збільшується рівень лептину, і його високі концентрації безпосередньо корелюють з підвищеним ризиком розвитку серцево-судинних захворювань. Адипонектин є протизапальним і антиатерогенним адипокіном, а його ефекти частково протилежні до ефектів лептину. Збільшення маси жирової тканини корелює зі зниженням рівня адипонектину і зі зростанням рівня лептину, що врешті призводить до підвищеного ризику розвитку серцево-судинних захворювань.

Активация ренін-ангіотензинової системи також слугує важливим нейрогуморальним шляхом, який опосередковує розвиток MetS [24]. Ангіотензин II (Ang II) утворюється в результаті активації ангіотензин-перетворюючого ферменту в жировій тканині. Ожиріння і резистентність до інсуліну корелюють з підвищеним рівнем Ang II. Ang II через активацію рецептора типу 1 активує нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат оксидази, що призводить до генерування активних форм оксигену (ROS). Зростання рівня ROS провокує цілу низку ефектів, серед яких окиснення ліпопротеїнів низької щільності, пошкодження ендотелію, посилення агрегації тромбоцитів, посилення експресії NF- κB , і LOX-1 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1) на ендотелії та клітинах гладеньких м'язів судин. ROS і LOX-1 мають зворотний зв'язок, який ініціює порочне коло запалення, ендотеліального ушкодження і проліферації фібробластів, що сприяє розвитку гіпертензії, дисліпідемії, діабету й серцево-судинних захворювань [18, 22].

Тваринні моделі метаболічного синдрому

Зростаюча кількість людей, що страждають на MetS, потребує пошуків ефективної профілактики і лікування цього патологічного стану. Багатофакторна природа MetS ускладнює створення адекватної експериментальної моделі, яка би найкраще представляла

весь спектр патофізіології цього стану. Щурі та миші є найпоширенішими модельними тваринами, яких використовують у дослідженні MetS. На сьогодні є кілька підходів для індукції MetS у гризунів, серед яких насамперед варто назвати маніпуляції з дієтою, генетичні модифікації та використання фармацевтичних препаратів.

Генетичні моделі MetS. Ці тваринні моделі часто використовують для дослідження патогенезу MetS, спричиненого генетичними факторами. Використання таких модельних об'єктів забезпечує економію часу, оскільки тривалість розвитку MetS у них значно коротша порівняно з MetS, викликаним модифікаціями дієти. Такими модельними об'єктами є гризуни з дефіцитом лептину або рецептора до лептину. Часто такі моделі також використовують для дослідження генетичного ожиріння і цукрового діабету. Найчастіше як генетичні моделі MetS застосовують лептин-дефіцитних мишей (ob/ob), мишей, дефіцитних за рецептором до лептину (db/db), щурів лінії Цукер з ожирінням (ZF), діабетичних щурів лінії Цукер з ожирінням (ZDF), DahlS.Z-Leprfa / Leprfa (DS/ожиріння) щурів, щурів Goto-Kakizaki (GK), щурів з ожирінням, що страждають на спонтанну гіпертонію (Koletsky), та мишей POUND (C57BL/6NCrl-Leprdb-lb/Crl).

Лептин є гормоном антиожиріння, функція якого реалізується за рахунок його зв'язування з рецептором до лептину. Він секретується зрілими адипоцитами пропорційно до маси жирових депо. Циркулюючий лептин надходить у гіпоталамус і стимулює сигнали, спрямовані на зниження апетиту, споживання їжі та збільшення енергетичних витрат. Таким чином, виникнення ожиріння в цих моделях в основному обумовлено аномаліями сигналювання за участі лептину, що призводить до гіперфагії (нестримного бажання споживати їжу), неконтрольованого апетиту і зменшення енергетичних витрат. Усі генетичні моделі, в яких порушений синтез лептину, чи сигналювання за його участі є хорошими моделями MetS, оскільки у них виникають усі ознаки MetS [23].

Використання фармацевтичних препаратів для індукції MetS. Одними з фармацевтичних препаратів, що можуть бути використані для індукції метаболічного синдрому, є ендогенні глюкокортикоїди. Це природні гормони стресу, що виділяються наднирниками. Глюкокортикоїди зв'язуються з відповідними рецепторами (рецептори до глюкокортикоїдів і мінералокортикоїдів) та реалізують свій ефект на різні тканини. Крім цього, екзогенні глюкокортикоїди використовують у лікуванні широкого спектру хвороб людини, серед яких аутоімунні й онкологічні захворювання. Їх також застосовують, щоб запобігти відторгненню трансплантованих органів. Поряд із цим, глюкокортикоїди індукують небажані побічні ефекти: збільшення маси тіла, непереносимість глюкози, порушення гомеостазу кальцію, остеопороз, катаракту і системні порушення з боку центральної нервової системи.

Глюкокортикоїди викликають MetS, впливаючи безпосередньо на різні тканини й органи (жирову тканину, печінку, м'язи та нирки). Розвиток патології опосередковує кілька механізмів: (1) глюкокортикоїди стимулюють диференціювання пре-адипоцитів у зрілі адипоцити; (2) глюкокортикоїди посилюють ліполіз із вивільнення вільних жирних кислот; (3) глюкокортикоїди посилюють протеоліз у м'язових клітинах, що супроводжується зростанням кількості вільних амінокислот, які активують mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex-1), що зумовлює фосфорилування субстрату інсулінового рецептора-1 (IRS-1) з подальшим виникненням інсулінорезистентності; (4) глюкокортикоїди посилюють глюконеогенез у печінці й викликають гіперглікемію; (5) неспецифічне зв'язування глюкокортикоїдів із рецепторами в нирках посилює затримку натрію та екскрецію калію, затримку води і, відповідно, зростання об'єму плазми з підвищенням артеріального тиску.

Для індукції глюкокортикоїдами MetS у лабораторних тварин використовують кілька різних підходів, таких як їхнє пероральне введення, щоденні внутрішньочеревні ін'єкції або хірургічно імплантовані глюкокортикоїдні гранули. Усі ці способи введення глюкокортикоїдів зумовлюють подібні ефекти. Зростання рівня кортикостерону зумовлює посилене споживання їжі, збільшення ваги, абдомінальне накопичення жиру, сильну гіперглікемію натще, резистентність до інсуліну, порушення толерантності до глюкози, гіпертензію, дисліпідемію, а також відкладання ліпідів у вісцеральній жировій тканині, тканинах печінки та скелетних м'язів у тварин [4, 23].

До фармацевтичних препаратів, що зумовлюють розвиток метаболічного синдрому, також належать антипсихотичні препарати, тобто речовини, які застосовують у лікуванні нейропсихіатричних розладів, наприклад, шизофренії, депресії та біполярного розладу. Застосування антипсихотичних препаратів часто супроводжується розвитком MetS, на що вказує зростання маси тіла, збільшення кількості вісцерального жиру, порушення толерантності до глюкози й інсулінорезистентність. Однак точний механізм, що лежить в основі таких порушень метаболічних шляхів, усе ще залишається нез'ясованим. Припускають, що зростання маси тіла, викликане антипсихотичним лікуванням, сприяє розвитку діабету і дисліпідемії. Останніми дослідженнями встановлено, що застосування препарату другого покоління оланзапіну зумовлює у щурів і мишей збільшення маси тіла, зростання вмісту вільних жирних кислот у плазмі, інфільтрацію макрофагів у жирову тканину і відкладення вісцерального жиру [23].

Часто для індукції MetS на тваринних об'єктах поєднують використання генетично модифікованих тварин із введенням їм фармацевтичних препаратів. Зокрема, було показано, що введення глутамату натрію щурам зі спонтанною гіпертензією (spontaneously hypertensive rat – SHR) у неонатальному періоді зумовлює поступове ожиріння тіла та зростання рівня тригліцеридів. Крім розвитку резистентності до інсуліну, така модель характеризується низьким рівнем холестеролу ліпопротеїнів високої щільності й посиленням процесу запалення (високими концентраціями С-реактивного білка, ІЛ-6, фактора TNF- α та низьким рівнем адипонектину). Тварини з модельованим таким чином метаболічним синдромом мають підвищений систолічний артеріальний тиск. Поєднання гіпертензії з індукованим глутаматом натрію ожирінням призводить до порушення нервової регуляції функціонування серцево-судинної системи. Активація симпатичної нервової системи відіграє важливу роль у патогенезі резистентності до інсуліну й активації ренін-ангіотензинової системи. Усі ці зміни зрештою призводять до дисфункції вегетативної регуляції функціонування серцево-судинної системи за MetS [16].

Дієто-індукований метаболічний синдром. Дієта відіграє важливу роль у рості й розвитку, але склад харчування суттєво впливає на нормальне функціонування організму. Сучасна дієта, особливо в західних країнах, багата на вуглеводи, такі як фруктоза і сахароза, а також на насичені жирні кислоти. Через надмірне споживання калорій зростає кількість людей, що страждають на метаболічний синдром і серцево-судинні захворювання [21].

Така особливість впливу дієти на розвиток метаболічного синдрому становить основу наступного принципу моделювання цього патологічного стану. Ціла низка маніпуляцій з дієтою здатна індукувати MetS у лабораторних тварин. Зокрема, можна застосувати один тип дієти або комбінацію дієт, наприклад, дієти з високим вмістом фруктози, сахарози та жиру, або дієту з високим вмістом як фруктози, так і жирів, чи сахарози та жирів. Маніпуляції зі складом продуктів, які вживають піддослідні тварини, допомагають змодельовати розвиток MetS, оскільки дієта впливає на метаболізм усього організму, здійснює регуляторний вплив на гормони, метаболізм глюкози та шляхи ліпідного обміну.

Збагачена на вуглеводи дієта. Вуглеводний обмін починається з їхнього перетравлення у шлунково-кишковому тракті з вивільненням молекул глюкози та їхнім поглинанням у кров і транспортуванням у печінку через ворітну вену. Якщо надходження вуглеводів сильно перевищує добову потребу в енергії, то концентрація глюкози в крові залишається високою, а інсулін підшлункова залоза виділяє для компенсації цього надлишку. На цьому етапі для утилізації глюкози залучені такі механізми: (а) розпад глюкози у процесі гліколізу, (б) перетворення глюкози на глікоген у печінці та м'язах, (в) індукція синтезу жирних кислот і пригнічення інсуліном виділення доступних жирних кислот із жирової тканини. Тривале надмірне споживання вуглеводів зумовлює постійно високий рівень глюкози у крові. За таких умов інсулін утворюється у пропорційно високих концентраціях, а дієтичні вуглеводи перетворюються на жири і накопичуються. Усе це супроводжується зниженням чутливості до інсуліну.

Часто для індукції MetS у лабораторних тварин використовують *фруктозу*. Фруктоза стала важливим і поширеним інгредієнтом у харчових продуктах. Разом зі збільшенням споживання фруктози протягом останніх 50 років було встановлено пропорційне збільшення захворюваності на ожиріння. Основними джерелами фруктози в раціоні є сахароза, кукурудзяний сироп із високим вмістом фруктози, фрукти і мед [21]. Крім цього, тепер фруктозу часто застосовують як підсилювач смаку, оскільки її наявність робить їжу більш апетитною, а отже, продукти з фруктозою люди споживають у великій кількості. Вживання фруктози з продуктами харчування, з біологічної точки зору, не має сенсу, оскільки вона є лише проміжною молекулою метаболізму глюкози. Циркулююча концентрація фруктози (~ 0,01 ммоль / л) у периферичній крові є набагато нижчою порівняно з глюкозою (~ 5,5 ммоль / л).

Надмірне споживання фруктози призводить до посиленого її поглинання клітинами печінки. У цих клітинах фруктоза перетворюється на фруктозо-1-фосфат у реакції, що каталізується ферментом фруктокіназою за наявності АТФ. На наступному етапі відбувається розщеплення фруктозо-1-фосфату на гліцеральдегід і дигідроксіацетонфосфат. Розщеплення фруктози до двох тріоз відбувається без перетворення глюкози на фруктозу-1,6-бісфосфат на початкових регуляторних етапах гліколізу. Такий обхід регуляторних етапів гліколізу дає фруктозі змогу надходити у гліколітичний шлях безперервно. Вся фруктоза, що надходить у клітину, швидко метаболізується до ацетил-КоА. Коли клітина достатньо забезпечена енергією, ацетил-КоА не надходить у цикл трикарбонних кислот, а використовується для синтезу жирних кислот [2, 17].

На цьому етапі фруктоза бере участь у кількох одночасних процесах: (а) частина фруктози перетворюється на лактат із пірувату, (б) інша частина фруктози є джерелом тріозофосфатів, які легко перетворюються на глюкозу або глікоген у процесі глюконеогенезу, (в) вуглецеві атоми фруктози можуть бути використані для синтезу жирних кислот, (г) інгібування окиснення ліпідів печінки за умов високої концентрації фруктози сприяє синтезові ліпопротеїнів дуже низької щільності й тригліцеридів і переестерифікації жирних кислот.

У лабораторних тварин встановлено незаперечну кореляцію між споживанням високофруктозної дієти і підвищеним енергоспоживанням, зростанням маси тіла, ожирінням, гіпертригліцеридемією, дисліпідемією, гіпертонією, порушенням толерантності до глюкози і зниженням чутливості до інсуліну [23].

Модельовання MetS надмірним споживанням фруктози у мишей призводить до посиленого функціонування симпатичної нервової системи з відповідним впливом на

серцево-судинну систему [16]. Надмірне споживання фруктози зумовлює гіпертрофію шлуночків, пригнічення скорочувальної функції шлуночків, ожиріння серця та стеатоз печінки з одночасною інфільтрацією цих тканин клітинами запалення. Фруктоза у лабораторних щурів викликає пошкодження ниркових канальців, відкладання колагену в інтерстиціальній тканині, підвищення інфільтрації макрофагів, що супроводжується проліферацією та гіперплазією ниркових проксимальних канальців. Також у тварин, що споживали надмірну кількість фруктози, встановлено резистентність до лептину, зростання у плазмі концентрації тригліцеридів без змін у вмісті холестеролу в плазмі [21].

У клітинах тонкого кишечника та печінки фруктокіназа каталізує реакцію фосфорилювання фруктози по першому атому карбону з утворенням фруктозо-1-фосфату. Активність фруктокінази не регулюється за механізмом негативного зворотного зв'язку і як наслідок за надлишку фруктози пул АТФ виснажується, що призводить до зниження вмісту фосфатів, активації АМФ-дезамінази та підвищення концентрації сечової кислоти у плазмі крові. Зростання вмісту сечової кислоти зумовлює розвиток гіпертензії, гіперінсулінемії, резистентності до інсуліну і гіпертригліцеридемії [2].

Фруктоза, на відміну від глюкози, не викликає секрецію інсуліну з β -клітин підшлункової залози, можливо, через відсутність транспортера фруктози (GLUT5) на β -клітинах підшлункової залози. Відповідно, коли споживається надмірна кількість фруктози, сигнали про відчуття ситості не надходять у головний мозок, який також не має GLUT5 транспортера. Така відсутність відчуття ситості призводить до посиленого споживання їжі й, таким чином, до розвитку MetS [2].

Фруктоза також не стимулює секрецію лептину, натомість активує літогенез *de novo* в печінці. Це обумовлено тим, що фруктоза оминає лімітуючі реакції гліколізу і, відповідно, призводить до неконтрольованого постачання вуглецевого скелета для ліпогенезу в печінці [21].

Щодо ренін-ангіотензинової системи, то дієта з високим вмістом фруктози індукує підвищення рівня ангіотензину II у плазмі, що сприяє розвитку гіпертонії, інсулінорезистентності, дисліпідемії та може зробити певний вклад у порушення функціонування серцево-судинної системи. Ангіотензин II сприяє проліферації фіброblastів за рахунок активації рецептора до ангіотензину II типу 1, що призводить до посилення експресії та накопичення колагену типу III у серці. Надмірна активація рецепторів до ангіотензину II типу 1 призводить до зростання концентрації ROS, що, ймовірно, зумовлене посиленням функціонуванням NAD(P)H-оксидази у клітинах щурів [16].

Таким чином, метаболізм надлишку фруктози більше нагадує метаболізм ліпідів, ніж вуглеводів, як у людини, так і у тварин. Низька доза фруктози у питній воді (10 %) є достатньою для індукування MetS у тварин [23].

Ще одним підходом до моделювання MetS є *високосахарозна дієта*. Сахароза – це дисахарид, що складається з однієї молекули фруктози і однієї молекули глюкози. Сахароза під дією ферменту сахарази розщеплюється на глюкозу і фруктозу. Обидві молекули метаболізують трохи різними шляхами. Як зазначалося раніше, надходження глюкози в метаболічні шляхи негативно регулюється фосфотруктокіназою, від функціонування якої не залежить метаболізм фруктози. Така різниця в регулюванні обумовлює безперервне введення фруктози у гліколітичний шлях. Відповідно, надлишок фруктози в печінці перетворюється на жир, оскільки фруктоза є кращим субстратом для синтезу жирних кислот порівняно з глюкозою. Таким чином, фруктоза є основним активним інгредієнтом, що сприяє розвитку MetS у тварин після споживання сахарози.

Дослідження на тваринах показало, що введення розчину сахарози з питною водою призводить до розвитку MetS і супроводжується збільшенням маси тіла, підвищенням систолічного артеріального тиску, рівня інсуліну, лептину, триацилгліцеролів, загального холестеролу, ліпопротеїнів низької щільності й вільних жирних кислот [23]. Надмірне споживання сахарози призводить до підвищення систолічного артеріального тиску в щурів із підвищенням маси лівого шлуночка та викликає розвиток стеатозу печінки. Водночас не було встановлено змін у нирках щурів, які отримували високий вміст сахарози [21]. Сахароза знижує поглинання кальцію саркоплазматичним ретикуломом кардіоміоцитів. Вживання сахарози може стимулювати вентромедіальний гіпоталамус із подальшим підвищенням активності симпатичної нервової системи та, відповідно, підвищенням кров'яного тиску в щурів [16].

Таким чином, високий вміст сахарози в дієті зумовлює розвиток MetS у тварин. Проте для індукції MetS фруктоза є ефективнішою в перерахунку на еквівалентну кількість сахарози [23].

Багата на ліпіди дієта. Протягом багатьох десятиліть для моделювання ожиріння, дисліпідемії та резистентності до інсуліну у гризунів використовували дієти з високим вмістом жирів. Ускладнення, що розвиваються за використання таких дієт, схожі на метаболічний синдром людини.

Багато дослідників для моделювання MetS у тварин застосовують різні за вмістом і складом жирів дієти. Вміст жирів у цих дієтах варіює від 20 до 60 % загальної енергії, яку споживає тварина. Джерелом жирового компонента можуть бути як рослинні олії (кукурудзяна, соняшникова або оливкова), так і жири тваринного походження (наприклад, яловичий жир і сало). Дієти з високим вмістом жирів широко використовують для індукування ожиріння у тварин. Дослідження показали, що дієта з високим вмістом жирів є ефективною для індукції гіперглікемії, інсулінорезистентності, дисліпідемії та збільшення вільних жирних кислот у крові. Надлишок жирів у харчуванні зумовлює збільшення жирової маси, зростання концентрації холестеролу, тригліцеридів, ліпопротеїнів низької щільності, лептину, інсуліну та зниження концентрації ліпопротеїнів високої щільності й адипонектину у плазмі. Посилене формування ліпопротеїнів дуже низької щільності обумовлене необхідністю розподілу великої кількості синтезованих печінкою тригліцеридів у результаті надмірного споживання жирів. Високий рівень холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності викликає ожиріння, дисліпідемію і накопичення холестеролу в артеріях. Накопичення тригліцеридів у печінці є одним із механізмів, що опосередковують розвиток резистентності до інсуліну [23].

Дієта з високим вмістом жирів у мишей індукує збільшення систолічного артеріального тиску і ендотеліальну дисфункцію, також у таких тварин виявлено альбумінурію, накопичення ліпідів у нирках, відкладення колагену в ниркових клубочках і підвищену інфільтрацію макрофагів у мозковий шар нирок [21].

У кролів, які отримували дієту з високим вмістом жирів протягом 3 тижнів, виявлено порушення чутливості до лептину (воно супроводжувалося підвищенням артеріального тиску, частоти серцевих скорочень) і зростання концентрації норадреналіну у плазмі. Концентрація лептину у плазмі корелює з підвищеною активністю симпатичних нервів нирок. Така підвищена активність обумовлює барорецепторну дисфункцію, що в сукупності може бути предиктором симпатозбудження і гіпертонії, пов'язаної з ожирінням.

Система ренін-ангіотензину залучена в генезис гіпертензії, пов'язаної з ожирінням. У щурів, яких утримували на багатій на ліпіди дієті, встановлено посилення експресії

гена ангіотензиногену в жировій тканині ретроперитоніального простору і зростання концентрації ангіотензиногену у плазмі, що вказує на підвищену активність жирової тканини та ренін-ангіотензинової системи [16].

Таким чином, використання багатой на ліпіді дієти дає змогу змодельовати основні механізми розвитку метаболічного синдрому.

Іншим підходом до моделювання MetS є використання *комбінованих дієт*. Зокрема, дієта з високим вмістом як вуглеводів, так і ліпідів (тваринного або рослинного походження) більше імітує людський раціон. Очевидно, що така комбінована дієта має викликати метаболічний синдром і у гризунів. Для моделювання патологічного стану застосовують різні комбінації та кількості вуглеводів і ліпідів. Найпоширенішими вуглеводами тут є фруктоза і сахароза, тоді як джерела ліпідів у різних дослідженнях значно варіюють.

У тварин, які вживали надлишкову кількість сахарози та жирів, спостерігали збільшену масу тіла, абдомінальне накопичення жирів, гіперінсулінемію, гіперглікемію та гіперліпідемію. Ця комбінована дієта викликає стеатоз печінки і збільшення вмісту ліпогенних ферментів печінки [9].

Паралельне використання фруктози та жирів для індукування метаболічного синдрому призводить до збільшення маси тіла тварин, зростання вмісту у плазмі тригліцеридів, холестеролу, вільних жирних кислот і лептину. Комбінація фруктози та жиру також зумовлює виникнення гіперінсулінемії, резистентності до інсуліну, порушення толерантності до глюкози, підвищення абдомінального відкладання жиру, стеатоз печінки і запалення. Змодельований за вищезгаданою схемою MetS супроводжується гіпертрофією серця, підвищеною жорсткістю шлуночків, шлуночковою дилатацією, запаленням і фіброзом міокарда, гіпертензією і ендотеліальною дисфункцією, поруч із помірним ураженням нирок і підвищеною масою панкреатичних острівців [21].

Ще одним прикладом комбінованої дієти є т. зв. дієта кафетерію, яку можна використати для моделювання метаболічного синдрому. У цій моделі тварини мають вільний доступ до стандартного корму та води й одночасно періодично споживають дуже смачні, високоенергетичні, шкідливі для здоров'я харчові продукти людини *ad libitum*, що сприяє добровільній гіперфагії. Ця дієта призводить до збільшення ваги, зростання кількості жирової маси, порушення толерантності до глюкози і розвиток резистентності до інсуліну. У щурів Wistar, які споживали таку дієту, встановлено класичне порушення обміну речовин, серцево-судинні зміни, такі як підвищена частота серцевих скорочень і підвищений артеріальний тиск [16].

Перевагою використання тваринних моделей у дослідженні MetS є можливість контролювати гістологічні, функціональні, біохімічні та морфологічні зміни за цієї патології, що важко здійснити у людей.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Коваленко В. М., Таласва Т. В., Козлюк А. С. Метаболічний синдром: механізми розвитку, значення як фактора серцево-судинного ризику, принципи діагностики та лікування // Укр. кардіол. журн. 2013. Т. 5. С. 80–87.
2. Aydin S., Aksoy A., Aydin S. et al. Today's and yesterday's of pathophysiology: Biochemistry of metabolic syndrome and animal models // Nutrition. 2014. Vol. 30. P. 1–9.
3. Ambroselli D., Masciulli F., Romano E. et al. New Advances in Metabolic Syndrome, from Prevention to Treatment: The Role of Diet and Food // Nutrients. 2023. Vol. 15 (3). P. 640.
4. Bertram C., Hanson M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome // Br. Med. Bull. 2001. Vol. 60. P. 103–121.

5. *Cameron A. J., Shaw J. E., Zimmet P. Z.* The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2004. Vol. 33. P. 351–375.
6. *Chavez J. A., Knotts T. A., Wang L. P.* et al. A role for ceramide, but not diacylglycerol, in the antagonism of insulin signal transduction by saturated fatty acids // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 10297–303.
7. *Eckel R. H., Grundy S. M., Zimmet P. Z.* The metabolic syndrome // *Lancet.* 2005. Vol. 365. P. 1415–1428.
8. *Foufelle F., Ferre P.* New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c // *Biochem. J.* 2002. Vol. 366. P. 377–91.
9. *Guimarães V. H. D., Lelis D. de F., Oliveira L. P.* et al. Comparative study of dietary fat: lard and sugar as a better obesity and metabolic syndrome mice model // *Arch. Physiol. Biochem.* 2023. Vol. 129 (2). P. 449–459.
10. *Hegele R. A.* Monogenic forms of insulin resistance: apertures that expose the common metabolic syndrome // *Trends Endocrinol. Metab.* 2003. Vol. 14. P. 371–77.
11. *Houstis N., Rosen E. D., Lander E. S.* Reactive oxygen species have a casual role in multiple forms of insulin resistance // *Nature.* 2006. Vol. 440. P. 944–948.
12. *Janssen J.* The Impact of Westernization on the Insulin/IGF-I Signaling Pathway and the Metabolic Syndrome: It Is Time for Change // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24 (5) P. 45–51.
13. *Kim Y. B., Shulman G. I., Kahn B. B.* Fatty acid infusion selectively impairs insulin action on Akt1 and protein kinase C lambda/zeta but not on glycogen synthase kinase-3 // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 32915–22.
14. *Kolovou G. D., Anagnostopoulou K. K., Cokkinos D. V.* Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome // *Postgrad. Med. J.* 2005. Vol. 81. P. 358–366.
15. *Kwiterovich P. O.* Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity // *Am. J. Cardiol.* 2002. Vol. 90. P. 30i–47i.
16. *Lehnen A. M., Rodrigues B., Irigoyen M. C.* et al. Cardiovascular changes in animal models of metabolic syndrome // *J. Diabetes Res.* 2013. Vol. 2013. 11 p.
17. *Lemos Gd. O., Torrinhas R. S., Waitzberg D. L.* Nutrients, Physical Activity, and Mitochondrial Dysfunction in the Setting of Metabolic Syndrome // *Nutrients.* 2023. Vol. 15 (5). P. 1217.
18. *Masenga S. K., Kabwe L. S., Chakulya M., Kirabo A.* Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24 (9). P. 7898.
19. *Mohamed S. M., Shalaby M. A., El-Shiekh R. A.* et al. Metabolic syndrome: risk factors, diagnosis, pathogenesis, and management with natural approaches // *Food Chemistry Advances.* 2023. Vol. 3. P. 100335.
20. *Ozcan U., Cao Q., Yilmaz E.* et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes // *Science.* 2004. Vol. 306. P. 457–61.
21. *Panchal S. K., Brown L.* Rodent models for metabolic syndrome research // *J. Biomed. Biotechnol.* 2011 Vol. 2011. 14 p.
22. *Rochlani Y., Pothineni N. V., Kovelamudi S.* et al. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds // *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* 2017. Vol. 11 (8). P. 215–225.
23. *Samuel V.T., Liu Z., Qu X.* et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 32345–53.
24. *Tain Y-L., Hsu C-N.* The Renin–Angiotensin System and Cardiovascular–Kidney–Metabolic Syndrome: Focus on Early-Life Programmin // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. Vol. 25 (6). P. 3298.

25. Wong S. K., Chin K.-Y., Suhaimi F. H. et al. Animal models of metabolic syndrome: a review // *Nutrition & Metabolism*. 2016. Vol. 13 (65). P. 1–12.
26. Zraika S., Dunlop M., Proietto J. et al. Effects of free fatty acids on insulin secretion in obesity // *S. Obes Rev*. 2002. Vol. 3 (2). P. 103–112.

Стаття надійшла до редакції 21.05.24

доопрацьована 27.09.24

прийнята до друку 02.10.24

METABOLIC SYNDROME: MECHANISMS OF DEVELOPMENT AND EXPERIMENTAL MODELS

M. Nagalievska, N. Sybirna

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: mariia.nagalievska@lnu.edu.ua*

Metabolic syndrome is a condition characterized by the presence of insulin resistance and the presence of two of the following risk factors: obesity, hyperlipidemia (hypertriglyceridemia, decreased high-density lipoprotein cholesterol), hypertension, or microalbuminuria. The multifactorial nature of metabolic syndrome makes it difficult to create an adequate experimental model that would best represent the entire spectrum of the pathophysiology of this condition. This review aims to summarize current literature data on the pathophysiological mechanisms of metabolic syndrome in the context of the development of insulin resistance, obesity, dyslipidemia, impaired glucose tolerance, and inflammation. The article also summarizes modern approaches to the induction of metabolic syndrome in rodents, among which dietary manipulation, genetic modifications, and the use of pharmaceuticals are the most common. As genetic models of metabolic syndrome, rodents with leptin or leptin receptor deficiency are most often used, in particular leptin-deficient mice (ob/ob), leptin receptor-deficient mice (db/db), Zucker obese rats (ZF), diabetic rats lines Zucker with obesity (ZDF) and others. Pharmaceutical drugs that can be used to induce metabolic syndrome include endogenous glucocorticoids and antipsychotic drugs. Several dietary manipulations are used to induce metabolic syndrome in laboratory animals. In particular, one type of diet or a combination of diets can be used, such as diets high in fructose, sucrose and fat, or a diet characterized by a high content of both fructose and fat or sucrose and fat. Manipulations with the composition of products consumed by experimental animals make it possible to simulate the development of metabolic syndrome, since the diet affects the metabolism of the entire body, and has a regulatory effect on hormones, glucose and lipid metabolism pathways.

Keywords: metabolic syndrome, diet, animal models, insulin resistance, dyslipidemia, inflammation

**REVIEW OF MODERN APPROACHES TO THE MANAGEMENT
OF INVASIVE SPECIES OF THE GENUS *HERACLEUM* IN EUROPE**

P. Nasadiuk, Z. Mamchur

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: zvenyslava.mamchur@lnu.edu.ua; dzvinkamamchur@gmail.com*

The article discusses the relevance of the problem of invasive alien species (IAS) in Europe, highlights the bioecological characteristics of invasive species of the genus *Heracleum* (*H. mantegazzianum*, *H. persicum*, and *H. sosnowskyi*) and historical ways of introduction. Statistics on the spread of these species and their negative impact on biodiversity and ecosystem resilience are presented. The spread of invasive species of the genus *Heracleum* has far-reaching consequences, affecting ecosystem sustainability, the economy, and healthcare. It has been shown that the ecological consequences of the impact are manifested not only in the ability of these species to displace native flora and disrupt natural ecosystems, but also in various areas of economic activity. These plants' aggressive growth and allelopathic effects lead to significant economic costs associated with land management and agricultural productivity. The examples of different mechanisms of impact of invasive species of the genus *Heracleum* highlight their detrimental effects on ecosystems and human health. In particular, the phototoxic substances of *Heracleum* spp. pose severe risks to human health, causing skin inflammation and long-term photosensitivity. Various methods of controlling, eradicating and preventing the spread of *Heracleum* spp. species in Europe are discussed in detail, including mechanical, biological, and chemical methods and preventive strategies. Attention is also focused on post-eradication control methods, disposal of plant waste generated during eradication, and restoration of natural vegetation. The key steps of an integrated approach to effectively reduce the invasion of *Heracleum* spp. in new areas are analysed.

The urgent need for integrated management strategies to mitigate the impact of invasive *Heracleum* species and prevent further spread is shown. It is noted that IPM control is an important international issue that requires coordinated efforts at the EU and UN levels. The conclusion is drawn about an integrated management approach that combines physical, chemical and biological methods adapted to specific regional conditions and aligned with international biodiversity goals. The article also discusses the role of public awareness and education in preventing the spread of invasive species. Public involvement in early detection and rapid response initiatives is emphasised, which is crucial for the successful management of alien invasive plant species.

Keywords: Heracleum mantegazzianum, Heracleum persicum, Heracleum sosnowskyi, invasive alien species, control of Heracleum species, biodiversity

Invasive alien species (IAS) represent one of the five principal drivers of global biodiversity loss, along with land and water use change, direct exploitation of organisms, climate change and pollution [107]. The introduction of more than 37,000 alien species as a consequence of human activities has occurred across all regions and biomes of the Earth. Furthermore, the rate of new alien species being recorded is approximately 200 per year, representing an unprecedented change. A review of the scientific literature reveals that more than 3,500 of these species, includ-

ing the invasive *Heracleum* species, have been classified as IAS due to their documented negative impacts. The proportion of alien species identified as invasive varies across taxonomic groups, with rates ranging from 6 % of all alien plants to 22 % of all alien invertebrates. Invasive alien species have been identified as the primary cause of 60 % of recorded global extinctions, with a further 16 % of documented extinctions of animals and plants attributed to this factor alone [107].

In 2019, global annual expenditure on biological invasions exceeded 423 billion US dollars. Most of these expenditures (92 %) were directed towards addressing the adverse effects of integrated pest management on the natural environment and quality of life. In comparison, only 8 % were allocated towards controlling and managing biological invasions [70]. The economic consequences are equally significant, with annual costs estimated at least €12 billion in Europe [107]. The acceleration of globalisation in trade and travel has facilitated the spread of invasive species, resulting in profound environmental and socio-economic impacts worldwide. The unprecedented spread of alien species, including invasive *Heracleum* spp., is a consequence of human activity. These species are now present in all regions and biomes of the world, with negative and, in some cases, irreversible impacts on nature, including the loss of unique biological communities.

The introduction of invasive alien species has the potential to impede the efficacy of conservation and restoration initiatives significantly. In addition to causing significant damage to the natural environment and the economy, many invasive alien species also contribute to the emergence and spread of infectious diseases, which threaten humans and wildlife. The rate of spread of invasive alien species has increased in recent years. Of the 1,872 species currently considered threatened in Europe, 354 are threatened by invasive alien species (IAS). Without efficacious control measures, the rate of invasion and the associated risks to our natural environment and human health will continue to increase [20].

The necessity for the control of invasive alien species (IAS) is acknowledged in the United Nations Convention on Biological Diversity. “It is imperative to prevent the spread, control or eradicate those alien species that threaten ecosystems or species” [86]. The Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework (2022) sets out one of the global targets for reducing threats to biodiversity, as follows: “Eliminate, minimise, reduce and mitigate the impact of IAS on biodiversity and ecosystems by identifying pathways for the introduction of alien species, preventing the spread and establishment of IAS by at least 50 per cent by 2030” [46]. The European Green Deal 2050 asserts that ecosystems are indispensable for sustaining life, providing essential resources such as food, fresh water, clean air, and shelter. They play a role in mitigating the impact of natural disasters, pests, and diseases and regulating the climate. The document emphasises the importance of conserving and restoring ecosystems and biodiversity [13].

The EU Biodiversity Strategy 2030 underscores the necessity to address the issue of invasive alien species. One of the principal elements of the EU’s Nature Recovery Plan for the restoration of terrestrial and marine ecosystems represents a crucial aspect of the fight against invasive alien species. The implementation of the EU Invasive Alien Species Regulation and other pertinent legislation and international agreements has been intensified. The objective is to minimise and, where feasible, eradicate the introduction and proliferation of invasive alien species within the EU’s natural environment. The aim is to regulate the existing invasive alien species and reduce the number of Red List species threatened by them by 50 % [86].

Both *Heracleum mantegazzianum* and *Heracleum persicum* were initially introduced to Europe as ornamental garden plants, a pattern common to many invasive alien species. Europe is home to approximately 800 botanical gardens, which have played a key role in introducing

and spreading non-native plant species over the past 500 years [31]. While these gardens have provided numerous economic and social benefits through agriculture, horticulture, and medicine, they have also unintentionally contributed to the escape and naturalization of various IAS into local ecosystems. Recognizing the significance of this issue, the Council of Europe developed the European Code of Conduct for Botanic Gardens in 2013 to address the risks posed by IAS [31]. This Code provides essential guidelines for botanic garden staff, emphasizing the need for awareness, prevention, and control measures to manage non-native species responsibly. The main components of the Code include conducting audits of plant collections, preventing the introduction of invasive species, ensuring compliance with national and international regulations, and sharing information with other institutions. Outreach and public education also form critical parts of the Code, as botanic gardens play a crucial role in raising awareness about invasive plants' ecological and economic dangers. By implementing these guidelines, botanic gardens can significantly reduce the spread of IAS and contribute to global biodiversity conservation efforts.

Materials and methods

A comprehensive review of the last scientific publications, other literature, and online sources from numerous European countries, including Belgium, Bulgaria, the Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, Ireland, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Germany, Norway, Poland, Switzerland, Ukraine, and the United Kingdom, was conducted. The analysis encompassed various sources, including scientific articles, monographs, dissertations, recommendations from international organisations and government agencies, online resources, databases, etc.

Furthermore, the literature review assesses the legislative and regulatory measures adopted by the EU and the UN to manage and mitigate the impact of invasive species. This comprises an examination of the efficacy of existing control strategies and recommendations regarding optimal practices for managing invasive species of the genus *Heracleum*. The combination of policy analysis and scientific research offers valuable insight into the complex challenges posed by *Heracleum* species, emphasising the necessity for coordinated action to address these issues.

Ecobiotic prerequisites for the invasion of species of the genus *Heracleum*

The primary biological and ecological prerequisites that contribute to the invasiveness of species of the genus *Heracleum* are listed in Table 1 [23, 37, 55, 62, 77]. These characteristics render the *Heracleum* spp. particularly adept at spreading and establishing themselves in new areas thereby posing significant challenges to biodiversity conservation and ecosystem management.

Table 1

Biological and ecological prerequisites for the invasion of the species of the genus *Heracleum*

| Environmental prerequisites | |
|------------------------------------|--|
| Flexibility in terms of habitat | Thrive in disturbed habitats such as roadsides, riverbanks and abandoned fields. Withstand a wide range of soil types, moisture levels and light conditions |
| Climate adaptability | They are adapted to different climatic conditions from temperate to subarctic regions Effective disruption of the dormant period by low winter temperatures |
| Lack of natural predators | Often lack natural herbivores or pathogens in non-native ranges that could control their populations in their native habitat |
| Biological background | |
| Reproductive strategy | Early spring germination, preceding the emergence of the root system. High seed productivity, seed viability for several years, seeds are dispersed by wind, water, snow and human activity Opportunities for self-pollination for viable seeds |
| Growth and competitiveness | Rapid growth, ability to compete with native vegetation for light, nutrients and space, possible allelopathy, which inhibits the growth of surrounding plants |

Ecological and biological mechanisms of the impact of invasion of species of the genus *Heracleum*. The introduction of invasive species of the genus *Heracleum* has been observed to exert a considerable influence on the ecological and biological characteristics of the ecosystems in which they become established [37, 38]. This impact is manifested in a number of ways, including changes to trophic levels, genetic diversity, habitats, modifications to nutrient regimes and disruption of succession patterns [41, 49].

Recent experiments in Slovakia (2024) have demonstrated the allelopathic influence of the invasive *Heracleum mantegazzianum* on native plant species. Research revealed that extracts from *H. mantegazzianum*—particularly those derived from leaves collected in April—significantly impacted barley (*Hordeum vulgare*) and summer wheat (*Triticum aestivum*) germination and growth. The study found variability in the extracts' effects depending on the plant material's collection period and the model plant species tested [25].

In addition to the ecological consequences, the introduction of invasive *Heracleum* species can have direct negative implications for human health and socio-economic activities. [16, 17, 50]. As an illustration, the sap of *Heracleum* spp. can induce dermatological irritation and allergic reactions, impacting recreational activities and agricultural practices. Furthermore, *H. persicum* has the potential to negatively impact fisheries and aquaculture, reduce tourist attractions, and contribute to negative impacts on local economies, thereby exacerbating the broader socio-economic impacts of invasive species. It is of the utmost importance to understand the mechanisms and effects to develop effective management strategies that will mitigate the detrimental impacts of invasive *Heracleum* spp. and protect local biodiversity and ecosystems [15, 22].

Table 2 outlines the various mechanisms through which invasive *Heracleum* species harm ecosystems and human health. Each impact mechanism is accompanied by specific examples that illustrate how these species disrupt natural habitats, displace native flora, and pose significant health risks [28, 55, 59, 61].

Table 2

Mechanisms of impact of *Heracleum* species invasion

| The mechanism of influence | Examples |
|---|---|
| Allopathic | <i>H. mantegazzianum</i> produces allopathic chemicals that inhibit the growth of other plants |
| Poisoning and allergic reactions | The juice of <i>Heracleum</i> spp. can cause severe skin irritation, burns and photodermatitis |
| Competition - monopolisation of resources | <i>H. persicum</i> can form dense thickets, displacing native vegetation |
| Competition - shading | <i>H. mantegazzianum</i> shades out native species, reducing their access to sunlight |
| Hybridisation | <i>H. persicum</i> hybridises with native <i>Heracleum</i> species, potentially altering their genetics |
| Rapid growth | <i>H. mantegazzianum</i> grows rapidly, dominating the areas it enters |

Distribution of invasive species of the genus *Heracleum* in Europe

For this study, three of the 20 representatives of the genus *Heracleum* present in Europe [55] were selected: *H. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi* and *H. persicum*, commonly known as giant hogweed. They represent the most prominent examples of highly invasive and aggressive plants that have spread across Europe in recent decades. All three species (*H. sosnowskyi*, *H. persicum*, and *H. mantegazzianum*) are included in the European list of Invasive Alien Species of Union concern (Commission Implementing Regulation (EU) 2022/1203 of 12 July 2022 amending Implementing Regulation (EU) 2016/1141 to update the list of invasive alien species of Union

concern), with *H. sosnowskyi* and *H. persicum* added in 2016 and *H. mantegazzianum* in 2017. Together, they represent 7.3 % of the invasive alien plant species on the list (i.e., 3 out of 41 invasive plant species listed as of today) [12]. These species are also listed as invasive alien species nationally in many EU countries.

***H. mantegazzianum* Sommier & Levier** – originally from the western part of the Greater Caucasus in southern Russia and Georgia [100, 105]. It was first introduced to the UK as an ornamental garden plant at Kew Botanic Gardens in 1817. By 1862, it was already recorded in Ireland, Denmark, the Netherlands, and Germany [34]. It is the most widespread invasive *Heracleum* species in the world, from the USA to New Zealand. It is registered in 33 European countries, including Austria, Belarus, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Croatia, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, France, Georgia, Germany, Hungary, Iceland, Ireland, Italy, Latvia, Liechtenstein, Lithuania, the Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Russia, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden, Switzerland, Ukraine, and the United Kingdom (Fig. 1.) [9, 26, 39, 54, 60, 85, 100, 101]. Studies show that with global climate change [67], the range of *H. mantegazzianum* could expand by 20 % in Northern Europe. It is expected that most range changes predicted for 2100 may occur as early as 2041 [4].

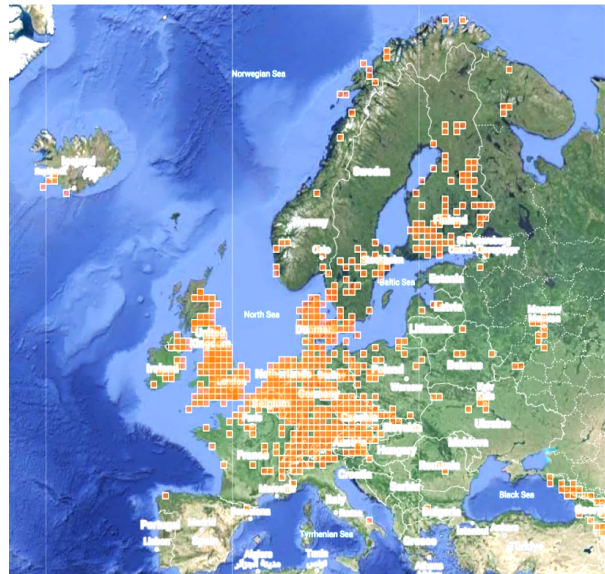


Fig. 1. Distribution of *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier in Europe [101]

***H. sosnowskyi* Manden** is native to the eastern portion of the Main Caucasus Range and the southwestern and eastern Transcaucasian regions. The species was first described in 1944 by Mandenova from the Meskheta region of Georgia. The species was first introduced to Russia in 1947, where it was cultivated as a highly productive fodder crop for livestock. Subsequently, it was introduced to other countries: Belarus, Poland, Ukraine, the Baltic States and the eastern part of Germany [59, 99]. It is currently undergoing a period of rapid dissemination throughout Europe, with registration in 20 countries on the continent: Austria, Belarus, Bulgaria, Denmark, Estonia, Finland, France, Georgia, Germany, Hungary, Italy, Latvia, Lithuania, Poland, Romania, Russia, Serbia, Spain, Ukraine, and the United Kingdom (Fig. 2) [7, 9, 27, 39, 47, 82, 90, 99, 101, 102].

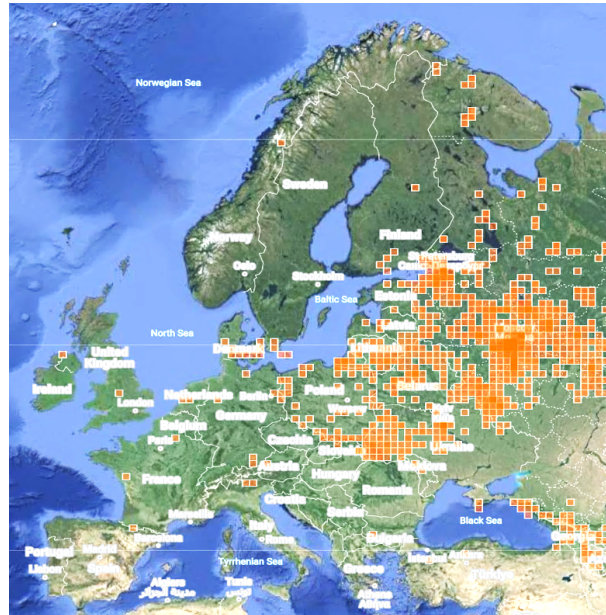


Fig. 2. Distribution of *Heracleum sosnowskyi* Manden in Europe [102]

***H. persicum* Desf. ex Fisch** - originally from Iran, Iraq and Turkey [21]. It was first introduced to the UK as an ornamental garden plant in 1829 and then to northern Norway in 1836 [34]. Subsequently, the species expanded its range southwards across Northern Europe, and is currently registered in nine European countries. The species is present in the United Kingdom, Norway, Sweden, Denmark, Finland, Iceland, Estonia, the Czech Republic and Hungary. Some sources report isolated cases in Germany and France (Fig. 3) [9, 14, 39, 68, 69, 94].



Fig. 3. Distribution of *Heracleum persicum* Desf. ex Fisch in Europe [103]

Table 3 illustrates the principal impacts of the invasive species of the genus *Heracleum* in Europe.

Table 3

Environmental impacts of invasive *Heracleum* species

| Consequences of exposure | Examples |
|---|---|
| Changed trophic level | Disruption of food chains caused by the dominance of <i>Heracleum</i> spp. in the ecosystem |
| Altered gene pool / selective loss of genotypes | Reduction of genetic diversity in plant populations due to hybridisation of <i>H. persicum</i> |
| Ecosystem change/habitat alteration | The loss or transformation of habitats changes local ecosystems |
| Modification of the nutritional regime | Changes in soil nutrient availability due to the growth of <i>H. mantegazzianum</i> |
| Modification of succession models | Disruption of natural succession due to <i>H. sosnowskyi</i> invasion |
| Formation of a monoculture | The dominance of <i>H. mantegazzianum</i> , which leads to the formation of a monoculture |
| Negative impact on human and animal health | Skin irritation and allergic reactions caused by the juice of <i>Heracleum</i> spp. |
| Negative impact on aquaculture/fisheries | Damage to fish populations and disruption of aquaculture due to <i>H. persicum</i> |
| Negative impact on tourism | Reduced tourist attraction and negative impact of <i>Heracleum</i> spp. on the local economy |
| Reducing the value of comfort | Reduction of aesthetic appeal of the territory due to <i>H. mantegazzianum</i> infestation |
| Decrease in local biodiversity | Extinction of native plant and animal species caused by <i>Heracleum</i> spp. |
| Negative impact on agriculture | Yield reduction and competition with <i>H. persicum</i> |
| Impacts on ecosystem connectivity | Disruption of natural processes, such as pollination and nutrient cycling, due to <i>Heracleum</i> spp. |
| Vulnerability to intrusion | Creates conditions favourable for the penetration of other invasive species |

Control, eradication and prevention of *Heracleum* species in Europe

In Europe, the control and management of *Heracleum* species is based on a multi-faceted approach, encompassing prevention, eradication and post-eradication strategies. A variety of approaches are employed by different countries in their efforts to combat the invasive nature of these species, with numerous studies being conducted to this end.

The principal methods employed to control *Heracleum* species are mechanical and chemical [32]. The application of mechanical control methods, such as the cutting of roots, does not result in the immediate death of the plant. Rather, the plant dies only after repeated treatments over several seasons due to the depletion of its nutrient reserves. The use of ploughing as a control method on farmland has been demonstrated to be effective, with deep ploughing resulting in a significant reduction in infestations. This is due to the destruction of seed germination in the topsoil, where most seeds are concentrated. The most productive results are achieved when invasive vegetation is controlled mechanically or chemically before ploughing.

The successful eradication of invasive species often necessitates the implementation of comprehensive and persistent measures over a period of seven to ten years. Nevertheless, managing populations on steep slopes and in inaccessible areas continues to present a significant challenge for manual treatments. Preventive strategies are oriented towards maintaining dense vegetation cover, to prevent gaps and increase the diversity of endangered plant communities [48].

While **mowing** is an effective method for large-scale vegetation management, it necessitates two to three repeated applications during the active growth season to prevent regrowth [88].

This is true regardless of whether the mowing is done manually or with mechanical cutting tools. Some guides suggest that mowing should be performed as frequently as every two weeks. To prevent the dissemination of seeds, mowing should be conducted prior to the maturation of the plant. It is not advised to cut plants exceeding a height of 1.5 metres, due to the elevated difficulty and risk of contact with the sap. Adhering to the prescribed safety protocols and utilising the appropriate personal protective equipment is of the utmost importance. It is recommended that hand mowing with tools such as scythes or trimmers be employed for small areas or in situations where mechanical mowing is not available [4, 43, 45, 53, 55, 62].

The aforementioned mowing methods can potentially expose workers to health risks due to direct contact with the plant. Consequently, as a more secure alternative, agricultural machinery manufacturers provide **remote-controlled mowers** that permit operation at distances of up to 300 metres and facilitate the management of challenging terrain, in addition to mulching plants. Equipment manufacturers assert that mulching represents the most productive methodology for large populations, necessitating the initial trimming of juvenile plants and subsequent mowing at ten-day intervals to forestall the regrowth of shoots. This process should be repeated for a period of ten years, with regular monitoring to ensure the complete destruction of all plants and the absence of viable seeds [98].

Root cutting represents an efficacious mechanical control method, particularly when initiated at an early stage. For plants up to five years old, an effective cutting depth of 15 cm has been observed, while for younger plants, a depth of 10 cm has been found to be sufficient. The results of field research conducted in Poland indicate that cutting roots in late April proved more effective than cutting them in mid-June. The most productive strategy for biennial plants was the repeated cutting of roots three times during the growing season (April, June and August) over a five-year period, which destroyed 97.2 % of the initial number of plants.

It was determined that cutting the roots of three-year-old *H. sosnowskyi* plants at a depth of 10 and 15 cm resulted in their complete destruction. The complete eradication of five-year-old plants necessitated a deeper cut, whereas seven-year-old plants were not entirely eliminated, indicating that a deeper cut was more effective. It is noteworthy that the seven-year-old plants exhibited considerably higher root biomass and longer crown roots than the three-year-old plants, which may have contributed to their enhanced resilience.

This method is most effective for young plants growing in moist soil. For larger plants, using loppers to cut off the upper parts is recommended, as this provides better access to the stem and taproot. To prevent regrowth effectively, the roots should be cut to a depth of 20 cm. Furthermore, a shovel angled at 45 degrees can sever the taproot at a depth of approximately 15 centimetres below the soil surface. In areas susceptible to erosion or with pronounced topography, excising the taproots to a depth of 25 cm may be advisable. It is recommended that the cuttings be removed or allowed to dry off-site [6, 29, 55, 63, 89].

The practice of **ploughing** is an effective method for cultivating agricultural land. However, deep ploughing has been observed to have a detrimental impact on seed germination in the topsoil. In areas with no sensitive species, deep ploughing, reaching depths of up to 24 cm, can be an effective control measure for *Heracleum* species. This method simultaneously excises the taproot and interred the majority of the seeds to a depth that precludes germination. The optimal results for *H. mategazzianum* are achieved when existing vegetation is first controlled by mechanical or chemical means before ploughing. The optimal time for this procedure is during the autumn months, as subsequent frosts and low temperatures facilitate the degradation of shoots. Removing large roots from the ploughing area is crucial to prevent their regrowth [6, 29, 35, 54,

55, 62, 63]. Conversely, research conducted in Latvia suggests that ploughing or disc harrowing has a comparatively limited impact on *H. sosnowskyi* and may even have a detrimental effect on the growth of the local flora, reducing diversity and number of plants [36].

The **removal of inflorescences** is an essential procedure in the control of plant populations. One of the most common methods employed is the removal of flower heads, which should be carried out before the formation of seeds in order to prevent further spread. Experimental evidence from the Czech Republic indicates that the removal of all flower heads of *Heracleum* species during peak flowering results in a significant reduction in seed production. Pruning the plants during the middle of the flowering period prevents the formation of new seeds. However, if this is done too early, it can stimulate the formation of secondary stems that may also flower. Removing flowering heads in early or late summer represents a short-term, interim method of preventing further seed spread, particularly when other methods have been exhausted. It is important to note that this method does not result in the death of the plant [29, 55, 62].

Using **chemical control methods** is regarded as an efficacious and cost-effective approach for managing species belonging to the genus *Heracleum*.

The efficacy of glyphosate and triclopyr against *H. mantegazzianum* has been demonstrated, indicating potential vulnerability to other species of *Heracleum*. Nevertheless, the proliferation of *H. persicum* through vegetative growth can diminish the efficacy of glyphosate, as it solely targets the aboveground portion of the plant [5].

Studies conducted in Lithuania, Latvia, and Finland have evaluated the efficacy of herbicide mixtures comprising tribenuron-methyl and methylsulfuron-methyl in controlling *H. sosnowskyi*, showing positive results [92]. Glyphosate applied alone did not give the expected results, but the combination with triasulfuron was effective [36]. However, the use of these herbicides is restricted in certain areas, such as near water bodies and forest edges, to ensure environmental safety.

Polish researchers have found that triclopyr mixtures provide 90–95 % control of *H. sosnowskyi*, including triclopyr + fluroxypyr + clopyralid, as well as mixtures of propoxycarbazone sodium + iodosulfuron methyl sodium + amidosulfuron [36]. Latvian researchers recommend applying glyphosate, triclopyr and imazapyr in March-May to control *H. sosnowskyi*. The application of glyphosate after spring germination in combination with deep ploughing has been demonstrated to be an effective method in Latvia [36].

A five-year study conducted in Poland substantiated the efficacy of herbicide treatments in controlling the growth of *H. sosnowskyi*. A single application of glyphosate was observed to be less effective than a mixture of glyphosate and flazasulfuron, with the latter exhibiting superior control with an increased frequency of treatments. The most effective approach was a three-time application of a mixture of glyphosate and flazasulfuron, which resulted in 91 % control in the second year and 100 % control in the fifth year. Furthermore, it was observed that plants treated on three occasions during each growing season did not produce any generative shoots, indicating the importance of sequential and repeated treatments for the successful eradication of *H. sosnowskyi*. From a chemical perspective, the most effective approach is a three-time application of a herbicide mixture containing glyphosate and flazasulfuron over a five-year period, which provides complete control of *H. sosnowskyi* [43].

An integrated approach incorporating chemical, mechanical, and biological methods is the most effective for controlling *H. sosnowskyi*. The mixtures tribenuron-methyl + methyl sulfuron-methyl and fluroxypyr + methyl sulfuron-methyl demonstrated rapid efficacy, with only a few plants remaining in the plots following application. The selection of an appropriate herbicide

combination, with due consideration of environmental factors, is of paramount importance for the effective management of invasive species.

By UK guidelines, the optimal time for herbicide application is when the plant has reached a height of approximately 50 cm with fully developed leaves, typically in mid to late April (or March if the spring is early). It is recommended that the site be monitored in May and early June to identify any new plants or those that were missed during the initial treatment. If re-treatment is required, this should be conducted using a spot or continuous spraying method. It is important to note that the combination of aminopyralid and triclopyr is permitted for use only once per year. It is therefore recommended that glyphosate should be used should further spot treatments be required [29].

A five-year field experiment (2018-2022) was conducted to assess the effectiveness of **pyrolysis liquid mulch (PLM)**, biodegradable mulches, and glyphosate in controlling *Heracleum mantegazzianum*, an invasive plant species spreading across Europe. The study found that PLM had limited success in reducing mature *H. mantegazzianum* populations, while traditional plastic and biodegradable mulches, as well as glyphosate, were more effective. These results highlight the need for improved biobased weed control methods in managing the spread of this species [33].

The study on the use of **gibberellic acid (GA₃)** on flowering *H. sosnowskyi* was conducted in Lithuania between 2020 and 2022. The findings demonstrated that a double treatment with GA₃ during the flowering phase of the invasive plant *H. sosnowskyi* exhibited a consistent dose-response relationship, effectively reducing seed germination. Furthermore, two factors contributing to the reduction in the viability of mericarps resulting from the application of GA₃ on flowers were identified. (1) an increase in the proportion of seedless mericarps and (2) a decrease in the germination capacity of well-formed mericarps in the field. The study spanned a period of two years, during which time different dominant mechanisms were identified each year. It is anticipated that the reduction in seed viability resulting from applying GA₃ will impede the annual replenishment of the soil seed bank, thereby limiting the potential for further plant spread [92].

This approach may also prove effective for controlling other closely related invasive species, such as the monocarpic *H. mantegazzianum*. Nevertheless, further research is required to fully elucidate the mechanisms underlying the effects of exogenous GA₃ on the germination of well-formed mericarps under different climatic conditions. This research should encompass both the expansion of application methods and the investigation of underlying mechanisms. Before implementing this approach for commercial plant control, it is essential to gain a comprehensive understanding of the factors influencing its efficacy [92].

Microwaves, a form of electromagnetic radiation, could serve as an environmentally friendly method for controlling this species. A field experiment utilising microwaves was conducted in Poland in 2022. A 15-minute microwave exposure resulted in 100 % mortality of the plants, which was confirmed 7 and 75 days after the treatment. This indicates that longer microwave irradiation periods may be more efficacious in ensuring the complete eradication of *Heracleum* spp. during the flowering phase [78]. The study continued in 2024 and proved that microwaves do not affect soil ecotoxicity, as proved by the three biotests, which is a vital environmental benefit of this method [79]. The study found that microwaves effectively prevented hogweed regrowth for up to 14 days, with higher treatment times (up to 15 min) reducing root biomass by 55–67 %. The method also altered the biochemical composition of the plant, increasing sugar and saturated fatty acid levels, while having no adverse effects on soil ecotoxicity. Essential oils extracted from the roots showed increased diversity, with no highly photosensitizing

compounds detected. These findings highlight MWT as a promising, sustainable approach for managing invasive species [79]. If proven to safely impact human health and surrounding ecosystems, this method could represent a promising new approach

The use of **sheep grazing** has been demonstrated to be an effective control method, particularly when employed for a minimum of ten years in areas with a high degree of infestation where machinery cannot be used [3]. This method has been employed in Denmark, the United Kingdom, Ireland, and Germany [3, 8]. An extensive experimental study on the efficacy of sheep grazing as a biological control method was conducted by the Scottish Invasive Species Initiative (SISI). The organisation posits that sheep are immune to the toxic sap of *Heracleum* spp. SISI is currently undertaking a practical experiment to identify the most effective strategies for land managers to utilise sheep in the control of the spread of *Heracleum* species [104]. This approach shows promise and warrants further investigation.

In addition to **grazing**, no evidence currently suggests that any other **biological control method** is effective. The surveys were conducted in the Caucasus, the native range of *Heracleum mantegazzianum*, to identify potential biological control agents. Numerous fungal species were discovered associated with the plant, many of which were newly recorded on this host. However, none of the surveyed pests, including insect species and fungal pathogens, demonstrated the necessary host specificity to be deemed safe for introduction into Europe as biological control agents [19]. At present, the impact of natural enemies on *H. mantegazzianum* is minimal, with the localised damage caused by certain fungal pathogens serving as an illustrative example. While different insects and fungal pathogens attack different parts of the plant, none of the natural enemies has demonstrated sufficient efficacy to be considered a viable biological control method in Europe. In the Caucasus mountains, where *Heracleum* species are found, the associated insects were either polyphagous or oligophagous, feeding on multiple *Heracleum* spp. and potentially other plants in the Apiaceae family. Laboratory studies demonstrated that certain oligophagous insects exhibited a broader dietary range encompassing a variety of Apiaceae plants. However, none of the insect species studied exhibited monophagous behaviour, feeding exclusively on *H. mantegazzianum*. A number of natural insect enemies were identified, including the weevil (*Nastus fausti* Reitter), the ceramide beetle (*Phytoecia boeberi* Ganglbauer), the small butterfly (*Agonopterix caucasiella* Karsholt) and the agromyza fly (*Melanagromyza heracleana* Zlobin). However, none of these were considered suitable for biological control due to their lack of significant impact on the plant. Similarly, studies of pathogens associated with *Heracleum mantegazzianum* have demonstrated that all known *Heracleum* species share a common mycobiota [11].

The biological control of invasive *Heracleum* species, in particular *H. sosnowskyi*, has been the subject of extensive research in Poland. Despite considerable efforts, no effective agent with a narrow enough spectrum of action to be considered safe has been identified for any invasive *Heracleum* species. Intensive research has explored the potential of natural enemies such as insects and pathogens. However, difficulties remain in identifying agents that do not damage other plants of the Apiaceae family, such as parsnips (*Pastinaca sativa*) [53].

Hybridisation poses additional challenges for the control and management of *Heracleum* species hybrids are frequently unidentified and may display an enhanced capacity for invasive growth. Hybridization within the genus *Heracleum* is documented [76]. Hybrids between *H. mantegazzianum* and the native *H. sphondylium* have been reported in Great Britain and Germany [56], occurring in areas where both species co-occur, though they remain relatively rare [24, 81]. Additionally, hybridization between *H. mantegazzianum* and *H. sosnowskyi* with the native *H. sibiricum* is anticipated in Lithuania. While hybridization between *H. sphondylium* and

H. mantegazzianum is considered possible [57], it occurs infrequently. Hybridization between *H. mantegazzianum* and *H. sosnowskyi* is also feasible [76]. *H. persicum* commonly hybridises with *H. sphondylium*, potentially complicating control efforts due to the increased invasiveness that hybrids can exhibit as a result of interspecific hybridisation. Such hybrids can have an impact on local biodiversity. Therefore, the identification and control of hybrids using developed markers is crucial for the conservation of local plant diversity [18, 74]. It is important to note that *H. persicum* and *H. mantegazzianum* are not sympatric in their natural ranges, and their distribution areas in Europe rarely overlap. This raises questions about the occurrence of hybridisation between these two species [21].

However, management of species of the genus *Heracleum* is complicated by a number of factors, including their morphological similarity, the uncertainty surrounding their taxonomic classification, and the possibility of hybridization. In such cases, a comprehensive understanding of the population genetics of *Heracleum* species may prove beneficial.

The utilisation of **unmanned aerial vehicles (UAVs)** and remotely operated machinery for implementing mechanical, chemical and other control measures represents a promising avenue for the management of *Heracleum* species. However, further investigation and testing are necessary to ascertain the efficacy and feasibility of these approaches. Thus far, unmanned aerial vehicles (UAVs) have been employed primarily for the detection and monitoring of invasive species [80]. However, with the advancement of the industry, they are poised to become a valuable tool in combating local and global *Heracleum* species invasions.

These findings thus emphasise the importance of implementing prompt and consistent control measures, as well as considering the age of the plant, its root development and the specific infestation sites when devising eradication strategies [58].

Control methods after eradication of invasive species of the genus *Heracleum*

Following the eradication of the species, it is of the utmost importance to implement programmes designed to facilitate the regeneration of dense vegetation cover, thereby preventing the re-infestation of the area by *Heracleum* species. For instance, the utilisation of grass mixtures and reforestation techniques may prove beneficial. It is also crucial to raise public awareness and encourage their involvement.

It is of the utmost importance to exercise caution when handling the **disposal of plant waste** from eradicating invasive species of the genus *Heracleum*. This is to prevent environmental contamination and the further dispersal of seeds. Waste material comprising inflorescences or seeds should be meticulously stacked, taking care to prevent contact with water and soil [51]. The aforementioned piles should subsequently be collected in bags and disposed of in accordance with the recommendations set forth below. It is not advised to leave plants with herbicide residues in the environment or to compost any *Heracleum* plant material containing seeds. In the event that the removal of waste in its current state is necessary, it can be done so in large bags. It may be feasible to utilise controlled burning as a method to prevent the dispersion of seeds by the application of heat. **Heat treatment of seeds** from invasive *Heracleum* can be crucial in slowing their spread and is particularly relevant for professionals such as road maintenance workers and farmers. Laboratory experiments in 2024 showed that *Heracleum* seeds are highly resilient to dry heat even with temperatures of 90–100 °C for several hours but more effectively destroyed by hot water or steam. Implementing efficient seed control measures could significantly reduce the dispersal of IAS and prevent costly management efforts [30]. Incineration is also a potential option, although it may prove costly. An alternative disposal method is the transportation of the waste to an authorised landfill site in closed containers, which will prevent seed dispersal. Upon

arrival, the containers should be covered immediately. It is of the utmost importance to conduct a thorough assessment of the safety of the proposed waste disposal methods in order to minimise any potential environmental impacts [29, 59].

The **pyrolysis** of *Heracleum* biomass was studied in Poland for the first time in 2024 at temperatures ranging from 200 to 600 °C. Biochar produced at 200–300 °C showed strong hydrophobic properties and high heating values, making it suitable for solid fuel. When pyrolysis temperatures exceeded 400 °C, the biochar's fertilizing properties improved due to increased nutrient content, particularly potassium. The study demonstrated that pyrolysis can efficiently convert *Heracleum* biomass into biochar without external energy input under specific conditions. These findings suggest the potential for sustainable utilization of *Heracleum* biomass as a valuable feedstock [83, 84].

The restoration of vegetation is a crucial subsequent phase following the successful eradication of invasive *Heracleum* species. Once the invasive species has been removed, the land is susceptible to soil erosion and the potential for re-spread. The optimal solution is the regular utilisation of the land, such as the cultivation of crops or the grazing of livestock [52]. The resulting vegetative cover will serve to protect the land from erosion and prevent the reintroduction of invasive *Heracleum* species.

Sowing grass. The restoration of natural grass cover is of paramount importance for the effective management of land previously occupied by invasive *Heracleum* species. It is recommended that grass mixtures with higher seeding rates and species resistant to frequent mowing be sown. The optimal approach is to seed grass species that are indigenous to the region, demonstrate tolerance to flooding, possess well-developed adaptations, and exhibit competitive superiority over *Heracleum* spp. Mixtures that have been demonstrated to be effective include *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra* (50:50) and *F. arundinacea*, *F. rubra* (35:65). It is advised that the seedlings be mown frequently when they reach a height of 20–30 cm [29, 55, 70].

One approach that has been investigated in Poland involves the utilisation of competitor plants, in particular certain grass species that are capable of producing 4000 seedlings per square metre, with the objective of eradicating *Heracleum* spp. Grasses such as *Dactylis glomerata*, a hybrid of *Festulolium*, *Lolium perenne*, *L. multiflorum*, *Polypogon viridis*, *Arundinum arundinum*, *Festuca rubra*, *F. arundinacea*, and *F. pratensis* have been demonstrated to be effective in the removal of *Heracleum* spp. from infested cereal pastures. Furthermore, native plants such as *Petasites albus* and *Petasites hybridus* have demonstrated the capacity to compete with invasive *Heracleum* species [53].

It is imperative to refrain from sowing grass mixtures on sandy floodplain soils and along riverbanks, as these areas are susceptible to the deposition of invasive *Heracleum* spp. seeds during floods. It is recommended that root cutting and pruning be undertaken prior to flowering as a more effective control method in these areas. The practice of mowing, particularly of native grass species such as *Elymus repens* and *Poa pratensis*, has been observed to facilitate the growth of a competitive grass cover, which in turn serves to reduce the density of invasive plants.

These integrated management practices are of great importance to the restoration of former agricultural land, employing mechanical, chemical and biological methods to effectively control and prevent the re-spread of invasive species. The diversity of grasses will increase as native broadleaf species repopulate the grassland. Following the revegetation process, the areas in question can then be utilised for agricultural or recreational purposes.

Afforestation represents a distinct approach within the field of cover crop strategies, specifically designed to control the proliferation of tall invasive *Heracleum* species. In instances

where openings are created in a beech forest as a result of windfall or tree felling, these openings can be colonised by invasive *Heracleum* species. The implementation of further reforestation initiatives results in a gradual shading effect, which ultimately inhibits the growth of invasive *Heracleum* species. The efficacy of shading is contingent upon the species of trees involved. Beech forests (*Fagus sylvatica*) have been demonstrated to be highly effective at shading the plant, while firs (*Abies* species) and willows (*Salix* species) have been found to be less effective in this regard. Furthermore, different invasive species of *Heracleum* spp. demonstrate varying degrees of shade tolerance. For instance, *H. mantegazzianum* exhibits a lower tolerance than *H. sosnowskyi* [55, 59].

Minimising intrusion into new territories

Methods of prevention:

To effectively reduce the invasion of tall invasive species of the genus *Heracleum* into new areas, a comprehensive approach focusing on prevention, early detection and rapid response is needed. Here are the key steps to consider:

- Mapping existing populations, especially in regions adjacent to infested areas, is crucial. Due to their size, stands of *Heracleum* species are visible for most of the year and can be easily detected during flowering in early summer, making it relatively easy to track their spread.
- Recent field studies and experiments have demonstrated that Sentinel satellite time series and UAV data enable the characterization of vegetation classes at unprecedented spatio-temporal scales. The integration of data from multiple sensors, such as optical and synthetic-aperture radar (SAR) [64, 75], has significantly improved classification accuracy. Multi-spectral sensors on UAVs have proven effective in mapping invasive species and can serve as a valuable alternative to traditional field data for fitting and validating OCCs (one-class classifiers) based on satellite imagery [24]. However, the limited area coverage of UAVs, typically a few hectares, restricts their utility for extensive monitoring. Hyperspectral imaging offers greater precision by refining spectral distinctions between invasive species and their surrounding vegetation. Additionally, real-time kinematic (RTK) positioning of global navigation satellite systems (GNSS) [42, 71, 97] has been widely adopted to achieve precise relative positioning, further enhancing the accuracy of remote sensing applications [2, 40].
- Involvement of the public and volunteers can be a powerful tool in identifying *Heracleum* species. Informing the public about the problems caused by invasive species and enlisting their help in identifying populations can be achieved through social media, local media and targeted information campaigns. This method is well established in the UK [93].
- Citizen Science (CS) plays a significant role in shaping societal values towards biodiversity by facilitating valuable data collection. Public participation in recording invasive alien species (IAS) through innovative smartphone applications is already complementing official surveillance systems across EU Member States. However, the accuracy of data generated by these initiatives may limit their use for early warning, management, and control of IAS. In response, the Joint Research Centre (JRC) developed the “Invasive Alien Species in Europe” app, enabling users to report IAS of Union concern under EU Regulation 1143/2014. Additionally, the European Alien Species Information Network (EASIN) provides a centralized repository of IAS data, supporting EU Member States in implementing IAS-related policies and management strategies [1].
- Artificial intelligence (AI) is increasingly integrated into citizen science (CS) applications, particularly for taxonomic identification, where deep learning models are used to automatically identify species from uploaded images [10, 91]. These models not only identify the

species but also determine the confidence level of the identification [73]. Although conversational AI tools, like chatbots, are gaining traction for user interaction, simpler CS applications with structured databases and clear protocols do not necessarily require such complex systems. Instead, a straightforward system that provides real-time identification guidelines after a species name is entered can effectively assist observers. AI can also be employed to automate feedback once an expert validates a report. As an example of AI for species recognition tool is worth to mention Seek application based and integrated to iNaturalist platform. iNaturalist includes an automated species identification tool, and users further assist each other in identifying organisms from photographs. As of 9 July 2024, iNaturalist users had contributed approximately 197,660,888 observations of plants, animals, fungi, and other organisms worldwide [95].

- Use the online reporting platforms for mapping of invasive species, like the following list available in Europe which include both AI and expert recognition tools: UK- iRecord (<https://www.brc.ac.uk/irecord/resources-verify>); Germany – Naturgucker (naturgucker.de); Netherlands – Netwerk Ecologische monitoring invasieve vaatplanten (www.floron.nl/meedoen/exoten-melden); Switzerland – InvasivApp (<https://www.infoflora.ch/invasiv-app>); Norway – Artsdatabanken (<https://www.artsobservasjon.no/Home/About>); Alpine space region – ALPTREES (<https://www.alpinespace.eu/projects/alptrees/en/home>) [1].
- It is necessary to develop targeted information programmes aimed at groups engaged in outdoor activities, such as fishing, agriculture, hunting and tourism [4].
- Reporting mechanisms should be clear and accessible so that the public knows where to report sightings of invasive *Heracleum* species.
- Outreach campaigns, outdoor and internet advertisement, video production are powerful tools for raising awareness and public engagement in monitoring, controlling and eradicating *Heracleum spp.*
- Rapid response by local authorities. Upon receiving reports of new infestations, the relevant authorities should have the resources to quickly confirm the identification, assess the situation and determine the appropriateness of control methods.

Conclusions

The current range of control methods is diverse, encompassing chemical, biological, and mechanical approaches. Despite the spread of the three invasive *Heracleum* species across different regions of the European continent, the control methods employed in various countries are largely similar. In recent years, novel control and management methods, such as the use of microwaves and pyrolysis, have also been studied. In this context, the involvement of EU projects, non-governmental organizations (NGOs), and volunteers in the identification, monitoring, and direct control of harmful species is of significant importance.

Outreach and public engagement play a critical role, supported by the production of various types of information resources, including short social media videos, posts, long educational videos for schools and broader audiences, and information banners, particularly in areas of high invasion. Additionally, tailored mobile apps that allow easy detection and reporting of invasions are worth mentioning. Ideally, the collected datasets would be integrated or made accessible to local authorities responsible for controlling and eradicating invasive species.

The selection of an appropriate control method is also contingent upon a number of factors, including the size of the plant population, its density and the accessibility of the area in question. The most prominent tools in this regard would be the use of AI and deep learning, particularly for detecting, mapping, and reporting *Heracleum* invasions, both by individuals and through UAVs.

Regardless of the method employed, the importance of repeated and correct application cannot be overstated, as this is crucial to obtaining satisfactory results. Therefore, treatments should be initiated at the earliest opportunity in the growing season and continued for several years until the soil seed stock and root system are depleted. The financial implications of controlling tall invasive *Heracleum* species are highly variable, contingent upon the availability of equipment and the cost of labour. It is evident that an efficacious strategy for the control of invasive *Heracleum* species necessitates a multi-year approach, encompassing both immediate eradication and long-term prevention of the spread.

The development of new guidelines based on modern technology and scientific research is a priority for enhancing the efficiency of eradicating, controlling, and managing invasive *Heracleum* species. An integrated strategy for controlling *Heracleum* species should aim to optimize efficiency, ecology, and economic management. This requires implementing flexible methods tailored to the specific needs of the area in question.

REFERENCES

1. *Adriaens T., Tricarico E., Reyserhove L. et al.* Data-validation solutions for citizen science data on invasive alien species // EUR 30857 EN, Publications Office of the European Union. Luxembourg, 2021. 31 p. doi:10.2760/694386
2. *Alexandridis T. K., Tamouridou A. A., Pantazi X. E. et al.* Novelty Detection Classifiers in Weed Mapping: *Silybum marianum* Detection on UAV Multispectral Images // *Sensors*. 2017. P. 1–12.
3. *Andersen U. V., Calov B.* Long-term effects of sheep grazing on giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) // *Hydrobiologia*. 1996. P. 277–284.
4. *Anibaba A., Dyderski M. K., Jagodziński A. M.* Predicted range shifts of invasive giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) in Europe // *Sci. Total Environ*. 2022. P. 154053. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154053>
5. *Auškalnienė O., Kadžienė G., Ivashchenko O. et al.* Chemical control of Sosnowsky's hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) in Ukraine // *Zemdirbyste-Agriculture*. 2022. P. 329–334. <https://doi.org/10.13080/z-a.2022.109.042>
6. Best Practice Management Guide for Invasive Alien Species // RAPID. 2018. 31 p. Downloaded from: https://invasives.ie/app/uploads/2021/09/RAPID_Good_Practice_Management_Giant_hogweed_EN.pdf
7. *Burda R. I., Protopopova V. V., Shevera M. V., Kucher O. O.* Alien species of the flora of Ukraine: years and authors. Bibliographic index. Issue 7 // Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine, State Institution Institute of Evolutionary Ecology of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2020. 159 p. (In Ukrainian).
8. *Buttenschøn R. M., Nielsen C.* Control of *Heracleum mantegazzianum* by grazing // *Ecology and management of giant hogweed (Heracleum mantegazzianum)*. 2007. P. 240–254. <https://doi.org/10.1079/9781845932060.0240>
9. *Cardoso A. C., Tsiamis K., Deriu I. et al.* EU Regulation 1143/2014: assessment of invasive alien species of Union concern distribution // Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2021. 178 p. doi:10.2760/11150, JRC123170
10. *Christin S., Hervet É., Lecomte N.* Applications for deep learning in ecology // *Methods Ecol. Evol.* 2019. Vol. 10. P. 1632–1644.
11. *Cock M. J. W., Seier M. K.* The scope for biological control of giant hogweed, *Heracleum mantegazzianum* // *Ecology and Management of Giant Hogweed (Heracleum mantegazzianum)*. 2007. P. 255–271. doi.org/10.1079/9781845932060.0255

12. Commission Implementing Regulation (EU) 2016/1141 of 13 July 2016 adopting a list of invasive alien species of Union concern pursuant to Regulation (EU) No 1143/2014 of the European Parliament and of the Council. 2016. 5 p. Downloaded from: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2016/1141/oj
13. Communication From The Commission To The European Parliament, The European Council, The Council, The European Economic And Social Committee And The Committee Of The Regions The European Green Deal // COM/2019/640 final. 2019. 24 p. Downloaded from: https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:71767319-9f0a-11ec-83e1-01aa75ed71a1.0001.02/DOC_1&format=PDF
14. Cuddington K., Sobek-Swant S., Drake J. et al. Risks of giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) range increase in North America // Biol. Invasions. 2022. P. 299–314. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02645-x>
15. Denisow B., Wrzesień M., Mamchur Z., Chuba M. Invasive flora within urban railway areas: a case study from Lublin (Poland) and Lviv (Ukraine) // Acta Agrobot. 2017. P. 1–17. <https://doi.org/10.5586/aa.1727>
16. Dubyna D., Iemelianova S., Dziuba T. et al. Alien plant invasion in the ruderal vegetation of Ukraine // Environ. Socio-Econom. Stud. 2021. P. 57–70. <https://doi.org/10.2478/envirom-2021-0025>
17. Dubyna D. V., Dziuba T. P., Iemelianova S. M. et al. Alien Species in the Pioneer and Ruderal Vegetation of Ukraine // Diversity. 2022. 14, 1085. 31 p. <https://doi.org/10.3390/d14121085>
18. Ellstrand N. C., Schierenbeck K. A. Hybridisation as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? // Proc. Natl. Acad. Sci. 2000. P. 7043–7050. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.13.7043>
19. EPPO. *Heracleum mantegazzianum*, *Heracleum sosnowskyi* and *Heracleum persicum* // EPPO Bulletin. 2009. P. 489–499.
20. EU Biodiversity Strategy for 2030. European Commission. Brussels. 2020. 23 p. Downloaded from: https://environment.ec.europa.eu/strategy/biodiversity-strategy-2030_en
21. Fröberg L. *Heracleum L.* // Flora Nordica (Thymelaeaceae to Apiaceae). Stockholm, Sweden: The Swedish Museum of Natural History. 2010. P. 224–234.
22. Gazoulis I., Antonopoulos N., Kanatas P. et al. Invasive Alien Plant Species—Raising Awareness of a Threat to Biodiversity and Ecological Connectivity (EC) in the Adriatic-Ionian Region // Diversity. 2022. P. 1–27. <https://doi.org/10.3390/d14050387>
23. Goncharenko I., Koniakin S., Leshcheniuk O. Giant hogweeds (*Heracleum mantegazzianum* and *H. sosnowskyi*) in Ukraine: distribution, ecological and coenotical features // Folia Oecologica. 2024. Vol. 51 (1). P. 93–107. Downloaded from: <https://sciendo.com/article/10.2478/foecol-2024-0010>
24. Grace J., Nelson M. Insects and their pollen loads at a hybrid *Heracleum* site // New Phytologist. 1981. Vol. 87. P. 413–423.
25. Grul'ová D., Baranová B., Eliašová A. et al. Does the invasive *Heracleum mantegazzianum* influence other species by allelopathy? // Plants. 2024. P. 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants13101333>
26. Grzędzicka E. Assessment of habitat selection by invasive plants and conditions with the best performance of invasiveness traits // Diversity. 2023. P. 1–18. <https://doi.org/10.3390/d15030333>
27. Grzędzicka E. Invasion of the giant hogweed and the Sosnowsky's hogweed as a multidisciplinary problem with unknown future: A review // Earth. 2022. P. 287–312. <https://doi.org/10.3390/earth3010018>

28. Grzędzicka E., Hanzelka J., Reif J. The impact of invasive Caucasian hogweeds on birds depends on areas of invaded and uninvaded habitats at various scales in Central European uplands // *Ecol. Indic.* 2022. Vol. 141. P. 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109082>
29. Guidance Note Management of Giant Hogweed // PCA UK. 2023. 16 p. Downloaded from: [https://www.property-care.org/write/MediaUploads/Technical%20Documents/Management of Giant Hogweed-Nov2023 -TechnicalDoc.pdf](https://www.property-care.org/write/MediaUploads/Technical%20Documents/Management%20of%20Giant%20Hogweed-Nov2023-TechnicalDoc.pdf)
30. Hall R. M., Urban B., Durec N. et al. Heat treatment of seeds to control invasive common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), narrow-leaved ragwort (*Senecio inaequidens*) and giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) // *Plants.* 2024. P. 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants13030341>
31. Heywood V. H., Sharrock S. European Code of Conduct for Botanic Gardens on Invasive Alien Species // Council of Europe, Strasbourg, Botanic Gardens Conservation International, Richmond. 2013. 64 p.
32. Hoppe I., Haase M., Ritter S. et al. Riesen-Bärenklau (*Heracleum mantegazzianum*), in: ENVISAGE – Erfassung und Management invasiver Neophyten auf landwirtschaftlichen Nutzflächen zur Sicherung der landwirtschaftlichen Produktionsbedingungen // *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut.* 2022. P. 19–40. <https://doi.org/10.5073/20220427-100618>
33. Hyvönen T. T., Hagner M. M., Hurme T. K. et al. Control of *Heracleum mantegazzianum* with pyrolysis liquid products // *Weed Research.* 2023. P. 311–316. <https://doi.org/10.1111/wre.12593>
34. Jahodová Š., Trybush S., Pyšek P. et al. Invasive species of *Heracleum* in Europe: an insight into genetic relationships and invasion history // *Diversity and Distributions.* 2007. P. 99–114. Downloaded from: <http://www.blackwell-synergy.com/servelet/useragent?func=showIssues &code=ddi>
35. Jauni M., Huusela E., Urho L., Hyvönen T. Prioritizing management of invasive alien species of EU concern: A northern perspective // *Diversity.* 2023. P. 1–11. <https://doi.org/10.3390/d15050585>
36. Jodaugienė D., Marcinkevičienė A., Sinkevičienė A., Stulginskis A. Control of *Heracleum sosnowskyi* in Lithuania. Bekämpfung von *Heracleum sosnowskyi* at Litauen // 28. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 27.02. – 01.03.2018 in Braunschweig. 2018. P. 276–281. DOI: 10.5073/jka.2018.458.039
37. Kabay Z., Mamchur Z. Invasive plant species in the valley of the river Strwiaz (Rudkivska OTG Lviv region) // *Scientific principles of biodiversity conservation. Proceedings of Vth (XVIth) International Scientific Conference of Young Scientists (Lviv, 18 October 2023).* 2023. P. 70–72. (In Ukrainian).
38. Kalarus K. The influence of invasive alien plants on umbrella butterflies of the genus *Phengaris* and diversity of Heteroptera true bugs // *Environmental Protection and Natural Resources.* 2023. P. 26–36. <https://doi.org/10.2478/oszn-2023-0003>
39. Kalusová V., Čeplová N., Danihelka J. et al. Alien plants of Europe: an overview of national and regional inventories // *Preslia.* 2024. Vol. 96. P. 149–182. <https://doi.org/10.23855/preslia.2024.149>
40. Kattenborn T., Lopatin J., Förster M. et al. UAV data as an alternative to field sampling to map woody invasive species based on combined Sentinel-1 and Sentinel-2 data // *Remote Sens. Environ.* 2019. Vol. 227. P. 61–73.
41. Khomiak I. V., Onyshchuk I. P., Vakerych M. M., Hasynech Y. S. Adaptation strategies of *Heracleum sosnowskyi* in Ukrainian Polissia // *Biosyst. Divers.* 2024. P. 99–106. doi: 10.15421/012409

42. Kim E., Kim S.-K. Global navigation satellite system real-time kinematic positioning framework for precise operation of a swarm of moving vehicles // *Sensors*. 2022. P. 1–21. <https://doi.org/10.3390/s22207939>
43. Klima K., Synowiec A. Field emergence and the long-term effectiveness of control of *Heracleum sosnowskyi* plants of different ages in southern Poland // *Weed Research*. 2016. 9 p. DOI: 10.1111/wre.12214
44. Koco Š., Dubravská A., Vilček J., Grušová D. Geospatial approaches to monitoring the spread of invasive species of *Solidago* spp. // *Remote Sens*. 2021. P. 1–19. <https://doi.org/10.3390/rs13234787>
45. Krippel Y., Richarz F. Verbreitung und Management von *Heracleum mantegazzianum* Somm. et Lev. (Apiaceae, Spermatophyta) in der Obersauerregion in Luxemburg // *Bulletin de la Société des naturalistes luxembourgeois*. 2013. P. 3–13.
46. Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework // CBD/COP/DEC/15/4. 2022. 15 p. Downloaded from: <https://https/www.cbd.int/doc/c/e6d3/cd1d/daf663719a03902a9b116c34/cop-15-1-25-en.pdf>
47. Letz D. *Heracleum sosnowskyi* in the mountainous part of the Banská Štiavnica Mountains // *SITA*. 2024. P. 55–56.29.
48. Makukh Y., Ivaniuk I., Remeniuk S. et al. Control of *Heracleum sosnowskyi* plant numbers in agricultural and forestry phytocenoses of Ukraine // *Scientific Horizons*. 2021. P. 45–56.
49. Mamchur Z., Chuba M. The ecological features of synanthropic flora in the central dense housing area of Lviv // *Studia Biologica*. 2016. P. 143–154. (In Ukrainian).
50. Mamchur Z., Chuba M., Drach Y. The ecological features of plants on railway tracks in Lviv City // *Studia Biologica*. 2017. P. 135–146. (In Ukrainian).
51. Matarrese E., Renna M. Prospects of Hogweed (*Heracleum sphondylium* L.) as a New Horticultural Crop for Food and Non-Food Uses: A Review // *Horticulturae*. 2023. P. 1–19. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020246>
52. Mežaka A., Zvaigzne A., Tripane E. *Heracleum sosnowskyi* Manden. Monitoring in protected areas—A case study in Rezekne municipality, Latvia // *Acta Biol. Univ. Daugavp.* 2016. Vol. 16 (2). P. 181–189.
53. Motyka B., Motyka Z. Alien invasive hogweeds control. 2016. 11 p. DOI: 10.13140/RG.2.2.33828.07041
54. Müllerová J. *Heracleum mantegazzianum* (giant hogweed). 2024. Subject to the CABI Digital Library Terms & Conditions, available at <https://cabidigitallibrary.org/terms-and-conditions>. Downloaded from <https://cabidigitallibrary.org> by 92.253.236.159, on 07/18/24.
55. Nielsen C., Ravn H.P., Nentwig W., Wade M. (eds.). The Giant Hogweed Best Practice Manual. Guidelines for the management and control of an invasive weed in Europe // *Forest & Landscape Denmark*, Hoersholm. 2005. 44 p.
56. Ochsmann J. *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae) in Germany. Studies on biology, distribution, morphology, and taxonomy // *Feddes Repertorium*. 1996. Vol. 107 (7–8). P. 557–595.
57. Perrier C. Une belle Caucasienne aux ambitions d'ambrosie: la Berce du Caucase (*Heracleum mantegazzianum* Sommier et Levier, Apiaceae) // *Bulletin de la Société Botanique du Dauphiné*. 2001. P. 11–14. <http://www.tela-botanica.org/papyrus.php?menu=215>
58. PM 10/25 (1), PM 10/26 (1) Phytosanitary treatments Traitements phytosanitaires // *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2018. P. 533–535
59. PM 9/9 (2) *Heracleum mantegazzianum*, *H. sosnowskyi* and *H. persicum* // *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2020. Vol. 50 (3). P. 515–524. <https://doi.org/10.1111/epp.12687>

60. Protopopova V., Shevera M. *Heracleum mantegazzianum* Sommier et Levier in Ukraine. The ecology and management of the Giant Alien *Heracleum mantegazzianum* // Final Inter. Workshop of the «Giant Alien» Project: programme and proceedings (21–23 Feb. 2005, Giessen). 2005. P. 26.
61. Prots B. Invasion success of alien plant species in the Carpathian region of Ukraine // Scientific Herald of Chernivtsi University. Biological systems. 2013. P. 116–121.
62. Pyšek P., Cock M. J. W., Nentwig W., Ravn H. Ecology and management of giant hogweed: (*Heracleum mantegazzianum*). 2007. 326 p.
63. Rajmis S., Thiele J., Marggraf R. A cost-benefit analysis of controlling giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) in Germany using a choice experiment approach // NeoBiota, 2016. Vol. 31. P. 19–41. DOI: 10.3897/neobiota.31.8103
64. Rapinel S., Hubert-Moy L. One-Class Classification of Natural Vegetation Using Remote Sensing: A Review // Remote Sens. 2021. Vol. 13, Article 1892.
65. Regulation (EU) No 1143/2014 of the European Parliament and of the Council of 22 October 2014 on the prevention and management of the introduction and spread of invasive alien species. 2014. 21 p. Downloaded from: <http://data.europa.eu/eli/reg/2014/1143/oj>
66. Renčo M., Jurová J., Gömöryová E., Čerevková A. Long-Term Giant Hogweed Invasion Contributes to the Structural Changes of Soil Nematofauna // Plants (Basel). 2021. 18 p. DOI: 10.3390/plants10102103
67. Resiga O. E. The effects of future climate change on physiological traits and competitive abilities of invasive riparian plants *Impatiens glandulifera* and *Heracleum mantegazzianum* // Durham theses, Durham University. 2022. 96 p. Available at: <http://etheses.dur.ac.uk/14644/>
68. Rijal D., Alm T., Lennart N., Alsos I. Giant invasive *Heracleum persicum*: Friend or foe of plant diversity? // Ecol. Evol. 2017. P. 1–15. DOI: 10.1002/ece3.3055
69. Rijal D. P. Invasive *Heracleum* in northern Europe: Introduction history and impact on native plant diversity. 2016. 44 p.
70. Roy H. E., Pauchard A., Stoett P. et al. Summary for Policymakers of the Thematic Assessment Report on Invasive Alien Species and their Control of the Intergovernmental Science // Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. IPBES secretariat, Bonn, Germany. 2023. 56 p. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7430692>
71. Sabat-Tomala A., Raczko E., Zagajewski B. Comparison of Support Vector Machine and Random Forest Algorithms for Invasive and Expansive Species Classification using Airborne Hyperspectral Data // Remote Sens. 2020. P. 1–21. <https://doi.org/10.3390/rs12030516>
72. Savinkova V., Mamchur Z. Plant invasions in the Dniester Canyon National Natural Park // Materials of the All-Ukrainian Scientific Conference “The State and Biodiversity of the Ecosystems of the Shatsky National Natural Park and Other Nature Conservation Areas”, dedicated to the memory of Professor, Doctor of Biological Sciences Kostya Adrianovich Tatorynov (September 9–12, 2021, Lviv). Lviv: SPOLOM, 2021. P. 102–103. (In Ukrainian).
73. Schermer M., Hogeweg L. Supporting citizen scientists with automatic species identification using deep learning image recognition models // Biodiversity Information Science and Standards. 2018. Vol. 2. e25268. <https://doi.org/10.3897/biss.2.25268>
74. Schierenbeck K., Ellstrand N. Hybridisation and the evolution of invasiveness in plants and other organisms // Biological Invasions. 2009. Vol.11. P. 1093–1105.
75. Schulte to Bühne, H., Pettorelli N. Better Together: Integrating and Fusing Multispectral and Radar Satellite Imagery to Inform Biodiversity Monitoring, Ecological Research and Conservation Science // Methods Ecol. Evol. 2018. Vol. 9. P. 849–865.

76. Seier M. K., Wittenberg R., Ellison C. A. et al. Surveys for natural enemies of giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) in the Caucasus region and assessment for their classical biological control potential in Europe // Proceedings XI International Symposium on Biological Control of Weeds, Canberra, Australia. 2003. P. 149–154.
77. Shevera M. V. Tendency to the expansion of adventive plants on the railways in Transcarpathia // Ukrainian Botanical Journal. 1996. P. 136–138.
78. Słowiński K., Grygierzec B., Synowiec A. et al. Preliminary study of control and biochemical characteristics of giant hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) treated with microwaves // Agronomy. 2022. Vol. 12 (6). 20 p. 1335. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061335>
79. Słowiński K., Grygierzec B., Baran A. et al. Biochemistry of microwave controlled *Heracleum sosnowskyi* (Manden.) roots with an ecotoxicological aspect // Scientific Reports. 2024. Vol. 14 (1). P. 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-65164-4>
80. Solomiichuk M. Systematic approach in the struggle against *Heracleum sosnowskyi* with GPS mapping usage // Quarantine and Plant Protection. 2024. P. 29–35. <https://doi.org/10.36495/2312-0614.2024.2.29-35> (In Ukrainian).
81. Stewart F., Grace J. An experimental study of hybridization between *Heracleum mantegazzianum* Somm. & Levier and *H. sphondylium* (Umbelliferae) // Watsonia. 1984. Vol. 15. P. 73–83.
82. Stojanović V., Stojanović S., Kovačević J. et al. *Heracleum sosnowskyi* Manden. (Apiaceae) – A new invasive species in the flora of Serbia // Glasnik Šumarskog fakulteta [Bulletin of the Faculty of Forestry, University of Belgrade]. 2017. Vol. 116. P. 215–220. <https://doi.org/10.2298/GSF1716215S>
83. Sužiedelytė Visockienė J., Tumelienė E., Maliene V. Identification of *Heracleum sosnowskyi*-invaded land using earth remote sensing data // Sustainability. 2020. Vol. 12 (3). P. 2–13. <https://doi.org/10.3390/su12030759>
84. Świechowski K., Rosik J., Bednik M. et al. *Heracleum sosnowskyi* pyrolysis – Energy and environmental aspects of biochar utilization // Bioresour. Technol. 2024. Vol. 408. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131169>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852424008733>)
85. Tokaryuk A. I., Chorney I. I., Iakushenko D. M. The alien flora of the National Nature Park «Vyzhnytskyi» // Biological systems. 2024. Vol. 16. Is. 1. P. 127–138. <https://doi.org/10.31861/biosystems2024.01.126> (in Ukrainian).
86. UN Convention on Biological Diversity: text and annexes // Secretariat of the Convention on Biological Diversity. 2011. 36 p. Downloaded from: <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-en.pdf>
87. Vanaga I., Gurkina J., Treikale O. et al. Influence of *Heracleum sosnowskyi* control measures on weed diversity in agricultural fields in Latvia // Agron. Res. 2006. Vol. 4 (Special issue). P. 433–436.
88. Vladimirov V., Assyov B., Petrova A. First record of an invasive alien plant species of EU concern in Bulgaria: *Heracleum sosnowskyi* Manden. (Apiaceae) // Acta Zool. Bulg. 2017. Vol. 9. P. 47–51.
89. Vykhor B., Prots B. Control of the population of the Sosnowsky's hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) // Youth and Progress in Biology: Proc. XI Int. Conf. (20–23 April, 2015, Lviv). 2015. P. 213–215. (In Ukrainian).
90. Vykhor B., Prots B. Sosnowsky's hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) in the Transcarpathia: ecology, distribution and the impact on environment // Studia Biologica. 2012. Vol. 6. N 3. P. 185–196. (In Ukrainian).

91. *Wäldchen J., Mäder P.* Machine learning for image-based species identification // *Methods Ecol. Evol.* 2018. Vol. 9. P. 2216–2225.
92. *Žalnierius T., Šveikauskas V., Aphalo P. J.* et al. Gibberellic Acid (GA3) Applied to Flowering *Heracleum sosnowskyi* Decreases Seed Viability Even If Seed Development Is Not Inhibited // *Plants.* 2022. Vol. 11 (13). 314. 11 p. <https://doi.org/10.3390/plants11030314>
93. <https://canalrivertrust.org.uk/things-to-do/canal-and-river-wildlife/canal-and-river-invasive-species-eradication-project-2021-2025>
94. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.120209>
95. <https://inaturalist.org/pages/about>
96. <https://gd.eppo.int/taxon/HERSO/distribution>
97. <https://gpsgeometer.com/en/blog/what-is-gnss-rtk-and-how-does-it-work>
98. <https://www.as-motor.uk/expert-tips/combating-giant-hogweed-with-as-motors-remote-controlled-ride-on-mower-as-940-sherpa-4wd-rc>
99. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.108958>
100. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.26911>
101. <https://www.inaturalist.org/taxa/130228-Heracleum-mantegazzianum>
102. <https://www.inaturalist.org/taxa/499936-Heracleum-sosnowskyi>
103. <https://www.inaturalist.org/taxa/516305-Heracleum-persicum>
104. <https://www.invasivespecies.scot/giant-hogweed-and-sheep-trial>
105. <https://www.nobanis.org/species-info/?taxaId=752>
106. <https://www.nonnativespecies.org/local-action-groups-lags/rapid-life-project>
107. <https://www.unep.org/resources/report/invasive-alien-species-report>

Стаття надійшла до редакції 22.07.24

доопрацьована 18.09.24

прийнята до друку 20.09.24

ОГЛЯД СУЧАСНИХ ПІДХОДІВ ДО УПРАВЛІННЯ ІНВАЗІЙНИМИ ВИДАМИ РОДУ *HERACLEUM* У ЄВРОПІ

П. Насадюк, З. Мамчур

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: zvenyslava.mamchur@lnu.edu.ua; dzvinkamamchur@gmail.com

У статті розглянуто актуальність проблеми інвазивних чужорідних видів (ІЧВ) у Європі, висвітлено біоекологічні характеристики інвазивних видів роду *Heracleum* (*H. mantegazzianum*, *H. persicum*, та *H. sosnowskyi*) та історичні шляхи інтродукції. Наведено статистику поширення цих видів та їхній негативний вплив на біорізноманіття і стійкість екосистем.

Поширення інвазивних видів роду *Heracleum* має далекосяжні наслідки, впливаючи не лише на стійкість екосистем, а й на економіку та охорону здоров'я. Показано, що екологічні наслідки впливу виявляються у здатності цих видів не лише витіснити місцеву флору та порушувати природні екосистеми, а й впливати на різні сфери господарської діяльності. Агресивний характер росту й аллопатичні ефекти цих рослин призводять до значних економічних витрат, пов'язаних з управлінням земельними ресурсами та продуктивністю сільського господарства. Наведені приклади різних механізмів впливу інвазивних видів роду *Heracleum* підкреслюють

їхній згубний вплив на екосистеми та здоров'я людини. Зокрема, фототоксичні речовини *Heracleum* spp. створюють серйозні ризики для здоров'я людей, зумовлюючи запалення шкіри та довготривалу фоточутливість. Детально розглянуто різні методи контролю, викорінення та профілактику поширення видів *Heracleum* spp. у Європі, а саме механічні, біологічні й хімічні методи, а також профілактичні стратегії. Акцентується також увага на методах контролю після викорінення, утилізації рослинних відходів, що утворюються під час ліквідації, відновлення природної рослинності. Проаналізовано ключові кроки комплексного підходу для ефективного зменшення вторгнення *Heracleum* spp. на нові території.

Показано гостру потребу в комплексних стратегіях управління для пом'якшення впливу інвазивних видів роду *Heracleum* і запобігання подальшому поширенню. Зазначається, що контроль ІЧВ є важливою міжнародною проблемою, яка потребує скоординованих зусиль на рівні ЄС та ООН. Зроблено висновок про інтегрований підхід до управління, який поєднує фізичні, хімічні та біологічні методи, пристосовані до конкретних регіональних умов і узгоджені з міжнародними цілями щодо біорізноманіття. Обговорено роль громадської обізнаності й освіти в запобіганні поширенню інвазивних видів. Підкреслено важливість залучення громадськості до ініціатив із раннього виявлення та швидкого реагування, які мають вирішальне значення для успішного управління чужорідними інвазивними видами рослин.

Ключові слова: *Heracleum mantegazzianum*, *Heracleum persicum*, *Heracleum sosnowskyi*, інвазивні чужорідні види, контроль видів роду *Heracleum*, біорізноманіття

**ПОГЛЯД УСЕРЕДИНУ: ГНІЗДОВІ МАТЕРІАЛИ
І ДЕЯКІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ГНІЗДОВОЇ БІОЛОГІЇ КОНОПЛЯНКИ
LINARIA CANNABINA (LINNAEUS, C 1758) НА ЛЬВІВЩИНІ**

О. Гнатина, Т. Макітра

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: oksana.hnatyna@lnu.edu.ua*

У статті розглянуто деякі аспекти гніздової біології коноплянки *Linaria cannabina* (Linnaeus, 1758) на Львівщині. Розкрито питання розміщення, складу гнізд і факторів, які на це впливають. Матеріалом слугували дані Банку анкет на гнізда і кладки птахів Західноукраїнського орнітологічного товариства (ЗУОТ) (n=181) та власні збори (n=18) протягом 40 років (з 1973 до 2012 рр.). Гнізда зібрано в різних біотопах і залежно від відстані до населеного пункту розділено на три групи (в межах населених пунктів, на їхніх околицях і далеко за межами в умовно природних біотопах). Виявлено, що для розміщення гнізд коноплянка обирає частіше хвойні породи (переважно молоді ялини, туї чи ялівці). Серед листяних порід виявлено дерева, значне різноманіття чагарників і виткі ліани (плющ). У виборі місця розташування гнізда для коноплянки важливою є архітектоніка надземної частини рослини, тому навіть дерева були обрані ті, які подібні до чагарників. Дуже часто коноплянка розміщує гнізда в різноманітних живоплотах (спірея, акація жовта тощо). Ймовірно, завдяки тому, що гніздо добре замасковане, висота його розміщення невелика (0,2–2,2 м, у середньому на $1,10 \pm 0,03$ м). Основні матеріали, які коноплянка обирає для побудови гнізд, типові для птахів цього виду у Європі. Гнізда містили рослинні (у 100 % досліджених гнізд), тваринні (98,4 %) та іноді (23,2 %) компоненти антропогенного походження (КАП). Із рослинних матеріалів коноплянка найчастіше обирає для гнізда корінці та стебла трав'янистих рослин, рідше гілки та листя дерев, рослинний пух і мох. Серед матеріалів тваринного походження у вистилці гнізда часто траплялися шерсть звірів і пір'я птахів. Частина гнізд містила КАП у різній кількості (найчастіше вата). Базовими гніздовими матеріалами коноплянки на Львівщині були дрібні корені та стебла одно- і дводольних трав'янистих рослин, а у лотку – шерсть і волосся ссавців, пір'я птахів, вата. Наявність КАП у гніздах птахів залежить від ступеня віддаленості населених пунктів і часу побудови гнізда. За кілька останніх десятиліть частота використання КАП у гніздах коноплянки стрімко зросла, що може свідчити про більше засмічення довкілля, а також, можливо, про звикання використовувати такі матеріали.

Ключові слова: коноплянка *Linaria cannabina*, матеріали гнізда, вплив середовища на склад гнізда, екологічна пластичність, Львівщина

Коноплянка *Linaria cannabina* (Linnaeus, 1758) є одним із видів птахів, що заселяє як природні, так і антропогенно змінені території, легко пристосовується до гніздування у зміненому людиною середовищі, тому є хорошим модельним видом для дослідження того, наскільки і як птахи пристосовуються до змін середовища.

Загалом, інформація про гніздові матеріали коноплянки представлена в різних

публікаціях. Відомо, що для побудови гнізда коноплянка використовує стебла й листя злаків, коріння, мох, луб'яні волокна, а лоток вистеляє шерстю і волоссям ссавців, пір'ям птахів, іноді трапляються вата й нитки [8, 11, 12]. Є також інформація про склад гнізда коноплянки і з різних частин заходу України, отже, можна порівняти матеріали гнізд цього виду на різних територіях.

Ми зосередили увагу на дослідженні деяких питань гніздової біології, адже гніздо є ключовою конструкцією для успішного розмноження птахів. Мета дослідження – проаналізувати закономірності гніздової біології коноплянки: вибір місця розташування гнізда, висота його розташування, склад гніздового матеріалу і вплив середовища на ці закономірності. Питання, що висвітлюється у статті, важливе з огляду на трансформацію середовища й охорону тваринного світу.

Матеріали та методи

Матеріалом для написання статті слугувала інформація про гнізда коноплянки *Linaea cannabina* з території Львівщини, зібрана членами Західноукраїнського орнітологічного товариства (Банк гнізд, n=181) [7] та власні збори (n=18). Із них інформацію про гніздові матеріали містили 193 анкети. Інформацію про гнізда було отримано з анкет і власних спостережень: І. М. Горбаня (140 анкет), Д. М. Дрозда (12), О. С. Гнатини (11), А. А. Паука (6), А. А. Бокотєя (5), А. І. Гузія (4), А.-Т. В. Башти, О. А. Мальованого (3), К. А. Татарінова, В. О. Пограничного, О. В. Салюка, М. А. Сенік, Я. Є. Штиркала, Г. В. Бойка, Л. І. Давидович, Ю. Б. Стецишина, Н. Ю. Соколова, М. В. Хими́на (менше 3-х).

Інформацію про гнізда отримано як у процесі гніздування коноплянки (квітень–липень, коли там містились яйця або пташенята), так і в різні періоди після завершення гніздування (березень, вересень–грудень). Час збору може мати вплив на виявлення різноманітності гніздових матеріалів. Наприклад, коли у гнізді перебували пташенята, то, ймовірно, склад матеріалів лотка висвітлено не повністю, щоб надмірно не турбувати пташенят. Таким чином, можуть бути не виявленими, наприклад, штучні чи компоненти тваринного походження, які найчастіше трапляються у лотку. Цю обставину варто взяти до уваги.

Гнізда виявлено протягом чотирьох десятиків років з 1973 до 2012 р., при цьому в 1973–1980 рр. зібрано інформацію про 131, у 1981–1990 рр. – про 33, у 1991–2000 рр. – про 15, у 2001–2012 рр. – про 20 гнізд. Більшість гнізд зібрано в околицях населених пунктів (56,2 %), у населених пунктах (23,7 %) і далеко за межами в умовно природних біотопах (20,1 %).

Результати і їхнє обговорення

Коноплянка пристосовується до змінених людиною біотопів. Гніздиться як поза межами населених пунктів в умовно природних біотопах, так і в межах населених пунктів, де заселяє як більші чи менші острівці рослинних насаджень (парки, сади, алеї, цвинтарі), так і окремі чагарники чи дерева з відповідною структурою крони. Цей птах здатен навіть відходити від звичного стереотипу гніздування і розміщувати гнізда в нетипових штучно створених місцях [1].

Частіше гнізда були збудовані на хвойних породах (ялина, туя, ялівець), ніж на листяних (різні види чагарників і дерев, а також ліани) (табл. 1). Два гнізда в околицях міста були розміщені на антропогенних конструкціях: одне гніздо – на мості автомобіля на стоянці автомашин серед луки, друге – на металевій підставці машини на довгостроковій стоянці військових машин. Варто зауважити, що в цих умовах не бракувало місця для розташування гнізда поруч, у не зміненому людиною середовищі.

Коноплянка на Львівщині розміщувала гнізда невисоко над землею – 0,2–2,2 м, в середньому на $1,10 \pm 0,03$ м ($n=175$) (крім двох гнізд на висоті 3 і 4 м). При цьому більшість (89,8 %) гнізд збудовані на висоті від 0,5 до 2,0 м, із них 46,3 % на висоті від 0,5 до 1,0 м (рис. 1). Середня висота розміщення гнізда над землею нижча для листяних $1,03 \pm 0,06$ ($n=69$, від 0,2–2,0, крім одного гнізда на висоті 3 м), ніж для хвойних $1,14 \pm 0,04$ ($n=112$, від 0,5–2,2, крім одного гнізда на висоті 4 м), хоча статистично достовірної різниці не виявлено.

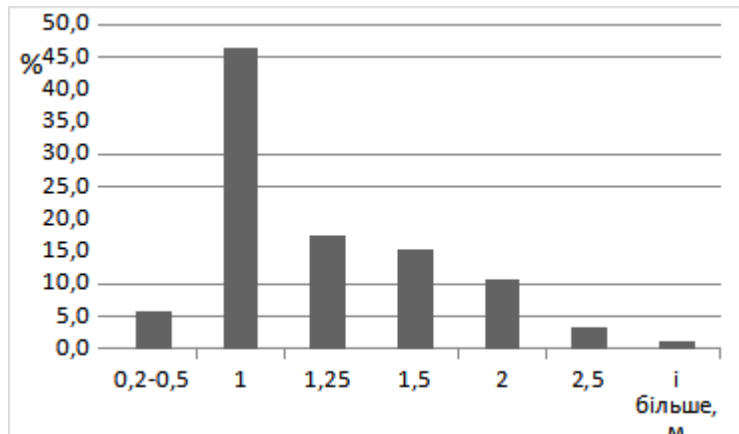


Рис. 1. Висота розміщення гнізд коноплянки на Львівщині ($n=177$)

Середня висота розміщення гнізд на чагарниках і деревах була однаковою (табл. 1). Це означає, що коноплянка вибирає ті дерева, котрі подібні за структурою розміщення гілок до чагарників (мають гущішу крону невисоко над землею). Очевидно, вибір місця для розташування гнізда не так залежить від виду рослини, як від структури розміщення її надземних частин.

Таблиця 1

Висота розміщення гнізд коноплянки ($n=178$) на різних рослинах на Львівщині

| Життєві форми рослин | Рід рослини (n) | Середня висота $M \pm m$, м | Min – max, м |
|------------------------------|---|------------------------------|----------------------------------|
| Хвойні 60,7 % | туя західна <i>Thuja occidentalis</i> ($n=21$) | $1,60 \pm 0,10$ | 1,1–2,2 (і одне на висоті 4 м) |
| | ялина звичайна <i>Picea abies</i> (часто молоді) ($n=74$) | $1,03 \pm 0,04$ | 0,5–2,0 |
| | ялівець <i>Juniperus</i> sp. ($n=13$) | $0,93 \pm 0,12$ | 0,4–1,5 |
| Листяні дерева 1,7 % | робінія звичайна <i>Robinia pseudoacacia</i> (1), алича <i>Prunus cerasifera</i> (1), клен <i>Acer</i> sp. (1) | $0,96 \pm 0,32$ | 0,25–2,00 |
| Листяні чагарники* 31,5 % | смородина <i>Ribes nigrum</i> 23, спірея <i>Spiraea</i> sp. 14, алича <i>Prunus divaricata</i> 3, бузина чорна <i>Sambucus nigra</i> 3, глід <i>Crataegus</i> sp. 2, акація жовта <i>Caragana arborescens</i> 2, шипшина <i>Rosa canina</i> 1, терен <i>Prunus spinosa</i> 1, садовий жасмин звичайний <i>Philadelphus coronarius</i> 1, виноград <i>Vitis vinifera</i> 1, калина <i>Viburnum opulus</i> 1, граб звичайний <i>Carpinus betulus</i> 1, інші (живопліт і чагарники 3) | $0,96 \pm 0,05$ | 0,25–2,00 |
| Ліани 6,2 % | плющ звичайний <i>Hedera helix</i> (10), лимонник китайський <i>Schisandra chinensis</i> (1) | $1,55 \pm 0,13$ | 0,9–2,0 м (і одне на висоті 3 м) |

Примітки: * – рослини були в життєвій формі чагарника; назви рослин подано згідно з З. І. Мамчур, А. В. Одінцовою [2]

Основні матеріали, які коноплянка обирає для побудови гнізд, типові для птахів у Європі. Проаналізовані гнізда містили рослинні (виявлено у 100 % досліджених гнізд), тваринні (98,4 %) та штучні (23,2 %) (табл. 2). Із рослинних матеріалів коноплянка найчастіше обирала для гнізда корінці та стебла трав'янистих рослин, хоч були представлені також гілки та листя дерев, рослинний пух і мох. Серед матеріалів тваринного походження у вистилці гнізда невід'ємними були шерсть звірів і пір'я птахів. Варто зауважити, що частина гнізд містила КАП у різній кількості. Серед них переважали вата і трохи рідше нитки й волокна (табл. 2). Тому базовими гніздовими матеріалами коноплянки на Львівщині були дрібні корені та стебла одно- і дводольних трав'янистих рослин, а у лотку – шерсть і волосся ссавців, пір'я птахів, вата, що збігається з результатами А. Бокотея для заходу України [6].

Таблиця 2

Гніздові матеріали коноплянки на Львівщині (n=193)

| Частка трапляння | Матеріали гнізд | n | Частка трапляння (з усіх 193 гнізд), % | Частка трапляння у групах (з рослинними, тваринними, штучними), % |
|-----------------------------|--------------------------|-----|--|---|
| Рослинні n=193 100 % | корінці трав'яних рослин | 165 | 85,5 | 85,5 |
| | стебла трав'яних рослин | 65 | 33,7 | 33,7 |
| | гілки дерев (дрібні) | 18 | 9,3 | 9,3 |
| | мох | 16 | 8,3 | 8,3 |
| | рослинний пух | 12 | 6,2 | 6,2 |
| | листки дерев | 8 | 4,1 | 4,1 |
| Тваринні n=190 98,4 % | шерсть | 152 | 78,8 | 80,0 |
| | волосся | 50 | 25,9 | 26,3 |
| | тваринний підшерсток | 12 | 6,2 | 6,3 |
| Штучні n=45 23,2 % | пір'я (птахів) | 141 | 73,1 | 74,2 |
| | вата, штучний пух | 28 | 14,5 | 62,2 |
| | нитки | 17 | 8,8 | 37,8 |
| | волокна | 10 | 5,2 | 22,2 |
| | мотузки | 6 | 3,1 | 13,3 |
| | тканина | 6 | 3,1 | 13,3 |
| | фільтри цигарок | 3 | 1,6 | 6,7 |
| | целофан | 2 | 1,0 | 4,4 |
| | папір | 2 | 1,0 | 4,4 |
| | дріт | 1 | 0,5 | 2,2 |
| | рибальська волосінь | 1 | 0,5 | 2,2 |
| пінопласт | 1 | 0,5 | 2,2 | |

Примітки: «частку трапляння» (з усіх 193 гнізд) розраховано як відсоток гнізд, що містили певний матеріал, від усіх гнізд; «частку трапляння у групах» розраховано як частку гнізд із певним матеріалом від усіх гнізд із груп (рослинні – 193, тваринні – 190, штучні – 45)

Одне із двох гнізд, розміщених на антропогенних конструкціях в околиці міста, містило менш ніж звичайно рослинних матеріалів, натомість більше антропогенних (товсті й тонкі мотузки, шматки тканини, багато вати), а тваринні матеріали стандартно були представлені шерстю свійських тварин і кінським волоссям. Варто зауважити, що в цьому разі не бракувало природних матеріалів для гнізда в не зміненому людиною середовищі навколо. А. Бокотей [1] вказує, що гнізда на антропогенних конструкціях робили коноплянки на початку гніздового сезону.

Насіння складноцвітих (летюче; бур'яни, будяки *Carduus*) рідко (5 гнізд) траплялося в гніздах коноплянки як у свіжозбудованих, так і у гніздах після закінчення гніздового сезону й у минулорічних гніздах. Наскільки такий матеріал як насіння є важливим для гнізда коноплянки, важко сказати, але якщо взяти до уваги, що насіння будяка поширюється

вітром і для цього має добре розвинені папуси, то можна припустити, що воно заноситься у гнізда вітром. Той факт, що насіння будяка виявлене у 3-х свіжих гніздах (з кладкою) і переважно в лотку, може також свідчити про те, що птах цілеспрямовано збирає минулорічні летючки (у квітні–травні свіжих ще немає), адже добре розвинені папуси функціонують як пух для вистилки гнізда (тому насіння з папусами ми залучили до категорії рослинний пух).

У 23,2 % гнізд виявлено неприродні (штучні) чи змінені/занесені людиною матеріали (табл. 2). Це найчастіше вата, штучний пух, нитки, волокна, мотузки, тканина. Рідше коноплянка вплітала у гніздо фільтри цигарок, целофан і папір, поодинокі – дрід, рибальську волосін і пінопласт. Як згадувалося вище, гнізда коноплянки зібрані у трьох групах біотопів за віддаленістю від населених пунктів: на околицях (56,2 %), у населених пунктах (23,7 %) і далеко за межами в умовно природних біотопах (20,1 %). Частка гнізд зі штучними матеріалами очікувано виявилася найменшою у природних біотопах (12,8 % із усіх гнізд у природних біотопах), більшою в околицях (22,0 %) і найбільшою в межах населених пунктів (34,8 %) (рис. 1), що, очевидно, пов'язано з доступністю таких матеріалів, тобто із засміченістю довкілля побутовими відходами. Коноплянки знаходили нетипові матеріали для гнізд навіть далеко за межами населених пунктів. Це свідчить як про те, що такі матеріали потрапляють у середовище, так і про те, що не завжди птахи використовують такі матеріали за відсутності природних. У цьому разі ми можемо пояснити факти наявності вати у гніздах коноплянки тим, що на вигляд вона дуже нагадує рослинний пух і шерсть ссавців, а за походженням як штучний, так і рослинний (хоч і не характерний для Львівщини) матеріал і його потрапляння в середовище пов'язані з діяльністю людини (засмічення).

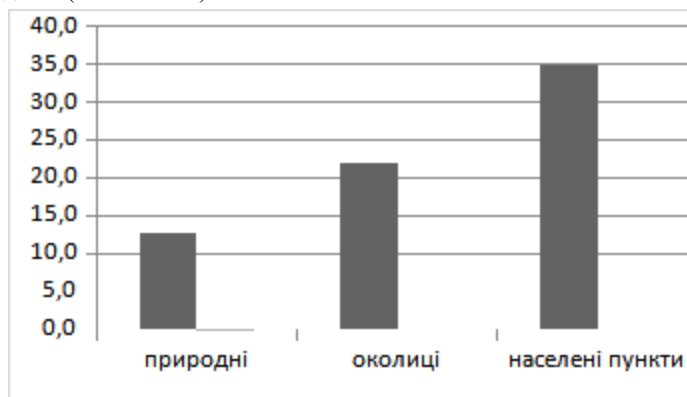


Рис. 2. Частка гнізд (%) із КАП у різних типах біотопів залежно від їхнього розташування щодо населених пунктів

Частота використання КАП у гніздах коноплянки може бути ще вищою (85,7 % гнізд) [10], що в кілька разів більше, ніж у цьому дослідженні за весь період. Таку різницю можна пояснити як місцем, так і часом збору гнізд. У згаданому дослідженні аналізували склад гнізд, зібраних за два останніх десятиліття, переважно в межах населених пунктів. Таку закономірність виявили і в нашому дослідженні для гнізд, зібраних упродовж 2001–2012 рр. (табл. 3).

Базовий склад гнізд, збудованих на хвойних і листяних видах дерев, відрізнявся незначно. Проте t-тест (парний двовибірковий t-тест для середніх) виявив різницю ($p=0,97$) в частоті трапляння рослинних матеріалів. Частіше виявлено листя дерев і стебла

дводольних у гніздах, розміщених на листяних породах. Різниця була також у складі КАП, хоча t-тест не визначив її достовірною ($p=0,60$).

Якщо порівняти склад матеріалів гнізда у біотопах із різним антропогенним навантаженням, то в умовно природних біотопах у складі гнізд частіше з'являлися стебла трав'янистих рослин, мох, рослинний і тваринний пух, а серед КАП виявлено тільки вату. Натомість, у гніздах в околицях населених пунктів птахи частіше використовували коріння (дрібне) трав'янистих рослин і різноманітні матеріали антропогенного походження (вата, нитки, волокна, мотузки, тканина, фільтри цигарок, целофан, папір, дріт, рибальська волосін, пінопласт). Останнє справедливе і для гнізд у населених пунктах. Виявлено достовірну різницю в частоті використання КАП у природних біотопах і в межах населених пунктів ($p=0,95$) та у природних біотопах і в околицях населених пунктів ($p=0,98$).

Щоби зрозуміти вплив часу збору на частоту використання КАП, ми розглянули три часових періоди (табл. 3). У першому (1973–1980 рр.) виявлено найменший відсоток гнізд із КАП. Однією з причин є те, що кількість гнізд, збудованих у цьому періоді в населених пунктах (де найчастіше птахи збирають штучні матеріали), є найменшою з трьох часових відрізків, проте є багато гнізд з околиць населених пунктів.

Часові періоди 1981–1990 рр. і 1991–2000 рр. ми об'єднали, оскільки частка гнізд із КАП у цей період є майже однаковою (28,1 % та 28,6 %) і удвічі більшою, ніж за попереднє десятиліття. Однією з причин є те, що більшість гнізд із цього періоду зібрані у населених пунктах. Проте кількість гнізд в умовно природних біотопах удвічі більша, ніж у попередньому.

У третьому часовому відрізку (2001–2012 рр.) частка гнізд зі штучними компонентами найбільша (90 %), а кількість гнізд із населених пунктів незначно більша, ніж у попередньому.

Таблиця 3

Частка гнізд із КАП у різні часові періоди в різних біотопах

| Роки | 1973–1980 | | 1981–2000 | | 2001–2012 | |
|-----------------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
| % гнізд з КАП | 11,0 | | 28,3 | | 90,0 | |
| Біотопи | n | % | n | % | n | % |
| Природні | 22 | 17,2 | 18 | 39,1 | 1 | 5,0 |
| Околиці | 88 | 68,8 | 9 | 19,6 | 10 | 50,0 |
| Населені пункти | 18 | 14,1 | 19 | 41,3 | 9 | 45,0 |

Статистичний аналіз даних виявив істотний сильний кореляційний зв'язок ($r=0,882$) високого ступеня достовірності ($p>0,97$) між відсотком гнізд із наявністю штучних матеріалів і часом побудови гнізда ($n=8$). Отже, бачимо різке зростання частоти використання КАП упродовж останніх десятиліть.

З цього можна зробити висновок, що коноплянки частіше використовують штучні матеріали в населених пунктах і за останні десятиліття. Це може свідчити про тенденцію до зростання забрудненості довкілля сміттям, а, можливо, і про те, що коноплянки пристосувалися до використання таких матеріалів.

Найчастіше для побудови гнізда коноплянки на Львівщині використовували корінці та стебла трав'янистих рослин, шерсть і волосся звірів, пір'я птахів, а з КАП – вату й нитки. Базовий склад гнізд коноплянки в різних географічних регіонах заходу України (Полісся, Прикарпаття, Карпати) був подібний і відрізнявся лише наявністю деяких додаткових матеріалів [3–6].

Розміщення гнізд у біотопах із наявністю хвойних порід мало впливало на склад гнізда. Натомість, коноплянка більше тяжіла до розміщення гнізд на хвойних видах, порівняно з листяними.

Виявлено, що для розміщення гнізд коноплянки важливою є архітектоніка крони рослини, на якій розміщено гніздо. Зазвичай це більш-менш густе розгалуження крони невисоко над землею.

Гнізда коноплянки будувала невисоко над землею – на кущах і деревах на тій самій висоті, при цьому обирала дерева, подібні за архітектонікою до чагарників. Виткі ліани площі теж придатні для розміщення гнізд коноплянки.

У складі базових матеріалів гнізд коноплянки рослинного і тваринного походження значної різниці в різних біотопах й у різні роки не виявлено, зате така різниця простежується в наявності штучних компонентів. За останні десятиліття виявлено збільшення частоти використання штучних матеріалів у побудові гнізд, що може свідчити як про збільшення їхньої кількості у довкіллі (засмічення), так і, можливо, про звикання коноплянки до використання таких матеріалів. Варто виокремити вибіркоче використання коноплянкою сміття для побудови гнізд, а це переважно подібні до природних матеріали (вата, нитки та ін.).

Про вплив довкілля на склад гнізд коноплянки на півдні Іспанії вказують J. C. Castro-Caro, I. C. Barrio та F. Sánchez Tortosa [9]. Ми виявили, що рівень антропогенної трансформації середовища (у вигляді засмічення) має вплив на наявність у гнізді штучних матеріалів. Так, найбільшу кількість таких гнізд виявлено саме в межах населених пунктів. Близько третини (34,8 %) гнізд у населених пунктах містили штучні матеріали, що може свідчити як про їхню наявність у довкіллі, так і про те, що таке явище в коноплянки досить поширене. Очікувано, найменшу частоту використання штучних матеріалів виявлено в умовно природних біотопах далеко за межами населених пунктів. Це свідчить про найменшу кількість їх у довкіллі та про те, що сміття все-таки потрапляє в середовище навіть далеко за межами населених пунктів. Коноплянка використовує штучні матеріали не тому, що їй бракує природних матеріалів, а, можливо, тому, що вони подібні до природних, або і тому, що є досить гнучкою щодо включення нетипових матеріалів до складу гнізда, проте не змінює базових компонентів. Штучним матеріалом в умовно природних біотопах була вата, що дуже нагадує шерсть звірів та пух рослинний і тваринний. Майже всі штучні матеріали подібні до природних, окрім целофану (у двох гніздах) і пінопласту (в одному). Таким чином, можна стверджувати, що склад гнізда фактично може змінюватися залежно від умов довкілля, проте базовий склад гнізда змінюється мало.

Висновки

Базовими складовими гнізда коноплянки на Львівщині були рослинні (виявлені у всіх досліджених гніздах) – корінці та стебла трав'янистих рослин, тваринні (98,4 %) – шерсть і волосся звірів, пір'я птахів та часто (23,2 %) штучні матеріали – вата й нитки. Для розміщення гнізд коноплянка частіше обирала хвойні породи і чагарники та дерева з густою кроною невисоко над землею.

Середовище певною мірою впливає на склад гнізда коноплянки. Такий вплив невеликий щодо базових складових рослинного і тваринного походження, проте помітний щодо компонентів антропогенного походження, особливо останніми роками. Виявлена вибіркочість у використанні КАП. З останніх *L. cannabina* включала до складу гнізда матеріали, подібні до природних, хоч у кількох випадках виявлено і нетипові матеріали. За останні роки частота використання штучних компонентів у гнізді коноплянки в антропогенно зміненому середовищі значно зросла, особливо в населених пунктах, що свідчить як про засмічення середовища, так і про гніздову пластичність коноплянки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бокотей А. А. Особливості гніздування звичайної коноплянки на Хмельниччині під впливом значного антропогенного пресу // Орнітофауна західних областей України та проблеми її охорони. Луцьк, 1990. С. 12–13.
2. Мамчур З. І., Одінцова А. В. Літня навчальна практика з ботаніки: навч.-метод. посіб. для студ. біол. ф-ту. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2007. 176 с.
3. Скільський І. В., Годованець Б. Й., Бучко В. В. До вивчення гніздової біології коноплянки у південній частині заходу України // Проблеми вивчення та охорони птахів. Львів; Чернівці, 1995. С. 117–118.
4. Сребродольська С. Б., Пріяткіна Н. В., Гринчишин Т. Ю. Особливості гніздування коноплянки на Волинському Поліссі в умовах значного антропогенного пресу // Беркут. 1992. С. 46–51.
5. Талнош В. С. Про гніздування коноплянки в Українських Карпатах // Орнітофауна західних областей України та проблеми її охорони. Луцьк, 1990. С. 34–36.
6. Bokotey A. Ekologia okresu lęgowego makolągwy *Acanthis cannabina* na Zachodniej Ukrainie. Dynamika populacji ptaków. 1992. P. 147–149.
7. Bokotey A., Atamas N., Bashta A. V. et al. (2022). Bank of birds' nests of Ukraine: common linnet *Acanthis cannabina* (1973-2015). Version 1.3. West-Ukrainian Ornithological Society. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/th7r93> accessed via GBIF.org on 2023-06-16.
8. Biddle L. E., Broughton R. E., Goodman A. M., Deeming D. Ch. Composition of bird nests is a species-specific characteristic // Avian Biology Research. 2018. Vol. 11 (2). P. 132–153. doi:10.3184/175815618X15222318755467.
9. Castro-Caro J. C., Barrio I. C., Tortosa F. S. Soil management of olive groves has contrasting effects on nest densities and reproductive success of tree-nesting passerines // Avian Conservation & Ecology. 2022. Vol. 17. N 1. P. 1–11.
10. Hnatyna O. Antropogenic materials in the nests of Passerine birds in the west of Ukraine // Studia Biologica. 2023. Vol. 17. N 3. P. 99–110.
11. Gotzman J., Jabłoński B. Gniazda naszych ptaków. Warszawa: Państw. Zakł. Wydaw. Szk., dr. 1972. 281 s., [24] k. tabl.: il.
12. Makatsch W. Die Eier der Vögel Europas. Eine Darstellung der Brutbiologie allen in Europa brütenden Vogelarten. Bd 2. Published by 1st. Ed. Pub. Neumann, 1974–1976.

Стаття надійшла до редакції 17.06.24

доопрацьована 14.07.24

прийнята до друку 04.09.24

**LOOK INSIDE: NESTING MATERIALS AND SOME PATTERNS
OF NESTING BIOLOGY OF THE COMMON LINNET
LINARIA CANNABINA (LINNAEUS, C 1758) IN THE LVIV REGION**

O. Hnatyna, T. Makitra

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: oksana.hnatyna@lmu.edu.ua*

The article deals with some aspects of the nesting biology of *Linnaria cannabina* (Linnaeus, C 1758) in Lviv region. The question of placement, the composition of the nests and the factors that affect this is revealed. The material for writing this article was the data

of the Bank of bird nests of Western Ukrainian Ornithological Society (ZUOT) (n=181) and own data (n=18) for 40 years (from 1973 to 2012). Nests were collected in different biotopes and, depending on the distance to the human settlement, were divided into three groups (within settlements, on their outskirts and far beyond in natural biotopes). It was found that for the placement of nests, the common linnet often chooses coniferous (mainly young spruce, thuja or juniper). Among deciduous found trees, a significant variety of bushes and twisted vines (ivy). To choose a place for linnet nest, the architectonics of the aboveground part of the plant is important, so even trees were chosen that are similar to bushes. Very often common linnet places nests in various hedges (spirea, acacia yellow, etc.). Probably due to the fact that the nest is well disguised, its placement height is small (0.2–2.2 m, on average 1.10 ± 0.03 m). The main materials that *L. cannabina* chooses to build nests are typical of birds of this species in Europe. Linnet nests consisted of plant (in 100 % of the studied nests), animal (98.4 %) and sometimes (23.2 %) materials of anthropogenic origin. From plant materials, linnet most often chose for the nest the roots and stems of herbaceous plants, less often the branches and leaves of trees, plant fluff and moss. Among the materials of animal origin, animal hair and bird feathers were often found in the lining of the nest. Some of the nests contained components of anthropogenic origin (CAO) in different quantities (most often cotton wool). The basic nesting materials of the linnet in Lviv region were small roots and stems of single- and dicotyledonous herbaceous plants, and in the inner part – hair of mammals, feathers of birds, cotton wool. The presence of CAO in bird nests depends on the distance to human settlements and the time of nest construction. In the last couple of decades, the frequency of use of CAO in the nests of the linnet has increased rapidly, which may indicate a growing environment pollution, as well as, perhaps, the habituation to use such materials by common linnet.

Keywords: common linnet *Linaria cannabina*, nesting materials, influence of the environment on the composition of the nest, ecological plasticity, Lviv region

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТІВ З *PHYSOCARPUS OPULIFOLIUS* (L.) MAXIM.
І *STACHYS PALUSTRIS* L. НА *CANDIDA PARAPSILOSIS***

Г. Яворська¹, Н. Воробець², О. Мороз¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна
e-mail: halyna.yavorska@lnu.edu.ua

Дедалі частіше до різноманітних захворювань призводять умовно-патогенні гриби *Candida parapsilosis*. Вони можуть бути комменсалами, але, маючи унікальні властивості інвазивності, вірулентності та стійкості до протигрибкових препаратів (це характерно загалом для грибів з цього роду), у новонароджених і людей з ослабленим імунітетом або у тих, хто використовує катетери, ці гриби стають руйнаторами тканин організму. Вони здатні утворювати міцні біоплівки на катетерах та інших медичних імплантованих пристроях, загрожуючи життю пацієнтів, які зазнали інвазивних медичних втручань. В епоху поширення антибіотикорезистентності актуальним є пошук допоміжних і альтернативних засобів задля уникнення дисемінації або лікування хвороби після виявлення збудника. Такими можуть бути речовини рослинного походження, зокрема, маловивчені, з точки зору антигрибкових властивостей, а саме з чистою болотяного (*Stachys palustris*) та пухироплідника калинолистого (*Physocarpus opulifolius*). Встановлено, що водно-етанольні екстракти з цих рослин мають потенційні антикандидозні властивості щодо *Candida parapsilosis*, які визначено методами дифузії в агар та додавання в середовище. Водно-етанольні (ВЕ) екстракти з цих рослин пригнічували ріст *C. parapsilosis* більше, ніж водні. Діаметри зон затримки росту (ДЗЗР) більше 13 мм спричиняли екстракти зі *Stachys palustris*, виготовлені з використанням 70 % і 95 % ВЕ, і екстракти з *Physocarpus opulifolius*, виготовлені з використанням 60 % і 95 % ВЕ, однак їхній вплив був удвічі меншим, порівняно з флюконазолом, і трохи більшим, порівняно з настоянками шавлії та евкالیпту. Найсуттєвіше впливав екстракт зі *Stachys palustris*, виготовлений з використанням 95 % ВЕ, спричиняючи ДЗЗР до 20 мм. Екстракт зі *S. palustris*, виготовлений з використанням 95 % ВЕ, пригнічує ріст досліджуваної культури за вмісту в середовищі у співвідношеннях 1:2, 1:4 і 1:6, а зі *Physocarpus opulifolius* – 1:2 та 1:4. Швидкий мікропланшетний метод визначення впливу рослинних екстрактів на мікроорганізми з резазурином може бути використаний тільки після додаткового підтвердження, оскільки самі екстракти здатні відновлювати індикатор.

Ключові слова: *Candida parapsilosis*, екстракти *Stachys palustris* і *Physocarpus opulifolius*, антикандидозний вплив, методи визначення дії екстрактів

Згідно з даними ВООЗ, до 1 млрд людей у всьому світі безпосередньо хворіють на одне або кілька інфекційних захворювань [17]. *C. parapsilosis* є другим за поширеністю видом *Candida*, виділеним в Азії, Південній Європі та Латинській Америці, і часто спричиняє інвазивні інфекції, які серйозно впливають на здоров'я людини. *C. parapsilosis* широко розповсюджений у природі [16]. Ці дріжджі успішно колонізують шкіру та слизові

оболонки людини як коменсальний мікроорганізм, при цьому руки медичних працівників визнано основною причиною нозокоміального зараження *C. parapsilosis* [4]. *C. parapsilosis* становить високий ризик для людей з ослабленим імунітетом і пацієнтів, які потребують тривалого використання центрального венозного катетера або інших постійних пристроїв, через здатність цих дріжджів прилипати до поверхонь протезів та імплантованих медичних пристроїв і утворювати біоплівки [6], а це суттєво зменшує здатність протигрибкових препаратів досягати клітин [7].

Дріжджові клітини *C. parapsilosis* мають овальну, круглу або циліндричну форму. На відміну від *C. albicans*, *C. parapsilosis* не утворює справжніх гіф, а існує у дріжджовій фазі та псевдогіфальній формі [9].

Рослини розглядають як потенційні джерела вторинних метаболітів для терапевтичних втручань, що відкрило можливості для їхнього використання як активних інгредієнтів у харчовій, фармацевтичній і медичній промисловості. Біоактивність хімічних речовин, які виробляють рослини, робить їх високоцінними, спонукаючи інвестувати в їхнє вирощування, екстрагування й аналіз. Є повідомлення про антибактерійну і антигрибкову активність багатьох видів рослин [1, 5, 13, 15, 18], серед яких *Stachys palustris* L. [19]. *S. palustris* є однією з їстівних рослин, яку використовують у традиційній медицині, оскільки її листки та квіти багаті на природні антиоксиданти з високою біологічною активністю [8]. Ці корисні для здоров'я інгредієнти варто додатково досліджувати з перспективою використання у функціональному харчуванні, спеціальному харчуванні, косметичі та/або медичній і фармацевтичній промисловості [11]. У листках *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim. є велика кількість антоціанів, що надає їм насиченого фіолетового кольору і робить їх важливими компонентами ландшафтного дизайну. Кора *P. opulifolius* багата на тритерпеноїдні сполуки, які мають протипухлинні й інші властивості, тому є перспективи її медичного застосування [10]. Однак відомостей про антигрибкову активність екстрактів *Stachys palustris* L. і *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim. сорту **RedBaron** немає, тому мета цієї роботи – дослідити вплив водно-етанольних екстрактів із цих рослин на дріжджі *Candida parapsilosis*.

Матеріали та методи

Для виготовлення екстрактів використовували листки рослин *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim. сорту RedBaron, які вирощували в околицях Львова, і надземну частину *Stachys palustris* L. з околиць м. Східниця. Їх відбирали на стадії цвітіння рослин і висушували до повітряно-сухого стану. Водно-етанольні екстракти (ВЕЕ) готували методом мацерації з використанням 20-, 50-, 60-, 70- та 95 % водного етанолу (ВЕ) у темряві упродовж 14 діб за температури 25 °С. Екстрагування проводили відповідно до вимог Державної фармакопеї України [3] (співвідношення наважка:екстрагент = 1:20 (маса, г/об'єм, мл, тобто 1 г сировини заливали 20 мл екстрагента). Водні екстракти у співвідношенні 1:10 готували на слабо киплячій водяній бані (за 65–80 °С) упродовж 30 хв з оберненим холодильником. Після охолодження кожен екстракт фільтрували крізь паперовий фільтр, одержані фільтрати використовували в експериментах.

Тестову культуру дріжджів *Candida parapsilosis* Д-35-С (АТСС 22019=УКМ Y-73т=VKM Y-58) вирощували на середовищі Сабуро упродовж 48 год в термостаті за температури 28 ± 1 °С. Виготовляли суспензію у дистильованій воді, стандартизуючи за стандартом мутності (0,5 McFarland, 10⁸ клітин/мл), розподіляючи 0,2 мл поверхнею агаризованого середовища. Крім *Candida parapsilosis*, для порівняння використовували *Bacillus subtilis* VKM B-408, *Pseudomonas fluorescens* VKM B-894 (АТСС 13525), *Micrococcus luteus* VKM B-109 і *Candida kefyr* (*Kluyveromyces marxianus* VKM Y-459) із колекції культур мікроорганізмів кафедри мікробіології ЛНУ ім. Івана Франка.

Методи лункової та дискової дифузії стандартизовані Інститутом клінічних і лабораторних стандартів (CLSI) для тестування антибіотиків. Антикандидозну дію екстрактів визначали методом дифузії у щільне середовище, в модифікації лунок і циліндриків [2]. Чашки інкубували дві доби за температури 28 ± 1 °C. Вимірювали діаметр зони затримки росту (ДЗЗР) у міліметрах за допомогою лінійки з точністю до 1 мм. Дослідження проводили у трьох повторах. Наразі немає чітких критеріїв інтерпретації результатів тестування натуральних продуктів у разі використання методу дискової дифузії. Для оцінювання антикандидозної активності досліджених рослинних екстрактів використовували критерії, описані в Carrelli et al. [5].

Як контролю використовували флюконазол (150 мг), етиловий спирт досліджуваних концентрацій. Для порівняння також застосовували настійку евкаліпта (*Tinctura eucalypti*, 1:5 з 70 % етанолом) і настійку листя шавлії (*Salviae tincture*, 1:5 з 70 % етанолом) ТОВ «ДКП Фармацевтична фабрика», Житомир; Хлорофіліпт спиртовий (1:15,3 з 96 % етанолом) ПАТ «Галичфарм», Львів; Олію лавандову ТОВ Ароматика, Київ.

Для визначення впливу рослинних екстрактів на досліджувані мікроорганізми з використанням резазурину в лункових планшетах використовували середовище *Luria-Bertrani*, г/л: пептон – 10, NaCl – 5, дріжджовий екстракт – 10. Метод лункових планшетів з використанням резазурину описаний [14]. Активні бактеріальні клітини відновлюють нефлуоресцентний резаурин (синій) до флуоресцентного резорурфіну (рожевий), який можна далі відновити до гідрорезорурфіну (незабарвлений і нефлуоресцентний), що дає змогу якісно спостерігати наявність метаболітно активних клітин. Резаурин дає змогу виявляти ріст мікробів у надзвичайно малих об'ємах розчину в мікропланшетах. У дослідженні використовували водно-етанольні екстракти (ВЕЕ) з надземної частини *S. palustris* і листків *P. opulifolius* (з розведенням 1:20), 0,015 % розчин резазурину та суспензію досліджуваної культури – *C. parapsilosis*. Суспензію з дводобової культури *C. parapsilosis* готували, стандартизуючи до концентрації 5×10^6 КУО/мл (як описано в Sarker et al., 2007). Для контролю використовували флюконазол (150 мг/10 мл води). Дослідження проводили в 96-лунковому планшеті, в лунки якого закапували досліджувані розчини (табл. 1).

Таблиця 1

Схема експерименту

| Ряд планшету, кількість лунок | Внесені компоненти, мл | | | | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|---|----------|------------------------|---------------------------------------|------|
| | Середовище <i>Luria-Bertrani</i> | Культура (<i>Candida</i> <i>parapsilosis</i>) | Резаурин | Досліджуваний екстракт | Антимікотик (флюконазол) | |
| 1 | 8 | 0,05 | – | 0,05 | 0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % BE | – |
| 2 | 8 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % BE | – |
| 3 | 8 | – | – | 0,05 | 0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % BE | 0,05 |
| 4 | 8 | – | 0,05 | 0,05 | 0,1 <i>S. palustris</i> з 50 % BE | 0,05 |
| 5 | 8 | 0,1 | 0,05 | 0,05 | – | – |
| 6 | 8 | 0,1 | – | 0,05 | – | – |
| 7 | 8 | 0,05 | – | 0,05 | 0,05 <i>S. palustris</i> з 70 % BE | – |
| 8 | 8 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 <i>S. palustris</i> з 70 % BE | – |
| 9 | 4 | 0,05 | – | 0,05 | 0,15 <i>P. opulifolius</i> з 95 % BE | – |
| | 4 | 0,05 | – | 0,05 | 0,15 <i>S. palustris</i> з 70 % BE | – |
| 10 | 4 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,01 <i>P. opulifolius</i> з 95 % BE | – |
| | 4 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,01 мл <i>S. palustris</i> з 70 % BE | – |
| 11 | 2 | 0,05 | – | 0,05 | – | – |
| | 2 | 0,05 | – | 0,05 | 0,2 <i>P. opulifolius</i> з 60 % BE | – |
| | 4 | 0,05 | – | 0,05 | 0,2 <i>S. palustris</i> з 95 % BE | – |
| 12 | 2 | 0,05 | – | 0,05 | – | – |
| | 2 | 0,05 | – | 0,05 | 0,1 <i>P. opulifolius</i> з 60 % BE | – |
| | 4 | 0,05 | – | 0,05 | 0,1 мл <i>S. palustris</i> з 95 % BE | – |

Після цього харчовою плівкою щільно загортали планшети, щоб уникнути зневоднення бактеріальної культури, й інкубували за 37 °С упродовж 24 год в інкубаторі, фіксуючи зміни забарвлення через годину та добу. Зміну кольору в лунках спостерігали візуально, де зміну від фіолетового до рожевого кольору або безбарвність оцінювали як позитивну. Після інкубації з лунок, до яких було додано суспензію культури *C. parapsilosis* і досліджуваний екстракт, робили посів на агаризоване середовище і спостерігали за появою росту.

Дослідження впливу готових аптечних препаратів – олії лаванди і хлорофіліпту спиртового – проводили методом дифузії в агар і з використанням 12-лункових планшетів, застосовуючи як тест-культуру *C. parapsilosis*.

У лунки закапували компоненти за схемою (табл. 2).

Таблиця 2

Схема експерименту

| Ряд планшету, кількість лунок | Внесені компоненти, мл | | |
|----------------------------------|--|-----------|------------------------|
| | Культура (<i>Candida parapsilosis</i>) | Резазурин | Досліджуваний екстракт |
| 1 | 2 | – | 0,03 |
| 2 | 2 | – | 0,03 |
| 3 | 2 | – | 0,03 |
| 4 | 2 | 0,01 | 0,03 |
| 5 | 2 | 0,02 | 0,03 |
| 6 | 2 | 0,05 | 0,03 |
| 7 | 2 | 0,01 | 0,03 |
| 8 | 2 | 0,05 | 0,03 |
| 9 | 2 | 0,05 | 0,03 |
| 10 | 2 | 0,05 | 0,03 |
| 11 | 2 | 0,05 | 0,03 |
| 12 | 2 | 0,05 | 0,03 |

Спостерігали за змінами кольору в лунках через годину та добу.

Усі цифрові значення піддавали статистичному обробленню з використанням програми «Excel-2010» для Windows.

Результати і їхнє обговорення

Методом дифузії в агар встановлено, що на *C. parapsilosis* впливали екстракти *P. opulifolius* з 95 % та 60 % ВЕ (табл. 1), але залежно від методу визначення. Водний екстракт з розведенням 1:10 та 1:20 із *P. opulifolius* не впливав на ріст досліджуваних культур (ДЗЗР: від 6,6 до 9,6 мм). На досліджувані дріжджі впливали водний екстракт і екстракти зі *S. palustris* з 50, 70 і 95 % ВЕ (табл. 3), але залежно від методу визначення. Проте екстракти з 20 % ВЕ не виявляли інгібуючого впливу.

Зони затримки росту *C. parapsilosis* за впливу екстрактів зі *Stachys palustris* були значними (рис. 1). Встановлено, що екстракти, виготовлені з використанням 70 та 95 % ВЕ впливали на ріст цієї культури, на відміну від екстрактів, виготовлених з використанням 20 та 50 % ВЕ.

Досліджені водно-етанольні екстракти із *S. palustris*, виготовлені з використанням 70 % та 95 %, з розведенням 1:20 та 70 % водно-етанольної настойки з листків шавлії (розведення 1:5) ТОВ ДКП «Фармацевтична фабрика» (Житомир) мають практично однаковий інгібуючий вплив на ріст досліджених культур (див. табл. 3).

Щоб дослідити вплив екстрактів з *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* з 95 % ВЕ на мікроорганізми, екстракт додавали у живильне середовище Luria Bertani у різних

співвідношеннях: 1:2, 1:4, 1:6 та 1:10. На поверхню живильного агару штами мікроорганізмів засівали методом штриха. Крім культури *Candida parapsilosis*, використали для порівняння *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus* і *Candida kefyr*. Посіви інкубували 48 год за температури 28 ± 1 °C. Результати оцінювали візуально.

Таблиця 3

Дія екстрактів з *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* на *Candida parapsilosis* (n=3)

| Екстракт, концентрація етанолу екстрагента, % | | Діаметр зони затримки росту, мм | | |
|---|----------------------|---------------------------------|------------|---------|
| | | Модифікація методу | | |
| | | Лунки | Циліндрики | |
| Контроль | Флюконазол | 44,3±6,6 | 43,5±5,6 | |
| | Настойка евкалипта | 15,5±1,1 | 15,4±1,1 | |
| | Настойка шавлії | 12,0±0,8 | 11,6±0,8 | |
| | Вміст етанолу у воді | 20 % | 6,0±0,5 | 6,0±0,5 |
| | | 50 % | 6,0±0,5 | 6,0±0,5 |
| | | 60 % | 6,1±0,3 | 6,1±0,5 |
| | | 70 % | 7,2±0,5 | 7,2±0,5 |
| | 95 % | 9,1±0,3 | 9,0±0,2 | |
| <i>Stachys palustris</i> | Водний, 1:10 | 10,0±0,0 | 10,0±0,0 | |
| | 3 20 % ВЕ, 1:20 | 8,0±0,0 | 7,5±0,5 | |
| | 3 50 % ВЕ, 1:20 | 11,0±1,0 | 10,0±0,0 | |
| | 3 70 % ВЕ, 1:20 | 19,0±1,0 | 12,5±2,5 | |
| | 3 95 % ВЕ, 1:20 | 20,0±0,0 | 11,0±1,0 | |
| <i>Physocarpus opulifolius</i> | Водний, 1:10 | 6,6±0,5 | 9,6±0,5 | |
| | Водний, 1:20 | 7,3±0,5 | 7,3±0,5 | |
| | 3 20 % ВЕ, 1:20 | 7,0±1,4 | 7,6±1,2 | |
| | 3 60 % ВЕ, 1:20 | 19,0±5,3 | 8,6±0,5 | |
| | 3 95 % ВЕ, 1:20 | 16,6±1,2 | 12,6±2,0 | |



Рис. 1. Зони затримки росту *Candida parapsilosis* (метод лунок) за впливу екстрактів зі *Stachys palustris* (6 – водний, 7 – з 20 % ВЕ, 8 – з 50 % ВЕ, 9 – з 70 % ВЕ, 10 – з 95 % ВЕ)

Як видно з рис. 2, екстракти впливали залежно від співвідношення вмісту екстракту до середовища. У високих концентраціях (співвідношення 1:2) вони мали виражений

інгібуючий ефект, пригнічуючи ріст культур мікроорганізмів. Однак зменшення вмісту екстракту в середовищі пригнічувало ріст досліджуваних культур по-різному. Екстракт *Stachys palustris* з 95 % ВЕ у співвідношенні 1:4 пригнічував ріст усіх культур, а екстракт *Physocarpus opulifolius* з 95 % ВЕ тільки двох (*Candida kefir* і *Candida parapsilosis*). У співвідношенні 1:6 та 1:10 екстракт *Stachys palustris* з 95 % ВЕ пригнічував тільки *Candida parapsilosis*, а екстракт *Physocarpus opulifolius* з 95 % ВЕ – *Candida kefir* (рис. 2, А, Б).



А

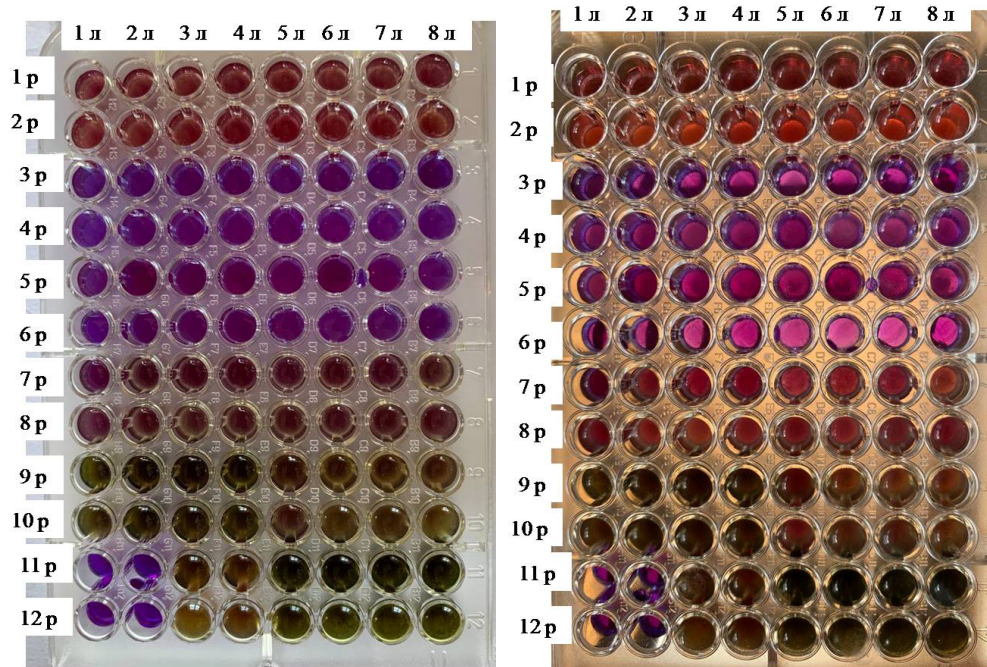


Б

Рис. 2. Вплив екстрактів *Physocarpus opulifolius* (А) і *Stachys palustris* (Б), виготовлених з 95 % водним етанолом, на ріст тест-культур (1 – *Bacillus subtilis*; 2 – *Pseudomonas fluorescens*; 3 – *Micrococcus luteus*; 4 – *Candida kefir*; 5 – *Candida parapsilosis*) у різних співвідношеннях із живильним середовищем

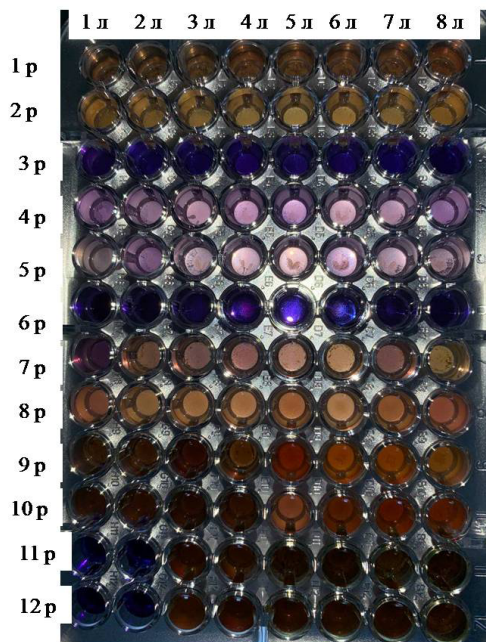
Для визначення впливу рослинних екстрактів із надземних частин рослини *S. palustris* (водно-етанольні екстракти з розведенням 1:20) використовували метод 96-лунокових планшетів. На рис. 3 показано фото, на якому видно, що додавання рослинних екстрактів змінює властивості резазурину і що він фактично одразу втрачає свій колір (див. рис. 3, А). Після інкубації (1 год) колір лунок, які містили ВЕЕ досліджуваних рослин, практично не змінюється (рис. 3, Б). Це свідчить про те, що візуально оцінити вплив неможливо. За добу відбувається практично повне знебарвлення сумішей, окрім лунок, які містять тільки середовище і резазурин (6 ряд і перші дві лунки рядів 11 і 12), а також екстракту, флюконазолу і резазурину (3 ряд) (рис. 3, В).

Після інкубації з лунок, до яких було додано суспензію культури *C. parapsilosis*, робили посів на агаризоване середовище Лурія–Бертрані та спостерігали за появою росту. Лише у ряду 12 (лунка 3) виявили ріст після посіву (рис. 4). У цю лунку додали 0,1 мл *P. opulifolius* з 60 % ВЕ.



А

Б



В

Рис. 3. Вплив екстрактів зі *Stachys palustris* і *Physocarpus opulifolius* на *Candida parapsilosis* за 5 хв (А), за 1 год (Б), за 1 добу (В): р – ряд, л – лунка



Рис. 4. Ріст *C. parapsilosis* після посіву з лунки 3 (12 ряд)

Для перевірки здатності *C. parapsilosis* за впливу рослинних препаратів (олії лаванди та хлорофіліпту етанольного) змінювати колір резазурину використовували 12-лункові планшети, середовище Лурія–Бертрані та 0,015 % розчин резазурину.

Як видно з рис. 5, після додавання рослинних екстрактів вони швидко змінили властивості резазурину, і він одразу втратив свій колір (лунки 2, 3), аналогічно як і в лунках, де були культури з цими препаратами (лунки 7, 8, 9, 10, 11 і 12). А внесення культури без препаратів спричиняло знебарвлення резазурину тільки через 24 год (лунки 4, 5 і 6). У лунках 1 (де не було ні культур грибів, ні рослинних препаратів) колір резазурину не змінився.

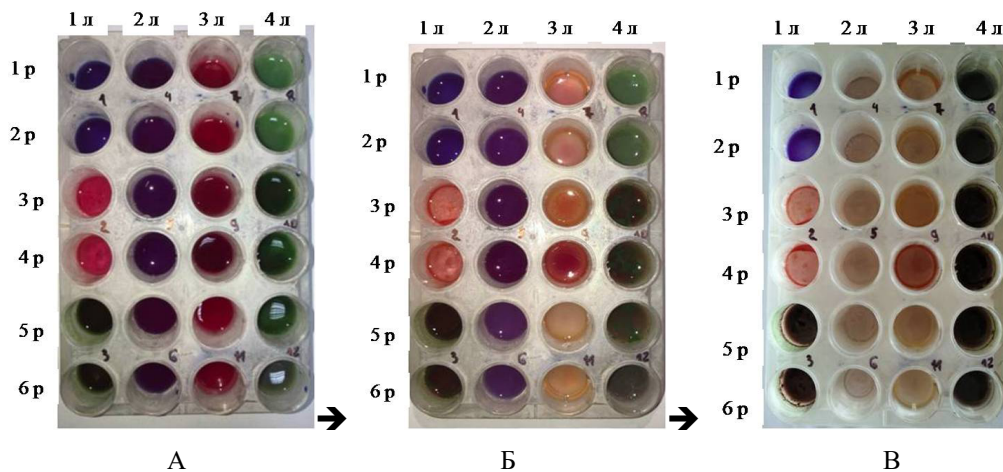


Рис. 5. Вплив олії лаванди та хлорофіліпту етанольного на *C. parapsilosis* за використання методу з резазурином у лункових планшетах (за 1 хв – А, за годину – Б і за добу – В): р – ряд, л – лунка

Методом дифузії в агар було встановлено (рис. 6), що олія лаванди пригнічує культуру *C. parapsilosis* зі зонами затримки росту $40,6 \pm 0,4$ мм.

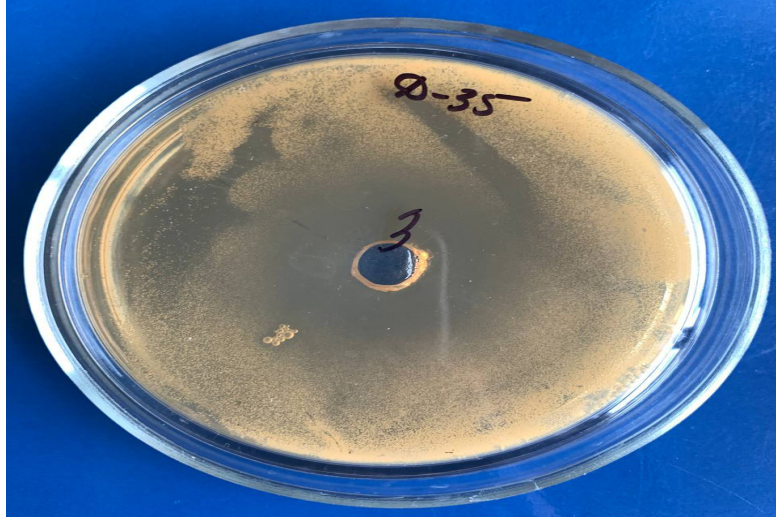


Рис. 6. Вплив олії лаванди на дріжджі *Candida parapsilosis*

Аналогічно хлорофіліпт етанольний також пригнічував *Candida parapsilosis* зі зонами затримки росту $10,2 \pm 0,2$ мм (рис. 7).

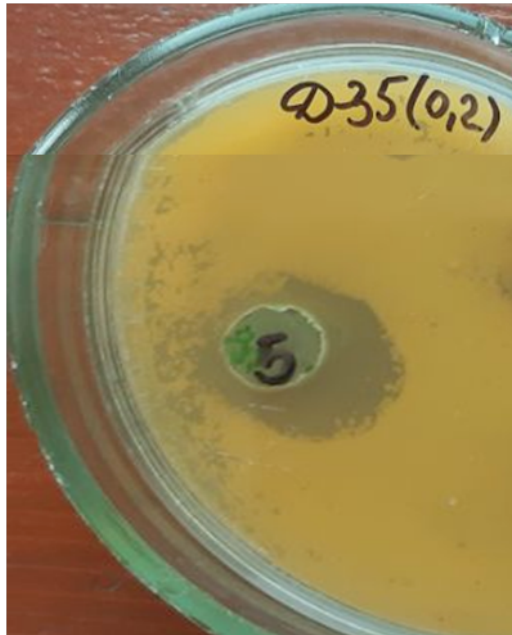


Рис. 7. Вплив хлорофіліпту етанольного (5) на дріжджі *Candida parapsilosis* (за додавання 0,2 мл/лунку)

Отже, встановлено інгібувальну дію на *Candida parapsilosis* водно-етанольних екстрактів листків *Physocarpus opulifolius* і наземної частини *Stachys palustris* методом дифузії

в агар і додавання до середовища вирощування. Водно-етанольні екстракти з цих рослин пригнічували ріст *Candida parapsilosis* більше, ніж водні. Водний екстракт *Physocarpus opulifolius* мало впливав на досліджувану культуру. Серед досліджених водно-етанольних екстрактів найсуттєвіше впливав екстракт зі *Stachys palustris*, виготовлений з використанням 95 % водного етанолу (ДЗЗР до 20 мм). ДЗЗР більше 13 мм спричиняли екстракти зі *Stachys palustris* з 70 % і 95 % ВЕ і *Physocarpus opulifolius* з 60 % і 95 % ВЕ, однак їхній вплив був удвічі меншим, порівняно з флюконазолом і трохи більшим, порівняно з настоянками шавлії та евкаліпту. Екстракт зі *S. palustris* з 95 % ВЕ пригнічує ріст досліджуваної культури за вмісту в середовищі у співвідношеннях 1:2, 1:4 і 1:6, а зі *Physocarpus opulifolius* – 1:2 і 1:4. Подібний ефект етанольного екстракту стебел і коренів *Stachys palustris* як антибактерійних препаратів (проти грампозитивних *B. subtilis*, *S. aureus* і грамнегативних бактерій *P. vulgaris*, *E. coli*, *P. aeruginosa*), що може бути пов'язаний із вторинними метаболітами, такими як алкалоїди, глікозиди, сапоніни, поліоли, смоли й амінокислоти, виявлено деякими дослідниками [8]. Щодо впливу подібних екстрактів на *Candida parapsilosis*, як і екстрактів з листків *Physocarpus opulifolius* на мікроорганізми, то в літературі не знайдено такої інформації.

Використання резазурину як індикатора росту в аналізах мікророзведення для визначення мінімальної концентрації антибіотиків є ефективним і здатне забезпечити відтворювані результати [12]. Деякі автори зазначають про можливість використання мікропланшетного методу з резазурином для етанольних рослинних екстрактів [13]. Наші дослідження показали, що внесення водно-етанольних екстрактів *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* до середовища з резазурином одразу змінює колір середовища, як і олія лаванди та хлорофіліпту етанольного. Тому цей метод можна застосовувати з посівом після інкубування для підтвердження інгібувальної дії водно-етанольних екстрактів із рослин.

Підсумовуючи, варто зауважити, що водно-етанольні екстракти *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris* за використання методу дифузії в агар проявляють антикандидозну дію щодо *Candida parapsilosis*. Однак метод лункових планшетів з резазурином не надається для візуального оцінювання здатності водно-етанольних екстрактів *Physocarpus opulifolius* і *Stachys palustris*, як і олії лаванди та хлорофіліпту етанольного, пригнічувати ріст *Candida parapsilosis* і потребує додаткового посіву після інкубування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробець Н. М., Яворська Г. В., Кузеляк Х. В., Воронюк О. М. Вплив екстрактів *Heterocallis fulva* L. на деякі штами мікроорганізмів // Укр. журн. лабор. медицини. 2023. Т. 1. № 2. С. 4–14. doi: 10.62.151/2786-9288.1.2.2023.01.
2. Гудзь С., Гнатуш С., Яворська Г. В. та ін. Практикум з мікробіології. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2014. 456 с.
3. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Доп. 1. Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
4. Bonassoli L. A., Bertoli M., Svidzinski T. I. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts // J. Hosp. Infect. 2005. Vol. 59 (2). P. 159–62. doi: 10.1016/j.jhin.2004.06.033.
5. Cappelli G., Mariani F. A Systematic Review on the Antimicrobial Properties of Mediterranean Wild Edible Plants: We Still Know Too Little about Them, but What We Do Know Makes Persistent Investigation Worthwhile // Foods. 2021. Vol. 10 (9). N 2217. doi: 10.3390/foods10092217.

6. Cuéllar-Cruz M., López-Romero E., Villagómez-Castro J. C., Ruiz-Baca E. Candida species: new insights into biofilm formation // *Future Microbiol.* 2012. Vol. 7 (6). P. 755–71. doi: 10.2217/fmb.12.48.
7. Faria-Ramos I., Neves-Maia J., Ricardo E. et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey // *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2014. Vol. 33 (12). P. 2241–2247. doi: 10.1007/s10096-014-2194-8.
8. Lachowicz-Wiśniewska S., Pratap-Singh A., Kapusta I. et al. Flowers and Leaves Extracts of *Stachys palustris* L. Exhibit Stronger Anti-Proliferative, Antioxidant, Anti-Diabetic, and Anti-Obesity Potencies than Stems and Roots Due to More Phenolic Compounds as Revealed by UPLC-PDA-ESI-TQD-MS/MS // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022. Vol. 15 (7). P. 785. doi: 10.3390/ph15070785.
9. Laffey S.F., Butler G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis* // *Microbiology (Reading)*. 2005. Vol. 151 (4). P. 1073–1081. doi: 10.1099/mic.0.27739-0.
10. Liu X., Yu J. Extraction of anthocyanin from *Physocarpus opulifolius* “Diabolo” and its stability // *J. Northeast For. Univ.* 2011. Vol. 39 (2). P. 38–39.
11. Negi P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application // *Int. J. Food Microbiol.* 2012. Vol. 156 (1). P. 7–17. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.006.
12. Oliveira L. C. C., Rodrigues F. A. A., dos Santos Barbosa C. R. et al. Antibacterial Activity of the Pyrogallol against *Staphylococcus aureus* Evaluated by Optical Image // *Biologics*. 2022. Vol. 2 (2). P. 139–150. doi: 10.3390/biologics2020011
13. Reddy Y. M., Kumar S. P. J., Saritha K. V. et al. Phytochemical Profiling of Methanolic Fruit Extract of *Gardenia latifolia* Ait. by LC-MS/MS Analysis and Evaluation of Its Antioxidant and Antimicrobial Activity // *Plants (Basel)*. 2021. Vol. 10 (3). P. 545. doi: 10.3390/plants10030545.
14. Sarker S. D., Nahar L., Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals // *Methods*. 2007. Vol. 42 (4). P. 321–324. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006>.
15. Stefanovic O., Radojevic I., Vasic S., & Comic L. Antibacterial Activity of Naturally Occurring Compounds from Selected Plants. *Antimicrobial Agents*. Intech. 2012. doi: 10.5772/33059
16. van Asbeck E. C., Clemons K. V., Stevens D. A. *Candida parapsilosis*: A review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility // *Critical Reviews in Microbiology*. 2009. Vol. 35 (4). P. 283–309. doi: 10.3109/10408410903213393.
17. WHO, 2024 <https://www.who.int>
18. Yavorska H. V., Vorobets N. M., Yavorska N. Y., Fafula R. V. Screening of anticandidal activity of *Vaccinium corymbosum* shoots' extracts and content of polyphenolic compounds during seasonal variation // *Studia Biologica*. 2023. Vol. 17 (1). P. 3–18. <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1701.699>
19. Yildirim A. B., Karakas F. P., Turker A. U. In vitro antibacterial and antitumor activities of some medicinal plant extracts, growing in Turkey // *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2013. Vol. 6 (8). P. 616–624. doi: 10.1016/S1995-7645(13)60106-6.

Стаття надійшла до редакції 29.05.24

доопрацьована 11.09.24

прийнята до друку 16.09.24

ASSESSMENT OF *PHYSOCARPUS OPULIFOLIUS* (L.) MAXIM.
AND *STACHYS PALUSTRIS* L. EXTRACTS INFLUENCE
AGAINST *CANDIDA PARAPSILOSIS*

H. Yavorska¹, N. Vorobets², O. Moroz¹

¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

²Danylo Halytsky Lviv National Medical University
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine
e-mail: halyna.yavorska@lnu.edu.ua

The opportunistic fungi *Candida parapsilosis* are increasingly causing various diseases. They can be commensals, but, having unique properties of invasiveness, virulence and antifungal sensitivity, which is characteristic of fungi of this genus in general, in newborns and people with weakened immunity or those who use catheters, they become destroyers of body tissues. These fungi are capable of forming strong biofilms on catheters and other implanted medical devices, threatening the lives of patients undergoing invasive medical procedures. In the era of the spread of antibiotic resistance, the search for auxiliary and alternative means to avoid dissemination or treatment of the disease after the detection of the causative agent is urgent. These can be substances of plant origin, in particular, little-studied, from the point of view of antifungal properties, *Stachys palustris* and *Physocarpus opulifolius*. Aqueous-ethanol (AE) extracts from these species have been found to have potential anti-candidal properties against *Candida parapsilosis*, which were determined by agar diffusion and media addition methods. AE extracts of these species inhibited the growth of *Candida parapsilosis* more than aqueous extracts. *Stachys palustris* extracts made with 70 % and 95 % AE and *Physocarpus opulifolius* extracts made with 60 % and 95 % AE caused diameter of inhibition zone (IZ) greater than 13 mm, but their effect was half that of fluconazole and slightly more, compared to tinctures of sage and eucalyptus. An extract of *Stachys palustris* made with 95 % aqueous ethanol was most effective, causing IZ, of up to 20 mm. The extract of *S. palustris* prepared with 95 % ethanol suppresses the growth of the culture when present in the medium in ratios of 1:2, 1:4 and 1:6, and the similarly prepared extract of *Physocarpus opulifolius* – 1:2 and 1:4. The rapid microplate method for determining the effect of plant extracts on microorganisms with resazurin can be used only after additional confirmation, since the extracts themselves are able to regenerate the indicator.

Keywords: *Candida parapsilosis*, extracts of *Stachys palustris* and *Physocarpus opulifolius*, anti-candidal effect, methods of determining the action of extracts

**ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЗМІН ЛАКТАТУ І СЕЧОВИНИ
У СЕЧІ СПОРТСМЕНІВ-ЛУЧНИКІВ ЗА РІЗНОГО ФІЗИЧНОГО
ТА ПСИХОЛОГІЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ**

М. Сибіль¹, Я. Свищ¹, Б. Виноградський¹, М. Бура², Р. Первачук¹

*¹Львівський державний університет фізичної культури
імені Івана Боберського*

вул. Костюшка, 11, Львів 79007, Україна

²Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: marta.bura@lnu.edu.ua

Підготовка кваліфікованих спортсменів включає, крім фізичних тренувань, також вдосконалення психологічного стану, спрямованого на формування у спортсмена стану готовності до змагальної діяльності. Зважаючи на це, актуальними є пошуки неінвазивних методів оцінки моніторингу фізичної та психологічної діяльності спортсменів. Розуміння цього стану може допомогти створенню методів та засобів для адаптації до екстремальних умов такої діяльності. Згідно з теорією «засмічення», втома – це понаднормове нагромадження різних метаболітів (зокрема, молочної кислоти, сечовини тощо) у біологічних рідинах організму. Тому дослідження було спрямоване на оцінку впливу спеціалізованої методики аутотренінгу за різних психологічних (тренувальні та офіційні змагання) та фізичних (до та після фізичного навантаження) станів на зміни екскреції метаболітів сечі спортсменів-лучників.

У дослідженні взяли участь 16 спортсменів-юнаків (5 МС зі стрільби з лука та 11 спортсменів КМС). Спортсменів рандомно розподілено за віком та кваліфікацією на дві групи: контрольну (займалися за стандартним протоколом) та експериментальну (додатково застосовували методику аутотренінгу). Дослідження проводили за різних фізичних (перед і після тренування) та психологічних (тренувальні (етап спокій) та офіційні змагання (етап старт)) умов. Предметом біохімічного моніторингу були метаболіти лактат і сечовина, які визначали у відібраних згідно з протоколом зразках сечі лучників до та після виконання фізичних навантажень під час регулярних тренувань та офіційних змагань.

Концентрація молочної кислоти, як і сечовини, у сечі лучників під час тренувальних зборів спортсменів після виконання фізичного навантаження звиклого типу не змінювалася. Тобто застосування методики аутотренінгу під час звичайних тренувальних зборів не впливає на нагромадження в сечі досліджуваних метаболітів, що, ймовірно, обумовлено короткотривалим застосуванням самої методики. За допомогою дисперсійного аналізу встановлено, що зміни концентрації молочної кислоти у сечі обумовлені в основному фізичним (80 %) і психологічним (3,6 %) навантаженням спортсменів, а сечовини – неврахованими чинниками (в середньому 88,8 %).

На етапі офіційних змагань після систематичного застосування методики аутотренінгу концентрація лактату достовірно знижувалась на $9,7 \pm 0,4$ % ($p > 0,95$) у сечі лучників порівняно з контрольною групою після виконання звиклого фізичного навантаження (вправ). За умов Старту зміни концентрації молочної кислоти у сечі спортсменів залежать в основному від застосування методики аутотренінгу (68,2 %) та психологічного (6,4 %) навантаження лучників. Слід зазначити, що частка впливу

неврахованих чинників для обох груп спортсменів була помірною та становила в середньому 20,4 %. Рівень сечовини достовірно не змінювався після виконання спортсменами обох груп фізичного навантаження, як під час тренувальних зборів, так і під час офіційних змагань, а також не залежав від застосування спортсменами методики аутотренінгу.

Ключові слова: молочна кислота, сечовина, лучники, аутотренінг, тренування, змагання

Одним із вирішальних чинників успіху і результативності спортсмена за відносно однакових рівнів фізичної та техніко-тактичної підготовленості [2, 7, 16] є його психічна готовність до змагань, яка формується в процесі індивідуальної психологічної підготовки особи [10]. Психічні якості спортсмена спрямовані на адекватну цим психологічним умовам саморегуляцію власних дій, думок, почуттів, поведінки в цілому [34, 38], що пов'язані з розв'язанням окремих змагальних завдань та ведуть до досягнення поставленої мети. Зважаючи на це, психологічна підготовка спрямована на формування у спортсмена стану готовності до змагальної діяльності та на створення методів і засобів для адаптації до екстремальних умов такої діяльності [18]. Це зумовлено, з одного боку, винятковістю умов змагань, а з іншого – неповторністю, індивідуальністю особистості самого спортсмена [15]. У сфері спорту існує стійкий інтерес до поведінкових стратегій спортсменів, в тому числі у стрілецьких видах спорту, тому дослідження психосоціальних характеристик кваліфікованих лучників є досить актуальною темою.

Одним з рекомендованих методів управління та правильної організації психологічної підготовки спортсменів є методика підвищення рівня психологічної готовності [1, 15]. Аутогенний та ідеомоторний метод за відповідної організації в кожному виді спорту [1, 2] може істотно підвищити «м'язову витривалість», спортивну працездатність та сприяти збереженню техніки складних вправ після перерви в тренуваннях [13, 18, 34]. Ідеомоторика ефективна за психорегуляції емоційних станів спортсменів перед змаганнями.

Сеча є важливою біологічною рідиною організму, яку легко отримати неінвазивним шляхом. Аналіз сечі надає інформацію про стан метаболізму організму спортсмена та функціонування видільної системи нирок, що важливо для діагностики різних метаболічних захворювань [35], а також для оцінки стану тренуваності та витривалості спортсменів. До основних метаболітів сечі у нормі залучають сечовину, креатинін, молочну кислоту, продукти вільнорадикального окиснення [8, 9] та низку неорганічних солей. Зокрема, взаємозв'язок між фізичними вправами та окислювальним стресом надзвичайно складний і залежить від режиму, інтенсивності та тривалості фізичних вправ [8, 29]. Однак тканинна гіпоксія та різні патологічні стани організму призводять до значного підвищення продукції метаболітів і їхнього нагромадження в сечі через порушення транспорту чи ескреції.

Цілком відмінну картину нагромадження метаболітів виявлено у біологічних рідинах організму спортсменів. Вимірювання рівнів метаболітів у біологічних зразках спортсменів у різні часові проміжки після виконання фізичних вправ та під час психологічних навантажень надає інформацію щодо метаболічних змін фізіологічного стану їхнього організму. Wang L. та співавтори (2021) спостерігали збільшення окремих проміжних метаболітів циклу трикарбонових кислот у плазмі крові аматорів-бігунів Бостонського марафону (2-4-кратне збільшення для фумарату, лактату, малату та сукцинату), з більш помірним збільшенням цитрату/ізоцитрату та без змін для α -кетоглутарату [35]. Метаболіти, які сильно корелюють з параметрами фізичної форми, були виявлені у бігунів, які проходили інтенсивне фізичне тренування та марафонський біг. Stander та

співавтори (2018) довели, що концентрації проміжних продуктів циклу трикарбонових кислот та кетонів у сироватці крові підвищилися у бігунів саме після марафону, тоді як рівні амінокислот, навпаки, були занижені [32].

Науковці уже описували збільшення лактату під час виконання фізичних вправ різної інтенсивності у організмі спортсменів та волонтерів (нетренованих осіб) [11, 27]. Встановлено, що при збільшенні питомої ваги анаеробного процесу в організмі підвищується концентрація лактату в крові спортсменів найвищого рівня з веслування, велоспорту та тхеквондо [9], сечовини у лучників [22] та концентрація обидвох метаболітів у плазмі крові та секреті потових залоз елітних регбістів-аматорів [5]. У дослідженні Ніх С. та співробітників (2021) було виявлено, що концентрація молочної, яблучної та 2-оксоглютарової кислот, проміжних продуктів циклу трикарбонових кислот, значно підвищується під час фізичних вправ (бігу) у крові волонтерів (без фізичної підготовки) як жіночої, так і чоловічої статі. Через 30 хв після закінчення фізичного навантаження концентрація лактату знизилася до концентрації, близької до номінальної [23]. Цей висновок відповідає результатам, отриманим раніше в дослідженнях Stander Z. та співавторів [32].

За змінами концентрації молочної кислоти у тканинах та біологічних рідинах визначають анаеробну частку енергетичного обміну, а за змінами сечовини – ступінь переносимості та витривалості спортсменів до різного типу фізичних навантажень аеробної спрямованості [1]. Визначення концентрації лактату та сечовини в плазмі крові є традиційним методом виявлення патологічних змін організму. Проте цей інвазивний метод створює додатковий психологічний стрес для спортсменів та чинить фізичні перешкоди в процесі реалізації завдань під час підготовки чи покращення результатів змагань. Саме тому неінвазивне визначення зазначених метаболітів (під час екскреції їх зі сечею) є оптимальним методом біохімічного моніторингу діяльності спортсменів лучників та їхнього психологічного стану.

Мета даної роботи полягала у аналізі впливу спеціалізованої методики аутотренінгу за різних психологічних та фізичних станів та кількісній оцінці впливу чинників фізичного та психологічного навантаження на зміни екскреції метаболітів у сечі спортсменів-лучників.

Матеріали та методи

Учасники. В експериментальному дослідженні взяли участь 16 спортсменів-юнаків (5 майстрів спорту (МС) та 11 кандидатів у майстри спорту (КМС)), вік яких становив 19–22 роки (середній вік $M=19,8\pm 0,27$). Стаж занять спортом усіх учасників експерименту становив 5–7 років. Згідно з правилами біоетики, спортсмени надали письмову згоду щодо участі в експериментальних дослідженнях. Спортсмени також зобов'язані забезпечити відповідний стан здоров'я, без травм, больового синдрому та прийому постійних ліків.

Для визначення ефективності методики аутотренінгу спортсменів поділено на дві групи (експериментальну та контрольну, $n=8$), які сформовані випадковим чином. Величини основних параметрів, а саме вік, кваліфікація (рівень поточної спортивної результативності), спеціальна підготовленість (рівень силової витривалості та статичної стійкості) у спортсменів-лучників початкової, а також в утворених експериментальній та контрольній групах, не мали статистично значущих різниць ($p\geq 0,95$). Отримані вибірки характеризувалися нормальним розподілом розсіювання зазначених основних параметрів під час розрахунку середньоквадратичних відхилень. Після рандомізації до експериментальної групи потрапило 2 лучники МС і 6 КМС, а до контрольної – 3 МС і 5 КМС, однак середній результат у праві 70×2 був 614 ± 3 очка в обох вибірках.

Перед кожним тренуванням спортсмени експериментальної групи застосовували запропоновану методику аутотренінгу. Дослідження тривали з вересня по березень і проходили в два етапи. На першому етапі (умовно позначено етап спокій) досліджували біохімічні показники упродовж тренувального навантаження звиклого типу за умов доведення здобутих навичок до автоматизму. Другий етап досліджень (умовно позначено етап старт) – це змагальні навантаження, які проведено під час офіційних змагань різного рівня.

Дослідження проводили на базі кафедри стрільби та технічного спорту й кафедри біохімії та гігієни Львівського державного університету фізичної культури імені Івана Боберського. Психолого-педагогічний експеримент полягав у впровадженні аутотренінгової спеціалізованої методики регуляції психологічних станів лучників [1]; проводили упродовж 2 місяців. Спеціалізована методика підвищення рівня психологічної підготовленості лучників (методика аутотренінгу) включає концентрацію уваги на кожному елементі техніки та характері емоційного переживання спортсмена під час виконання пострілу з лука [1]. Застосування методики аутотренінгу полягало в тому, що перед кожним тренуванням спортсмени-лучники спочатку виконують заспокійливу частину (в одному з положень: лежачи на спині, напівлежачи в м'якому кріслі або в позі кучера). Після першої частини аутотренінгу лучники переходили до виконання іммобілізуючої частини психорегуляторного тренування. Потім спортсмени розпочинали стрільбу і перед самим пострілом (в положенні стоячи) застосовували 3 частину ідеомоторної підготовки. Спортсмен закриває очі і чітко уявляє собі схему правильного пострілу. І лише після ідеомоторної підготовки та прокручування елементів пострілу відбувається бойовий постріл.

Біохімічний аналіз. Сеча є важливою рідиною організму, яку легко отримати неінвазивним шляхом, що надає цінну інформацію для діагностики різних метаболічних захворювань [35]. Біохімічне обстеження лучників також проводили в два етапи під час тренувальних навантажень (спокій) та офіційних змагань (старт) перед та після фізичних навантажень. Відбір зразків біологічної рідини (сечі) проводили під час відносного спокою спортсмена після кожної конкретної події; відбір зразків був ідентичний на двох досліджуваних етапах. Концентрацію лактату в сечі визначали за кольоровою реакцією Штрёма [6], а сечовину [19, 24] – колориметричним методом.

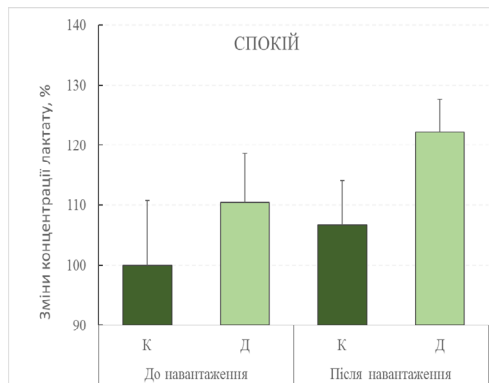
Статистичний аналіз. Для кожного параметра оцінювали середні значення (M), стандартну помилку середнього (m) та стандартні відхилення (σ), які визначали за допомогою *Microsoft Office Excel*. Статистичний аналіз даних (ймовірність різниці визначених показників (t-критерій Стьюдента) та нормальність розподілу (тест Шапіро-Вілка)) проводили за допомогою програми SPSS Statistics Base (<https://www.ibm.com/products/spss-statistics>); для визначення часток впливу фізичного та психологічного чинника у зміні досліджуваних біохімічних показників було проведено одно- та двофакторний дисперсійний аналіз [12]. Для оцінки кореляції розраховували коефіцієнт кореляції Пірсона (r), де значення до 0,5 вказувало на слабку кореляцію, від 0,5 до 0,7 – на помірну кореляцію, а від 0,7 до 1 – на сильну кореляцію. Статистичну значущість визначали за $p \geq 0,95$.

Результати і їхнє обговорення

Стрес і психологічне навантаження під час змагань, а також тренувальних зборів, погіршують результативність спортсменів у спорті [25]. Відомо, що помірний рівень стресу пов'язаний із покращенням когнітивних здібностей і фізичної працездатності [16,

25] спортсменів, тоді як високий рівень стресу зумовлює порушення когнітивної гнучкості [14] та виконавчої діяльності [37]. Крім того, як фізичні здібності, так і когнітивні навички спортсменів (сприйняття, увага, концентрація, оперативна пам'ять і вчасність прийняття рішень) [26] є вирішальними для успіху та результативності спортсменів. Lu Q. та співавтори (2021) прийшли до висновку, що практику усвідомленості (своєрідну методику аутотренінгу) слід розглядати як корисне доповнення до щоденних тренувань спортсменів, зокрема й для лучників [21]. Власне на стабілізацію та закріплення когнітивних навичок під час високого рівня психологічного навантаження спрямоване застосування лучниками методики аутотренінгу.

А



Б

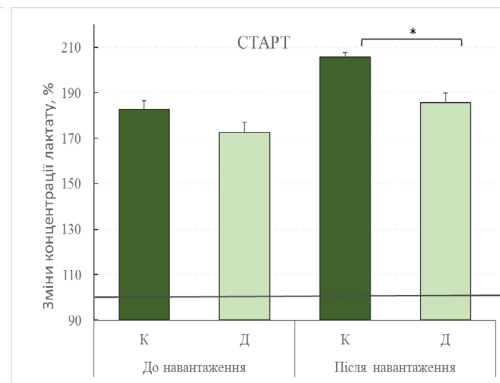


Рис. 1. Порівняння концентрації молочної кислоти під час тренувальних (А) та офіційних змагань (Б) у контрольній (К) та експериментальній (Д) групах лучників (n=8): за 100 % прийнято значення показників до фізичних навантажень за стану спокою; тут і надалі: * – $p > 0,95$; ** – $p > 0,99$; *** – $p > 0,999$. * – вірогідні зміни порівняно з контрольною групою

У результаті проведених досліджень визначення молочної кислоти в сечі лучників встановлено такі особливості виділення проміжного метаболіту обміну вуглеводів. Концентрація лактату в сечі лучників під час тренувальних зборів до фізичного навантаження відповідає діапазону концентрацій молочної кислоти в сечі у здорових людей без надмірного фізичного навантаження [28] та становить у середньому 1 ммоль/л (на рисунках прийнято за 100 %, рис. 1, А). Після виконання звиклого фізичного навантаження у зразках сечі лучників не виявлено збільшення концентрації лактату в контрольній групі.

При порівнянні змін рівня лактату в сечі спортсменів експериментальної групи під час тренувальних зборів також не виявлено змін досліджуваного показника порівняно з контрольною групою спортсменів, які не використовували під час тренувань методики психорегулюючого тренування. Отже, застосування методики аутотренінгу під час тренувальних зборів лучників не впливає на нагромадження в сечі проміжних метаболітів, що, мабуть, обумовлено короткотривалим (1 тиждень) застосуванням досліджуваної методики аутотренінгу.

Під час офіційних змагань змін рівня лактату у сечі лучників групи контролю також не виявлено (рис. 1, Б). Однак у зразках сечі спортсменів експериментальної групи зафіксовано нижчу концентрацію молочної кислоти. Довготривале (мінімум 8 тижнів) застосування методики психорегулюючого тренування лучниками експериментальної групи вело до достовірного зниження концентрації лактату на $9,7 \pm 0,4$ % ($p > 0,95$), порівняно з групою контролю.

Помірні навантаження на організм спортсменів, які зазвичай застосовують лучники, не впливають на процеси реабсорбції у проксимальних каналцях нефронів, оскільки саме в проксимальній мембрані нефроцитів напівфіксовані метаболіти (NH_4^+ , лактат, піруват, кетонні тіла) реабсорбуються за механізмом вторинно активного транспорту. Kistner S. та співробітники (2023) встановили, що безперервні інтенсивні вправи зумовлюють більш визначальні зміни в метаболітах сечі, ніж безперервні помірні вправи [17], повертаючись до вихідного рівня упродовж 24 год. Більшість відмінностей між випробуваннями фізичних навантажень, ймовірно, відображають вищі потреби в енергії під час безперервних інтенсивних навантажень, що підтверджено більшими вираженими зсувами метаболітів, пов'язаних з гліколізом (наприклад, лактат, піруват), циклом трикарбонових кислот, розпадом пуринових нуклеотидів, а також мобілізацією або деградацією амінокислот. Також Саєнко В. та співавторами (2015) продемонстровано, що у пауерліфтерів високої кваліфікації при виконанні звиклого тренувального навантаження та впродовж змагальних перевантажень у сечі з'являються метаболіти, не характерні для норми (кетони, глюкоза та протеїн), які в процесі поступового або повного відновлення організму зникають [3].

Наступним завданням роботи було визначити та проаналізувати концентрацію сечовини в сечі лучників до та після звиклого фізичного навантаження за різних психологічних станів. Як і очікувалося [19, 31], виявлено тенденцію до зростання рівня сечовини як за психологічного, так і за фізичного навантаження у спортсменів обох груп, однак ці зміни не підтверджені статистично (рис. 2, А–Б). За даних умов не виявлено змін рівня сечовини після застосування методики аутотренінгу, що в першу чергу зумовлено типом, режимом харчування та рівнем вживання протеїну спортсменами, а також рівнем тренуваності організму спортсменів.

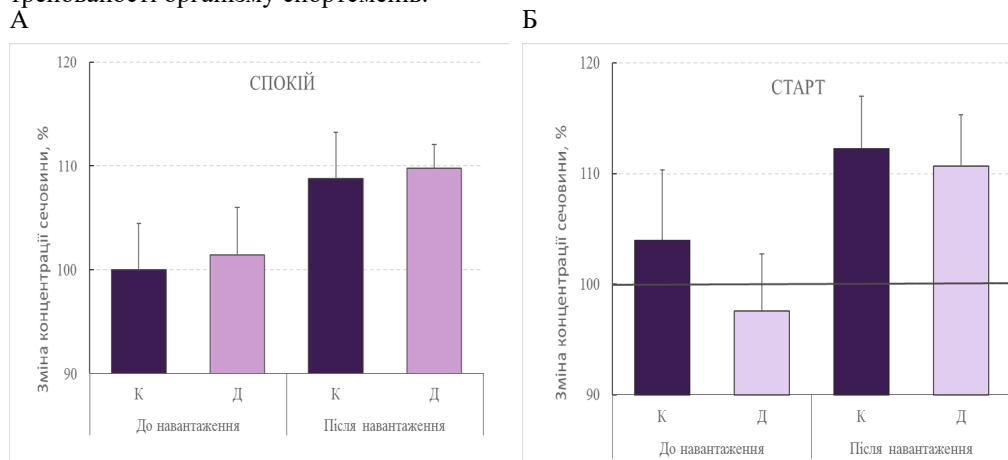


Рис. 2. Порівняння концентрації сечовини під час тренувальних (А) та офіційних змагань (Б) у контрольній (К) та експериментальній (Д) групах лучників (n=8): за 100 % прийнято значення показників до фізичних навантажень за стану спокою

Одним із адекватних способів оцінки впливу чинників (за відносними частками впливу у мінливість значень досліджуваного показника), а також підтвердження цього впливу на функціонування організму є дисперсійний аналіз [12].

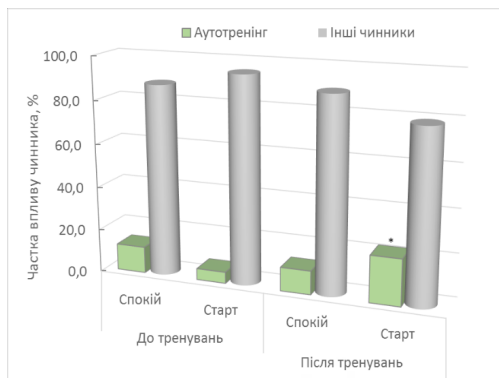
Результати однофакторного дисперсійного аналізу наведено на рис. 3. На етапі спокою виявлено недостовірний внесок впливу застосування методики підвищення рівня психологічної готовності спортсменів-лучників на результативність (спостерігали

покращення результативності лучників експериментальної групи в середньому на 10–11 балів; результати не наведено) та нагромадження молочної кислоти в сечі (12,5 %).

Частка впливу інших неврахованих чинників перевищувала 85 %. Отже, на етапі спокою основними чинниками, які визначають результативність лучників під час звичлих тренувань, є невраховані чинники, до яких найвірогідніше можна віднести фізичну підготовку та індивідуальну витривалість спортсмена.

Однак довготривале застосування методики аутотренінгу (мінімум два місяці) достовірно збільшило внесок частки впливу цієї методики в зміни екскреції молочної кислоти в сечі лучників.

А



Б

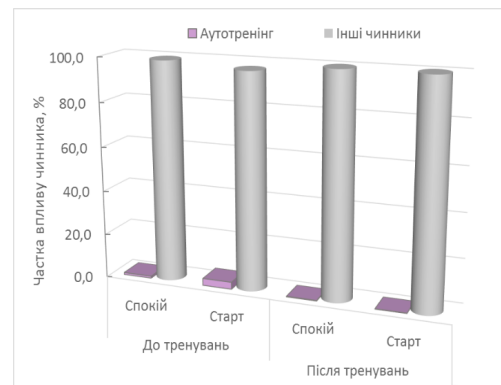


Рис. 3. Однофакторний дисперсійний аналіз застосування методики підвищення рівня психологічної готовності до метаболітів (А – лактат, Б – сечовина) у лучників на етапах спокою та старту: * – $p > 0,95$

На етапі старту внесок спеціалізованої методики у зміни екскреції лактату становив 21,4 % ($p > 0,95$; рис. 3, А). Слід зазначити, що внесок неврахованих чинників у продуктивність спортсменів залишався вагомим (78,2 %).

Щодо аналізу змін сечовини у сечі лучників, то за досліджуваних станів не встановлено достовірного внеску методики підвищення рівня психологічної готовності на зміни показника. Частка внеску методики аутотренінгу на зміни екскреції сечовини була недостовірною і становила в середньому 1,1 %.

Як відомо, дисперсійний аналіз дає змогу не лише оцінити достовірність впливу різних чинників на досліджуваний показник та їхній внесок у загальну мінливість показника (у межах 100 %), а за значенням відносних (відсоткових) часток впливу чинників порівнювати ці впливи [12]. Для виокремлення часток впливу чинників на зміни концентрації метаболітів у сечі спортсменів за різних станів та порівняння часток їхнього впливу проведено двофакторний дисперсійний аналіз змін лактату та сечовини у сечі лучників за різних станів, результати якого наведено на рис. 4 та 5.

Встановлено, що зміни концентрації лактату в сечі визначалися в основному фізичною активністю та психологічним навантаженням спортсменів контрольної групи. Частки внеску зазначених чинників були достовірними та становили 80,0 % та 3,5 % відповідно (рис. 4, А).

Найвагоміший внесок на зміни рівня лактату у сечі спортсменів-лучників експериментальної групи двофакторний дисперсійний аналіз виявив для чинника

методики аутотренінгу (68,4 %) та чинника психологічного навантаження (рис. 4, Б). Варто зазначити, що комплексне поєднання зазначених чинників для обох груп (рис. 4, А–Б) не проявляло достовірного впливу на досліджуваний показник. Частка впливу неврахованих чинників для обох груп спортсменів була помірною та становила в середньому 20,4 %.

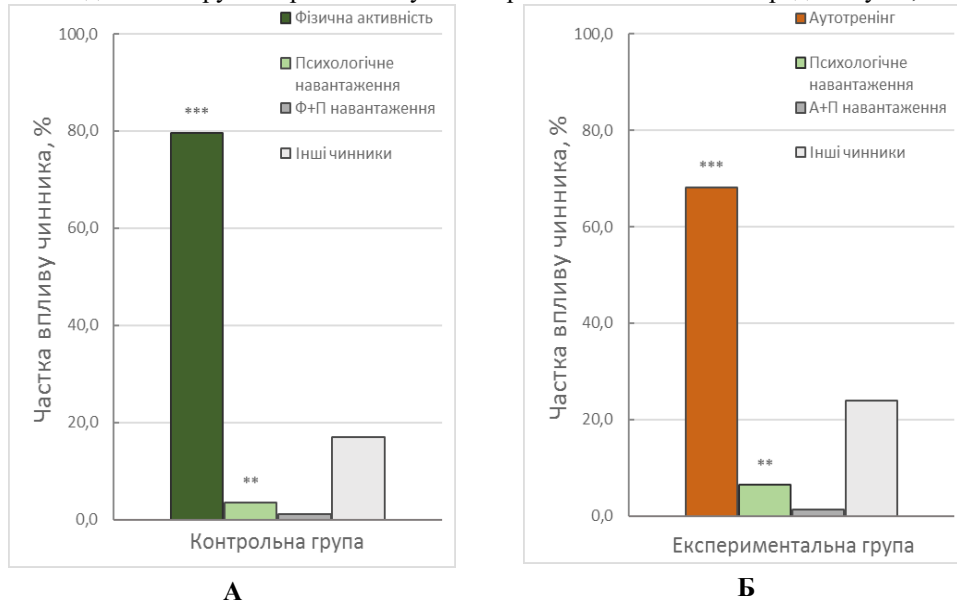


Рис. 4. Оцінка впливу методики підвищення рівня психологічної готовності на рівень лактату у сечі лучників; ** – $p < 0,99$; *** – $p < 0,999$, вплив інших чинників несуттєвий

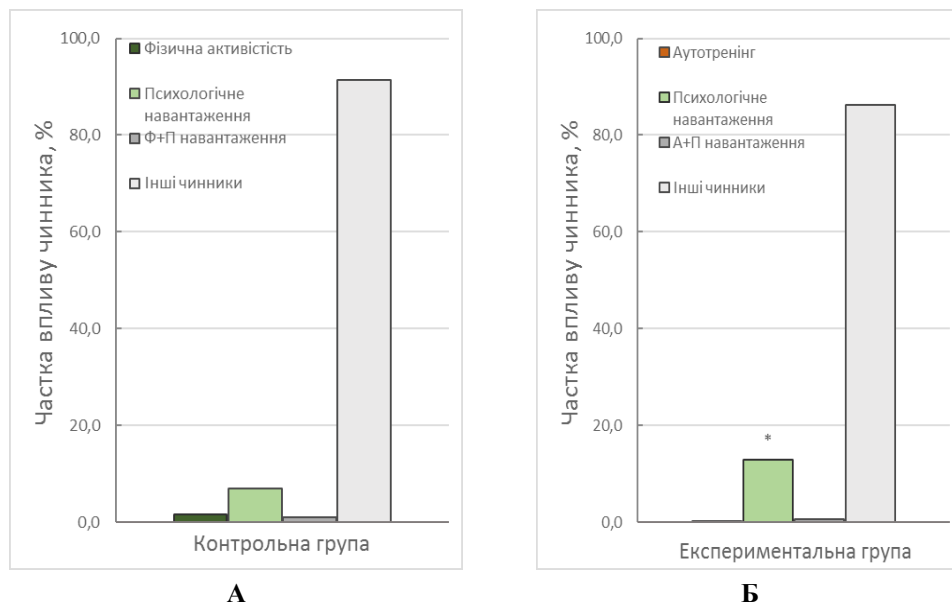


Рис. 5. Оцінка впливу методики підвищення рівня психологічної готовності на рівень сечовини у сечі лучників; * – $p > 0,95$; вплив інших чинників несуттєвий

Щодо оцінки впливу перерахованих чинників на зміни нагромадження сечовини у сечі лучників, то внесок їх був мінімальним та недостовірним (рис. 5, А – 5, Б), окрім частки впливу чинника психологічного навантаження 12,9 %, $p > 0,95$. В основному зміни сечовини у сечі спортсменів залежали від інших неврахованих чинників в експерименті (тип та режим харчування, якість та склад їжі [22], інтенсивність метаболізму тощо).

Ми не виявили достовірного кореляційного зв'язку між рівнем досліджуваних метаболітів ($r = 0,02$, $p < 0,95$, $n = 16$) до та після фізичного навантаження під час тренувальних зборів у обох групах спортсменів. Також і під час офіційних змагань до фізичного навантаження (рис. 6) між досліджуваними показниками не встановлено достовірного кореляційного зв'язку ($r = 0,4$, $p < 0,95$, $n = 16$) у контрольній групі спортсменів (не застосовували методики аутотренінгу).

Отримані результати свідчать про те, що застосування методики аутотренінгу суттєво не впливає на показники лактату та сечовини в сечі лучників до виконання фізичних вправ за обох досліджуваних психологічних станів. Це також підтверджують низькі частки впливу чинника методики аутотренінгу, визначені дисперсійним аналізом, та недостовірний кореляційний зв'язок. Встановлено, що зміни концентрації молочної кислоти у сечі спортсменів обумовлені в основному фізичним (80 %) та психологічним (3,6 %) навантаженням.

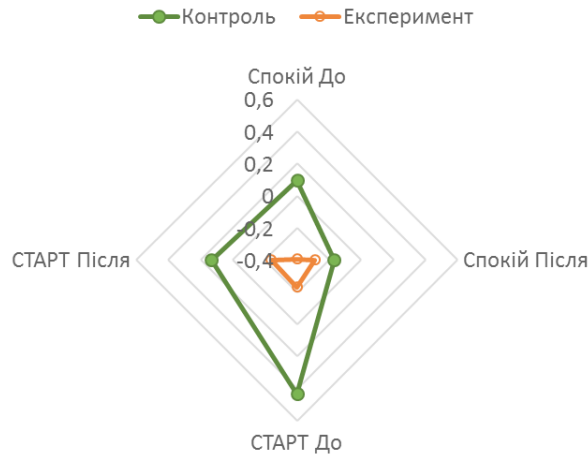


Рис. 6. Кореляційний аналіз між рівнем лактату та сечовини у сечі лучників за різних станів: до та після фізичного навантаження; спокій – тренувальні змагання, старт – офіційні змагання

Триваліше застосування методики аутотренінгу спортсменами на етапі старту достовірно знижувало концентрацію лактату на $9,7 \pm 0,4$ % ($p > 0,95$) у сечі лучників порівняно з контролем після виконання фізичних вправ. За цих умов рівень молочної кислоти у сечі спортсменів експериментальної групи визначається в основному застосуванням методики аутотренінгу (68,2 %) та психологічним (6,4 %) навантаженням. Слід зазначити, що частка впливу неврахованих чинників для обох груп спортсменів була помірною та становила в середньому 20,4 %.

Ми також встановили, що рівень сечовини не змінювався після виконання фізичного навантаження у обох групах спортсменів, як під час тренувальних зборів, так і під час офіційних змагань. Водночас не виявлено й змін рівня сечовини після застосування методики аутотренінгу за різних досліджуваних станів, що в першу чергу зумовлено

типом, режимом харчування та рівнем вживання білкових продуктів спортсменами, а також психологічним навантаженням (12,9 %, $p > 0,95$).

Стрільба з лука є унікальним спортом для вправ і точності, ключами до результативності якого є емоційний контроль, увага та концентрація, а не рушійна енергія, сила м'язів і витривалість [33]. Під час виконання стрільби з лука уважність є основою до продуктивності/результативності елітних гравців, особливо в початковий період під час етапу натягування лука. А для цього спортсмен потребує стабільного емоційного та психологічного контролю балансу тіла, координації своїх рухів і когнітивних навичок [21, 26] за будь яких умов.

Дослідження впливу частоти серцевих скорочень на ефективність стрільби у елітних лучників показало [4], що в симульованому середовищі змагань високі значення ЧСС (короткого серцевого циклу) при пороговому рівні лактату в крові (зразки відібрані в стані відносного спокою через 10 хвилин після виконання фізичних вправ (бігу)) у стрільців елітного рівня різної статі не мають негативного впливу на результативність стрільби в приміщенні [4]. У стані відносного спокою після виконання пострілу значення молочної кислоти в крові лучників становило 0,9–2,6 ммоль/л, тоді як після виконання фізичних вправ – бігу, що імітував фізіологічний стандартизований рівень стресу, – значення лактату в крові спортсменів ідентифіковано у діапазоні 1,3–7,0 ммоль/л.

Дані метаболомії сечі ватерполістів встановили зміни метаболічних характеристик одразу після офіційних змагань порівняно з результатами перед змаганнями. Підвищувався рівень деяких органічних кислот (молочна та бурштинова кислоти) і глюкози, і водночас знижувався вміст холіну та аміну, які беруть участь у метаболізмі глюкози, ліпідів та амінокислот [36]. Однак такі зміни метаболітів спортсменів швидше за все пов'язані з застосуванням активних видів тренувальних вправ та потужним навантаженням на активні м'язи під час офіційних змагань з ватерполо.

Нагромадження молочної кислоти в біологічних рідинах організму відображає перехід від аеробної до анаеробної системи виробництва енергії. Моніторинг цього зсуву є важливим параметром для адаптації підготовки спортсменів до видів спорту на витривалість [10]. У нашому дослідженні було встановлено, що концентрації молочної кислоти та сечовини в сечі лучників мають тенденцію до зростання як за психологічного, так і за фізичного навантаження у спортсменів контрольної та експериментальної груп, однак ці зміни не підтверджені статистично. Відомо, що концентрація досліджуваних нами метаболітів у крові стрімко підвищується під час виконання інтенсивних або безперервних фізичних вправ спортсменами [3, 17]. Тоді як стрільці під час тренувальних вправ в основному не застосовують інтенсивного навантаження, їхнє тренування спрямоване на контроль рівноваги тіла, координації рухів, когнітивних навичок [21] та психологічного/емоційного стану. У результаті проведених досліджень встановлено, що систематичне застосування запропонованої методики ауторенінгу впродовж 8 тижнів достовірно позитивно знизило концентрацію лактату у сечі лучників. Отже, можемо припустити, що маркером оцінки психологічного навантаження може виступати молочна кислота.

Вироблення лактату у ссавців та людини збільшується, коли потреба в АТФ і O_2 перевищує надходження субстратів, як це відбувається під час інтенсивних фізичних вправ і захворювань, зокрема, ішемії чи онкопатології [30]. Накопичення лактату в стресових м'язах та ішемічних тканинах закріпило репутацію лактату як шкідливого продукту життєдіяльності [20]. Водночас забезпечуючи клітини здорового організму як зручним джерелом, так і поглиначем сполук вуглецю, молочна кислота в крові дозволяє відокремити мітохондріальну генерацію енергії від гліколізу. Лактат і піруват разом є циркулюючим

окисно-відновним буфером, який врівноважує співвідношення НАДН/НАД⁺ у клітинах і тканинах [30]. Тривалість відновлення різних енергетичних субстратів в організмі відіграє важливу роль у правильній побудові тренувального процесу та відновленні ресурсів організму, як після фізичного, так і після психологічного навантаження.

Аналізуючи результати двофакторного дисперсійного аналізу, встановлено, що внесок чинника методики аутотренінгу (68,4 %) на зміни концентрації лактату в сечі лучників є найбільшим та вагомим лише власне під час максимального психологічного навантаження спортсменів – офіційних змагань. Тоді як за звичайного тренувального режиму рівень лактату та сечовини у сечі лучників за різних досліджуваних станів визначаються або фізичним навантаженням, або неврахованими чинниками відповідної групи. Враховуючи отримані дані та результати проведеного дисперсійного аналізу можемо рекомендувати як маркер оцінки психологічного стану спортсмена-лучника використовувати рівень молочної кислоти у сечі. На відміну від лактату, рівень сечовини краще використовувати як показник втоми та відновлення спортсменів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Виноградський Б. А.* Спортивна стрільба з лука: основи й удосконалення спеціальної підготовленості: монографія. Львів: ЛДУФК, 2012. 304 с.
2. *Войтенко С. М.* Психолого-педагогічні засоби регуляції спільної діяльності спортивних команд із різним типом взаємодії: автореф. дис. ... канд. наук з фіз. виховання і спорту: 24.00.01. Львів: ЛДУФК, 2017. 23 с.
3. *Сасенко В., Дубовий О., Дубовий В.* Біохімічний аналіз сечі пауерліфтерів високої кваліфікації на тренувальних заняттях та змаганнях // Фізичне виховання, спорт і культура здоров'я у сучасному суспільстві: збірник наукових праць. 2015. Т. 2 (30). С. 155–159.
4. *Açıkada C., Hazır T., Asçı A.* et al. Effect of heart rate on shooting performance in elite archers // *Heliyon*. 2019. Vol. 5 (3). P. e01428. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01428>
5. *Alvear-Ordenes I., García-López D., de Paz J. A.* et al. Sweat lactate, ammonia, and urea in rugby players // *Inter. J. Sports Med*. 2005. Vol. 26 (8). P. 632–7. <https://doi.org/10.1055/s-2004-830380>
6. *Barker S. B., Summerson W. H.* The colorimetric determination of lactic acid in biological material // *J. Biol. Chem*. 1941. Vol. 138 (2). P. 535–554.
7. *Borges T. O., Moreira A., Bacurau R. F. P.* et al. Physiological demands of archery: effect of experience level // *Rev. Bras. Cineantropom. Hum*. 2020. Vol. 22. P. e72276. <http://dx.doi.org/10.1590/1980-0037.2020v22e7227>
8. *Clemente-Suárez V. J., Bustamante-Sánchez Á., Mielgo-Ayuso J.* et al. Antioxidants and sports performance // *Nutrients*. 2023. Vol. 15 (10). P. 2371. <https://doi.org/10.3390/nu15102371>
9. *Cubriilo D., Djordjevic D., Zivkovic V.* et al. Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation to sport type // *Mol. Cell. Biochem*. 2011. Vol. 355(1–2). P. 273–9. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-0864-8>
10. *Etxegarai U., Portillo E., Irazusta J.* et al. A heuristic approach for lactate threshold estimation for training decision-making: An accessible and easy to use solution for recreational runners // *Eur. J. Oper. Res*. 2021. Vol. 291 (2). P. 427–437 <https://doi.org/10.1016/j.ejor.2019.08.023>
11. *Gáspari A. F., Berton R., Lixandrão M. E.* et al. The blood lactate concentration responses in a real indoor sport climbing competition // *Science Sports*. 2015. Vol. 30. P. 228–231. <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2015.05.002>

12. *Glantz S. A.* Primer of Biostatistics, 7th Edition. McGraw-Hill // Medical. 2012. 800 p.
13. *Hamdan Z. A., Ahmad Z., Johari N. H.* Investigation of muscle fatigue of the archer's during endurance shooting // *JMES*. 2022. Vol. 16 (3). P. 8987–8995. <http://dx.doi.org/10.15282/jmes.16.3.2022.02.0711>
14. *Kalia V., Vishwanath K., Knauft K.* et al. Acute stress attenuates cognitive flexibility in males only: an fNIRS examination // *Front. Psychol.* 2018. Vol. 9. P. 2084. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.02084>
15. *Keast D.* Goal setting for the archery // *Sports Coach*. 1991. Vol. 14 (3). P. 3–5.
16. *Kelly R. S., Kelly M. P., Kelly P.* Metabolomics, physical activity, exercise and health: a review of the current evidence // *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Basis Dis.* 2020. Vol. 1866. P. 165936. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165936>
17. *Kistner S., Mack C.I., Rist M. J.* et al. Acute effects of moderate vs. vigorous endurance exercise on urinary metabolites in healthy, young, physically active men-A multi-platform metabolomics approach // *Front. Psychol.* 2023. Vol. 14. P. 1028643. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1028643>
18. *Korobeynikov G., Mazmanian K., Korobeynikova L., Jagiello W.* Diagnostics of psychophysiological states and motivation in elite athletes // *Bratisl. Med. J.* 2011. Vol. 112 (11). P. 637–43.
19. Laboratório Biomédico. Ureia urinária (Urinary urea). Disponível em: <https://www.labbiomedico.com.br/copia-copia-17>
20. *Li X., Yang Y., Zhang B.* et al. Lactate metabolism in human health and disease // *Signal transduction and targeted therapy*. 2022. Vol. 7 (1). P. 305. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01151-3>
21. *Lu Q., Li P., Wu Q.* et al. Efficiency and enhancement in attention networks of elite shooting and archery athletes // *Front. Psychol.* 2021. Vol. 12. P. 638822. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.638822>
22. *Mahlovanyj A., Pazychuk O., Musyka F.* The level of energy metabolism of archers // *Sport science of Ukraine*. 2016. Vol. 4 (74). P. 40–45. (In Ukrainian) <https://repository.ldufk.edu.ua/bitstream/34606048/9859/1/445-915-1-SM.pdf>
23. *Nix C., Hemmati M., Cobraiville G.* et al. Blood microsampling to monitor metabolic profiles during physical exercise // *Front. Mol. Biosci.* 2021. Vol. 27 (8). P. 681400. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.681400>
24. *Ormsby A. A.* A direct colorimetric method for the determination of urea in blood and urine // *J. Biol. Chem.* 1942. Vol. 146. P. 595–604.
25. *Park I., Kim Y., Kim S. K.* Athlete-specific neural strategies under pressure: a fNIRS pilot study // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020 Vol. 17 (22). P. 8464. <https://doi.org/10.3390/ijerph17228464>
26. *Parnabas V., Abdullah N. M., Shapie M. N. M.* et al. Level of cognitive and somatic anxiety on performance of university kebangsaan malaysia athletes // *Proceedings of the International Colloquium on Sports Science, Exercise, Engineering and Technology*. 2014. P. 291–300. https://doi.org/10.1007/978-981-287-107-7_31
27. *Pechlivanis A., Kostidis S., Saraslanidis P.* et al. 1H NMR study on the short- and long-term impact of two training programs of sprint running on the metabolic fingerprint of human serum // *J. Proteome Res.* 2013. Vol. 12. P. 470–480. <https://doi.org/10.1021/pr300846x>
28. *Phypers B., Pierce J. M. T.* Lactate physiology in health and disease. Continuing education in anesthesia // *Critical Care and Pain*. 2006. Vol. 6. P. 128–132. <http://dx.doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkl018>

29. *Pingitore A., Lima G. P., Mastorci F.* et al. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports // *Nutrition*. 2015. Vol. 31 (7-8). P. 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.02.005>
30. *Rabinowitz J. D., Enerbäck S.* Lactate: the ugly duckling of energy metabolism // *Nature metabolism*. 2020. Vol. 2 (7). P. 566–571. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0243-4>
31. *Saatkamp C. J., de Almeida M. L., Bispo J. A.* et al. Quantifying creatinine and urea in human urine through Raman spectroscopy aiming at diagnosis of kidney disease // *J. Biomedical Optics*. 2016. Vol. 21 (3). P. 037001. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.3.037001>
32. *Stander Z., Luies L., Mienie L. J.* et al. The altered human serum metabolome induced by a marathon // *Metabolomics*. 2018. Vol. 14. P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1447-4>
33. *Tsai Y. H., Wu S. Y., Hu W. L.* et al. Immediate effect of non-invasive auricular acupoint stimulation on the performance and meridian activities of archery athletes: A protocol for randomized controlled trial // *Medicine (Baltimore)*. 2021. Vol. 100 (8). P. e24753. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000024753>
34. *Vendrame E., Belluscio V., Truppa L.* et al. Performance assessment in archery: a systematic review // *Sports Biomech*. 2022 Vol. 29. P. 1–23. <https://doi.org/10.1080/14763141.2022.2049357>
35. *Wang H., Ran J., Jiang T.* Urea // *Sub-cellular biochemistry*. 2014. Vol. 73. P. 7–29. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9343-8_2
36. *Wang L. L., Chen A. P., Li J. Y.* et al. Mechanism of the effect of high-intensity training on urinary metabolism in female water polo players based on UHPLC-MS non-targeted metabolomics technique // *Healthcare*. 2021. Vol. 9 (4). P. 381. <https://doi.org/10.3390/healthcare9040381>
37. *Wu J., Yan J.* Stress and cognition // *Front. Psychol*. 2017. Vol. 8. P. 970.
38. *Yi-Chieh C., Tsung-Min H.* Effects of pre-competition cognitive anxiety on attention and emotion during archery performance // *Int. J. Psychophysiol*. 2010. Vol. 77 (3). P. 268. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2010.06.105>

Стаття надійшла до редакції 07.06.24

доопрацьована 11.07.24

прийнята до друку 19.08.24

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE LACTATE AND UREA CHANGES IN THE ATHLETES-ARCHERS URINE UNDER DIFFERENT PHYSICAL AND PSYCHOLOGICAL LOADS

M. Sybil¹, Ya. Svyshch¹, A. Vynogradskyi¹, M. Bura² R. Pervachuk¹

*¹Ivan Bobersky Lviv State University of Physical Culture
11, Kostyushko St., Lviv 79007, Ukraine*

*²Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: marta.bura@lnu.edu.ua*

The qualified athletes training includes, in addition to physical training, also the improvement of the psychological state aimed at the formation of the athlete's state of the readiness for competitive activity. Considering this, the search for non-invasive assessment methods for monitoring the physical and psychological activity of athletes is very urgent. Understanding this condition can help create methods and tools to adaption to the extreme

conditions of such activities. According to the “clogging” theory, fatigue is an overtime accumulation of various metabolites (in particular, lactic acid, urea, etc.) in the body’s biological fluids. Therefore, the study was aimed at evaluating the impact of a specialized self-training technique under different psychological (training and official competitions) and physical (before and after physical exertion) states on the changes in urinary metabolite excretion of the archers.

In the study, 16 young athletes (5 masters of archery and 11 candidates for master of sports) participated. Athletes were randomly divided by age and qualification into two groups: control (worked out according to the standard protocol) and experimental (auto-training methods were additionally used). The research was conducted under different physical (before and after training) and psychological (training (rest stage) and official competitions (start stage)) conditions. The subject of biochemical monitoring was the metabolites lactate and urea, which were determined in urine samples of archers taken according to the protocol before and after physical exertion during regular training and official competitions.

The lactic acid concentration, as well as urea, in the urine of archers did not change during training sessions of sportsmen after performing physical activity of the usual type. That is, the use of the auto-training technique during regular training sessions does not affect the accumulation of the studied metabolites in the urine, which is probably due to the short-term use (one week) of the technique itself. With help of two-way ANOVA analysis, it was established that changes of the lactic acid concentration in urine are mainly due to physical (80 %) and psychological (3.6 %) loadings of athletes, and urea changes – the unaccounted factors (88.8 % on average).

At the official competitions stage, after the auto-training method systematic application, a concentration of the lactate significant decreased by 9.7 ± 0.4 % ($p > 0.95$) in the urine of archers compared to controls after the usual physical exercises implementation. Under these conditions, the lactic acid level in the urine of athletes is mainly determined by the using of auto-training technique (68.2 %) and the psychological (6.4 %) load. It should be noted that the share of influence of the unaccounted factors for both athlete’s groups was moderate and amounted to 20.4 % on average. The urea level in the urine insignificant increased after training in both athlete groups, both during training sessions and during official competitions, and was also independent of the athletes’ use of auto-training technique.

At the official competitions stage, after the systematic application of the auto-training technique, the concentration of lactate in the urine of archers significant decreased by 9.7 ± 0.4 % ($p > 0.95$) compared to the control group after performing the usual physical exercises implementation. Under these conditions of the Start stage, changes of the lactic acid concentration in the urine of athletes depend mainly by the using of auto-training technique (68.2 %) and psychological load of archers (6.4 %). It should be noted that the share of influence of unaccounted factors for both groups of athletes was moderate and amounted to 20.4 % on average. The urea level in the urine insignificant increased after training in both athlete groups, both during training sessions and during official competitions, and was also independent of the athletes’ use of auto-training technique.

Keywords: lactic acid, urea, archery, auto-training technique, physical activity

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ОСОБЛИВОСТІ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ПРОСТИМИ КІСТАМИ НИРОК

О. Писко^{1,2}, М. Дика²

¹Урологічне відділення, Лікарня Святого Пантелеймона
вул. І. Миколайчука, 9, Львів 79059, Україна

²Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: mariya.dyka@lnu.edu.ua

Прості кісти нирок досить поширені у дорослих, і частота їхнього виникнення зростає з віком. Кіста нирок – це рідинне тонкостінне, об’ємне утворення, яке розвивається у товщі ниркової тканини або підкапсульно і містить, як правило, серозну рідину. Кісту зазвичай виявляють під час ультразвукографічного обстеження органів черевної порожнини та нирок. Мета дослідження – порівняти клініко-лабораторні характеристики пацієнтів із простими кістами нирок, яких піддавали аспіраційній склеротерапії або лапароскопічній резекції, та встановити взаємозалежності між цими показниками. Дослідження проводили на базі урологічного відділення лікарні Святого Пантелеймона в період 2021–2023 рр. Проаналізовано 46 пацієнтів, яким проводили хірургічне видалення кісти нирок. Основними методами лікування кісти нирки були аспіраційна склеротерапія та лапароскопічна резекція. Пацієнтів поділили на групи залежно від методу лікування (аспіраційна склеротерапія або лапароскопічна резекція). Для встановлення відмінностей провели порівняльний аналіз за віком, статтю, результатами клініко-лабораторних досліджень, локалізацією кісти й рецидивами. Взаємозалежність між клінічними показниками та методами лікування оцінювали за допомогою критерію χ^2 Пірсона. Статистичний аналіз отриманих даних здійснювали за допомогою програмних пакетів SPSS v. 25.0 та EXCEL.

Серед прооперованих пацієнтів методом лапароскопічної резекції було 13 чоловіків (62 %) та 8 жінок (38 %). У 8 пацієнтів виявлено кісту правої нирки (38 %), а у 13 пацієнтів виявлено кісту лівої нирки (62 %). Вік пацієнтів становив $56 \pm 2,6$ років. Серед пацієнтів, яких піддавали аспіраційній склеротерапії, було 11 чоловіків (44 %) і 14 жінок (56 %). У 14 пацієнтів виявлено кісту правої нирки (56 %), а у 11 пацієнтів – кісту лівої нирки (44 %). Вік пацієнтів $63 \pm 2,2$ роки. Розмір кіст нирок у пацієнтів, які прооперовані методом лапароскопічної резекції, становив $70 \pm 3,6$ мм. У пацієнтів, яких піддавали аспіраційній склеротерапії, розмір кіст нирок становив $72 \pm 5,4$ мм. Статистично достовірної різниці за віком, статтю, розміром кіст нирок у пацієнтів, яких піддавали аспіраційній склеротерапії та лапароскопічній кістектомії, не виявлено. Нами встановлено, що у хворих після лапароскопічної резекції рецидивів у клініці не було. Однак частота рецидивів у хворих після аспіраційної склеротерапії становить 74 ± 9 % від загальної кількості хворих і є досить високим показником рецидивів кіст нирок.

Отже, лапароскопічна резекція – більш ефективний метод лікування, порівняно з аспіраційною склеротерапією. Таким чином, лапароскопія є сучасним підходом до хірургії кіст нирок, що дає змогу не лише зменшити травматизм, прискорити відновлення пацієнтів, але й забезпечити високу точність і ефективність лікування.

Ключові слова: кіста нирок, аспіраційна склеротерапія, лапароскопічна резекція

Проста кіста нирок (нефрогенна кіста) є однією з патологій органів сечовидільної системи. Її діагностують у 50 % людей віком більше 50 років. Ця структурна аномалія часто безсимптомна, переважно не несе загрози життю людини, але потребує лікування, оскільки може провокувати розвиток супутніх захворювань (пієлонефриту і ниркової недостатності, нефрогенної артеріальної гіпертензії), а також призвести до ускладнення нагноєння та розриву кісти. Кіста нирки може виникати у будь-якому віці та мати різні причини походження, що робить її предметом інтенсивних досліджень. Основними факторами виникнення кіст нирок є спадкова схильність, травми нирок, хронічні запальні захворювання нирок, що провокують посилене зростання епітелію, внаслідок чого забиваються ниркові каналці [7].

Аспіраційна склеротерапія і лапароскопічна резекція є основними методами лікування кісти нирки [3]. Лапароскопічну резекцію зазвичай застосовують для великих кіст або кіст, що швидко збільшуються в розмірі, тоді як до переваг аспіраційної склеротерапії слід залучити нескладне технічне виконання маніпуляції, короткі терміни відновного лікування після операції, мінімальні фінансові витрати, але надійність цього методу не гарантована [3].

Лапароскопічна резекція кісти (кістектомія) – радикальний хірургічний метод, під час якого видаляють (висікають) стінки кісти у межах здорової тканини нирки. Цей метод застосовують для кіст великих розмірів, рецидивних кіст, а також кіст, що локалізуються у воротах нирки [6].

Аспіраційна склеротерапія простих кіст нирок є малоінвазивним методом лікування. Суть методу: в нирку вводять тонку голку через шкіру в напрямку до кісти, керуючись зображеннями з ультразвукового апарата. Коли голку введено в порожнину кісти, проводять повну аспірацію рідинного вмісту. Після цього всередину вводять склерозуючий препарат, який склеює стінки новоутворення.

Отже, є потреба узагальнити наявний досвід і визначити клінічні характеристики пацієнтів, яких піддають різним методам оперативного втручання. Метою даного дослідження було порівняти клініко-лабораторні характеристики пацієнтів із простими кістами нирок, яких піддавали хірургічному лікуванню. Аналіз передбачав порівняння розміру кіст, розташування їх у нирці, рецидивів кіст у групах пацієнтів, яких піддавали аспіраційній склеротерапії та лапароскопічній кістектомії, та встановити взаємозалежність між цими показниками.

Матеріали та методи

У дослідженні проаналізували дані 46 прооперованих пацієнтів із простими кістами нирок, без важкої супутньої патології в період 2021–2023 рр. Лікування та спостереження пацієнтів проводили на базі урологічного відділення І ТМО м. Львова, ВП Лікарня Святого Пантелеймона. Порівняльний аналіз проводили між групами пацієнтів з діагнозом проста кіста нирки, яких піддавали аспіраційній склеротерапії та лапароскопічній кістектомії. Додатково оцінювали клінічні аспекти, лабораторні показники функції нирок. Проводили аналіз рецидиву кіст нирок.

Усім хворим на передопераційному етапі проводили загальне клінічне обстеження, що включало: аналіз скарг, огляд і пальпацію, збір анамнезу, вимірювання артеріального тиску, лабораторні дослідження (загальний аналіз крові, біохімічний аналіз крові, загальний аналіз сечі), електрокардіографію та проведення диференціальної діагностики із захворюваннями, здатними викликати симптоматику, схожу з кістами нирок. Ультразвукове сканування було основним діагностичним методом встановлення діагнозу

простої кісти нирки. Це швидкий, неінвазійний і досить ефективний спосіб діагностики таких утворень, що дає змогу точно локалізувати й оцінити розмір кіст. Для отримання додаткової інформації проводили оглядову рентгенографію та екскреторну урографію, які застосовують для оцінки функції нирок і можливих анатомічних аномалій будови нирок, а також комп'ютерну томографію органів заочеревинного простору із контрастуванням, що забезпечує докладну тривимірну інформацію про структуру нирки та її оточення. Усі ці методи можна використовувати як доповнення до ультразвукового сканування для отримання повної картини стану нирок і виявлення простих кіст.

Для лікування пацієнтів використовували аспіраційну склеротерапію та лапароскопічну резекцію. Аспіраційна склеротерапія – це процедура, яку використовують для лікування цист та інших розширених порожнинних утворень, включаючи прості кісти нирки. Під час цієї процедури вводили спеціальний розчин (склерозуючу речовину) безпосередньо в порожнину кісти через тонку голку під контролем ультразвукового сканування. Як склерозант використовували 96 % етиловий спирт у кількості 10–15 % від первинного об'єму кісти. Цей розчин ініціює запальну реакцію в порожнині кісти, денатурацію білка, загибель клітин, що призводить до зменшення її розміру та до зменшення симптомів пацієнта [1, 3, 9].

Лапароскопічна резекція кісти нирки – це мінімально-інвазивна хірургічна процедура, яка включає видалення кістозного утворення з нирки за допомогою лапароскопа (тонка трубка з камерою і світлодіодом на кінці, що дає змогу бачити внутрішні структури черевної порожнини через невеликі розрізи у шкірі). Процедуру проводять під загальною анестезією. Під час операції стінку кісти висікали у межах здорової тканини нирки. Також проводили коагуляцію „ложа” кісти нирки, і дефект заміщувався паранефральною жировою клітковиною [4–6].

Із 46 прооперованих пацієнтів у 22 пацієнтів (47,8 %) кісту нирки було виявлено випадково, під час ультразвукового дослідження органів черевної порожнини та заочеревинного простору. Однак у процесі більш ретельного збору скарг і їхнього аналізу встановлено, що у пацієнтів були епізодичні болі в поперековій ділянці помірної інтенсивності. Пацієнти також звертали увагу на почуття дискомфорту в поперековій ділянці, проте пов'язували їх з остеохондрозом, міозитом чи іншими неврологічними захворюваннями. Основною скаргою решти 24 (52,2 %) пацієнтів, незалежно від віку та статі, була скарга на дискомфорт у ділянці нирок, що посилювався під час фізичного навантаження, різкої зміни положення тіла. Наявність артеріальної гіпертензії не викликала запитань з боку пацієнтів, тому вони були впевнені, що у них гіпертонічна хвороба, притаманна їхньому віку (42 пацієнти у віці >50 років). Загалом групи пацієнтів не мали статистично значущих відмінностей за віком, статтю, рівнем креатиніну в крові та сечовини в сечі (табл. 1). Лише у 6 пацієнтів показники рівня креатиніну у крові були підвищені (4 чоловіки та 2 жінки).

Гістологічне дослідження проводили на зразках стінки кіст нирок, забір яких здійснювали під час операції. Гістологічний аналіз проводили під мікроскопом, оцінювали будову стінки кісти, тип епітеліальних клітин, наявність кальцинатів, склеротичних змін та інші показники. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином [1].

Статистичний аналіз отриманих даних здійснювали за допомогою програмних пакетів SPSS v. 25.0 (Armonk, NY: IBM Corp., США) та EXCEL. Для кількісних показників (розмір кісти, вік пацієнтів) визначали середнє арифметичне значення. Якісні показники представлені у вигляді абсолютної або відносної частоти виявлення. Аналіз відповідності розподілу кількісних ознак до закону нормального розподілу проводили за допомогою

W-тесту Шапіро–Вілکا. У зв'язку з тим, що розподіл кількісних ознак відрізнявся від нормального, їх порівнювали за допомогою U-критерію Манна–Вітні. Порівняння абсолютної та відносної частот виявлення якісних показників проводили за таблицями спряження (кросстабуляції) з оцінюванням критерію χ^2 Пірсона. Рівнем статистичної значущості вважали $P < 0,05$.

Таблиця 1

| Клінічні характеристики пацієнтів у групах, яких піддавали хірургічному лікуванню | | | |
|---|--------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| Показник | Лапароскопічна резекція (n=21) | Аспіраційна склеротерапія (n=25) | Достовірність змін |
| Вік, років | 56 ± 2,6 | 63 ± 2,2 | P>0,05 |
| Чоловіки, n (%) | 13 (62 %) | 11 (44 %) | P>0,05 |
| Жінки, n (%) | 8 (38 %) | 14 (56 %) | P>0,05 |
| Креатинін у крові (норма), n (%) | 20 (95 %) | 20 (80 %) | P>0,05 |
| Сечовина (норма), n (%) | 20 (95 %) | 22 (88 %) | P>0,05 |

Результати і їхнє обговорення

Хірургічне лікування кісти нирок зазвичай виконують у випадках, коли кіста великих розмірів (більше 7–10 см у діаметрі), рецидивна кіста після лікування методом аспірації, наявний кальциноз або нерівномірна товщина стінки кісти [4, 10].

Із 46 досліджених пацієнтів лапароскопічній резекції піддавали 21 пацієнта (45,7 %), а пункційному склерозуванню – 25 пацієнтів (54,3 %).

Серед прооперованих пацієнтів методом лапароскопічної резекції було 13 чоловіків (62 %) та 8 жінок (38 %). У 8 пацієнтів виявлено кісту правої нирки (38 %), а у 13 пацієнтів виявлено кісту лівої нирки (62 %). Вік пацієнтів становив від 28 до 75 років, середній – 56±2,6 років (табл. 1).

Серед пацієнтів, яких піддавали аспіраційній склеротерапії, було 11 чоловіків (44 %) і 14 жінок (56 %). У 14 пацієнтів виявлено кісту правої нирки (56 %), у 11 пацієнтів – кісту лівої нирки (44 %). Вік пацієнтів перебував у діапазоні від 26 до 76 років, середній – 63±2,2 років. Статистично достовірної різниці за віком, статтю, рівнем креатиніну та сечовини в крові у пацієнтів (до лікування), яких піддавали аспіраційній склеротерапії та лапароскопічній кістектомії, не встановлено (табл. 1). Нами також проведено аналіз залежності віку, статі від методу хірургічного лікування, яку оцінювали за допомогою критерію χ^2 Пірсона. Не встановлено статистично значущих залежностей між цими показниками.

Таблиця 2

| Характеристика кіст нирок у пацієнтів, яких піддавали хірургічному лікуванню | | | |
|--|--------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| Показник | Лапароскопічна резекція (n=21) | Аспіраційна склеротерапія (n=25) | Достовірність змін |
| Розмір кіст нирок, мм | 72 ± 5,4 | 70 ± 3,6 | P>0,05 |
| Локалізація кісти нирок | | | |
| Верхній сегмент, n (%) | 8 (38 %) | 7 (28 %) | P>0,05 |
| Середній сегмент, n (%) | 6 (29 %) | 6 (24 %) | P>0,05 |
| Нижній сегмент, n (%) | 7 (33 %) | 12 (48 %) | P>0,05 |
| Права нирка, n (%) | 8 (38 %) | 14 (56 %) | P>0,05 |
| Ліва нирка, n (%) | 13 (62 %) | 11 (44 %) | P>0,05 |
| Рецидиви (% пацієнтів) | 0 % | 74 ± 9 % | P<0,001 |

Розмір кіст нирок у пацієнтів, прооперованих методом лапароскопічної резекції, перебував у межах від 42 до 100 мм, середній розмір – 70±3,6 мм. У пацієнтів, яких піддавали

аспіраційній склеротерапії, розмір кіст нирок коливався в межах від 25 до 120 мм, середній розмір – $72 \pm 5,4$ мм. Значущих відмінностей між середніми арифметичними значеннями розмірів і дисперсіями кіст нирок у пацієнтів порівнюваних груп не зареєстровано ($P > 0,05$) (табл. 2).

Кіста може бути локалізована у верхньому, середньому або нижньому сегментах нирки. У пацієнтів, яких піддавали лапароскопічній резекції, діагностували кісту нижнього, середнього та верхнього сегменту (33 %; 29 %, 38 %, відповідно). У 48 % пацієнтів, які прооперовані методом аспіраційної склеротерапії, кіста була локалізована у нижньому сегменті, а у 24 %, 28 % пацієнтів діагностували кісту середнього та верхнього сегменту, відповідно. Статистично значущої різниці між відсотками локалізації кісти нирок у пацієнтів також не встановлено (табл. 2). Аналіз залежності розміру та локалізації кісти від методу хірургічного лікування не встановив статистично достовірних взаємозв'язків між цими показниками ($P > 0,05$).

У всіх пацієнтів із простими кістами, яким проводили аспірацію вмісту, виявлено прозору, солом'яно-жовту рідину. Гістологічне дослідження проводили для зразків стінки кіст пацієнтів, яким проведено лапароскопічну кістектомію. Переважно проста кіста нирки вистелена одношаровим плоским або кубічним епітелієм (епітелій розвивається із ниркових каналців, що втратили зв'язок зі сечовими шляхами). Саме таке епітеліальне вистелення кісти встановлено у 15 гістологічних зразках стінки кісти нирок. Склеротично-фіброзні зміни із кальцинатами вказують на запальні зміни у стінці кісти (наслідки перенесених запальних змін нирки, зокрема, пієлонефриту) та виявлені у 5 гістологічних зразках. У однієї пацієнтки, за даними гістологічного аналізу, епітеліальне вистелення внутрішньої поверхні відсутнє. Такий вид кісти (псевдокіста) виникає, зазвичай, внаслідок травми нирки.

Аспіраційна склеротерапія простих кіст нирок є ефективним методом лікування пацієнтів із простими кістами нирок, але має певні недоліки. Зокрема, після аспіраційної склеротерапії є ризик повторного заповнення кісти рідиною та відновлення її розміру. Це може призвести до необхідності повторних процедур. У 17 із 23 пацієнтів (2 пацієнти не обстежені) діагностували рецидиви простих кіст нирок, а у 6 пацієнтів рецидиву не встановлено. Отже, частота рецидиву становить 74 ± 9 % від загальної кількості пацієнтів і є досить високим показником повторного виникнення досліджуваної патології (табл. 2). Аспіраційна склеротерапія може спричиняти рецидиви з кількох причин, як стверджує низка авторів [11]. По-перше, склерозуючий агент може не повністю зруйнувати стінки кісти, особливо якщо кіста має складну або багатокамерну структуру. Це дає кісті можливість регенерувати та знову заповнюватися рідиною. По-друге, використання недостатньої дози склерозуючого агента або неефективного склерозанта може призвести до неповного склерозування кісти. Отже, використання ефективного склерозанта і підбір оптимальної дози склерозуючого агента – ключові умови для успішного проведення аспіраційної склеротерапії [11].

У пацієнтів після лапароскопічної кістектомії рецидивів у клініці не встановлено ($P < 0,001$), що не суперечить даним інших авторів [11]. Авторами встановлено, що лапароскопічна кістектомія пов'язана з меншою частотою рецидивів, порівняно з аспіраційною склеротерапією (OR: 6,08; $p < 0,01$) [11]. Отже, лапароскопічне видалення кісти є більш передбачуваним і має кращі результати, ніж аспіраційна склеротерапія.

Нами встановлено, що групи пацієнтів, яких піддавали лапароскопічній резекції та пункційному склерозуванню, не мали статистично значущих відмінностей за віком,

статтю, розміром кіст нирок та іншими показниками. Однак лапароскопічна резекція має менший ризик рецидиву, порівняно з пункційним склерозуванням.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Варвашеня М. В.* Вибір тактики малоінвазивних ендouroлогічних втручань у хворих простими кістами нирок: дис. ... канд. біол. наук: 14.01.06. Запоріжжя, 2016. 140 с.
2. *Akinci D., Akhan O., Ozme M.* et al. Long-term results of single-session percutaneous drainage and ethanol sclerotherapy in simple renal cysts // *Eur. J. Radiol.* 2005. Vol. 54 (2). P. 298–302. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2004.07.008>
3. *Aribas B. K., Dingil G., Doğan K.* et al. Single-session percutaneous sclerotherapy in symptomatic simple renal cysts: long-term results // *Minerva Urol. Nefrol.* 2009. Vol. 61. P. 129–136.
4. *Arisan S., Dalkilinc A., Caskurlu T.* et al. Laparoscopic Unroofing and Aspiration-Sclerotherapy in the Management of Symptomatic Simple Renal Cysts // *Scientific World Journal.* 2006. Vol. 6. P. 2296–2301. ISSN 1537-744X; DOI 10.1100/tsw.2006.358
5. *Camargo A., Cooperberg M., Ershoff B.* et al. Laparoscopic management of peripelvic renal cysts: University of California, San Francisco, experience and review of literature // *Urology.* 2005. Vol. 65 (5). P. 882–887. doi: 10.1016/j.urology.2004.11.012
6. *Castillo O. A., DeGiovanni D., Sánchez-Salas R.* et al. Laparoscopic treatment of symptomatic simple renal cysts // *Arch. Esp. Urol.* 2008. Vol. 61 (3). P. 397–400. doi: 10.4321/s0004-06142008000300006
7. *Chang C., Kuo J., Chan W.* et al. Prevalence and clinical characteristics of simple renal cyst // *J. Chin. Med. Assoc.* 2007. Vol. 70 (11). P. 486–491. doi: 10.1016/S1726-4901(08)70046-7
8. *Falci-Junior R., Lucon A. M., Cerri L. M.* et al. Treatment of simple renal cysts with single-session percutaneous ethanol sclerotherapy without drainage of the sclerosing agent // *J. Endourol.* 2005. Vol. 9 (7). P. 834–838. doi: 10.1089/end.2005.19.834
9. *Paananen I., Hellström P., Leinonen S.* et al. Treatment of renal cysts with single-session percutaneous drainage and ethanol sclerotherapy: long-term outcome // *Urology.* 2001. Vol. 57 (1). P. 30–33. doi: 10.1016/j.ejrad.2004.07.008
10. *Simms R. J., Ong A. C. M.* How simple are ‘simple renal cysts’? // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2014. N 29. P. iv106–iv112. doi: 10.1093/ndt/gfu106
11. *Zhang X., Cao D., Han P.* et al. Aspiration-sclerotherapy versus laparoscopic de-roofing in the treatment of renal cysts: which is better? // *BMC Nephrol.* 2020. Vol. 21. P. 1–7. doi: 10.1186/s12882-020-01832-7

Стаття надійшла до редакції 10.06.24

доопрацьована 08.07.24

прийнята до друку 16.07.24

**CLINICAL CHARACTERISTICS AND FEATURES OF SURGICAL TREATMENT
OF PATIENTS WITH SIMPLE RENAL CYSTS****О. Pysko^{1,2}, М. Dyka²***¹Department of Urology, St. Panteleimon Hospital
9, I. Mykolaichuk St., Lviv 79059, Ukraine**²Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine**e-mail: mariya.dyka@lnu.edu.ua*

Simple renal cysts are quite common in adults with an incidence that increases with age. Renal cysts are composed of enclosed liquid or semisolid fluid and are commonly identified through abdominal imaging.

The purpose of this study was to compare the clinical and laboratory characteristics of patients with simple renal cysts who underwent aspiration sclerotherapy or laparoscopic resection and establish the association between these parameters. The research was conducted on the basis of the urology department of the St. Panteleimon Hospital between 2021 and 2023, 46 patients who underwent surgical removal of a renal cysts were analyzed. The main methods of treating kidney cysts were aspiration sclerotherapy and laparoscopic unroofing. Patients were divided into groups depending on the treatment method (aspiration sclerotherapy or laparoscopic unroofing). In order to establish the differences, a comparative analysis was carried out by age, sex, results of clinical parameters, cyst localization and recurrences. The association between clinical parameters and treatment methods was assessed using Pearson's χ^2 test. Statistical analysis of the obtained data was carried out with the help of software packages SPSS v. 25.0 and EXCEL.

There were 13 men (62 %) and 8 women (38 %) among patients who underwent laparoscopic unroofing. Right renal cysts were found in 8 patients (38 %), and left renal cysts were found in 13 patients (62 %). The mean age of the patients was 56 ± 2.6 years. Among the patients undergoing aspiration sclerotherapy, there were 11 men (44 %) and 14 women (56 %). The right kidney cyst was found in 14 patients (56 %), and the left kidney cyst was found in 11 patients (44 %). The mean age of the patients was 63 ± 2.2 years. The mean size of kidney cysts in patients who underwent laparoscopic unroofing was 70 ± 3.6 mm. In patients undergoing aspiration sclerotherapy, the size of kidney cysts was 72 ± 5.4 mm. There was no statistically significant difference in age, sex, and size of kidney cysts in patients who underwent aspiration sclerotherapy and laparoscopic unroofing. It was established that there was no statistically significant difference in age, sex, or size of renal cysts in patients undergoing surgical treatment.

In patients after laparoscopic unroofing, relapses have not been established in the clinic. However, the frequency of recurrence in patients after aspiration sclerotherapy is 74 ± 9 % of the total number of patients, which is a fairly high rate of recurrence of renal cysts. We found that laparoscopic unroofing was associated with a lower recurrence rate compared with aspiration sclerotherapy.

It should be noted that laparoscopic unroofing is a more effective method of treatment compared to aspiration sclerotherapy. We emphasize that laparoscopy is a modern approach to renal cyst surgery, which not only reduces trauma, shortens the recovery time of patients, but also ensures high accuracy and efficiency of treatment.

Keywords: aspiration-sclerotherapy, laparoscopic de-roofing, renal cysts

EFFECTS OF ACUTE ALCOHOL INTOXICATION ON THE RESPIRATION AND DEHYDROGENASE ACTIVITY OF RAT PANCREATIC ACINI

O. Bilonoha*, B.O. Manko, H. Mazur, V. Manko

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: *olha.bilonoha@lnu.edu.ua*

The exocrine function of pancreatic acini cells is a highly energy-intensive process. A cell always needs to maintain a stable level of ATP balancing between states of activation and rest. Low-energy is one of the possible mechanisms contributing to the development of pancreatic diseases. The most commonly encountered disease of the pancreas is acute pancreatitis. It is known that excessive alcohol consumption causes the development of pancreatitis. The pathogenesis of this disease is linked to the cellular loss of energy, but the mechanism of alcohol's effect on the mitochondria in pancreatic acini is unclear. This study's main aim is to assess the impact of acute alcohol administration on the mitochondrial function of rat pancreatic acini.

Wistar rats were administered ethanol (6 g/kg body weight) by oral gavage for 3 h before the experiment. A suspension of isolated pancreatic acini was obtained following collagenase digestion. Respiration of isolated pancreatic acini was studied with a Clark electrode. The maximal respiration rate was studied at different concentrations of protonophore FCCP (0.5–2 μM) in solutions containing glucose combined with oxidative substrates (pyruvate and glutamine, monomethyl-succinate or dimethyl- α -ketoglutarate). Dehydrogenase activity was measured by colorimetric method.

Ethanol administration caused a significant increase in the activity of pyruvate dehydrogenase. It was confirmed that FCCP induced an increase in the respiration rate of pancreatic acinar cells in each experimental group. The addition of 1.5 μM FCCP reduced the respiration rate of pancreatic acini during the oxidation of glucose and monomethyl succinate or dimethyl- α -ketoglutarate, but not during the oxidation of glucose and glutamine substrates. The administration of ethanol had no impact on the basal or FCCP-uncoupled respiration of isolated pancreatic acini. The observed data are consistent with the findings of other researchers. However, alcohol exposure is not sufficient to cause mitochondrial damage in pancreatic acinar cells.

In conclusion, acute ethanol administration does not cause mitochondrial dysfunction in the pancreas of rats but causes an increase in pyruvate dehydrogenase activity.

Keywords: pancreatic acini, alcohol, dehydrogenase, glucose, pyruvate

Introduction

Ethanol consumption is a major factor causing acute pancreatitis. The pathogenesis of pancreatitis is considered to be associated with mitochondrial damage [1]. At the moment it is not clearly understood if mitochondrial damage is the cause or effect of pancreatic acinar cell damage in the early pancreatitis events. It has been established that ethanol *in vitro* leads to changes in the functioning of mitochondria [20], Ca^{2+} signalling [6, 19] and the generation of ROS [8] in pancreatic acini. Nevertheless, these outcomes were not verified *in vivo*, and it is most likely that ethanol requires additional factors to cause pancreatitis [12, 15, 17]. In our previous study, we found that while a combination of ethanol and cholecystokinin administration to rats caused a significant decrease of both basal and uncoupled respiration rate of isolated pancreatic acini,

ethanol alone did not affect the uncoupled respiration and its effect on basal oxygen consumption was less convincing [16] due to a complex experimental design.

The aim of this study was thus to re-assess the effect of acute ethanol administration on mitochondrial respiration of rat pancreatic acini, supported by the dehydrogenase activity investigation.

Materials and Methods

All manipulations with animals have been performed by the EU Directive 2010/63/EU for animal experiments and laws of Ukraine. Experimental protocols were approved by the Animal Care and Use Committee of Ivan Franko National University of Lviv.

Experiments were carried out on Wistar white male rats (250–300 g). All animals were kept under the standard conditions of a vivarium at room temperature (18–20 °C) on a standard diet. Three hours before decapitation the animals were administered ~ 4 ml of water (control) or 40 % alcohol solution (6 g per kg of animal weight).

A suspension of isolated pancreatic acini was obtained following collagenase digestion (Sigma, type IV, 0.2 mg/ml) according to the previously reported method [14].

Acini were obtained and stored in extracellular solution containing (mM): 140.0 NaCl, 4.7 KCl, 1.3 CaCl₂, 1.0 MgCl₂, 10.0 HEPES, 10.0 glucose, 2.0 glutamine, 2.0 sodium pyruvate, 0.01 % (wt/vol) soybean trypsin inhibitor, 0.25 % (wt/vol) BSA and MEM amino acid supplement; pH 7.4 (NaOH). Cell viability was evaluated with the trypan blue test (0.1 %). Cell counting was performed using a haemocytometer.

Oxygen consumption was measured with a Clark oxygen electrode at 37 °C using SI929 6-channel Oxygen Meter (Strathkelvin). Before respiration measurement, suspension of pancreatic acini was pre-incubated (15 min, 37 °C) in respective solutions with glucose (10 mM) with oxidative substrates (2 mM pyruvate and 2 mM glutamine or 2 mM monomethyl-succinate or dimethyl- α -ketoglutarate). Maximal uncoupled respiration was studied with protonophore FCCP added step-wise to reach the final concentrations 0.5, 1, 1.5, and 2 μ M as previously described [15].

The activity of selected dehydrogenases was studied by a colorimetric method with nitroblue tetrazolium [11, 22]. Cells or lysate were incubated with 200 μ l of either the complete assay mixture or the assay mixture without substrate for 40 min at 37 °C [11, 22]. A separate aliquot of acini in suspension was homogenized in a lysis solution, containing 0.1 % Triton X-100 in addition to the basic solution. Enzyme activity was studied with colorimetric assay using a DENOVIX spectrophotometer DS-11 FX+ in the 1 cm cuvette at a wavelength of 540 nm at 37 °C. Activity is calculated by subtraction of the absorbance of the containing the blank control (without lysate).

All reagents used in experiments were of high purity and usually manufactured by Sigma Aldrich. Each experiment was repeated on at least four separate preparations of isolated acini from different animals ($n \geq 6$). Statistical analysis was performed using Microsoft Excel software. Data are presented as mean \pm standard error of mean. Statistical significance (*P*) of the difference between the means was assessed in each case with a paired *t*-test.

Results and Discussion

In the first experiment, the suspension of isolated pancreatic acini was incubated for 15 min at 37 °C in the basic solution containing glucose and some of the substrates: monomethyl succinate, dimethyl- α -ketoglutarate, pyruvate and glutamine.

Upon glucose and monomethyl succinate oxidation, adding 0.5 and 1 μ M FCCP to the respiration chamber caused an increase in the respiration rate to 1.8 ± 0.24 and 2.4 ± 0.27 r.u., re-

spectively. At higher concentrations, FCCP caused a gradual decrease in respiration rate during the oxidation of glucose and monomethyl succinate or dimethyl- α -ketoglutarate (Fig.1 A and B $P < 0.001$) which is consistent with previous data [15]. When glucose, pyruvate and glutamine were used as substrates, all concentrations of FCCP increased the respiration rate of isolated pancreatic acini (Fig.1 C, $P < 0.05 - 0.001$). There was no statistically significant difference between the alcohol and control groups. Alcohol caused no effect on the basal and maximal FCCP-uncoupled respiration of isolated pancreatic acini when tested substrates were used (Fig. 2). These results suggest that acute alcohol administration does not damage mitochondria in pancreatic acinar cells, which might lead to acute pancreatitis [18]. Only a combination of ethanol with an additional factors impairs pancreatic acinar cells in animal models [9, 12, 16].

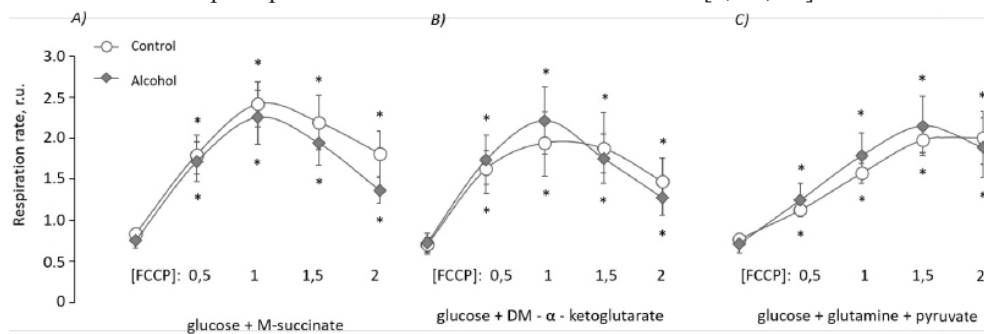


Fig. 1. The effects of *in vivo* ethanol administration (3 h) to rats on respiration of pancreatic acini: [glucose] = 10 mM, [pyruvate] = 2 mM, [glutamine] = 2 mM, [monomethyl-succinate] = 2 mM, [dymethyl- α -ketoglutarate] = 2 mM, [FCCP] = 0.5–2 μ M; * – statistically significant difference compared to basal rate with $P < 0.05$; Mean \pm SEM, n=6–8

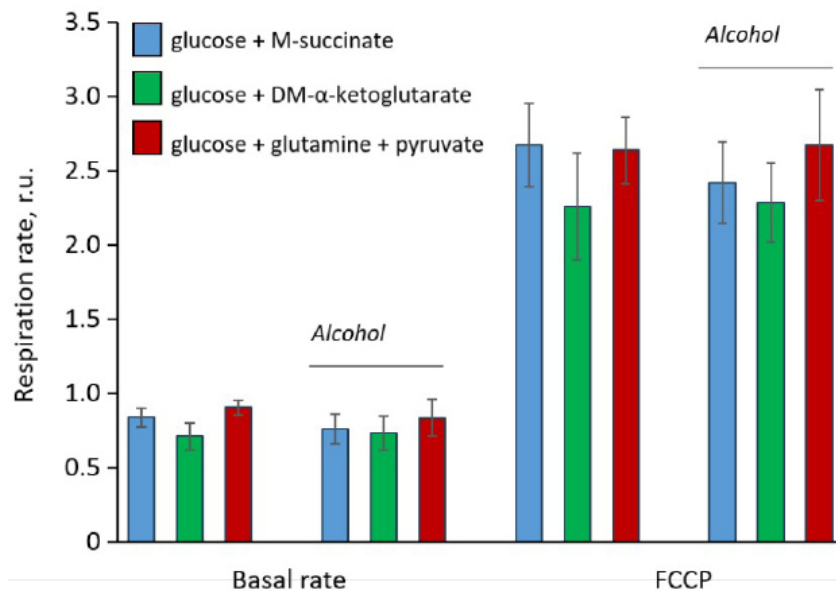


Fig. 2. The effects of *in vivo* ethanol administration (3 h) to rats on basal and maximal FCCP-uncoupled respiration of isolation pancreatic acini: [glucose] = 10 mM, [pyruvate] = 2 mM, [glutamine] = 2 mM, [monomethyl-succinate] = 2 mM, [dymethyl- α -ketoglutarate] = 2 mM, [FCCP] = 0.5–2 μ M; Mean \pm SEM, n=6–8

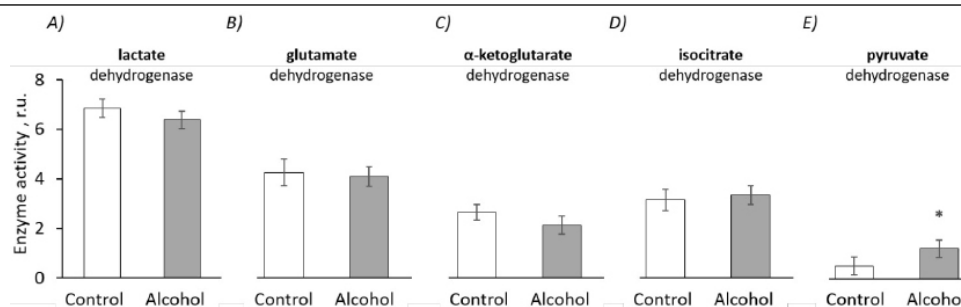


Fig. 3. The effects of *in vivo* ethanol administration (3 h) to rats on enzyme activity of pancreatic acini: A – lactate dehydrogenases, B – glutamate dehydrogenases, C – α -ketoglutarate dehydrogenases, D – isocitrate dehydrogenases, E – pyruvate dehydrogenases; * – statistically significant difference compared to control with $P < 0.05$; Mean \pm SEM, $n = 7-8$

It is known that ATP levels decrease in pancreatic acinar cells following various pancreatic injuries [5], but the mechanism has not been fully studied. In the next experiment, we investigated the activity of dehydrogenases, which play an essential role in producing ATP in cells.

It was found that alcohol administration caused a significant 2.3-fold increase in the pyruvate dehydrogenase activity in isolated pancreatic acini (1.22 ± 0.27 vs 0.52 ± 0.07 r.u., Fig. 3, E, $P = 0.02$). The activities of other tested dehydrogenases were unchanged.

It is known that pyruvate oxidation under the influence of secretagogues occurs through the activation of pyruvate dehydrogenase by Ca^{2+} . *In vitro* studies have shown that only high concentrations of alcohol lead to short-term alterations in Ca^{2+} levels in pancreatic acini [4]. Other studies have shown that ethanol concentrations ranging from 1 to 50 mM trigger the release of Ca^{2+} from stores in pancreatic acini [7]. In light of these, it seems that alcohol alone in a studied concentration should not be enough to activate pyruvate dehydrogenase. However, non-oxidative ethanol metabolism, which involves the formation of ethyl esters of fatty acids (FAEE), is dominant in pancreatic acini *in vivo* [9]. In humans, 2 mM FAEE was detected at a concentration of 30 mM alcohol in the blood [2]. Data from *in vitro* experiments show that 10–100 μ M FAEE induces a rise in intracellular $[Ca^{2+}]$ [4, 13]. Our previous experiments have shown that pyruvate supplementation improves the survival of pancreatic acini when they are exposed to ethanol and CCK [16]. We can assume that alcohol consumption leads to the formation of FAEE, which triggers Ca^{2+} release and the activation of the pyruvate dehydrogenase in rats. Consequently, acute alcohol administration does not impact the maximal respiration rate of pancreatic acinar cells upon the oxidation of each experimental substrate *in vivo*. Only the activity of pyruvate dehydrogenase increases in pancreatic acini under the influence of alcohol, unlike other analyzed dehydrogenases.

REFERENCES

1. Biczko G., Vegh E., Shalbueva N. Mitochondrial dysfunction, through impaired autophagy, leads to endoplasmic reticulum stress, deregulated lipid metabolism, and pancreatitis in animal models // *Gastroenterology*. 2018. Vol. 154. P. 689–703.
2. Borucki K., Dierkes J., Wartberg J. et al. In heavy drinkers, fatty acid ethyl esters remain elevated for up to 99 hours // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2007. Vol. 31. P. 423–427.
3. Published online 2004 Jul 9. doi: 10.1073/pnas.0403431101
4. Criddle D., Raraty M., Neoptolemos J. et al. Ethanol toxicity in pancreatic acinar cells: Mediation by nonoxidative fatty acid metabolites // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. Vol. 101. N 29. P. 10738–10743.

5. *Criddle D., Murphy J., Fistetto G.* et al. Fatty acid ethyl esters cause pancreatic calcium toxicity via inositol trisphosphate receptors and loss of ATP synthesis // *Gastroenterol.* 2006. Vol. 130. P. 781–793.
6. *Criddle D.* The role of fat and alcohol in acute pancreatitis: A dangerous liaison // *Pancreatology.* 2015. Vol. 15. N 4. P. 6–12.
7. *Fernández-Sánchez M., Castillo-Vaquero A., Ginés M. Salido G.M., González A.* Ethanol exerts dual effects on calcium homeostasis in CCK-8-stimulated mouse pancreatic acinar cells // *BMC Cell Biol.* 2009. Vol. 10. P. 77.
8. *González A., Núñez A., Granados M.* et al. Ethanol impairs CCK-8-evoked amylase secretion through Ca²⁺-mediated ROS generation in mouse pancreatic acinar cells // *Alcohol.* 2006. Vol. 38. P. 51–57.
9. *Huang W, Booth D., Cane M.* et al. Fatty acid ethyl ester synthase inhibition ameliorates ethanol-induced Ca²⁺-dependent mitochondrial dysfunction and acute pancreatitis // *Gut.* 2014. Vol. 63. P. 1313–1324.
10. *Hurley J.* Catalytic mechanism of NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase: implications from the structures of magnesium-isocitrate and NADP⁺ complexes // *Biochemistry.* 1991. Vol. 30. N 35. P. 8671–8678.
11. *Kumar P., Nagarajan A., Uchil P.* Analysis of Cell Viability by the Lactate Dehydrogenase Assay // *Cold Spring Harbor Protocols.* 2018. Vol. 6. P. 465–468.
12. *Lam P., Cosen Binker L., Lugea A.* et al. Alcohol Redirects CCK-Mediated Apical Exocytosis to the Acinar Basolateral Membrane in Alcoholic Pancreatitis // *Traffic.* 2007. Vol. 8. N 5. P. 605–617.
13. *Laposata E., Lange L.* Presence of nonoxidative ethanol metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse // *Science.* 1986. Vol. 231. P. 497–499.
14. *Manko B.O., Manko V.V.* Mechanisms of respiration intensification of rat pancreatic acini upon carbachol-induced Ca²⁺ release // *Acta Physiol (Oxf).* 2013. Vol. 208. N 4. P. 387–399.
15. *Manko B.O., Bilonoha O.O., Manko V.V.* Adaptive respiratory response of rat pancreatic acinar cells to mitochondrial membrane depolarization // *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91. N 3. P. 34–45.
16. *Manko B. O., Bilonoha O. O., Voloshyn D. M.* et al. Pyruvate and Glutamine Define the Effects of Cholecystokinin and Ethanol on Mitochondrial Oxidation, Necrosis, and Morphology of Rat Pancreatic Acini // *Pancreas.* 2021. Vol. 50. N 7. P. 972–981.
17. *Pandol S., Periskic S., Gukovsky I.* et al. Ethanol diet increases the sensitivity of rats to pancreatitis induced by cholecystokinin octapeptide // *Gastroenterol.* 1999. Vol. 117. P. 706–716.
18. *Ponnappa B. C, Hoek J. B, Waring A. J., Rubin E.* Effect of ethanol on amylase secretion and cellular calcium homeostasis in pancreatic acini from normal and ethanol-fed rats // *Biochem. Pharmacol.* 1987. Vol. 36. N 1. P. 69–79.
19. *Samad A., James A., Wong J.* et al. Insulin protects pancreatic acinar cells from palmitoleic acid-induced cellular injury // *J. Biol. Chem.* 2014. Vol. 289. P. 23582–23595.
20. *Shalbueva N., Mareninova O., Gerloff A.* et al. Effects of oxidative alcohol metabolism on the mitochondrial permeability transition pore and necrosis in a mouse model of alcoholic pancreatitis // *Gastroenterol.* 2013. Vol. 44. N 2. P. 437–446.
21. *Stanley C., Perham R.* Purification of 2-oxo acid dehydrogenase multienzyme complexes from ox heart by a new method // *Biochem. J.* 1980. Vol. 191. N 1. P. 147–154.
22. *Sun R., Koong A., Giaccia A., Denko N.* Measuring the Impact of Microenvironmental Conditions on Mitochondrial Dehydrogenase Activity in Cultured Cells // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016. Vol. 899. P. 113–120.

ВПЛИВ ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ДИХАННЯ ТА ДЕГІДРОГЕНАЗНУ АКТИВНІСТЬ ПАНКРЕАТИЧНИХ АЦИНУСІВ ЩУРІВ

О. Білонога, Б. О. Манько, Г. Мазур, В. Манько

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: olha.bilonoha@lnu.edu.ua

Екзокринна функція клітин ацинусів підшлункової залози є енергозалежним процесом. Клітині постійно необхідно підтримувати стабільний рівень АТФ, балансує між станами активації та спокою. Низький рівень енергетичного забезпечення є одним із потенційних механізмів, які сприяють розвиткові захворювань підшлункової залози. Найпоширенішим захворюванням підшлункової залози є гострий панкреатит. Відомо, що надмірне споживання алкоголю є чинником розвитку панкреатиту. Патогенез цього захворювання пов'язують із порушенням клітинної енергетики, проте механізм дії етанолу на мітохондрії ацинарних клітин підшлункової залози залишається недостатньо вивченим. Це дослідження мало на меті оцінити вплив одноразового введення алкоголю на функціонування мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози щурів.

Щурам лінії Wistar перорально вводили алкоголь (6 г/кг маси тварини) одноразово за 3 год до проведення експерименту. Панкреатичні ацинуси ізолювали за допомогою колагенази. Дихання ізолюваних панкреатичних ацинусів досліджували з використанням електроду Кларка. Максимальну швидкість дихання оцінювали, використовуючи різні концентрації протонофору FCCP (0,5–2 мкМ) у середовищі, що містило глюкозу в комбінації з іншими окислювальними субстратами (піруватом і глутаміном, монометилсукцинатом або диметил- α -кетоглутаратом). Активність дегідрогенази вимірювали колориметричним методом.

Введення алкоголю (3 год) щурам спричинило статистично достовірне зростання активності піруватдегідрогенази. Було підтверджено, що FCCP призвів до збільшення швидкості дихання ацинарних клітин підшлункової залози в кожній експериментальній групі. Додавання 1,5 мкМ FCCP знизило швидкість дихання панкреатичних ацинусів під час окиснення глюкози та монометилсукцинату або диметил- α -кетоглутарату, але не під час окиснення субстратів глюкози, пірувату і глутаміну. Введення етанолу не вплинуло на базальну та максимальну швидкість дихання ізолюваних ацинусів підшлункової залози. Отримані дані узгоджуються з результатами інших досліджень. Очевидно, що впливу тільки лиш алкоголю недостатньо, щоби спричинити мітохондріальне пошкодження ацинарних клітин підшлункової залози.

Отже, одноразове введення алкоголю щурам не спричинило мітохондріальної дисфункції в ацинарних клітинах підшлункової залози щурів, проте достовірно підвищувало активність піруватдегідрогенази.

Ключові слова: панкреатичні ацинуси, алкоголь, дегідрогенази, глюкоза, піруват

ВПЛИВ ТРИВОЖНОСТІ Й НАВЧАЛЬНОГО СТРЕСУ НА ПОКАЗНИКИ ФІЗІОЛОГІЧНОГО ТРЕМОРУ КИСТІ ОСІБ ЖІНОЧОЇ СТАТІ

І. Гнатчук, С. Бичкова, Т. Король*, Л. Бачинська, Л. Сербин

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: tetiana.korol@lnu.edu.ua*

Стрес є причиною появи посиленого фізіологічного тремору [4]. Навчальна діяльність сама по собі є напруженою та стресогенною [6], особливо у період написання модульних контрольних робіт чи складання іспитів. Тривожність може посилювати тремор через підвищення збудливості нервової системи, що проявляється підвищеною реактивністю моторних нейронів. Це збільшує схильність до неконтрольованих м'язових скорочень і, відповідно, тремору. Метою роботи було дослідити вплив навчального стресу (модульної контрольної роботи) на показники фізіологічного тремору верхніх кінцівок студенток загалом і залежно від рівня їхньої тривожності зокрема, а також виявити взаємозв'язок між показниками тремору та частотою серцевих скорочень і артеріальним тиском обстежуваних.

Ми проаналізували амплітудно-частотні показники тремору кисті правої та лівої руки, а також рівень тривожності 14 студенток віком 19–20 років. Обстежувані надали письмову згоду щодо участі у дослідженні. Усі студентки не мали в анамнезі неврологічних і рухових розладів, 93 % (13/14) із них були праворукими.

Частоту й амплітуду тремору реєстрували у двох позиціях – у вільному положенні (кисть звисала з опорної поверхні долонею донизу) та у постуральному положенні (кисть була розміщена паралельно опорній поверхні долонею донизу) за допомогою акселерометра MPU6050 (InvenSense, Китай). Для зчитування результатів з акселерометра використовували авторську програму. Артеріальний тиск визначали за методом Короткова. Вимірювання артеріального тиску й частоти серцевих скорочень здійснювали за допомогою осцилометричного тонометра Microlife BP N1 Basic (Switzerland). Для визначення рівня тривожності застосовували опитувальник DASS-21, на основі якого поділили досліджуваних осіб на три групи відповідно до рівня тривожності: помірний (1–5 балів), середній (6–7 балів) і сильний (8–20 балів). До першої групи увійшло 5 студенток (одна з них ліворука, решта праворукі), до другої групи увійшли 4 студентки (усі праворукі) та до третьої групи увійшли 5 студенток (усі праворукі).

Вірогідність різниці середніх арифметичних двох вибірок оцінювали за критерієм Стьюдента за умов, що дані були розподілені нормально. У разі відхилення розподілу від нормального для порівняння вибірок використовували тест Манна–Вітні.

Для усієї групи студенток (n=14) показники фізіологічного тремору правої та лівої кінцівки як у вільному, так і у постуральному положенні кисті не відрізнялися перед модульним контролем та у звичайний навчальний день.

Після розподілу студенток за рівнем тривожності з'ясували, що у групі з помірним рівнем тривожності було зниження частоти тремору правої руки у вільному положенні кисті на 10,2 % ($p \leq 0,05$) перед модульним контролем порівняно із навчальним днем без заміру знань. У дні без модульного контролю знань у осіб зі сильним рівнем тривожності встановили прямий кореляційний зв'язок між рівнем тривожності й частотою фізіологічного тремору лівої руки ($r=0,99$; $p \leq 0,05$), а також

між рівнем тривожності й амплітудою тремору правої руки ($r=0,95$; $p\leq 0,05$) у вільному положенні. Частота тремору лівої руки у цій групі була нижчою на 12,87 % ($p\leq 0,05$), порівняно з особами зі середнім рівнем тривожності. У осіб із помірним рівнем тривожності спостерігали сильну кореляцію між рівнем тривожності й частотою тремору лівої ($r=0,84$; $p\leq 0,05$) та правої ($r=0,76$; $p\leq 0,05$) руки у вільному положенні за відсутності модульного контролю знань.

У всій вибірці студенток за умов навчального стресу встановили сильний кореляційний зв'язок між ЧСС і частотою тремору ($r=-0,70$; $n=14$; $p\leq 0,05$), а також амплітудою тремору ($r=0,75$; $n=14$; $p\leq 0,05$) правої руки у постуральній позиції кисті. Безпосередньо перед написанням модульної контрольної роботи негативна середньої сили кореляція була між амплітудою тремору правої руки у вільному положенні кисті й AT_{\max} ($r=-0,62$; $p\leq 0,05$) і AT_{\min} ($r=-0,63$; $p\leq 0,05$).

Отже, амплітуда і частота фізіологічного тремору правої та лівої руки студенток у вільному положенні кисті частково залежить від рівня тривожності особи. За відсутності контрольної роботи в осіб зі сильним рівнем тривожності частота тремору лівої руки була статистично значуще нижчою, порівняно з особами зі середнім рівнем тривожності. У осіб із помірним рівнем тривожності спостерігали зниження частоти тремору правої руки у вільному положенні кисті перед модульним контролем, порівняно з навчальним днем без заміру знань. У всій вибірці студенток за умов навчального стресу встановили кореляційний зв'язок між ЧСС і амплітудою й частотою тремору правої руки у постуральному стані кисті, а також між AT_{\max} і AT_{\min} й амплітудою тремору правої руки у стані спокою кисті.

Ключові слова: стрес, тремор, тривожність, акселерометрія

У здорової людини можна зареєструвати фізіологічний тремор, який характеризують як низькоамплітудні рухи з частотою 8–12 Гц [10, 21]. За певних умов (тривога, хвилювання, м'язова втома, вплив деяких ліків, кофеїну тощо) амплітуда фізіологічного тремору може зрости понад нормальне значення [4, 16.]. Такий тремор називають посиленням фізіологічним тремором.

Навчальна діяльність є напруженою та стресогенною [6], особливо у період виконання модульних контрольних робіт чи складання іспитів. У студентів вищих навчальних закладів стрес може бути сукупним емоційним результатом навчальної роботи, невизначеності в майбутньому, труднощів у формуванні міжособистісних стосунків, невпевненості в собі тощо [3]. Доведено, що емоційний стрес призводить до якісних і кількісних змін показників тремору у здорових осіб [23]. Навчальний, чи академічний, стрес впливає на емоційне благополуччя, якість життя й успішність студентів. Встановлено позитивний кореляційний зв'язок між такими видами навчальної діяльності, як виконання домашнього завдання, проходження тестування, робота в аудиторії, та рівнем хронічного стресу у студентів університету [13].

На сьогодні навчальний стрес із його проявами та наслідками більшою мірою вивчено з точки зору психології та педагогіки. Тому дослідження впливу навчального стресу на фізіологічні показники студентів залежно від рівня їхньої тривожності є актуальною проблемою вивчення реакції організму здобувачів освіти на дію академічних стресорів. У зв'язку з цим ми вирішили дослідити показники фізіологічного тремору кисті студенток у вільному положенні (кисть звисає з опорної поверхні долонею донизу) та у постуральному положенні (витагнута кисть, яка розміщена паралельно опорній поверхні долонею донизу) безпосередньо перед модульною контрольною роботою.

Підвищене нервово-емоційне й інтелектуальне навантаження пов'язане зі збільшенням тремору кінцівок. Так, розумова діяльність, а саме виконання вправ на

обчислення, посилювала постуральний тремор кінцівок здорових добровольців [2]. Нейрофізіологічні зміни, а відтак посилення амплітуди фізіологічного тремору в постуральному стані кінцівки, Vudini et al. спостерігали під час виконання когнітивних завдань. Ми ж вирішили дослідити показники фізіологічного тремору студенток в умовах підвищеної тривожності перед контролем знань.

Написання контрольної роботи пов'язане з підвищеним нервово-емоційним напруженням студентів. Активна розумова діяльність, посилена концентрація уваги, стислі часові рамки у сукупності є стресогенним чинником для більшості з них. Визначення ЧСС – один із об'єктивних методів оцінювання рівня стресу [18]. Тому метою роботи було дослідити, чи змінюються показники фізіологічного тремору та ЧСС як індикатори активації симпатичної нервової системи під час стресової ситуації (у нашому випадку перед модульною контрольною роботою) загалом та залежно від рівня тривожності обстежуваних осіб зокрема.

Тривожність – це психологічний, фізіологічний і поведінковий стан, спричинений у людини і тварин загрозою благополуччю або виживанню, фактичною або потенційною. Він характеризується підвищеним збудженням, очікуванням загрози чи небезпеки, вегетативною та нейроендокринною активацією та специфічними моделями поведінки. Функція цих змін полягає у тому, щоб полегшити подолання несприятливої або несподіваної ситуації [17]. Тривога часто супроводжується соматичними проявами, які свідчать про активацію симпатичної нервової системи, а саме підвищення ЧСС, збільшення частоти дихання, посилення потовиділення тощо. Більшою мірою зв'язок між тривожністю та функціональним станом автономної нервової системи досліджено в осіб з депресією, панічними атаками та генералізованим тривожним розладом [15, 8]. Тривога посилює тремор. Дослідження взаємозв'язку між тривожністю і тремором активно вивчали у осіб, професійна діяльність яких пов'язана з дрібною моторикою рук. Зниження інтенсивності тремору у хірургів-стажерів може бути зумовлене зменшенням тривожності [20]. Відомо, що раніше досліджували ефективність впливу β -адреноблокаторів на зменшення тремору, спричиненого хвилюванням у хірургів-стажерів [5] чи сценічним страхом у музикантів [9].

Ми припустили, що зміна показників фізіологічного тремору перед модульною контрольною роботою, яка є стресогенним чинником, може відрізнитися залежно від рівня тривожності. Оскільки у науковій літературі недостатньо даних про взаємодію між рівнем тривожності та тремором у контексті навчального стресу з акцентом на фізіологічні показники у різних положеннях кисті рук, дослідження тремору у вільному та постуральному положеннях набуває важливого значення. Таке порівняння дає змогу глибше зрозуміти механізми впливу тривожності й навчального стресу на тремор рук і оцінити різні аспекти рухової активності у відповідь на стресові чинники.

Дослідження впливу навчального стресу на фізіологічний тремор, ЧСС і АТ, які контролює автономна нервова система, допоможе зрозуміти відповідь організму студенток на академічні стресори загалом. Тому метою роботи було дослідити вплив навчального стресу (модульної контрольної роботи) на показники фізіологічного тремору верхніх кінцівок студенток загалом і залежно від рівня їхньої тривожності зокрема, а також з'ясувати наявність взаємозв'язку між показниками тремору та ЧСС і значенням АТ обстежуваних.

Матеріали та методи

У дослідженні взяли участь 14 студенток біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка віком 19–20 років. Дослідження виконано

згідно з Гельсінською декларацією Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини як об'єкта дослідження». Студентки надали письмову згоду щодо участі у ньому. Дослідження проводили у жовтні–листопаді 2023 року.

Реєстрацію тремору здійснювали безпосередньо перед модульною контрольною роботою та у звичайні навчальні дні, коли у студентів не було контрольних замірів знань. Обстежувані не вживали каву чи міцний чай, не виконували важку фізичну роботу перед дослідженнями. 93 % студенток (13/14) були праворукими, 100 % студенток не мали неврологічних розладів, які супроводжуються тремором рук, але у 14 % дівчат (2/14) близькі родичі мають нервово-м'язові патології, пов'язані з тремором верхніх кінцівок. Перед реєстрацією тремору у звичайний навчальний день 86 % студенток (12/14) повідомили, що на них не діють жодні стресові чинники, а 14 % студенток (2/14) – що на них стресові чинники діють. Натомість перед модульним контролем 86 % студенток (12/14) відчували вплив стресових чинників, а 14 % студенток (2/14) – ні.

Частоту й амплітуду тремору реєстрували у двох положеннях кисті – у вільному положенні (кисть звисала з опорної поверхні долонею донизу) та у постуральному положенні (кисть була розміщена паралельно опорній поверхні долонею донизу), як це описано раніше [1]. Дослідження проводили за допомогою акселерометра MPU6050 (InvenSense, Китай). Відкалібрований акселерометр розміщували на 2 см проксимальніше другого п'ястково-фалангового суглоба. Тривалість запису становила 30 с у кожній позиції кисті. Тремор, спричинений згинанням-розгинанням променево-зап'ясткового суглоба, реєстрували навколо фронтальної осі (вісь z акселерометра).

Під час запису обстежувані зручно сиділи на стільці висотою 46 см з прямою спинкою. Передпліччя розташовували на ручках стільця так, щоб ліктьовий відросток був на рівні кінця поверхні ручки стільця. У цій позиції кут згинання ліктьового суглоба становив 90°. Плечовий суглоб був злегка відведений. Положення тіла загалом і верхньої кінцівки зокрема під час реєстрації тремору має вирішальне значення для того, щоб ізолювати фізіологічний тремор рук від будь-яких інших рухів тіла, які потенційно можуть спотворити сигнал акселерометра [21].

Для зчитування результатів з акселерометра використовували авторську програму. Отримані показники прискорення у певний момент часу (0–30 с) внесено в середовище програми «OriginPro» і побудовано графіки залежності зміни прискорення від часу. За допомогою функції швидке перетворення Фур'є цієї програми (довірчий інтервал 0,05) отримано частотні й амплітудні характеристики коливань. Для подальшого опрацювання використано частоту і амплітуду першої гармоніки [1].

Аналіз проводили в частотному діапазоні 2–30 Гц, що дає змогу відокремити компоненти фізіологічного тремору від балістичного серцевого імпульсу, таким чином скорочення серця і кровотік не впливали на вимірювані показники.

Безпосередньо перед реєстрацією тремору вимірювали артеріальний тиск (АТ) і частоту серцевих скорочень (ЧСС). Артеріальний тиск визначали за методом Короткова. Вимірювання АТ і ЧСС здійснили за допомогою осцилометричного тонометра Microlife BP N1 Basic (Switzerland).

Усі обстежені 14 студенток пройшли анкетування за валідованим опитувальником «DASS-21» [7], який був запропонований їм у вигляді гугл-форми. Під час заповнення опитувальника студентки мали оцінити свої емоції та дії в ситуаціях, наведених у пунктах запитань. За відповіді по кожній із трьох підшкал набиралися бали, що оцінювали тривожність як нормальний рівень (1–4), помірний (4–5), середній (6–7), важкий (8–9) і надзвичайно важкий (10 і вище). Для подальшого аналізу ми згрупували студенток у три

групи: з помірним рівнем тривожності (1–5), середнім (6–7) і сильним (8 і вище). До першої групи увійшли 5 студенток (одна з них ліворука, решта праворукі), до другої групи увійшли 4 студентки (усі праворукі) й до третьої групи увійшли 5 студенток (усі праворукі).

Статистичний аналіз

Перевірку розподілу на нормальність здійснили за допомогою тесту Шапіро–Вілка. Оцінювали середнє значення (M), стандартну похибку середнього (m) та середнє квадратичне відхилення (σ) для кожного показника. Вірогідність різниці середніх арифметичних двох вибірок оцінювали за критерієм Стьюдента за умов, що дані були розподілені нормально. У разі відхилення розподілу від нормального для порівняння вибірок використовували тест Манна–Вітні. Проводили кореляційний аналіз для визначення коефіцієнта кореляції Пірсона. Значення коефіцієнта кореляції Пірсона інтерпретували таким чином: від 0,5 до 0,69 середній рівень кореляції; від 0,7 до 1 – сильний кореляційний зв'язок. Позитивні значення коефіцієнта кореляції свідчать про прямий зв'язок, а негативні – про обернений зв'язок між досліджуваними показниками. Оцінювали значущість кореляції за $p < 0,05$: якщо розраховане значення t -критерію було більшим за критичне значення для відповідної вибірки. Необхідні статистичні розрахунки виконували за допомогою програми Microsoft Office Excel.

Результати і їхнє обговорення

Ми зосередилися на вивченні тремору кистей рук, оскільки ця частина тіла найчастіше уражається тремором за патологічних станів і у стресових ситуаціях. За допомогою акселерометра зареєстрували і проаналізували частоту й амплітуду фізіологічного тремору кистей рук студенток ($n=14$) у двох положеннях (позиціях) кисті – вільному (кисть звисає з опорної поверхні долонею донизу) і постуральному (витягнута долоня утримується паралельно опорній поверхні долонею донизу). У вільному положенні кисті частота фізіологічного тремору правої та лівої руки за відсутності контрольних робіт становила $8,92 \pm 0,33$ та $8,15 \pm 0,26$ Гц відповідно (рис. 1). Безпосередньо перед модульним контролем частота тремору становила $8,47 \pm 0,32$ та $8,01 \pm 0,21$ Гц відповідно для кистей правої і лівої руки.

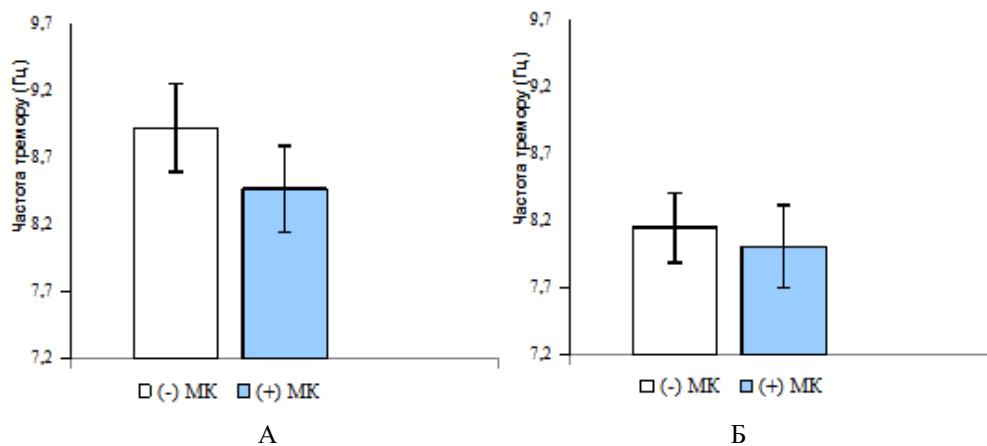


Рис. 1. Частота тремору кистей правої (А) та лівої (Б) руки у вільному положенні для усієї вибірки студенток ($n=14$): (-) МК – без модульного контролю знань; (+) МК – з модульним контролем знань

Переведення кисті у постуральну позицію, тобто паралельно опорній поверхні, не зумовило статистично-достовірних змін частоти тремору правої та лівої рук ні у день

контрольної роботи, ні у звичайний навчальний день.

У вільному положенні кисті, коли вона звисала з опорної поверхні, амплітуда фізіологічного тремору правої руки становила $0,44 \pm 0,12$ мм, а лівої руки – $0,27 \pm 0,04$ мм у день без модульних контрольних робіт (рис. 2). Перед контролем знань амплітуда тремору правої руки зменшилася на 41 % і становила $0,26 \pm 0,03$ мм, проте ці зміни виявилися недостовірними. У постуральному положенні кисті не спостерігали статистично-достовірних змін амплітуди тремору правої та лівої руки порівняно з вільним положенням кисті як у звичайний навчальний день, так і перед контрольною роботою. Не виявили також змін амплітуди тремору у постуральній позиції кисті правої та лівої руки перед модулем, порівняно із днем без заміру знань.

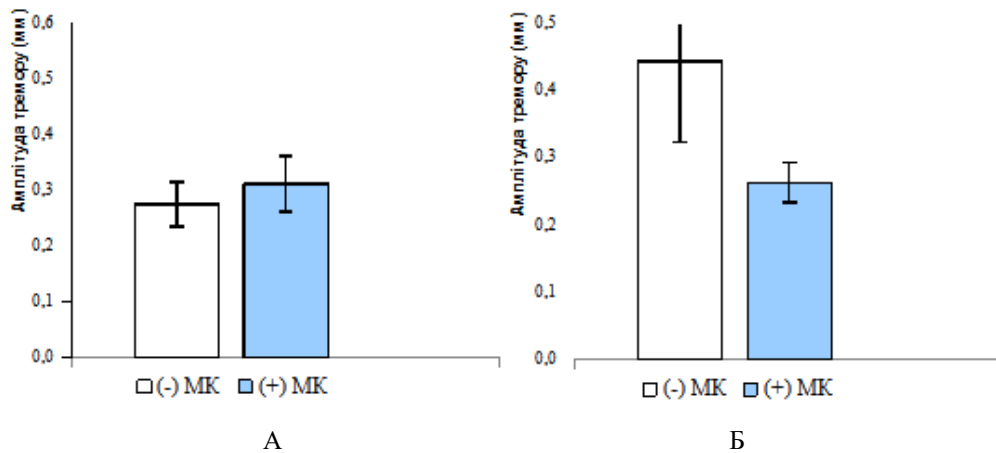


Рис. 2. Амплітуда тремору кистей правої (А) та лівої (Б) руки у вільному положенні для усієї вибірки студенток (n=14): (-) МК – без модульного контролю знань; (+) МК – з модульним контролем знань

Отже, амплітудно-частотні параметри фізіологічного тремору правої та лівої руки студенток не змінилися залежно від навчального навантаження як у вільному, так і в постуральному положенні кисті.

Ми також встановили, що усереднені показники AT_{\max} і AT_{\min} для усієї вибірки студенток (n=14) практично не відрізнялися у дні написання модульних контрольних робіт і у звичайні навчальні дні. Аналогічно не було статистично достовірних змін ЧСС у день контрольного заміру знань, порівняно зі звичайним навчальним днем. Усереднена ЧСС перед модулем становила $91 \pm 4,8$ уд/хв, а отже, ми спостерігали незначну тахікардію внаслідок хвилювання, що є нормальною фізіологічною реакцією організму.

Про наявність зв'язку між показниками тремору та значенням AT чи ЧСС в усій вибірці студенток робили висновок на підставі коефіцієнта кореляції Пірсона. З'ясували, що у звичайний день без модульного контролю між показниками тремору правої та лівої руки в обох положеннях кисті (вільному і постуральному) та ЧСС, AT_{\max} і AT_{\min} не було достовірного кореляційного зв'язку. Натомість перед контрольною роботою встановили обернений кореляційний зв'язок середньої сили між ЧСС і частотою тремору правої руки у вільному положенні кисті ($r=-0,60$; $p \leq 0,05$) та у постуральному положенні ($r=-0,70$; $p \leq 0,05$) (рис. 3; 4).

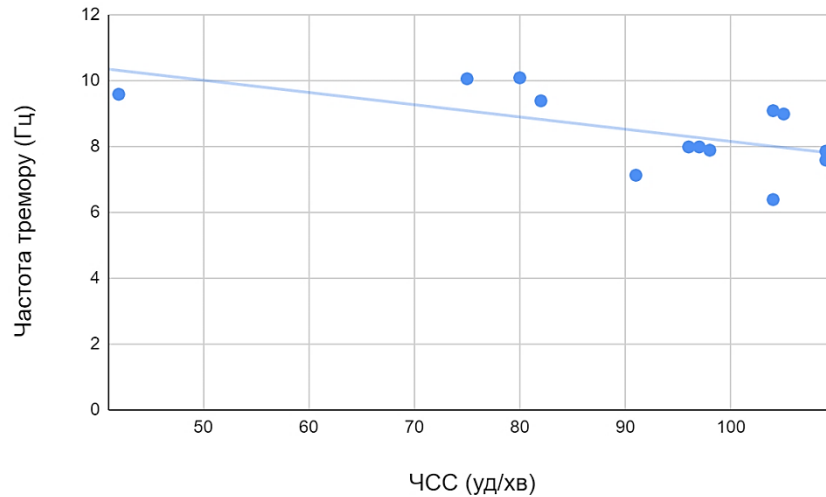


Рис. 3. Лінійна залежність між ЧСС і частотою тремору правої руки у вільному положенні ($r=-0,60$; $p\leq 0,05$) перед модульною контрольною роботою

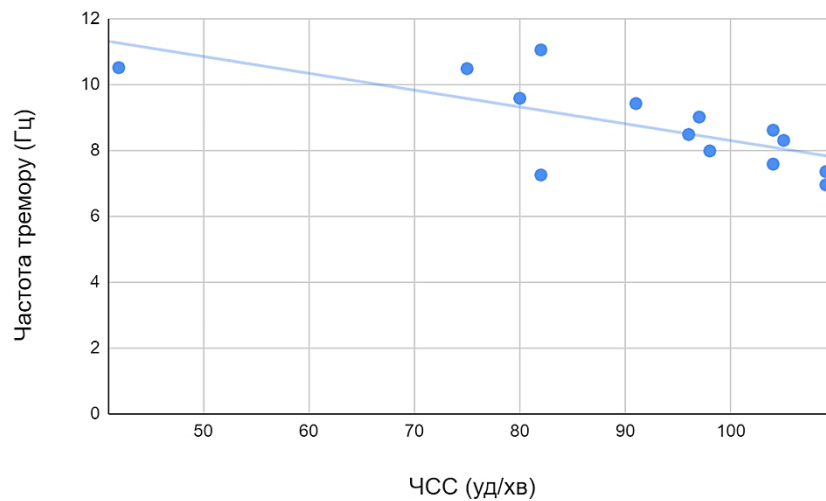


Рис. 4. Лінійна залежність між ЧСС і частотою тремору правої руки у постуральному положенні кисті ($r=-0,70$; $p\leq 0,05$) перед модульною контрольною роботою

Безпосередньо перед написанням модульної контрольної роботи негативна середньої сили кореляція була між амплітудою тремору правої руки у стані спокою кисті й $AT_{\text{макс}}$ ($r=-0,62$; $p\leq 0,05$) і $AT_{\text{мін}}$ ($r=-0,63$; $p\leq 0,05$). Сильну пряму кореляцію спостерігали між ЧСС і амплітудою тремору правої руки у постуральному стані під час утримання кисті паралельно опорній поверхні ($r=0,75$; $p\leq 0,05$) (рис. 5).

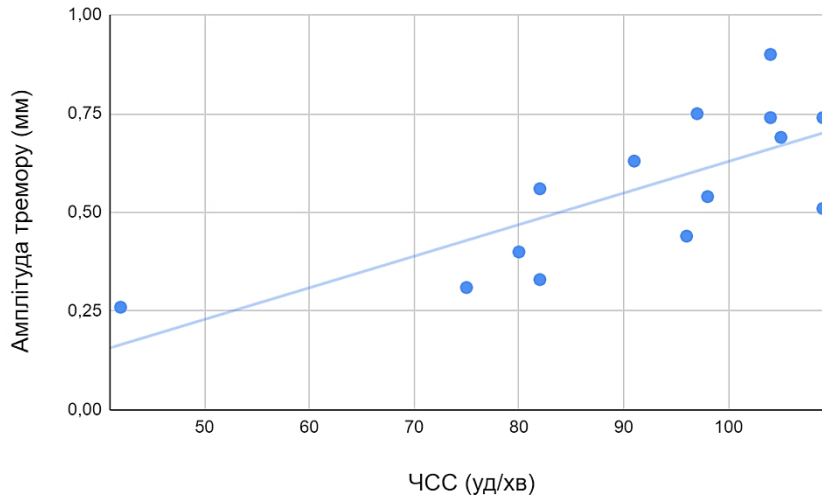


Рис. 5. Лінійна залежність між ЧСС і амплітудою тремору правої руки у постуральному положенні ($r=0,75$; $p\leq 0,05$) перед модульною контрольною роботою

Отже, за умов навчального стресу найбільш виражений взаємозв'язок спостерігали для правої руки між такими досліджуваними показниками: а) ЧСС і амплітудою та частотою тремору кисті у постуральному положенні; б) AT_{\max} і AT_{\min} й амплітудою тремору кисті у вільному положенні. Для лівої руки розрахований нами коефіцієнт Пірсона відповідав прямій середньої сили кореляції між AT_{\max} , AT_{\min} і частотою тремору кисті у постуральній позиції ($r=0,56$ та $r=0,50$ відповідно), проте ці дані виявилися статистично недостовірними.

Як свідчать літературні джерела, Morrison et al. (2013) виявили сильний зв'язок між ЧСС та фізіологічним тремором в осіб різних вікових груп з нормотензією та гіпертензією [11]. Автори також встановили сильний зв'язок між значенням артеріального тиску та показниками фізіологічного тремору.

Ми поділили досліджуваних осіб за рівнем тривожності на три групи: помірний (1–5 балів), середній (6–7 балів) і сильний рівень тривожності (8–20 балів) та дослідили, як показники фізіологічного тремору залежать від тривожності осіб.

Встановили (рис. 6 і 7), що частота тремору лівої руки становить $8,28\pm 0,52$ Гц у осіб із помірним рівнем тривожності (2–5 балів за опитувальником) (рис. 6). У цій групі виявили наявність сильної кореляції між рівнем тривожності й частотою тремору лівої руки ($r=0,84$; $p\leq 0,05$) (див. таблицю). Для правої руки частота тремору становила $9,11\pm 0,59$ Гц, що також сильно корелювало з рівнем тривожності ($r=0,76$; $p\leq 0,05$). У осіб із помірним рівнем тривожності встановлено, що амплітуда тремору лівої руки у середньому становила $0,21\pm 0,02$ мм, а правої руки – $0,31\pm 0,05$ мм, що не корелювало з рівнем тривожності ($r_{\text{правої}}=-0,13$; $r_{\text{лівої}}=0,19$) (рис. 8 і 9) (див. таблицю).

Безпосередньо перед модулем у групі осіб із помірним рівнем тривожності частота тремору лівої руки не відрізнялася статистично достовірно від частоти тремору в дні без модульного контролю. Проте на правій руці ми спостерігали статистично достовірне ($p\leq 0,05$) зниження частоти тремору на 10,2%. безпосередньо перед модулем у групі осіб із помірним рівнем тривожності. У цій групі лише одна студентка була ліворукою, однак у неї спостерігали такі ж зміни частоти фізіологічного тремору, як і в інших.

Показники коефіцієнта кореляції Пірсона (r) між рівнем тривожності й параметрами фізіологічного тремору спокою у вільному положенні руки (* $p \leq 0,05$)

| Тривожність | Тремор | | | |
|------------------------------|------------|-----------|------------|-----------|
| | Амплітуда | | Частота | |
| | ПРАВА рука | ЛІВА рука | ПРАВА рука | ЛІВА рука |
| Нормальний і помірний рівень | -0,13 | 0,19 | 0,76* | 0,84* |
| Середній рівень | N/A | N/A | N/A | N/A |
| Надзвичайно важкий рівень | 0,95* | 0,07 | 0,26 | 0,99* |

Амплітуда тремору лівої руки безпосередньо перед модулем проявляла статистично недостовірну тенденцію до зростання від $0,21 \pm 0,02$ мм до $0,34 \pm 0,06$ мм, а правої руки – до зниження тремору від $0,31 \pm 0,05$ мм до $0,23 \pm 0,02$ мм у групі осіб із помірним рівнем тривожності. Хоча обидві зміни не були статистично достовірними, однак слід звернути увагу на чіткі відмінності між правою та лівою рукою. Слід сказати, що у трьох праворуких дівчат із цієї групи амплітуда тремору лівої руки підвищувалась у дні з модульним контролем, а у однієї праворукої та у однієї ліворукої студенток – ні.

У групі осіб зі середнім рівнем тривожності (6–7 балів) частота тремору лівої руки становила $8,87 \pm 0,23$ Гц, а для правої руки цей показник дорівнював $8,09 \pm 0,19$ Гц у звичайні дні без написання модульної контрольної роботи (рис. 6). У цій групі ми не могли врахувати кореляційних зв'язків між тривожністю і показниками тремору, оскільки всі студенти в цій групі мали однаковий рівень тривожності згідно з опитувальником. Амплітуда тремору становила $0,41 \pm 0,07$ мм для правої руки і $0,27 \pm 0,04$ мм для лівої – у групі осіб зі середнім рівнем тривожності у звичайні дні без написання модульної контрольної роботи (рис. 7).

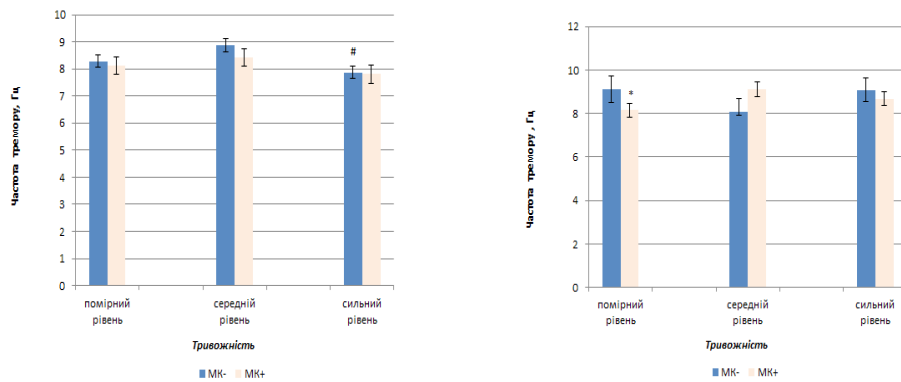
Безпосередньо перед написанням модульної контрольної роботи у групі осіб зі середнім рівнем тривожності (6–7 балів) частота тремору правої руки зростала від $8,15 \pm 0,55$ Гц до $9,11 \pm 1,98$ Гц, проте це підвищення є статистично недостовірним. Так само для лівої руки не зафіксовано статистично достовірних змін частоти тремору у звичайні дні та дні перед написанням модульної контрольної роботи. Амплітуда тремору для лівої руки знизилася (рис. 7) статистично недостовірно від $0,27 \pm 0,04$ мм у дні без контролю знань до $0,18 \pm 0,02$ мм перед написанням модуля, а на правій руці – від $0,41 \pm 0,07$ мм до $0,28 \pm 0,12$ мм. Усі студенти в цій групі були праворукими. Отже, у осіб зі середнім рівнем тривожності ми не зафіксували статистично достовірних змін показників фізіологічного тремору за дії навчального стресу.

У осіб зі сильним рівнем тривожності (8–20 балів за опитувальником) у дні без модульного контролю частота тремору лівої руки була статистично значуще нижчою на 12,87 % ($p \leq 0,05$), порівняно з особами зі середнім рівнем тривожності і становила $7,86 \pm 0,35$ Гц. У цій групі частота тремору виявилася прямо пропорційною рівню тривожності ($r=0,99$; $p \leq 0,05$). Варто зазначити, що всі студенти в цій групі були праворукими. Для правої руки частота тремору у групі становила $9,05 \pm 0,49$ Гц, що слабо корелювало з рівнем тривожності ($r=0,26$). Амплітуда тремору у дні без заміру знань для осіб зі сильним рівнем тривожності становила $0,33 \pm 0,07$ мм для лівої руки, що не корелювало з рівнем тривожності ($r=0,07$) (див. таблицю), а на правій руці амплітуда тремору в середньому дорівнювала $0,52 \pm 0,23$ мм та прямо пропорційно залежала від рівня тривожності, визначеного за опитувальником ($r=0,95$; $p \leq 0,05$) (рис. 7).

Перед написанням модульної контрольної роботи у групі осіб зі сильним рівнем тривожності простежуємо тенденцію до зниження частоти тремору на лівій руці від $9,05 \pm 0,49$ Гц до $8,68 \pm 0,33$ Гц, а на правій руці частота тремору змінилася від $7,86 \pm 0,35$ Гц за відсутності контролю знань до $7,95 \pm 0,44$ Гц у день, коли студенти писали модульну контрольну роботу. Проте ці зміни не є статистично достовірними. Амплітуда тремору лівої руки знизилась від $0,33 \pm 0,07$ мм у дні без модулю до $0,26 \pm 0,05$ мм перед написанням модульної контрольної роботи. На правій руці ми спостерігали зниження амплітуди тремору від $0,52 \pm 0,23$ мм до $0,25 \pm 0,04$ мм. Проте ці зміни амплітуди тремору були статистично недостовірними.

На основі отриманих даних можна припустити, що в осіб із помірним рівнем тривожності, які менш сприйнятливі до стресу, організм може ефективніше адаптуватися до навчального навантаження, що зумовлює зниження частоти тремору. Це може бути результатом кращої регуляції симпатичної нервової системи або ефективного управління гормонами стресу. Підвищення амплітуди тремору правої кінцівки може свідчити про більше напруження м'язів на домінуючій руці. На користь цього припущення свідчить той факт, що у ліворукої студентки амплітуда тремору правої руки не змінилась.

Виявлене нами зменшення частоти тремору лівої руки у осіб зі сильним рівнем тривожності можна пояснити складною взаємодією фізіологічних, психологічних і нейробіологічних чинників. Відомо, що є фізіологічні відмінності у контролі рухів різних рук мозком. У праворуких людей домінуюча права рука керується лівою півкулею мозку, яка відповідає за більшість моторних функцій. Ліва рука, керована правою півкулею, може демонструвати інші патерни реакції на стрес і тривожність, які впливають на нервову систему та м'язову активність по-різному. Зокрема, доведено, що тривожність відрізняється у праворуких і ліворуких осіб [22].



А **Б**
 Рис. 6. Частота тремору лівої (А) та правої руки (Б) залежно від рівня тривожності (помірний, середній і сильний) у дні без модульного контролю (МК-) та у дні з модульним контролем (МК+): # – $P \leq 0,05$ щодо групи зі середнім рівнем тривожності у дні без модульного контролю. * $P \leq 0,05$ у групі з помірним рівнем тривожності у дні з модульним контролем щодо днів без модульного контролю

Загальноприйнятним положенням є те, що ліворуки більше тривожаться та хвилюються, ніж праворуки [22]. Такі ж відмінності були характерні і для бабаків [19]. У цьому дослідженні, зокрема, показано, що ліворуки демонструють менш активну соціальну поведінку та мають нижчий базальний рівень кортизолу, ніж амбідекстри та праворуки [19].

Праворукі люди зазвичай більше використовують праву руку, що може робити її менш чутливою до змін у нервовій системі, спричинених тривожністю. Ліва рука, менш тренувана і менш задіяна в повсякденному житті, може бути більш чутливою до таких змін, що призводить до краще виражених змін частоти тремору. Окрім того, тут залучені психосоматичні механізми, адже високий рівень тривожності може впливати на різні системи організму, зокрема, на серцево-судинну та нервову системи.

Щоби пояснити зв'язок між тривожністю і серцево-судинними порушеннями, було запропоновано кілька проміжних механізмів, у тому числі симпатичну активацію, порушення вагусного контролю, зниження варіабельності серцевого ритму, стимуляцію гіпоталамо-гіпофізарної осі, окислювальний стрес, підвищення медіаторів запалення тощо [12].

Це може призводити до компенсаторних механізмів, які знижують активність в одних частинах тіла (наприклад, ліва рука), щоб зменшити загальний стрес на організм. Варто також враховувати, що кожна людина має унікальні особливості нервової системи, які можуть змінювати реакцію різних частин тіла на стрес. У праворуких осіб ліва рука може бути більш чутливою до змін рівня тривожності через індивідуальні відмінності у функціонуванні нервової системи.

Не виключено, що люди можуть несвідомо контролювати рухи своєї домінуючої руки краще, ніж недомінуючої, особливо в умовах стресу або тривожності. Це може призводити до різних проявів тремору правої та лівої руки.

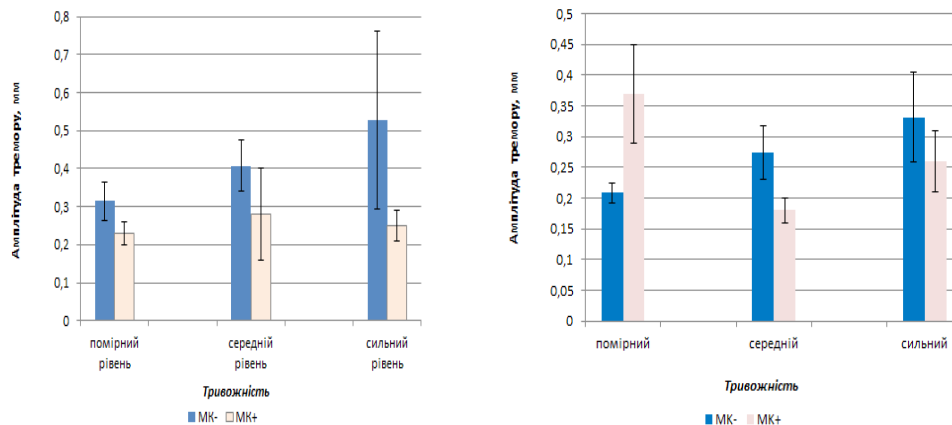


Рис. 7. Амплітуда тремору правої (А) та лівої руки (Б) залежно від рівня тривожності студентів (помірний, середній і сильний) у дні без модульного контролю (МК-) та у дні з модульним контролем (МК+): * – $P \leq 0,05$ щодо групи з помірним рівнем тривожності у дні з модульним контролем

Отже, отримані результати ми пояснюємо функціональною асиметрією мозку, про що вже говорилося раніше, та психосоматичними механізмами. У праворуких осіб права рука є домінуючою і контролюється лівою півкулею мозку. Підвищена активність лівої півкулі в умовах стресу і тривожності може призводити до більш вираженого тремору саме у правій руці. Ліва рука, яка контролюється правою півкулею, може демонструвати іншу реакцію на стресові фактори, що відображається у меншій амплітуді тремору. Тривожність може впливати на різні фізіологічні процеси, зокрема, на м'язовий тонус і нервову активацію, які по-різному діють на тремор лівої та правої рук [14]. В умовах

підвищеної тривожності організм може застосовувати компенсаторні механізми для підтримання стабільності рухів. Ці механізми можуть бути більш ефективними для недомінантної руки, що забезпечує менший тремор. Таким чином, результати дослідження демонструють складну взаємодію між тривожністю і фізіологічним тремором, зокрема, різну реакцію правої та лівої рук на підвищення рівня тривожності у студентів.

Для усієї групи студенток ($n=14$) показники фізіологічного тремору правої та лівої кінцівки у вільному і поструральному положенні не змінилися перед контролем знань, порівняно зі звичайним навчальним днем. Аналіз параметрів фізіологічного тремору окремо у групах осіб із різним рівнем тривожності показав, що за відсутності контрольної роботи у осіб зі сильним рівнем тривожності (8–20 балів за опитувальником) частота тремору лівої руки була статистично значуще нижчою на 12,87 % ($p \leq 0,05$), порівняно з особами зі середнім рівнем тривожності. У день, коли був модульний контроль, встановлено зниження частоти тремору правої руки у вільному положенні кисті на 10,2 % ($p \leq 0,05$) лише у студенток із помірним рівнем тривожності, порівняно з навчальним днем без заміру знань.

У всій вибірці студенток перед модулем виявили сильний кореляційний зв'язок між ЧСС та частотою тремору ($r=-0,70$; $n=14$; $p \leq 0,05$), а також амплітудою тремору ($r=0,75$; $n=14$; $p \leq 0,05$) правої руки у поструральному положенні кисті. Перед модульним контролем спостерігали негативну середньої сили кореляцію між амплітудою тремору правої руки у вільному положенні кисті й AT_{\max} ($r=-0,62$; $p \leq 0,05$) і AT_{\min} ($r=-0,63$; $p \leq 0,05$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гнатчук І. Ю., Манько В. В. Зміни параметрів фізіологічного тремору кисті під час різної активності м'язів верхньої кінцівки людини // Фізіол. журн. 2019. Т. 65. № 4. С. 59–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz65.04.059>
2. Budini F., Mocnik R., Tilp M. et al. Mental calculation increases physiological postural tremor, but does not influence physiological goal-directed kinetic tremor // Eur. J. Appl. Physiol. 2022. Vol. 122. P. 2661–2671. <https://doi.org/10.1007/s00421-022-05039-6>
3. Chao R. C. L. Managing perceived stress among college students: the roles of social support and dysfunctional coping // J. College Counsel. 2012. N 15. P. 5–21. doi: 10.1002/j.2161-1882.2012.00002.x
4. Crawford P., Zimmerman E. Tremor: Sorting Through the Differential Diagnosis // Am. Fam. Physician. 2018. N 97 (3). P. 180–186.
5. Elman M. J., Sugar J., Fiscella R. et al. (1998) The effect of propranolol versus placebo on resident surgical performance. Trans Am Ophthalmol Soc 96:283–291 discussion 291–4
6. Haldorsen H., Hasle Bak N., Dissing A., Petersson B. Stress and symptoms of depression among medical students at the University of Copenhagen // Scand. J. Public. Health. 2014. Vol. 42. N 1. P. 89–95. <https://doi.org/10.1177/1403494813503055>
7. Henry J. D., Crawford J. R. The short-form version of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS-21): construct validity and normative data in a large non-clinical sample // Br. J. Clin. Psychol. 2005. Vol. 44. N 2. P. 227–39. <https://doi.org/10.1348/014466505X29657>
8. Hu M. X., Lamers F., de Geus Eco J. C. et al. Differential Autonomic Nervous System Reactivity in Depression and Anxiety During Stress Depending on Type of Stressor // Psychosomatic Medicine. 2016. Vol. 78 (5). P. 562–572. DOI: 10.1097/PSY.0000000000000313
9. James I. M., Griffith D. N., Pearson R. M., Newbury P. Effect of oxprenolol on stagefright in musicians. Lancet 2:952–954, 1977. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(77\)90890-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(77)90890-X)

10. *Lakie M., Vernooij C., Osborne T.* et al. The resonant component of human physiological hand tremor is altered by slow voluntary movements // *J. Physiol.* 2012. Vol. 590 (10). P. 2471–2483. doi: 10.1113/jphysiol.2011.226449
11. *Morrison S., Sosnoff J., Heffernan K. S.* et al. Aging, hypertension and physiological tremor: The contribution of the cardiobalistic impulse to tremorgenesis in older adults // *J. Neurol. Sci.* 2013. Vol. 326. Issues 1–2. P. 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2013.01.016>
12. *Olafiranye O., Jean-Louis G., Zizi F.* et al. Anxiety and cardiovascular risk: Review of Epidemiological and Clinical Evidence // *Mind Brain.* 2011. Vol. 2 (1). P. 32–37. PMID: 21822473; PMCID: PMC3150179.
13. *Pozos-Radillo B., Preciado-Serrano M. D. L., Acosta-Fernandez M.* et al. Academic stress as a predictor of chronic stress in university students // *Psicol. Educ.* 2014. N 20. P. 47–52. doi: 10.1016/j.pse.2014.05.006
14. *Rowland D. L., van Lankveld JJDM.* Anxiety and Performance in Sex, Sport, and Stage: Identifying Common Ground // *Front. Psychol.* 2019. Vol. 10. P. 1615. doi: 10.3389/fpsyg.2019.01615
15. *Sharma R. K., Sagar R., Deepak K. K.* et al. Clinical and autonomic functions: a study of childhood anxiety disorders // *Ann. Saudi Med.* 2011. Vol. 31. No 3. P. 250–257. doi: 10.4103/0256-4947.81533
16. *Sharma S., Pandey S.* Approach to a tremor patient // *Ann. Indian. Acad. Neurol.* 2016. Vol. 19 (4). P. 433–443. doi: 10.4103/0972-2327.194409
17. *Steimer T.* The biology of fear- and anxiety-related behaviors // *Dialogues Clin Neurosci.* 2002. Vol. 4 (3). P. 231–249. doi: 10.31887/DCNS.2002.4.3/tsteimer
18. *Taelman J., Vandeput S., Spaepen A., Van Huffel S.* Influence of mental stress on heart rate and heart rate variability. Part of the IFMBE Proceedings book series (IFMBE, vol. 22). 2008. P. 1366–1369.
19. *Vaughan E., Le A., Casey M.* et al. Baseline cortisol levels and social behavior differ as a function of handedness in marmosets (*Callithrix jacchus*) // *Am. J. Primatol.* 2019. Vol. 81 (9): e23057. doi: 10.1002/ajp.23057
20. *Verrelli D. I., Qian Y., Wilson M. K.* et al. Intraoperative tremor in surgeons and trainees // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2016. Vol. 23 (3). P. 410–415
21. *Vial F., Kassavetis P., Merchant S.* et al. How to do an electrophysiological study of tremor // *Clin Neurophysiol Pract.* 2019. Vol. 4. P. 134–142. DOI: 10.1016/j.cnp.2019.06.002
22. *Wright L., Hardie S. M.* Left-handers look before they leap: handedness influences reactivity to novel Tower of Hanoi tasks. *Front Psychol*, 2015; 6:58. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00058
23. *Zillmer R., Newby B., Treloar R.* A controlled study for measuring stress induced changes of physiologic tremor with a wearable activity sensor // *Proceedings of the International Conference on Bio-inspired Systems and Signal Processing.* Vol. 0BIOSTEC. 2014. ESEO, Angers, Loire Valley, France. P. 178–182. DOI:10.5220/0004789701780182

Стаття надійшла до редакції 18.06.24

доопрацьована 19.09.24

прийнята до друку 27.09.24

THE INFLUENCE OF ANXIETY AND ACADEMIC STRESS ON PHYSIOLOGICAL TREMOR INDICATORS OF THE HAND IN FEMALE INDIVIDUALS

I. Gnatchuk, S. Bychkova, T. Korol, L. Bachynska, L. Serbyn

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: tetiana.korol@lnu.edu.ua*

Stress is the cause of increased physiological tremor [4]. Educational activity in itself is intense and stressful [6], especially during the period of writing modular test papers or passing exams. Anxiety can increase tremor due to increased excitability of the nervous system, which is manifested by increased reactivity of motor neurons. This increases the tendency to uncontrolled muscle contractions and, accordingly, tremors. The purpose of the work was to investigate the effect of educational stress (modular control work) on indicators of physiological tremor of the upper limbs of female students in general and depending on their level of anxiety in particular, as well as to find out the existence of a relationship between indicators of tremor and heart rate and blood pressure of the subjects.

We analyzed the amplitude-frequency indicators of the tremor of the right and left hand, as well as the level of anxiety of 14 female students aged 19–20 years. Subjects provided written consent to participate in the study. All female students had no history of neurological and motor disorders, 93 % (13/14) of them were right-handed.

Tremor frequency and amplitude were recorded in two positions - in a free position (the hand hung from the support surface with the palm down) and in a postural position (the hand was placed parallel to the support surface with the palm down) using an MPU6050 accelerometer (InvenSense, China). The author's program was used to read the results from the accelerometer. Blood pressure was determined by the Korotkov method. Blood pressure and heart rate were measured using an oscillometric tonometer Microlife BP N1 Basic (Switzerland). To determine the level of anxiety, the DASS-21 questionnaire was used, on the basis of which the subjects were divided into three groups according to the level of anxiety: moderate (1–5 points), medium (6–7 points) and strong (8–20 points). The first group included 5 female students (one of them left-handed, the rest right-handed), the second group included 4 female students (all right-handed), and the third group included 5 female students (all right-handed).

The probability of the difference between the arithmetic means of two samples was estimated by the Student's test under the condition that the data were normally distributed. If the distribution deviated from normal, the Mann-Whitney test was used to compare the samples.

For the entire group of female students ($n=14$), indicators of physiological tremor of the right and left limbs both in the free and in the postural position of the hand did not differ before the modular control and on a regular school day.

After dividing female students according to the level of anxiety, it was found that in the group with a moderate level of anxiety there was a decrease in the frequency of tremor of the right hand in the free position of the hand by 10.2 % ($p \leq 0.05$) before the module control compared to the school day without measuring knowledge. On days without modular control of knowledge in persons with a strong level of anxiety, a direct correlation was established between the level of anxiety and the frequency of physiological tremor of the left hand ($r=0.99$; $p \leq 0.05$), as well as between the level of anxiety and the amplitude of tremor of the right hand ($r=0.95$; $p \leq 0.05$) in a free position. The frequency of left hand tremor in this group was lower by 12.87 % ($p \leq 0.05$) compared to individuals with an average level of anxiety. In persons with a moderate level of anxiety, a strong correlation was observed between the level of anxiety and the frequency of tremor of the left ($r=0.84$; $p \leq 0.05$) and right

($r=0.76$; $p\leq 0.05$) hands in a free position in the absence of modular control of knowledge.

In the entire sample of female students under conditions of academic stress, a strong correlation was established between heart rate and tremor frequency ($r=-0.70$; $n=14$; $p\leq 0.05$), as well as tremor amplitude ($r=0.75$; $n=14$; $p\leq 0.05$) of the right hand in the postural position of the hand. Immediately before writing the modular control paper, there was a negative correlation of average strength between the amplitude of tremor of the right hand in the free position of the hand and A_{max} ($r=-0.62$; $p\leq 0.05$) and A_{min} ($r=-0.63$; $p\leq 0.05$).

So, the amplitude and frequency of the physiological tremor of the right and left hand of female students in a free position of the hand partially depends on the level of anxiety of the person. In the absence of a control task, individuals with a high level of anxiety had a statistically significantly lower frequency of left hand tremor compared to individuals with an average level of anxiety. In persons with a moderate level of anxiety, a decrease in the frequency of tremor of the right hand in the free position of the hand was observed before the modular control compared to the educational day without measuring knowledge. In the entire sample of female students, under conditions of educational stress, a correlation was established between heart rate and the amplitude and frequency of tremor of the right hand in the postural state of the hand, as well as between AT_{max} and AT_{min} and the amplitude of tremor of the right hand in the resting state of the hand.

Keywords: stress, tremor, anxiety, accelerometry

ЗМІСТ

ЮВІЛЕЇ ТА ДАТИ

| |
|--|
| <i>А. Бабський, Р. Гумецький</i> Мирон Пилипович Деркач (1931–2012). Той, що почав розмовляти з комп'ютером... 4 <i>С.К. Гордій, Г.К. Старостюк</i> Feci quod potui, faciant meliora potentes. Світлій пам'яті професора, доктора медичних наук Ірини Василівни Шостаковської 11 <i>М. Ю. Клевець</i> Науковий доробок професора І. В. Шостаковської 14 |
|--|

БІОФІЗИКА

| |
|--|
| <i>Н. Гарасим, Н. Тойлієв, Н. Боднарчук, А. Зинь</i> Біометричний аналіз показників прооксидантно-антиоксидантного стану плазми крові щурів за дії гістаміну і кверцетину 20 <i>А. Генега, А. Тарновська, М. Яремчук, А. Будевич, О. Семочко</i> Вміст ТБК-позитивних продуктів у зародках в'юна <i>Misgurnus fossilis</i> L. на різних етапах розвитку за впливу амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону 33 <i>О. Семочко, А. Генега, М. Яремчук, А. Тарновська, В. Іванюк</i> Вплив червоного та синього електромагнітного випромінювання на каталазну активність зародків в'юна <i>Misgurnus fossilis</i> L. 39 <i>Ya. Shalai, V. Koberenko, M. Ilkiv, Yu. Ostapiuk, A. Babsky</i> Effect of a thiazole derivative on the activity of antioxidant enzymes in murine lymphoma cells 45 |
|--|

БІОХІМІЯ

| |
|---|
| <i>М. Нагалєвська, Н. Сибірна</i> Метаболічний синдром: механізми розвитку та експериментальні моделі 51 |
|---|

ЕКОЛОГІЯ

| |
|---|
| <i>Р. Nasadiuk, Z. Mamchur</i> Review of modern approaches to the management of invasive species of the genus <i>Heraclium</i> in Europe 67 |
|---|

ЗООЛОГІЯ

| |
|---|
| <i>О. Гнатина, Т. Макітра</i> Погляд усередину: гніздові матеріали і деякі закономірності гніздової біології коноплянки <i>Linaria cannabina</i> (Linnaeus, C 1758) на Львівщині 90 |
|---|

МІКРОБІОЛОГІЯ

| |
|---|
| <i>Г. Яворська, Н. Воробець, О. Мороз</i> Вплив екстрактів з <i>Physocarpus opulifolius</i> (L.) Maxim. і <i>Stachys palustris</i> L. на <i>Candida parapsilosis</i> 99 |
|---|

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

| |
|---|
| <i>М. Сибіль, Я. Свищ, Б. Виноградський, М. Бура, Р. Первачук</i> Порівняльний аналіз змін лактату і сечовини у сечі спортсменів-лучників за різного фізичного та психологічного навантаження 111 <i>О. Писко, М. Дика</i> Клінічна характеристика та особливості хірургічного лікування пацієнтів із простими кістами нирок 125 |
|---|

| | |
|--|-----|
| <i>O. Bilonoha, B.O. Manko, H. Mazur, V. Manko</i> | |
| Effects of acute alcohol intoxication on the respiration and dehydrogenase activity of rat pancreatic acini | 132 |
| <i>I. Гнатчук, С. Бичкова, Т. Король, Л. Бачинська, Л. Сербин</i> | |
| Вплив тривожності й навчального стресу на показники фізіологічного тремору кисті осіб жіночої статі | 138 |

CONTENTS

ANNIVERSARIES

- A. Babsky, R. Humetsky*
Myron Pylypovych Derkach (1931–2012). The one who started to talk to the computer... .. 4
S. K. Hordiĭ, G. K. Starostyuk
Feci quod potui, faciant meliora potentes.
In memory of Professor and Doctor of Medical Sciences Iryna Vasylivna Shostakovska 11
M. Yu. Klevets
Scientific work of Professor I. V. Shostakovska 14

BIOPHYSICS

- N. Harasym, N. Toyliiev, N. Bodnarchuk, A. Zyn*
Biometric analysis of indicators of proxydant and antioxidant status of blood plasma
of rats under the effect of histamine and quercetin20
A. Heneha, A. Tarnovska, M. Yaremchuk, A. Budevych, O. Semochko
The content of TBA-positive products in embryos of loach *Misgurnus fossilis* L.
at different stages of development under the influence of amino acid derivatives
of 1,4-naphthoquinone33
O. Semochko, A. Heneha, M. Yaremchuk, A. Tarnovska, V. Ivanyuk
The influence of red and blue electromagnetic radiation on the catalase activity
of *Misgurnus fossilis* L. 39
Ya. Shalai, V. Koberenko, M. Ilkiv, Yu. Ostapiuk, A. Babsky
Effect of a thiazole derivative on the activity of antioxidant enzymes
in murine lymphoma cells 45

BIOCHEMISTRY

- M. Nagalievskaya, N. Sybirna*
Metabolic syndrome: mechanisms of development and experimental models 51

ECOLOGY

- P. Nasadiuk, Z. Mamchur*
Review of modern approaches to the management of invasive species
of the genus *Heracleum* in Europe 67

ZOOLOGY

- O. Hnatyna, T. Makitra*
Look inside: nesting materials and some patterns of nesting biology
of the common linnet *Linaria cannabina* (Linnaeus, C 1758) in the Lviv region 90

MICROBIOLOGY

- H. Yavorska, N. Vorobets, O. Moroz*
Assessment of *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim. and *Stachys palustris* L.
extracts influence against *Candida parapsilosis* 99

HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

- M. Sybil, Ya. Svyshch, A. Vynogradskiy, M. Bura, R. Pervachuk*
Comparative analysis of the lactate and urea changes in the athletes-archers urine
under different physical and psychological loads 111
O. Pysko, M. Dyka
Clinical characteristics and features of surgical treatment of patients
with simple renal cysts 125

| | |
|--|-----|
| <i>O. Bilonoha, B.O. Manko, H. Mazur, V. Manko</i> Effects of acute alcohol intoxication on the respiration and dehydrogenase activity of rat pancreatic acini | 132 |
| <i>I. Gnatchuk, S. Bychkova, T. Korol, L. Bachynska, L. Serbyn</i> The influence of anxiety and academic stress on physiological tremor indicators of the hand in female individuals | 138 |