

рослини, а також потенційними запилювачами приблизно 350 видів квіткових рослин. Практичне значення пускокриптів як шкідників і запилювачів на сьогодні є незначним, а науково – прикладне – зумовлене головним чином їхнім високим біоіндикаційним потенціалом.

ДЖЕРЕЛА ТА ЛІТЕРАТУРА

1. Канарський Ю. В. Проблема охорони раритетних видів комах і концепція Червоної книги / Ю. В. Канарський // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. Матеріали 10-ї наук. конференції молодих учених (Львів, 7-8 жовтня 2010 р.). – Львів, 2010. – С.18-24
2. Червона книга України. Тваринний світ / під редакцією І. А. Акімова – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – С. 141-199.
3. 1996 IUCN Red List of Threatened Animals. UNEP-WCMC. Gland, Switzerland [www.unepwcmc.org].

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, професор Марія Сельський В.П.

УДК 57.083.37

Гропова Шевченко
(Херсон)

ВПЛИВ ЦΙΑНОТ ОКСИНІВ *MICROCYSTIS AERUGINOSA* НА КЛІТИНИ КРОВІ ЛЮДИНИ

У статті представлено простий досвід для демонстрації токсичного впливу метаболітів культури *Microcystis aeruginosa* на клітини крові людини. Екстракт *Microcystis aeruginosa* був витриманий з периферичною кров'ю людини протягом доби (в присутності антикоагулянту). В результаті спостерігалися патологічні зміни в клітинах: агрегація еритроцитів та часткове або повне руйнування лейкоцитів.

Ключові слова: *Microcystis aeruginosa*, ціанотоксини, мікроцистин, агрегація еритроцитів, дезагрегація еритроцитів, тіні Гунфрелта.

The article presents a simple experiment to demonstrate the toxic effects of *Microcystis aeruginosa* culture metabolites on human blood cells. The extract of *Microcystis aeruginosa* was sustained with peripheral human blood during the day (with an anticoagulant). As a result of pathological changes observed in cells: erythrocyte aggregation and partial or total destruction of leukocytes.

Key words: *Microcystis aeruginosa*, cyanotoxins, Microcystin, erythrocyte aggregation, erythrocyte disaggregation, Gunfrelt shadows.

Вступ. Надзвичайно гострою проблемою є розмноження у водоймах ціанобактерій, тісно пов'язане з глобальною евтрофікацією завдяки збагаченню води нутрієнтами, особливо сполуками азоту та фосфору [3, с. 65].

Потенційне занепокоєння щодо впливу на здоров'я людини пов'язане з дією токсинів при вживанні питної води. У разі використання неадекватно очищеної води для гемодіалізу, яка містила високі рівні ціанотоксинів, трапилися летальні випадки [3, с. 66].

Microcystis aeruginosa (*M. aeruginosa*) – ціанобактерія, яка здатна забруднювати прісну воду шляхом виділення токсинів, таких як мікроцистини (MC) [1, с. 4] та ліпопептидокарбонати (LPS) [1, с. 10]. Мікроцистини є цислічновими гетеропептидами. Нині відомо більше ніж 100 структурних аналогів [15, с. 1078]. Серед цих токсинів мікроцистин-LR (MC-LR) є найбільш токсичним [11, с. 289].

LPS (ліпополісахариди) входять до складу оболонки ціанобактерій і є ендотоксинами [1, с. 10]. Структурні та функціональні характеристики цих компонентів у ціанобактеріях залишаються значною мірою невідомими [7, с. 896].

Основною небезпечкою МС у клітинних печінки людини / тварин є ураження цитоскелета, що змінює структуру та функціонування гелатоцитів. Описані порушеннями мікротрубочок, мікрофіламентів та організації проміжної мережі, що мають наслідки для форми клітини, цілісності та функціональності тканини, мітотичного поділу. Більшість цих субклітинних змін тісно пов'язані з інгібіцією протеїнфосфатаз (PP1 і PP2A). Проте кілька змін в цитоскелеті, ймовірно, пов'язані з індукцією окисного стресу [13, с. 1063].

МС здатні викликати апоптоз [4, с. 1018].

Багато інших типів клітин зазнають змін, подібних до тих, що спостерігаються в гелатоцитах [13, с. 1063]. За останні 5 років в інземних джерелах описані токсичний ефект МС-LR на: нерви [9, с. 41], імунну систему [12, с. 1], сім'яники [5, с. 116] та легені [10, с. 1] мишей, легеневі клітини у мишей [16, с. 81], кардіоміоцити щурів [17, с. 1], цитовидну залозу мишей [18, с. 135], кістки мишей [6, с. 792].

Існують експериментальні докази (2011) того, що LPS, виділений із штамі *M. aeruginosa*, здатний активувати мікроглію мозку *in vitro*, а також звільняти O_2^- та інші медіатори запалення. Гіпотетично вони беруть участь у нейрозапальному процесі та нейродегенерації [14, с. 63].

Мета дослідження – визначити цитотоксичний ефект екстракту *M. aeruginosa* на клітини крові людини.

Об'єкт дослідження є екстракт культури *M. aeruginosa*.

Матеріал і методи дослідження. Екстракт *M. aeruginosa* отриманий за допомогою гомогенізації та центрифугування. Кров людини, взята з пальця, витримувалася з екстрактом *M. aeruginosa* та антикоагулянтом. Проведена фіксація мазків крові спиртом та фарбування за Романовським з подальшою світловою мікроскопією.

Витримування крові у присутності антикоагулянту (гепарин розведення 1:4) проводилося протягом 24 години. Біомаса ціанобактерій, взята для дослідження, складала приблизно 1-1.5 г. Одноразово центрифугували для розділення маси ціанобактерій від води. Надалі проведено подвійне центрифугування з фізіологічним розчином. Маса ціанобактерій, перетерта у порцеляновій ступці з фізіологічним розчином та піском, піддавалася дворазовому центрифугуванню для розділення отриманого екстракту.

Витримування крові проводилося у 3 пробірках. У двох пробірках було 5.5 мл екстракту (+ 1 крапля гепарину) та кров з пальця, що взята в об'ємі 1.5 капіляра Панченкова (≈ 0.15 мл). Третя пробірка – контроль (фізіологічний розчин без екстракту). Пробірки були витримані протягом 24 години у темному місці: перша пробірка та контроль – при температурі $+4^\circ\text{C}$; друга пробірка – при температурі $+23^\circ\text{C}$.

Мазки крові із усіх пробірок (витримування при $+4^\circ\text{C}$ та при $+23^\circ\text{C}$) були висушені на повітрі та фіксовані спиртом протягом 3 хв. і, після висихання фіксатора, покриті на 20 хв. барвником Романовського. Після злиття барвника та промивання водою – були висушені. Дані проводилися світлова мікроскопія.

Результати та їх обговорення. При температурі $+4^\circ\text{C}$ у лейкоцитах, що витримувалися в присутності екстракту, зруйнувалася цитоплазма, залишилися лише ядра (рис. 1). У еритроцитах спостерігалася агрегація (рис. 1). Агрегація еритроцитів – утворення конгломератів (агрегатів) еритроцитів різної величини та щільності. Щільність агрегатів поступово зростає, та межі окремих еритроцитів стають невидимими в світловому мікроскопі (гомогенізація) [2, с. 32].

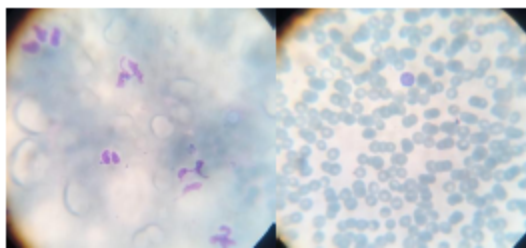


Рис. 1. Порівняння клітин, які виступували з екстрактом *M. aeruginosa* (ліворуч) та без екстракту (праворуч)

Виявлені тілі Гумпрехта (рис. 2) – залишки зруйнованих лейкоцитів [8, с. 523].

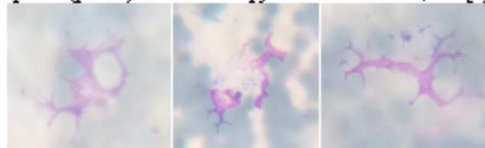


Рис. 2. Тілі Гумпрехта

При температурі +23 °С спостерігається дезагрегація еритроцитів. Агрегація еритроцитів процес оборотний [2, с. 32]. Лейкоцитів не залишилося.

Висновки. Таким чином, цитотоксичний ефект екстракту *Microcystis aeruginosa* на клітини крові людини проявляється у руйнуванні цитоплазми лейкоцитів (залишаються лише ядра), або у їх повному руйнуванні (тілі Гумпрехта), агрегації еритроцитів при низькій позитивній температурі (+4 °С). За позитивної температури (+23 °С) відбулося теж саме, але у прискореному темпі – спостерігалася вже дезагрегація еритроцитів (оборотний процес).

ДЖЕРЕЛА ТА ЛІТЕРАТУРА

1. Волошко Л.Н., Токсини цианобактерій (Cyanobacteria, Cyanophyta) / Л.Н. Волошко, А.В. Пшовц, Н.Н. Тетова // Альгологія. – 2008. – № 1. – С. 3-20.
2. Воронин В. В. Руководство патологической физиологии / В. В. Воронин. – Тбилиси, 1947. – 48 с.
3. Мокієнко А. В. Цианобактерії і цианотоксини: міф чи реальність? / А. В. Мокієнко // Вісник Національної академії наук України. – 2016. – № 4. – С. 65-75.
4. Chen L. Mechanisms of Microcystin-induced Cytotoxicity and Apoptosis / L. Chen, P. Xie // Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. – 2016. – Vol. 16, N. 13. – P. 1018 – 1031.
5. Chen Y. Microcystin-leucine arginine mediates apoptosis and engulfment of Leydig cell by testicular macrophages resulting in reduced serum testosterone levels / Y. Chen, J. Wang, X. Chen et al. // Aquatic Toxicology. – 2018. – Vol. 199. – P. 116-126.
6. Dar H. Y. Microcystin-leucine arginine (MC-LR) induces bone loss and impairs bone micro-architecture by modulating host immunity in mice: Implications for bone health / H. Y. Dar, Y. Lone, R. K. Koiri et al. // Environmental Pollution. – 2018. – Vol. 238. – P. 792-802.
7. Fujii M. Monosaccharide composition of the outer membrane lipopolysaccharide and O-chain from the freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* NIES-87 / M. Fujii, Y. Sato, H. Ito et al. // Journal of Applied Microbiology. – 2012. – Vol. 113, N. 4. – P. 896 – 903.
8. Gumprecht F. Leukozytenzerfall im Blute bei Leukämie und bei schweren Anämien / F. Gumprecht // Deutsches Archiv für klinische Medizin. – 1896. – vol. 57. – S. 523-548.
9. Huang X. Involvement of oxidative stress and cytoskeletal disruption in microcystin-induced apoptosis in CIK cells / X. Huang, L. Chen, W. Liu et al. // Aquatic Toxicology. – 2015. – Vol. 165. – P. 41 – 50.

10. Liu H. Oxidative Stress Mediates Microcystin-LR-Induced Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy in KK-1 Cells and C57BL/6 Mice Ovaries/ H. Liu, X. Zhang, S. Zhang et al.// *Frontiers in Physiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1 – 15.
11. Lone Y. An overview of the toxic effect of potential human carcinogen Microcystin-LR on testis/ Y. Lone, R. K. Koiri, M. Bhude// *Toxicology Reports*. – 2015. – Vol. 27, N. 2. – P. 289 – 296.
12. Lone Y. Microcystin-LR Induced Immunotoxicity in Mammals/ Y. Lone, M. Bhude, R. K. Koiri// *Journal of Toxicology*. – 2016. – Vol. 2016 – P. 1 – 5.
13. Máthé C. The Effects of Microcystins (Cyanobacterial Heptapeptides) on the Eukaryotic Cytoskeletal System/ C. Máthé, D. Beyer, M. M-Harvas et al.// *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. – 2016. – Vol. 16, N. 13. – P. 1063 – 1077.
14. Mayer A. M. Cyanobacterial Microcystis aeruginosa lipopolysaccharide elicits release of superoxide anion, thromboxane B₂, cytokines, chemokines, and matrix metalloproteinase-9 by rat microglia/ A. M. Mayer, J. A. Clifford, M. Aldulescu et al.// *Toxicological Sciences*. – 2011. – Vol. 121, N. 1. – P. 63 – 72.
15. Pflugmacher S. Biotransformation of Microcystins in Eukaryotic Cells - Possible Future Research Directions/ S. Pflugmacher// *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. – 2016. – Vol. 16, N. 13. – P. 1078 – 1083.
16. Wang C. The toxic effects of microcystin-LR on mouse lungs and alveolar type II epithelial cells/ C. Wang, S. Gu, X. Yin et al.// *Toxicol*. – 2016. – Vol. 115. – P. 81-88.
17. Xu Y. Microcystin-LR regulates circadian clock and antioxidant gene expression in cultured rat cardiomyocytes/ Y. Xu, X. Wang, S. Jiang et al.// *Cellular & Molecular Biology Letters*. – 2018. – P. 1 – 7.
18. Zhao Y. Microcystin-LR induced thyroid dysfunction and metabolic disorders in mice / Y. Zhao, Q. Xue, X. Su et al.// *Toxicology*. – 2015. – Vol. 328. – P. 135-141.

Науковий керівник: кандидат сільськогосподарських наук, доцент Лавоєнко О.Г.