Міністерство освіти і науки України
Запорізький національний університет

Заснований
у 1998 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого
засобу масової інформації
Серія КВ № 15436-4008 ПР
22 червня 2009 р.

Адреса редакції:
Україна, 69600,
м. Запоріжжя, МСП-41,
вул. Жуковського, 66

Телефон
для довідок:
(061) 228-75-99

Вісник
Запорізького національного університету

Біологічні науки

№ 1, 2019

Запоріжжя 2019

Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. Запоріжжя: Запорізький національний університет, 2019. № 1. 106 с.

Затверджено наказом МОН України від 13.07.2015 р. № 747 як наукове фахове видання в галузі «Біологічні науки», у якому можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук.

Рекомендовано до друку та поширення через мережу Internet рішенням Вченої ради Запорізького національного університету (протокол № 3 від 29.10.2019 р.).

Офіційний сайт видання: http://journalsofznu.zp.ua/index.php/biology

«Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки» включений до міжнародної наукометричної бази **Index Copernicus**.

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР:

Сарабєєв Володимир Леонідович – канд. біол. наук, доцент, Запорізький національний університет (Україна)

ЧЛЕНИ РЕДАКЦІЙНОЇ КОЛЕГІЇ:

Амінов Р. Ф. – канд. біол. наук, Запорізький національний університет (Україна)

Бальбуена Х. А. – д-р філософії, асоційований професор, Інститут біорізноманіття та еволюційної біології ім. Каванійєс Університету Валенсії (Іспанія)

Бойка О. А. – канд. біол. наук, Запорізький національний університет (Україна)

Бражко О. А. – д-р біол. наук, професор, Запорізький національний університет (Україна)

Дворщенко К. О. – д-р біол. наук, ст. наук. співробітник, Київський національний університет ім. Т. Шевченка (Україна)

Задорожня В. Ю. – канд. біол. наук, Запорізький національний університет (Україна)

Корнет М. М. – канд. біол. наук, доцент, Запорізький національний університет (Україна)

Кружиліна С. В. – канд. біол. наук, ст. наук. співробітник, Інститут рибного господарства НААН України (Україна)

Лебедєва Н. І. – канд. біол. наук, доцент, Запорізький національний університет (Україна)

Лях В. О. – д-р біол. наук, професор, Запорізький національний університет (Україна)

Межжерін С. В. – д-р біол. наук, професор, Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України (Україна)

Омельянчик Л. О. – д-р фарм. наук, професор, Запорізький національний університет (Україна)

Попеску К. Г. – д-р філософії, асоційований професор, Університет Питешті (Румунія)

Рубцова Н. Ю. – канд. біол. наук, Інститут паразитарних захворювань Центру паразитології (США)

Фролов О. К. – д-р мед. наук, професор, Запорізький національний університет (Україна)

Христенко Д. С. – канд. біол. наук, доцент, Національний університет біоресурсів та природокористування України (Україна)

Швець В. М. – д-р біол. наук, доцент, Запорізький державний медичний університет (Україна)

© Запорізький національний університет, 2019

ЗМІСТ

РОЗДІЛ І. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ТА ДОСЛІДНИЦЬКІ СТАТТІ

ВПЛИВ ЕНДОКСАНУ НА ІМУННУ СИСТЕМУ ЩУРІВ 5
Амінов Р. Ф., Фролов О. К., Амінова А. С., Гранкіна А. О., Свириденко А. П.

ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ В ЖІНОК
ПРИ РОЗВИТКУ СИНДРОМУ ГІПЕРСТИМУЛЯЦІЇ ЯЄЧНИКІВ 14
Бекасова О. Ф., Авраменко Н. В., Кабаченко О. В., Іванова К. Д., Копійка В. В.

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ ТА ГІПОГЛІКЕМІЧНА АКТИВНІСТЬ
7-ХЛОРО-4-ТІОЗАМІЩЕНИХ ХІНОЛІНУ 23
Богдан А. М., Бражко С. О., Лабенська І. Б., Бражко О. А.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ДІЇ ПРИРОДНИХ АКАРИЦИДІВ
НА ІМАГО ІКСОДОВИХ КЛІЩІВ (*IXODES RICINUS*)..... 31
Воронова Н. В., Горбань В. В., Богаткіна В. А.

ЗИМІВЛЯ ВОДНО-БОЛОТНИХ ПТАХІВ У РАЙОНІ ДНІПРОВСЬКОЇ
ГІДРОЕЛЕКТРОСТАНЦІЇ У 2015 – 2019 РОКАХ..... 40
Козодавов С. В.

ОЦІНКА БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ПОХІДНИХ 4-ГІДРАЗИНОХІНОЛІНУ 53
Романенко Я. І., Клімова О. О., Бражко О. А.

ВИЗНАЧЕННЯ РАЦІОНАЛЬНОГО ОБСЯГУ ВИБІРКИ В ПАРАЗИТОЛОГІЧНИХ
ДОСЛІДЖЕННЯХ БУТСТРЕП-МЕТОДОМ 62
Швидка С. П., Левчук С. А., Сарабєєва Є. В.

РОЗДІЛ ІІ. ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

ГЕЛЬМІНТИ КЕФАЛЕЙ (TELEOSTEI: MUGILIDAE)
СЕРЕДЗЕМНОМОРСЬКОГО РЕГІОНУ: ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД..... 70
Сарабєєв В. Л., Ткач Є. В.

РОЗДІЛ ІІІ. НАУКОВА ХРОНІКА

НАУКОВА ШКОЛА БІОЛОГІЧНОГО ФАКУЛЬТЕТУ ЗНУ –
«БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ»: ЗДОБУТКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ 89
Омельянчик Л. О.

Вимоги до оформлення статей
у «Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки» 101

CONTENTS

SECTION I. EXPERIMENTAL AND RESEARCH PAPERS

EFFECT OF ENDOXANE ON THE IMMUNE SYSTEM OF RATS 5
Aminov R. F., Frolov A. K., Aminova A. S., Grankina A. A., Sviridenko A. P.

PERIPHERAL BLOOD INDICES IN WOMEN WITH DEVELOPMENT OF OVARIAN HYPERSTIMULATION SYNDROME 14
Bekasova O. F., Avramenko N. V., Kabachenko O. V., Ivanova K. D., Kopiika V. V.

ACUTE TOXICITY AND HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF 7-CHLORO-4-THIOSUBSTITUTED QUINOLINE 23
Bogdan A. M., Brazhko S. O., Labenskaya I. B., Brazhko O. A.

THE EFFICACY OF NATURAL ACARICIDE APPLICATION AGAINST IXODIDAE (*IXODES RICINUS*) 31
Voronova N. V., Horban V. V., Bohatkina V. A.

WINTERING OF WATERBIRDS IN THE AREA OF DNIEPER HYDROELECTRIC POWER STATION IN 2015 – 2019 40
Kozodavov S. V.

ASSESSMENT OF THE BIOLOGICAL EFFECTS OF 4-HYDRAZINOQUINOLINE DERIVATIVES 53
Romanenko Ya. I., Klimova O. O., Brazhko O. A.

DETERMINATION OF RATIONAL SAMPLE SIZE IN PARASITOLOGICAL STUDIES BY BOOTSTRAP METHOD 62
Shvydka S. P., Levchuk S. A., Sarabeeva Ye. V.

SECTION II. REVIEW

HELMINTH PARASITES OF GREY MULLETS (TELEOSTEI: MUGILIDAE) IN THE MEDITERRANEAN REGION: A REVIEW 70
Sarabeev V. L., Tkach Ie. V.

SECTION III. SCIENTIFIC CHRONICLE

SCIENTIFIC SCHOOL OF BIOLOGICAL FACULTY OF ZNU «BIOORGANIC CHEMISTRY»: ACHIEVEMENTS AND FUTURE PROSPECTS 89
Omelyanchik L. O.

Requirements for the articles to the «Bulletin of Zaporizhzhia national university. Bioligical sciences» 101

РОЗДІЛ І. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ТА ДОСЛІДНИЦЬКІ СТАТТІ

УДК 612.017: 591.5 DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-01

Вплив ендоксану на імунну систему щурів

Амінов Р. Ф., Фролов О. К., Амінова А. С., Гранкіна А. О., Свириденко А. П.
ORCID iD 0000-0002-8471-1525
Запорізький національний університет, Україна
91_amin_91@ukr.net; a_frolov@ukr.net

Ключові слова:
цитостатики, ендоксан, імунодефіцит, імунітет, циклофосфамід

Циклофосфамід – цитостатичний препарат, який широко застосовується при лікуванні онкологічних, аутоімунних захворювань, використовується для профілактики відторгнення трансплантатів, також його використання викликає загальний імунодефіцитний стан. Зараз випускається аналог циклофосфаміду – ендоксан, застосування якого для викликання імунодефіциту в літературі мало описане. Тому метою нашої роботи став підбір доз ендоксану, активною речовиною якого є циклофосфамід, для отримання оптимальної імуносупресії. Експерементальні досліди з тваринами проведені з дотриманням Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою». Усі досліди проводили на білих нелінійних щурах масою 390-430 г на момент відбору. Для моделювання імуносупресії в дослідних групах використовували протипухлинний засіб «Ендоксан», порошок для приготування розчину для ін'єкцій (200 мг), виготовлений фірмою «Baxter Oncology GmbH» (Німеччина), його вводили внутрішньочеревно самцям щурів. Для цього було сформовано 4 групи тварин: 1) контроль; 2) доза 50 мг / кг (у 2 рази); 3) доза 100 мг / кг; 4) доза 150 мг / кг. Тварин обстежували на 22 добу. Згідно з отриманими експериментальними даними доза ендоксану 100 мг/кг може розглядатися як мінімально достатня доза цього препарату, яка дозволяє досягти стану імуносупресії у нелінійних щурів за такими критеріями, як статистично вірогідне зниження ваги тимусу та селезінки, зміна морфології тимусу, лейкопенія і лімфопенія, а також зниження фагоцитарної активності циркулюючих нейтрофілів. При дозі 150 мг/кг у тимусі відбувалося майже повне апоптотичне спустошення основної паренхіми органа із заміною її на жирову та сполучну тканину. Доза препарату – 50мг/кг ендоксану індукує нестійку імуносупресію.

Effect of endoxane on the immune system of rats

Aminov R. F., Frolov A. K., Aminova A. S., Grankina A. A., Sviridenko A. P.
Zaporizhzhia National University, Ukraine

Key words:
cytostatics, endoxan, immunodeficiency, immunity, cyclophosphamide

Cyclophosphamide (Endoxane) is a cytostatic drug that is widely used in the treatment of cancer, from autoimmune diseases. It is used to prevent transplant rejection by inducing a common immunodeficiency state. An important unsettled issue is absence of optimal doses of this drug to obtain an immunosuppressive model. Therefore, the purpose of our work was to found the respective concentration of endoxane to obtain optimal immunosuppression. Experiments with animals have been conducted according to the Law of Ukraine «On the Protection of Animals from Cruelty» and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. All experiments with animals were performed on white non-linear rats weighing 390-430 grams. For the simulation of immunosuppression in the experimental groups antitumor agent Endoxanwas used (powder for preparation of solution for injection 200 mg, manufactured by "Baxter Oncology GmbH" (Germany)).

Endoxan was administered intraperitoneally to male rats. For this purpose 4 groups of animals were treated: 1) injected with saline; 2) a dose of 50 mg/kg (2 times); 3) a dose of 100 mg/kg; 4) a dose of 150 mg/kg. Animals were examined at 22 days postinjection. According to our experimental data, the single injection of 100 mg/kg of Endoxane can be considered as the minimum sufficient dose of this drug to achieve immunosuppression in non-linear rats by such criteria as statistically significant reduction in thymus and spleen weight, change in thymus morphology, leukopenia also reduction of phagocytic activity of circulating neutrophils the dose of 150 mg/kg for treated rats leads to almost complete apoptotic destruction of the main parenchyma of the thymus with its replacement by adipose and connective tissue. A dose of 50mg/kg of Endoxane induces unstable immunosuppression and therefore does not meet our research objectives.

Вступ

Наслідком погіршення екологічного стану навколишнього середовища є збільшення кількості імуносупресивних станів різної етіології, що своєю чергою стимулює пошук нових препаратів, які б могли коригувати ці патології. Перевірка нових препаратів на імуномодулюючу дію потребує розроблення оптимальних моделей імуносупресії, які б могли дати детальну відповідь на імунокорекцію. Тому перед дослідниками постає основне завдання – створити в доклінічних випробуваннях умови імуносупресивного стану, який би міг піддаватися імунокорекції. Зараз найчастіше використовують хімічну модель імунодефіциту, викликану за допомогою цитостатиків, наприклад, циклофосфаміду[1-7]. Модель імунодефіциту, отриманого циклофосфамідом, є найбільш точною для вивчення особливостей реактивності органів імунної системи[1-13]. Циклофосфамід – цитостатичний препарат, який широко застосовується при лікуванні онкологічних, аутоімунних захворювань[2-4], використовується для профілактики відторгнення трансплантатів. Його використання також викликає загальний імуносупресивний стан[1-7]. Багато дослідників доводять, що цитостатики можуть викликати імуносупресію, яка може піддаватися імунокорекції. Зараз учені розділилися на дві різні групи, перші говорять, що малі концентрації можуть увести тварину в імуносупресивний стан[7-13], інші, – що при одноразовому введені максимальних концентрацій найефективніше можна отримати імунодефіцит[1-6]. Але зараз випускається аналог циклофосфаміду – ендоксан, дія якого мало вивчена. Окрім того, фірмові особливості виробників цього препарату обов’язково потребують вивчення.

Метою роботи є підбір дози ендоксану, активною речовиною якого є циклофосфамід, для отримання оптимальної імуносупресії.

Матеріали та методи

Дослідження виконані в межах кафедральної теми «Біотехнологія перспективних кільчеців з вивченням імунотропної дії їх біологічно активних речовин» (№ держреєстрації 0117U000704) кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини ЗНУ. Експерементальні досліди з тваринами проведені з дотриманням Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 р.), Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою». Усі досліди проводили на 80 білих нелінійних статевозрілих самцях щурів масою на момент відбору 390-430 г, віком 12-13 місяців.

Для моделювання імуносупресії в екпериментальних групах тварин використовували «Ендоксан», – порошок для приготування розчину для ін'єкцій (по 200 мг, виробництво «Baxter Oncology GmbH» (Німеччина)), який готували на фізіологічному розчині. Його вводили внутрішньочеревно статевозрілим самцям щурів після формування 4 дослідних груп по 20 тварин у кожній: 1) контроль; 2) ендоксан у дозі 50 мг/кг (1 раз на добу: 2 рази); 3) ендоксан у дозі 100 мг/кг (одноразово на добу); 4) ендоксан у дозі 150 мг/кг (одноразово на добу).

У тварин протягом 22 діб оцінювали наявність смертності; зовнішній вигляд

шкіри та шерсті. Дослідження шерстяного покриву та шкіри проводили за допомогою огляду. У здорових тварин при повноцінній годівлі й добрих умовах утримання шерстний покрив густий, гладенький, щільно прилягає до шкіри. При дослідженні тварин проводилася оцінка показників зовнішнього вигляду шкіри: порушення цілісності, шкірні висипи[14]. На 22 добу тварин після дислокації шийних хребців декапітували. Брали кров із додаванням антикоагулянту – 2 % гепарину (9/1). Після цього досліджували гематологічні показники за загальноприйнятими методами в камері Горяєва та імунологічні показники: постановку фагоцитарної активності нейтрофілів за модифікованим нами методом[15]. На білковані предметні скельця наносили цільну кров, стабілізовану гепарином в обсязі 200 мкл, додавали до неї приготовану 1 % суспензію дріжджів у співвідношенні 1:1. Після цього суміш інкубували у вологій камері в термостаті при температурі 37°С, впродовж 90 хв в умовах струшування, після інкубації предметні скельця обережно занурювали у 2 порції фосфатно-сольового розчину при pH 7,4, висушували їх на повітрі при кімнатній температурі, фіксували протягом 10 хв у метанолі, фарбували предметні скельця 15 % розчином фарби Романовського-Гімзи протягом 40 хв. Підраховували 200 нейтрофілів за допомогою мікроскопа з використанням імерсійного об'єктива (об'єктив 100×, окуляр К7×. Підраховували кількість фагоцитів із дріжджами та без них, також ураховували кількість поглинутих дріжджів на 1 нейтрофіл. Вивчали такі показники фагоцитарної активності нейтрофілів: фагоцитарний індекс (ФІ) – відсоток нейтрофілів, які беруть участь у фагоцитозі, від їх загальної кількості; фагоцитарне число (ФЧ) – середня кількість мікроорганізмів, поглинутих одним нейтрофілом. Видалені лімфоїдні органи після зважування фіксували в 10% розчині формаліну у посуді із затемненим склом, зберігали при кімнатній температурі 3 доби до початку гістологічних дослідів. Далі тимус за стандартною гістологічною методикою заливали в парафінові блоки, із яких виготовляли мікротомні серійні зрізи товщиною 6 мкм. Серійні зрізи робили з використанням мікротома Thermo Scientific HM 325 та фарбували гематоксилін-еозином за стандартною методикою[16,17]. Морфометричні та цитологічні дослідження проводили безпосередньо на гістологічних препаратах із використанням мікроскопа Carl Zeiss Primo Star. За допомогою мікроскопа PrimoStar iLED та фотокамери Axio CamERc5s («ZEISS», Німеччина), готували мікрофотографії, які були проаналізовані програмою для мікроскопії ZEISS ZEN 2011.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми SPSS v.21,0. (IBM SPSS Statistics, USA). Вибіркові параметри, наведені далі в таблиці, мають такі позначення: X – вибіркове середнє, SE – стандартна помилка середнього. Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за критерієм Ст'юдента після перевірки на нормальний розподіл. Різниці вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати

Уже на перший день експерименту дослідні тварини 3-ї та 4-ї груп після уведення препарату ендоксан виглядали сонливими та в'ялими порівняно з контрольною групою тварин. Починаючи з 2 доби, у 3-ї та 4-ї групи тварин – шерсть дибки, особливо у 4-ї групи тварин порівняно з контролем. На 3 добу у всіх дослідних групах тварини сонливі та в'ялі порівняно з контролем. У 4-ї групи на 4 добу з'являється агресивність, яка проявляється нападами на дослідника при годуванні. На 6 добу в 4-ї та на 7 добу в 3-ї групи починає випадати шерсть, а на місці випадіння залишаються свіжі та засохлі рани (рис. 1). Тварини 4-ї групи залишаються агресивними до 17 доби.

При аналізі ваги тіла виявили, що у всіх дослідних групах вона знижувалася порівняно з контролем у середньому на 14 % таблиця 1. На 22 добу дослідження зареєстроване зниження ваги селезінки у 3-ї та 4-ї груп порівняно з контрольною $p < 0,05$. При зовнішньому огляді селезінки тварин, що отримали препарат у дозі 150 мг/кг, спостерігалася її деформація у вигляді скручування одного краю (рис. 2).

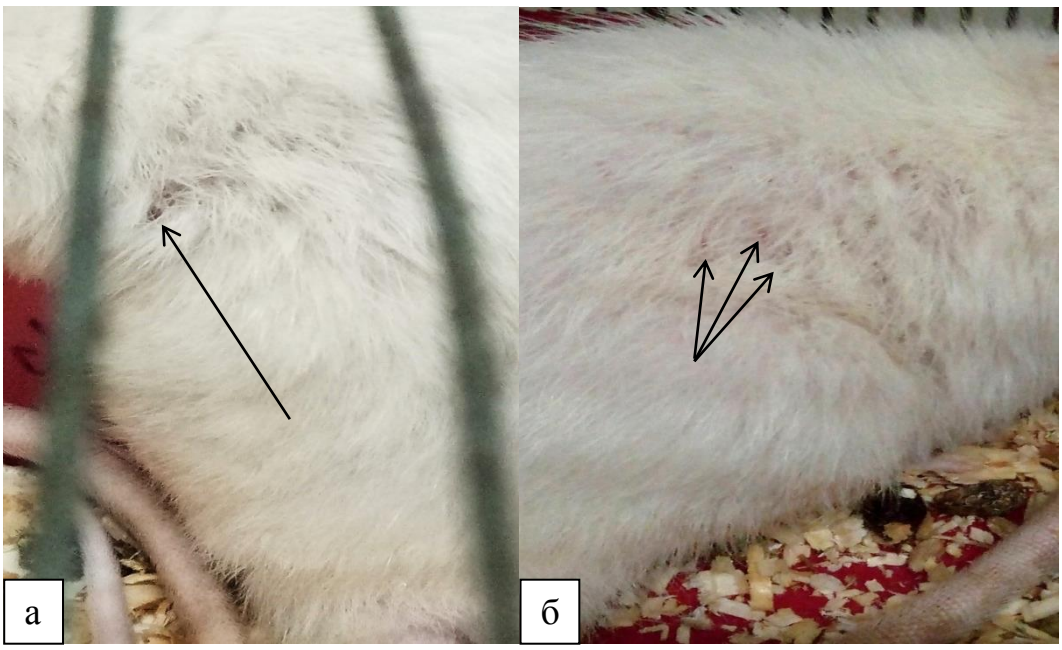


Рис. 1. Рани після випадіння шерсті на 7 добу: а – ендоксан (доза препарату 100 мг/кг); б – ендоксан (доза препарату 150 мг/кг), стрілками позначені ранки після випадіння шерсті

Таблиця 1 – Зміни ваги тіла та лімфоїдних органів на 22 добу

Вага	Група тварин			
	I Контроль	Дослід		
		II Ендоксан (50 мг/кг)	III Ендоксан (100 мг/кг)	IV Ендоксан (150 мг/кг)
Тіла (г)	420,5±17,3	381,5±15,4*	377,5±19,1*	342,5±21,2*
Селезінки (мг)	1199,0±25,5	1171,4±23,1	1050,3±15,1*	1001,3±22,6*
Тимусу (мг)	270,2±13,1	160,1±20,3*	153,4±19,1*	130,3±24,1*

Примітка: * – показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p \leq 0,05$).

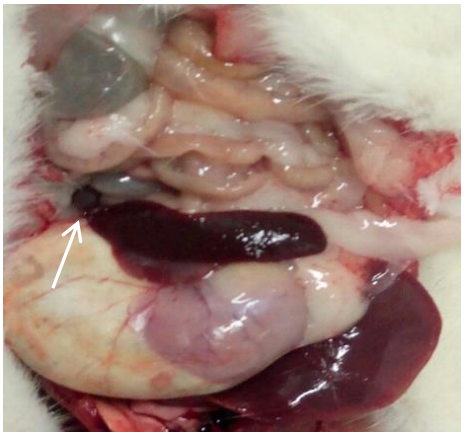


Рис. 2. Зовнішній вигляд селезінки: білою стрілкою позначена деформація

При гістологічному аналізі лімфоїдного органа (тимусу) при дозі препарату ендоксану 50 мг/кг (1 раз на добу: 2 рази) він майже не відрізняється від контрольної групи (рис. 3 (1, 2, 3, 4)). При дозі препарату 100 мг/кг нормальні тканини тимусу заміщені жировою та сполучною (рис. 3 (5, 6)). Уведення дози препарату 150 мг/кг ендоксану сприяє повному заміщенню нормальної тканини на жирову та сполучну (рис. 3 (7, 8)).

При аналізі загальної кількості лейкоцитів та еритроцитів, показники статистично знижені, особливо при дозі ендоксану 150 мг/кг $p < 0,05$ (табл. 2).

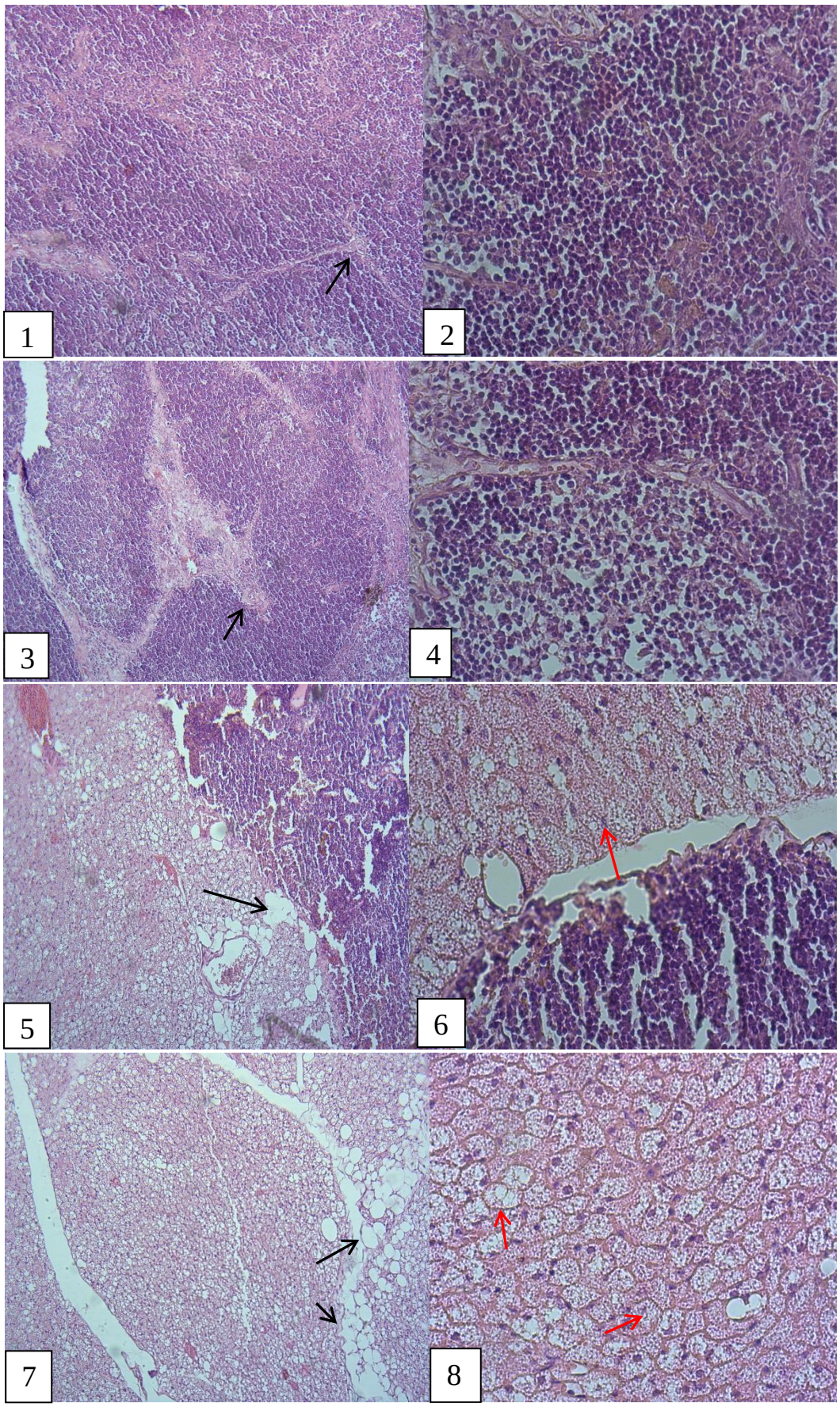


Рис. 3. Гістологічний препарат тимусу: 1, 2 – контрольна група; 3, 4 – доза препарату 50 мг/кг; 5, 6 – доза препарату 100 мг/кг; 7, 8 – доза препарату 150 мг/кг. (1, 3, 5, 7 збільшення – ×200; 2, 4, 6, 8 – ×600), червоними стрілками позначено сполучну тканину, а чорними – жирову тканину, яка замінила лімфоїдну тканину.

Таблиця 2 – Загальна кількість еритроцитів та лейкоцитів/л на 22 добу

Загальна кількість/л	Група тварин			
	I Контроль	Дослід		
		II Ендоксан (50 мг/кг)	III Ендоксан (100 мг/кг)	IV Ендоксан (150 мг/кг)
Лейкоцити	15,6±0,4	11,5±0,6*	9,1±0,3*	8,3±0,7*
Еритроцити	9,0±0,2	8,5±0,3*	7,2±0,5*	5,4±0,4*

Примітка: * – показники, що достовірно відрізняються від контролю (p≤ 0,05).

При аналізі відносної кількості в лейкоцитарній формулі крові порівняно з контролем у всіх дослідних групах тварин виявлене різке зниження лімфоцитів, у середньому на 17 %, при відповідному підвищенні сегментоядерних нейтрофілів (54,7 %) та їхных незрілих паличкоядерних форм (77,8 %) p ≤ 0,05 (табл. 3). Абслютна кількість нейтрофілів збільшується зі зниженням абсолютної кількості лімфоцитів та еозинофілів порівняно з контролем p ≤ 0,05 (табл. 3).

Таблиця 3 – Лейкоцитарна формула крові та загальна кількість лейкоцитів

Групи тварин		Лейкоцитарна формула крові, % / абсолютна кількість				
		Нейтрофіли		Лімфоцити	Моноцити	Еозінофіли
		Сегменто-ядерні	Паличко-ядерні			
I Контроль		7,33±0,09 / 1,14±0,04	2,66±0,04 / 0,41±0,02	89,09±2,05 / 13,89±0,10	0,57±0,09 / 0,09±0,01	0,35±0,05 / 0,05±0,001
Дослід	II Ендоксан (50 мг/кг)	16,69±0,12* / 1,91±0,05*	8,50±0,06* / 0,97±0,03*	73,79±3,11* / 8,48±0,09*	0,77±0,12 / 0,09±0,008	0,25±0,06 / 0,03±0,003*
	III Ендоксан (100 мг/кг)	15,61±0,11* / 1,42±0,03*	14,12±0,10* / 1,28±0,02*	69,17±2,9* / 6,29±0,03*	0,84±0,22 / 0,08±0,009	0,26±0,04 / 0,02±0,001*
	IV Ендоксан (150 мг/кг)	16,40±0,13* / 1,36±0,04*	15,40±0,11* / 1,27±0,02*	67,15±2,5* / 5,57±0,02*	0,80±0,23 / 0,07±0,006	0,25±0,07 / 0,03±0,002*

Примітка: * – показники, що достовірно відрізняються від контролю (p≤ 0,05).

При аналізі фагоцитарної активності нейтрофілів (рис. 4) із збільшенням дози цитостатика виявлене різке зниження фагоцитарного індексу порівняно з контрольною групою: при дозі ендоксану 50 мг/кг (1 раз на добу: 2 рази) на 66,0 %, при дозі ендоксану 100 мг/кг на 74,1 %, при дозі ендоксану 150 мг/кг 87,2 % p ≤ 0,05 таблиця 4.

Починаючи з дози ендоксану 100 мг/кг, фагоцитарне число нейтрофілів знижується порівняно з контрольною групою в середньому на 19,9 %, а при дозі ендоксану 150 мг/кг – на 44,5 % (табл. 4).

Обговорення

Отримані результати збігаються з даними інших дослідників щодо використання циклофосфаміду та лікарських засобів на його основі, які насамперед інгібують лімфоїдну тканину[12,13]. Цитотоксична дія ендоксану базується на взаємодії між алкілуючими метаболітами і ДНК. Це алкілування призводить до розриву та перехресного з’єднання поперечних зв’язків ниток ДНК та ДНК-білків. Унаслідок цього в клітинному циклі сповільнюється перебіг фази G2 та блокується подальше проходження мітотичного циклу, у результаті клітини апоптозуються[18,19]. У разі тимусу (який є центральним лімфоїдним органом), ці обставини викликають його апоптотичне спустошення, які також можуть бути і в Т-зонах периферичних лімфоїдних органів[13].

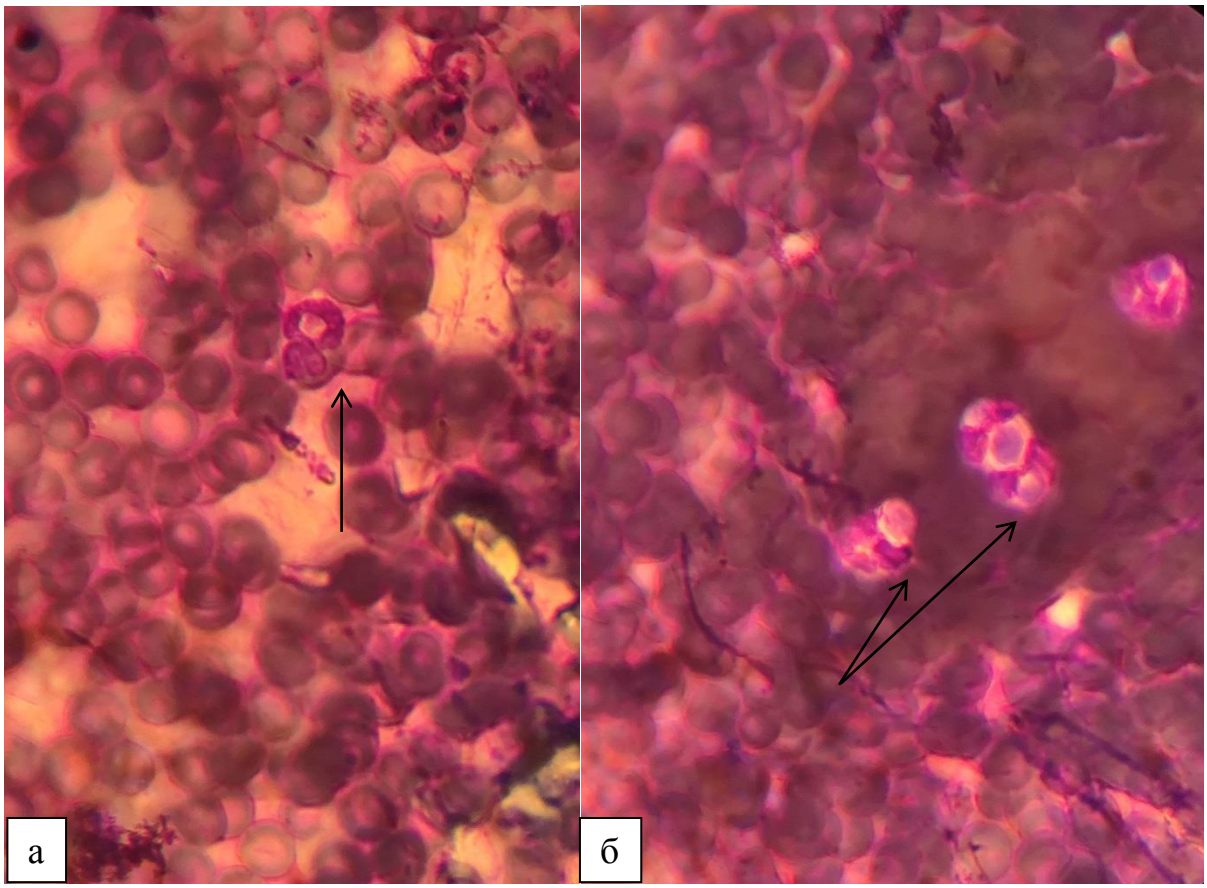


Рис. 4. Нейтрофіли на 22 добу: а – не фагоцитуючий; б – фагоцитуючий; чорними стрілками позначено сам нейтрофіл

Таблиця 4 – Зміна фагоцитарної активності нейтрофілів на 22 добу

Група тварин	Фагоцитарний індекс	Фагоцитарне число
Контроль	55,4±3,4	3,26±0,10
50 мг/кг	18,81±2,7*	3,21±0,09
100 мг/кг	14,35±1,8*	2,61±0,20*
150 мг/кг	7,08±1,1*	1,81±0,12*

Примітка: * - показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p \leq 0,05$).

У результаті в периферичній крові ми спостерігали зменшення кількості лейкоцитів, в основному за рахунок зниження лімфоцитів при адекватному збільшенні основних гранулоцитів – нейтрофілів. Проте слід зазначити, що й мієлоїдна тканина піддається негативному впливу цього цитостатика, про що свідчить різке значне зниження кількості еритроцитів та еозинофілів, а також значне зрушення диференціювання нейтрофільних гранулоцитів із появою незрілих паличкоядерних форм, при загальному збільшенні їх рециркуляції у внутрішньому середовищі. Нейтрофільний зсув вліво відбувався за рахунок їх підвищеної цитотоксичної загибелі, а також у результаті їх підвищених витрат на виконання функціональних властивостей при локальних та системних запальних реакціях[20]. Останнім часом установлена філогенетична інтегральна єдність вродженого та адаптивного імунітету, яка ґрунтується на наявності патернів на біополімерах та патернрозпізнавальних рецепторів[21], кількісні зміни лейкоцитів супроводжуються порушенням і їхньої функції, що і було встановлено в наших експериментах. Так, фагоцитарний індекс і фагоцитарне число основних

фагоцитуючих клітин вродженого імунітету – нейтрофілів, у дослідних групах тварин різко знижувалися. Отже, негативна динаміка імунологічних показників після введення різних доз ендоксану свідчила про адекватність вибраного нами фармакологічного препарату за механізмом його дії, як цитостатику, для отримання імуносупресії. Також згідно з дослідженями інших дослідників[1,3,22] дія циклофосфаміду продовжується на протязі місяця, після чого його ефект поступово знижується, а сам препарат поступово виводиться із організму. У наших наступних дослідах постає завдання: корекція імуносупресивного стану нашими природними препаратами до 22 доби, тому і було обрано саме 22 добу.

Висновки

Згідно з отриманими експериментальними даними доза ендоксану 100 мг/кг може розглядатися як мінімально достатня доза цього препарату, яка дозволяє досягти стану імуносупресії у нелінійних щурів за такими критеріями, як статистично вірогідне зниження ваги тимусу та селезінки, зміна морфології тимусу, лейкопенія і лімфопенія, а також зниження фагоцитарної активності циркулюючих нейтрофілів. При дозі 150 мг/кг у тимусі відбувалося заміщення основної паренхіми органа на жирову та сполучну тканини, що може бути наслідком апоптичної загибелі тимоцитів. Доза ендоксану 50мг/кг індукує нестійку імуносупресію.

Література

(1) Кащенко, С. А. Экспериментальное Изучение Крыс После Воздействия Циклофосфаном. *Проблеми остеології* **2001**, *4* (1-2), 69–70.

(2) Мнек, Т. А.; Воейкова, И. М.; Юдина, О. Ю.; Мосиенко, В. С.; Шинкаренко, Л. Н.; Савцова, З. Д. Влияние Иммуномодулятора из Lactobacillus delbrueckii на Терапевтическую Эффективность Циклофосфамида у Мышей с Карциномой Льюис. *Экспериментальная онкология* **2000**, *22*, 211–214.

(3) Кащенко, С. А.; Бобрышева, И. В. Особенности Гистологического Строения Белой Пульпы Селезенки Крыс в Разные Периоды Постнатального Онтогенеза в Условиях Экспериментальной Иммуносупрессии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета* **2014**, *1*, 51–54.

(4) Князева, О. А.; Уразаева, С. И.; Конкина, И. Г.; Саптарова, Л. М.; Газдалиева, Л. М.; Муринов, Ю. И. Антииммуносупрессивное Действие Глюконатов 3d-Металлов при Экспериментальном Иммунодефиците. *Казанский медицинский журнал* **2018**, *99* (2), 255–259. https://doi.org/10.17816/KMJ2018-255.

(5) Бобрышева, И. В. Морфологические Особенности Белой Пульпы Селезенки Крыс в Условиях Экспериментальной Иммуносупрессии. *Молодий вчений*. **2015,** *2*(17), 581-585.

(6) Бобрышева, И. В. Изменения Ультраструктуры Тимуса Белых Крыс После Введения Циклофосфамида. *Вестник ВГМУ*. **2013**, *12*(4), 63-69.

(7) Мерзляк, Е. М. Исследование Долгосрочного Эффекта Высоких Доз Циклофосфамида на Репертуар Т-клеточных Рецепторов Т-лимфоцитов Периферической Крови у Пациентов с Аутоиммунными Васкулитами. *Вестник РГМУ*. **2017**, *5*, 74-80.

(8) Akhter, J., Yao, P., Johnson, L. A., Riordan, S. M., Morris, D. L. A New Peritoneal Carcinomatosis Model in Cyclosporine Immunosuppressed Rats. *Anticancer Res.* **2008**, *28* (1A), 105–109.

(9) Ukpo, G. Evaluation of the Haematological and Biochemical Effects of Averon®, a Herbal Formulation, against Cyclophosphamide-Induced Immunomodulated Male Rats. Int. J. Pharm. Sci. Res. **2013**, *4*(9), 3556–3562.

(10) Lee, H. Y.; Park, Y. M.; Kim, J.; Oh, H. G.; Kim, K. S.; Kang, H. J.; Kim, R. R.; Kim, M. J.; Kim, S. H.; Yang, H. J.; et al. Orostachys Japonicus A. Berger Extracts Induce Immunity-Enhancing Effects on Cyclophosphamide-Treated Immunosuppressed Rats. *Biomed Res. Int.* **2019**, *2019* (1), 1–9. https://doi.org/10.1155/2019/9461960.

(11) Mohamed, W. A. Can Lactoferrin Modulate the Immunostimulant Activity of Levamisole in Rats Immunosuppressed by Cyclophosphamide? *J. Clin. Exp. Investig.* **2014**, *5* (1), 48-53. https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2014.01.0358.
(12) Шухтин, В. В.; Гоженко, А. И.; Левицкий, А. П.; Шухтина, И. Н; Влияние Квертулина на Биохимические Показатели Сыворотки Крови Крыс с Иммунодефицитом. *Дерматологія та венерологія*. **2013**, *3*(61), 38-44.
(13) Пiняжко, О. Р. Експериментальне Відтворення Імунодефіциту у Щурів. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. **2008,** *8*(4), 123-127.
(14) Цвіліховський, М. І.; Береза, В. І.; Січкар, В. С.; Голопура, С. І.; Грушанська, Н. Г.; Скиба, О. О.; Лазаренко, П. В.; Руденко, А. А.; Якимчук, О. М. *Внутрішні Незаразні Хвороби Тварин*; Аграрна освіта: Київ, 2014.
(15) Амінов, Р. Ф.; Фролов, О. К.; Федотов, Є. Р. Спосіб визначення фагоцитарної активності нейтрофілів. 116579, 2018.
(16) Золотарев, А. Г.; Пименов, Е. В.; Девришов, Д. А. Световая Микроскопия Микроорганизмов; Агровет: Москва, 2013.
(17) Коржевский, Д. Э.; Гиляров, А. В. Основы гистологической техники. СпецЛит: СПб, 2010.
(18) Суфияров, И. Ф.; Шафиков, Р. М.; Юлдашев, М. Т. Экспериментально-морфологическое Обоснование Применения Циклофосфамида для Профилактики Послеоперационных Перитонеальных Спаек. *Пермский медицинский журнал*, **2008**, *15*(3), 128-132.
(19) Смирнов, О. Н.; Инчина, В. А.; Зорькина А. В. Экспериментальное Обоснование Миелопротекторного Действия Мексидола. *Российский онкологический журнал*, **2000**, *5*, 25–27.
(20) Нестерова, И. В.; Колесникова, Н. В.; Чудилова, Г. А.; Ломтатидзе, Л. В.; Ковалева, С. В.; Евглевский, А. А. Нейтрофильные Гранулоциты: Новый Взгляд на «Старих Игроков». *Иммунология*, **2015,** *4*, 257-265
(21) Хаитов, Р. М.; Пащенков, М. В.; Пинегин, Б. В. Роль Паттернраспознающих Рецепторов во Врождённом и Адаптивном Иммунитете. *Иммунология*, **2009**, *1*, 66-76.
(22) Кащенко, С. А.; Ерохина, В. В. Ультрамикроскопические Изменения Паращитовидных Желез Крыс После Коррекции Циклофосфан-индуцированной Иммуносупрессии Имунофаном. *Український морфологічний альманах*, **2014**, *12*(1), 61-64.

УДК 612.1:612.621-055.2 DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-02

Показники периферичної крові в жінок при розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників

[1]Бекасова О. Ф., [2]Авраменко Н. В., [2]Кабаченко О. В., [1]Іванова К. Д., [1]Копійка В. В.

ORCID 0000-0003-1242-2385

[1]Запорізький національний університет, Україна, Україна

[2]Запорізький державний медичний університет, Україна

vkopijka@ukr.net

Ключові слова:
допоміжні репродуктивні технології, синдром системної запальної відповіді, кров, гематологічні показники крові, біохімічні показники крові, коагулометричні показники крові

Синдром гіперстимуляції яєчників (СГЯ) трапляється в практиці як ускладнення екстракорпорального запліднення. При СГЯ значно підвищується ризик негативного результату ембріотрансферу, що визначає актуальність пошуку ранніх маркерів розвитку СГЯ. Метою дослідження було виявлення предикторів розвитку помірного ступеня СГЯ. Аналізували дані жінок молодого та середнього віку (20-45 років) до та після гормональної терапії у 2-х дослідних групах: 1) без ознак розвитку СГЯ; 2) із початковими клінічними ознаками легкого ступеня СГЯ. У дослідних групах визначали гематологічні (загальна кількість лейкоцитів, еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитарна формула крові, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) та рівень гемоглобіну), біохімічні (загальний білок, глюкоза, креатинін, аланін- та аспартатамінотрансфераза (АлАТ та АсАТ, відповідно), K^+, Na^+) і коагулометричні (тромбіновий час, протромбіновий час, фібриноген, активований частковий тромбопластиновий час) показники периферичної крові. Статистичний аналіз полягав у порівнянні показників двох дослідних груп із використанням U-крітерію Манна-Уітні. Згідно з проведеним статистичним аналізом, значущих відмінностей досягли показники ШОЕ, АлАТ, АсАТ та загального білка в групі з СГЯ після вилучення зрілих фолікулів при порівнянні з показниками до пункції і групою без ознак СГЯ після пункції фолікулів. При співвідношенні отриманих результатів із літературними джерелами було виявлено, що ці показники виходили за межі норми в жінок із тяжким ступенем СГЯ, тоді як за нашими результатами лише показник ШОЕ значно підвищувався в групі з СГЯ, але решта показників перебували у фізіологічних межах норми, що свідчить про наявність у жінок цієї групи помірного ступеня СГЯ. Показники ШОЕ, рівня амінотрансфераз та загального білка потенційно можуть бути використані при прогнозуванні помірного СГЯ в комплексі з іншими параметрами.

Peripheral blood indices in women with development of ovarian hyperstimulation syndrome

[1]Bekasova O. F., [2]Avramenko N. V., [2]Kabachenko O. V., [1]Ivanova K. D., [1]Kopiika V. V.

[1]Zaporizhzhia National University, Ukraine

[2]Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:
assisted reproductive technology, systemic inflammatory response syndrome, blood, hematological parameters of the blood, blood biochemical parameters, blood clotting tests

Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) occurs in practice as a complication in vitro fertilization. The risk of a negative result for embryo transfers significantly increased at OHSS. The search for early markers of OHSS development is relevant. The aim of this study is to identify predictors of moderate OHSS. We analyzed data of young and middle-aged women (20-45 years) before and after hormonal therapy, divided into two groups: 1) without signs the development of OHSS; 2) with initial clinical signs of mild OHSS. We determined hematological parameters (white cell count, red blood cell count, thrombocytes count, white blood cell differential, the erythrocyte sedimentation rate (ESR) and the level of hemoglobin), biochemical parameters (blood test of total protein, the glucose, the creatinine, the alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase (ALAT and ASAT, respectively), K , Na) and coagulometry (the thrombin time, the prothrombin

time, fibrinogen, the partial thromboplastin time) of peripheral blood. Statistical analysis consisted of comparing the performance of two research groups using the Mann-Whitney U-test. Significant differences achieved between parameters ESR, ALAT, ASAT and a total protein test in the group with OHSS after removal of mature follicles compared with indicators before puncture and the group without signs of OHSS after follicle puncture. According to literature data these characteristics are out of the range in women with severe OHSS, while follow to our results, only the ESR parameter significantly increased in the group with OHSS. But other serum characteristics were in the normal range, indicating the presence in women of moderate OHSS. ESR, aminotransferase and total protein can potentially use in predicting moderate OHSS in combination with other characteristics.

Вступ

Сучасні допоміжні репродуктивні технології (ДРТ) дозволили змінити можливості в подоланні безпліддя.[1] Одним із методів ДРТ є екстракорпоральне запліднення (ЕКЗ).[2] Небезпечним ускладненням ЕКЗ є синдром гіперситимуляції яєчників (СГЯ).[3,4] Це ускладнення, в основі якого лежить бурхлива реакція яєчників на контрольовану гормональну стимуляцію.[5] СГЯ характеризується широким спектром клінічних та лабораторних проявів.[6,7] Перший випадок СГЯ задокументовано в 1943 р.[8]

Сьогодні гіперстимуляцію яєчників уявляють як системну запальну реакцію,[9] на фоні якої виникає пошкодження судинного ендотелію, підвищення концентрації прозапальнних цитокінів,[10,11] естрадіолу[12,13] та активація ренінангіотензинової системи.[11] Ці біологічно активні речовини сприяють підвищенню проникності ендотелію судин унаслідок місцевого утворення гістаміну, оксиду нітрогену, простогландинів.[14,15]

Основними проявами при СГЯ є збільшення яєчників, порушення функціонування нирок, печінки та інших органів,[16] висока проникність судин призводить до відтоку рідини з внутрішньосудинного простору,[17] із подальшим формуванням ознак асциту, гемоконцентрації та тромбоемболічних ускладнень.[18]

Помірний СГЯ розвивається в 33,0% циклів ЕКЗ.[17,19] Загроза здоров'ю жінки при цьому відсутня, але необхідний ретельний контроль, щоб помірний ступінь синдрому не перейшов у середній і важкий.[20]

На жаль, дотепер не виявлено прогностичних лабораторних параметрів, які дозволять діагностувати на ранніх етапах цей синдром. Звідси, мета роботи – в умовах використання допоміжних репродуктивних технологій вивчити прогностичну цінність стандартного набору загальноклінічних та біохімічних показників периферичної крові після контрольованої гормональної стимуляції щодо розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників.

Матеріали та методи

Дослідження проведено згідно з укладеним Договором про творчу співпрацю між комунальною установою «Обласний медичний центр репродукції людини» Запорізької міської ради та кафедрою фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету. Обстежено 57 пацієнток віком від 22 до 44 років, які перебували на обстеженні та лікуванні в комунальній установі «Обласний медичний центр репродукції людини» Запорізької міської ради. Усі жінки обстежувалися на сифіліс, вірус гепатиту і ВІЛ, як передбачено Наказом МОЗ України № 417 від 15.07.2011 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні».[21] Дослідження не суперечить загальноприйнятим біоетичним нормам і проведене з урахуванням відповідних принципів Гельсінської декларації прав людини[22] та Конвенції Ради Європи про права людини.[23]

Обстежені жінки були розподілені на дві групи. Перша: контрольна група (КГ) без ознак СГЯ (n=20); друга: дослідна група з початковими клінічними ознаками легкого ступеня синдрому гіперстимуляції яєчників та формуванням понад 10 фолікулів за даними УЗД (n=37). Лабораторні показники

досліджували у два етапи: перший етап: «до пункції» – протягом 2-х днів від початку гормональної стимуляції; другий етап: «після пункції» – протягом 2-х днів після пункції дозрілих фолікулів. Для отримання фолікулів застосовувався короткий протокол проведення гормональної терапії.

У зразках венозної крові визначали вміст лейкоцитів, тромбоцитів, еритроцитів, лейкоцитарну формулу крові, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) та рівень гемоглобіну з використанням автоматичного гематологічного аналізатора ABXMicros 60 (HobiraABX, Франція). Рівень біохімічних показників (загальний білок, глюкоза, креатинін, аланін- та аспартатамінотрансфераза (відповідно АлАТ та АсАТ) досліджено на автоматичному аналізаторі Vitalab Flexor E (Vital Scientific, Нідерланди). Визначення K^+, Na^+ в плазмі крові проводили на аналізаторі електролітів АЕК-01 (КвертиМед, Росія). Показники коагулометричного профілю (тромбіновий час (ТЧ), протромбіновий індекс (ПТІ), фібриноген, активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) проводили на коагулографі HumaClot Duo plus (Human GmbH, Німеччина).

Статистичні розрахунки проведено з використанням програмного забезпечення Statistica 10.0. Нормальність розподілу даних перевірено з використанням W-тесту Шапіро-Уілка. Досліджувані параметри не підпорядковувалися закону нормального розподілу і були представлені медіаною, 25-м і 75-м процентилем. Для порівняння досліджуваних груп використовували непараметричний метод варіаційної статистики – критерій Манна-Уітні (показник U). Відмінності вважались достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати

Досліджувані лабораторні показники периферичної крові обстежуваних наведено в таблиці 1.

У групі осіб без розвитку СГЯ (контроль) на першому етапі дослідження (до пункції) всі лабораторні показники периферичної крові відповідали фізіологічному рівню даної вікової категорії з індивідуальними коливаннями. Однак після пункції у жінок групи контролю статистично значимо ($p \leq 0,05$) знизилися показники відносного та абсолютного вмісту еозинофілів (U=97,00, p=0,005; U=85,00, p=0,001 для відносних та абсолютних показників, відповідно) та моноцитів (U=102,50, p=0,007; U=98,50, p=0,005 відповідно). Серед решти показників КГ після пункції спостерігалося підвищення ($p \leq 0,05$) у 2 рази рівня ШОЕ (U=43,00, p=0,001) та амінотрансфераз, причому концентрація аспартатамінотрансферази (АсАТ) підвищилася в 1,5 рази і досягла рівня статистичної значущості (U=93,00, p=0,003) при порівнянні з показниками КГ до пункції фолікулів.

У дослідній групі з розвитком СГЯ при порівнянні показників до та після пункції фолікулів, усі лабораторні показники периферичної крові вкладалися в референтні інтервали фізіологічної норми, але були виявлені такі відмінності. Так, після пункції виявлене значиме ($p \leq 0,05$) підвищення загальної кількості лейкоцитів (U=449,50, p=0,01), на фоні якого спостерігалося підвищення відносних та абсолютних показників сегментоядерних нейтрофілів (U=490,50, p=0,03; U=403,50, p=0,002, відповідно) і зниження відносної кількості лімфоцитів (U=497,00, p=0,04). Також у групі з ознаками СГЯ після пункції фолікулів відмічено зниження ($p \leq 0,05$) концентрації загального білка (U=473,00, p=0,02), підвищення в 1,5 рази рівня ШОЕ (U=359,50, p=0,0003) та 1,25 разу рівня аланінамінотрансферази (АлАТ) (U=490,00, p=0,03).

При порівнянні КГ та групи з розвитком СГЯ до пункції фолікулів виявлено, що на початку гормональної стимуляції був статистично значимо підвищений рівень АлАТ на 20,00 % (U=221,50, p=0,01) та АсАТ на 37,50 % (U=124,50, p=0,00001) у 2-й групі. Після пункції фолікулів рівень трансфераз у осіб із СГЯ відносно даних цієї групи до пункції підвищився ще на 15,00-20,00%, але не виходив за межі фізіологічної норми.

Таблиця 1 – Лабораторні показники жінок із гіперстимуляцією яєчників до та після процедури пункції фолікулів

Показник		Група контролю (без розвитку гіперстимуляції яєчників)		Дослідна група (із гіперстимуляцією яєчників)	
		До пункції	Після пункції	До пункції	Після пункції
Гематологічні показники крові					
Гемоглобін, г/л		127,00 (125,00; 133,00)	126,00 (122,50; 135,00)	126,00 (116,00; 136,00)	125,00 (110,00; 131,00)
Еритроцити, $\times 10^{12}$/л		4,00 (3,80; 4,15)	3,99 (3,85; 4,10)	3,84 (3,50; 4,20)	3,90 (3,40; 4,10)
Тромбоцити, $\times 10^{9}$/л		245,50 (216,50; 276,00)	255,50 (234,50; 278,50)	245,00 (227,00; 281,00)	266,00 (240,00; 281,00)
ШОЕ, мм/год		7,50 (6,00; 9,00)	15,00* (11,50; 16,00)	14,00* (11,00; 16,00)	20,00 $^{\Delta, \square}$ (16,00; 30,00)
Лейкоцитарна формула крові					
Лейкоцити, $\times 10^{9}$/л		6,85 (6,20; 7,45)	6,40 (5,45; 6,95)	6,00* (4,80; 7,20)	6,40 $^{\Delta}$ (4,90; 7,80)
Еозинофіли	%	2,00 (1,50; 3,00)	1,00* (1,00; 2,00)	1,00* (1,00; 2,00)	1,00 (0,00; 2,00)
	$\times 10^{9}$/л	0,13 (0,09; 0,21)	0,06* (0,05; 0,13)	0,07* (0,05; 0,13)	0,05 (0,00; 0,13)
Паличко-ядерні нейтрофіли	%	3,00 (2,00; 3,00)	2,00 (2,00; 4,00)	3,00 (2,00; 5,00)	3,00 (2,00; 6,00)
	$\times 10^{9}$/л	0,18 (0,13; 0,23)	0,15 (0,12; 0,23)	0,19 (0,12; 0,29)	0,25 (0,09; 0,55)
Сегменто-ядерні нейтрофіли	%	63,50 (60,00; 66,00)	65,00 (56,00; 67,50)	59,00 (57,00; 65,00)	67,00 $^{\Delta}$ (62,00; 71,00)
	$\times 10^{9}$/л	4,36 (3,91; 4,49)	3,93 (3,08; 4,66)	3,36* (2,68; 4,48)	4,77 $^{\Delta, \square}$ (3,55; 6,65)
Лімфоцити	%	25,50 (24,00; 29,00)	27,50 (23,50; 34,50)	28,00 (23,00; 33,00)	23,00 $^{\Delta, \square}$ (19,00; 29,00)
	$\times 10^{9}$/л	1,83 (1,61; 1,99)	1,71 (1,52; 1,92)	1,67 (1,27; 1,82)	1,67 (1,38; 2,14)
Моноцити	%	6,00 (5,00; 6,00)	5,00* (4,00; 5,00)	5,00 (4,00; 7,00)	4,00 (3,00; 7,00)
	$\times 10^{9}$/л	0,38 (0,33; 0,43)	0,31* (0,22; 0,37)	0,30 (0,22; 0,41)	0,27 (0,19; 0,66)
Біохімічні показники крові					
Загальний білок, г/л		72,60 (67,35; 79,1)	72,10 (67,90; 75,60)	70,90 (67,70; 75,20)	69,00 $^{\Delta, \square}$ (65,00; 71,10)
Глюкоза, ммоль/л		4,55 (4,00; 4,90)	4,60 (4,10; 4,90)	4,50 (4,30; 4,70)	4,30 (3,90; 4,70)
АлАт, од/л		16,00 (12,50; 19,00)	18,50 (15,00; 22,50)	20,00* (16,00; 28,00)	25,00 $^{\Delta, \square}$ (18,00; 38,00)
АсАт, од/л		15,00 (12,50; 19,50)	22,50* (17,00; 30,50)	24,00* (22,00; 30,00)	28,00 $^{\square}$ (22,00; 49,00)
Креатинін, мкмоль/л		71,40 (69,20; 75,75)	71,15 (68,95; 73,75)	72,40 (67,80; 76,90)	73,30 (69,00; 78,00)
K^{+}, ммоль/л		4,25 (4,05; 4,55)	4,15 (4,00; 4,35)	4,20 (4,00; 4,50)	4,10 (3,90; 4,40)
Na^{+}, ммоль/л		139,40 (138,10; 141,90)	139,70 (137,95; 142,00)	138,90 (137,90; 140,20)	137,80 (136,90; 140,10)
Коагулометричні показники крові					
ПТІ, %		99,00 (95,00; 102,00)	98,00 (91,00; 104,00)	98,00 (91,00; 104,00)	96,00 (89,00; 101,00)
ТЧ, с		10,15 (9,65; 10,55)	10,00 (9,75; 10,45)	10,00 (9,50; 11,30)	10,00 (9,10; 11,50)
Фібриноген, г/л		2,60 (2,40; 2,85)	2,60 (2,40; 2,80)	2,80 (2,60; 3,10)	2,80 (2,40; 3,30)
АЧТЧ, с		27,45 (26,90; 29,05)	28,35 (25,80; 28,90)	28,40 (26,60; 30,10)	28,50 (26,50; 30,50)

Примітки: * – показник статистично значимо відрізняється від даних контрольної групи (КГ) до пункції ($p \leq 0,05$); □ – показник статистично значимо відрізняється від даних КГ після пункції ($p \leq 0,05$); Δ – показник статистично значимо відрізняється від даних СГЯ до пункції ($p \leq 0,05$)

Однак для визначення значущості амінотрансфераз як ранніх маркерів розвитку СГЯ цікавим є порівняння рівня показників після пункції у КГ та при СГЯ. Так, у жінок із групи СГЯ відносно даних групи контролю після пункції статистично значимо ($p \leq 0,05$) були підвищені і показник АлАТ (U=225,50, p=0,01) на 26,00%, і рівень АсАТ (U=225,00, p=0,01) 20,00%.

Свідченням початку розвитку СГЯ (гіпопротеїнемії і, як наслідок, гіповолемії) може бути й виявлене нами значиме зменшення вмісту загального білка (U=227,00, p=0,02) у периферичній крові жінок з СГЯ порівняно з даними КГ після відбору фолікулів, що спостерігалося і на початку гормональної стимуляції.

В осіб дослідної групи (із синдромом гіперстимуляції яєчників) ще на початку гормональної терапії були виявлені відмінності від показників крові КГ. Так, у жінок із СГЯ на 1-му етапі дослідження рівень ШОЕ перебував на верхній межі норми та у 2 рази перевищував подібний показник у КГ і досягав значимих відмінностей (U=84,00, p=0,001). Після пункції фолікулів у групі з СГЯ рівень ШОЕ вийшов за межі норми (U=178,00, p=0,001) та в 1,3 разу був підвищений відносно 1-ї групи після пункції.

Також при порівнянні КГ та групи з СГЯ до гормональної стимуляції, була виявлена динаміка гематологічних показників, які не виходили з референтних показників норми. Так, у жінок із СГЯ до пункції спостерігалося значиме зниження загальної кількості лейкоцитів (U=223,50, p=0,01) на фоні зниження відносної та абсолютної кількості еозинофілів (U=219,00, p=0,01; U=177,50, p=0,0009) та абсолютної кількості сегментоядерних нейтрофілів (U=222,00, p=0,01). Щодо порівняння дослідних груп після вилучення фолікулів відмічене значиме підвищення абсолютного вмісту сегментоядерних нейтрофілів (U=245,50, p=0,04) та зниження відносного вмісту лімфоцитів (U=249,50, p=0,04).

Інші лабораторні показники дослідних груп перебували в референтних межах фізіологічної норми та статистично значимих відмінностей не досягли при їх порівнянні.

Обговорення

Синдром гіперстимуляції яєчників характеризується як системне захворювання, яке розвивається на фоні стимуляції суперовуляції. Цей синдром пов'язують із високою концентрацією статевих стероїдних гормонів у плазмі крові, яка негативно діє на функції різних систем організму[24] і спричиняє появу синдрому системної запальної реакції неінфекційної природи, з подальшим розвитком гіперпроникності судин, тромбоемболічних ускладнень та поліорганної недостатності.[25,26]

Зміна показника ШОЕ може бути опосередкованою ознакою запального процесу, і за даними Аншиної М.Б. із співавторами[27], цей показник дає змогу прогнозувати СГЯ при досягненні ним значення ≥15,1 мм/год, що співвідноситься з результатами наших досліджень. Збільшення показника ШОЕ свідчить про наявність поточної запальної реакції, яка розвивається із залученням до вогнища запалення нейтрофілів, моноцитів, макрофагів та ендотеліальних клітин. Ці клітини починають синтезувати численні медіатори запалення, які своєю чергою активують лейкоцити, викликаючи їх диференціювання та проліферацію для реалізації запальної відповіді.[26]

Згідно з даними деяких авторів,[28,29] досягнення значення загальної кількості лейкоцитів $\geq 15,0 \times 10^9$/л свідчить про розвиток тяжкого СГЯ. Наше дослідження спрямоване на прогнозування легкого ступеня СГЯ, при якій не спостерігається значного збільшення кількості лейкоцитів, що співвідноситься з отриманими в цьому дослідженні результатами.

Динаміка зниження кількості моноцитів у групі без ознак СГЯ може бути пов'язана з мікрохірургічною маніпуляцією з вилучення фолікулів і міграцією моноцитів у ділянку наявності клітинного детриту в місці проколу. А відмічене збільшення відносної та абсолютної кількості сегментоядерних нейтрофілів у групі з ознаками помірного СГЯ може вказувати на залучення їх до активаційних процесів клітинної ланки неспецифічного імунітету, а так на активацію репараційних процесів

після вилучення фолікулів. Динаміка збільшення абсолютної кількості сегментоядерних нейтрофілів зазначалася в попередніх дослідженнях.[24]

Тяжкий та критичний ступінь СГЯ супроводжується нирковою та печінковою недостатністю.[27] Тому доцільним є виявлення негативних зрушень у лабораторних показниках цих органів на ранніх етапах розвитку СГЯ. Для оцінки функціональних показників печінки ми використовували показники вмісту загального білка та амінотрансфераз (АлАТ та АсАТ). За даними деяких авторів[27,30], при досягненні значень загального білка <50,0 г/л; АлАТ >32,0 од/л; АсАТ >31,0 од/л у жінок після вилучення фолікулів дає змогу віднести їх до групи ризику розвитку СГЯ. Згідно з результатами наших досліджень, ці показники не виходили за референтні межі норми. Але в групі з СГЯ виявленні значні зрушення рівня амінотрансфераз (>15%) та загального білка (>2,5%) після вилучення зрілих фолікулів відносно первинних показників (до пункції). Це дозволило віднести ці показники до прогностичних, за якими можна оцінити ризик та ранні прояви (ще до початку клінічних ознак) розвитку СГЯ. Проте рівень АсАТ, за отриманими результатами, є більш лабільним; саме цей показник (АсАТ) є більш доцільним неспецифічним маркером при прогнозуванні розвитку СГЯ.

Попередні біохімічні дослідження[24] крові не виявили значимих зрушень у показниках рівня АлАТ, АсАТ та вмісту загального білка при ризику розвитку СГЯ на найбільш ранніх етапах після пункції фолікулів.

Жовте тіло слід розглядати як останню стадію диференціювання премордіального фолікула і як один із головних ендокринних компонентів яєчника. Із гістологічної точки зору у формуванні та розвитку жовтого тіла розрізняють чотири стадії – проліферація та васкуляризація (ангіогенез), лютеїнізація, розквіт і зворотній розвиток або регрес. Стадія васкуляризації характеризується швидким розмноженням епітеліальних клітин гранульози та інтенсивним вростанням капілярів між ними. Кожна клітина жовтого тіла багато оснащена капілярами. У жовтому тілі – один із найвищих рівнів кровотоку в організмі людини.

У результаті стимуляції суперовуляції при використанні допоміжних репродуктивних технологій утворюється не одне, а множинні жовті тіла, що сприяє значному посиленню механізмів ангіогенезу.

Унаслідок значного збільшення кількості судин у множинних жовтих тілах яєчника на фоні підвищеної судинної проникності внаслідок контрольованої гормональної стимуляції відбувається масивний вихід плазми крові в міжклітинний простір («третій простір»): спочатку в черевну порожнину, у важких випадках – у плевральну і перикардіальну порожнини.[31] Важливим моментом, що замикає «хибне коло» в патогенезі СГЯ, є вихід у третій простір у складі плазми альбуміну, який підтримує онкотичний тиск та об’єм циркулюючої крові. При досягненні значення альбумінової фракції загального білка до позначки <25 г/л свідчить про зміну онкотичного тиску крові, що значно посилює збільшення проникності судин і перерозподіл рідини[27].

Серйозним наслідком перерозподілу рідини в організмі при СГЯ є зменшення об'єму циркулюючої крові та її значне згущення. Унаслідок цього може розпочатись ішемія органів з порушенням їхньої функції, тромбоемболічні ускладнення – насамперед страждає функція нирок, надалі можливі ускладнення за типом ішемічного інсульту[11,32]. Отже, збільшення судинної проникності замість локального набуває системного характеру і відсутність адекватного лікування в цій ситуації є прямим ризиком для здоров'я і життя пацієнтки.

За нашими результатами, у жінок із СГЯ показники коагулограми (ТЧ, ПТІ, фібриноген, АЧТЧ), рівня креатиніну та концентрації іонів калію і натрію свідчать про відсутність тромбоемболічних ускладнень, порушень ниркової перфузії та зрушень в електролітному балансі, що не збігається з літературними даними[9,33] і свідчить про розвиток легкої форми СГЯ. У нашому дослідженні це є доцільною

моделлю пошуку прогностичних лабораторних показників розвитку синдрому гіперстимуляції.

Висновки

Результати дослідження свідчать, що показники ШОЕ в периферичній крові, рівня амінотрансфераз (АлАТ і АсАТ) та загального білка в плазмі крові можуть бути використані при прогнозуванні СГЯ. Доцільним є продовження досліджень у напрямі визначення найбільш прогностичних лабораторних показників, за якими можливо виявляти осіб із групи ризику щодо розвитку СГЯ ще на етапі пункції фолікулів, тобто до розвитку клінічних проявів синдрому.

Надалі планується дослідити лабораторні показники периферичної крові осіб із ризиком розвитку СГЯ на етапі пункції фолікулів із розширенням спектру лабораторних досліджень (із включенням до схеми дослідження аналізу рівня гормонів та імунологічних показників, оскільки при гормональній терапії в активацію СГЯ втягуються й імунні механізми).

ЛІТЕРАТУРА

(1) Chakravarthi, I. Regulation of Assisted Reproductive Technologies: Gains and Losses. *Indian J. Gend. Stud.* **2016**, *23* (1), 133–156. https://doi.org/10.1177/0971521515612866.

(2) Smith, V.; Osianlis, T.; Vollenhoven, B. Prevention of Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *Obstet. Gynecol. Int.* **2015**, *2015*, pp 1-10. https://doi.org/10.1155/2015/514159.

(3) Gurbuz, A. S.; Calik, M.; Ozcimen, E. E.; Ozcimen, N.; Calik, S. G. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Rare Case of Unilateral Pleural Effusion. *J. Emerg. Med. Case Reports* **2016**, *7* (4), pp 74-76. https://doi.org/10.5152/jemcr.2016.1502.

(4) Gichuhi, J. W.; Wanyoike, S. W.; Ndegwa, S. Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS): Case Report. *East Afr. Med. J.* **2015**, *92* (1), pp 39-42.

(5) Corbett, S.; Shmorgun, D.; Claman, P.; Cheung, A.; Sierra, S.; Carranza-Mamane, B.; Case, A.; Dwyer, C.; Graham, J.; Havelock, J.; et al. The Prevention of Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *J. Obstet. Gynaecol. Canada* **2014**, *36* (11), pp 1024-1033. https://doi.org/10.1016/S1701-2163(15)30417-5.

(6) Marak, C. P.; Chopra, A.; Alappan, N.; Ponea, A. M.; Guddati, A. K. Ovarian Hyperstimulation Syndrome as an Etiology of Obstructive Uropathy. *Case Rep. Obs. Gynecol* **2013**, *2013*, pp 1-3. https://doi.org/10.1155/2013/653704.

(7) Stolorz, K.; Nowosielski, K.; Wlodarz, Izabela Ulman Sodowska, P.; Sodowski, K. Ovarian Hyperstimulation Syndrome in Spontaneous Pregnancy. *J Gynecol Res Obs.* **2016**, *2* (1), pp 5-9.

(8) Bulavenko, O.; Konkov, D.; Burtyak, N. Ovarian Hyperstimulation Syndrome. The New Approaches for Diagnosis, Treatment and Prevention. *Вісник морфології* **2015**, *21* (2), с 525-531.

(9) Alper, M. M.; Smith, L. P.; Sills, E. S. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: Current Views on Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, and Management. *J. Exp. Clin. Assist. Reprod.* **2009**, *3* (6), pp 1-7.

(10) Fouda, U. M.; Sayed, A. M.; Elshaer, H. S.; Hammad, B. E. M.; Shaban, M. M.; Elsetohy, K. A.; Youssef, M. A. GnRH Antagonist Rescue Protocol Combined with Cabergoline versus Cabergoline Alone in the Prevention of Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Randomized Controlled Trial. *J. Ovarian Res.* **2016**, *9* (1), pp 1-8. https://doi.org/10.1186/s13048-016-0237-8.

(11) Nastri, C. O.; Ferriani, R. A.; Rocha, I. A.; Martins, W. P. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: Pathophysiology and Prevention. *J. Assist. Reprod. Genet.* **2010**, *27*, pp 121-128. https://doi.org/10.1007/s10815-010-9387-6.

(12) Mai, Q.; Hu, X.; Yang, G.; Luo, Y.; Huang, K.; Yuan, Y.; Zhou, C. Effect of Letrozole on Moderate and Severe Early-Onset Ovarian Hyperstimulation Syndrome in High-Risk Women: A Prospective Randomized Trial. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2017**, *216* (1), pp 42.e1-42.e10. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.08.018.

(13) Aiziatulova, E. M. Secondary Predictors of Ovarian Hyperstimulation Syndrome Development. *Zaporozhye Med. J.* **2019**, *0* (6), pp 770-775. https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.6.186502.

(14) Kim, J.; Steiner, A. Z.; Fritz, M.; Mersereau, J. E. Severe Ovarian Hyperstimulation Syndrome after Letrozole-Gonadotropin Stimulation: A Case Report. *J. Assist. Reprod. Genet.* **2012**, *29* (2), pp 127-129. https://doi.org/10.1007/s10815-011-9676-8.

(15) Banker, M.; Garcia-Velasco, J. Revisiting Ovarian Hyper Stimulation Syndrome: Towards OHSS Free Clinic. *J. Hum. Reprod. Sci.* **2015**, *8* (1), pp 13-17. https://doi.org/10.4103/0974-1208.153120.

(16) Sansone, P.; Aurilio, C.; Pace, M. C.; Esposito, R.; Passavanti, M. B.; Pota, V.; Pace, L.; Pezzullo, M. G.; Bulletti, C.; Palagiano, A. Intensive Care Treatment of Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2011**, *1221* (1), pp 109-118. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.05983.x.

(17) Goeckenjan, M.; Fischer, D.; Urban, H.; Wimberger, P. Avoiding Ovarian Hyperstimulation Syndrome - Current Primary and Secondary Preventive Strategies. *J. Fertil. Vitr. - IVF-Worldwide, Reprod. Med. Genet. Stem Cell Biol.* **2016**, *4* (4), pp 1-6. https://doi.org/10.4172/2375-4508.1000192.

(18) Cabar, F. R. Ovarian Hyperstimulation Syndrome in a Spontaneous Singleton Pregnancy. *Einstein (Sao Paulo).* **2016**, *14* (2), pp 231-234. https://doi.org/10.1590/S1679-45082016RC3429.

(19) Nastri, C. O.; Teixeira, D. M.; Moroni, R. M.; Leitão, V. M. S.; Martins, W. P. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: Pathophysiology, Staging, Prediction and Prevention. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2015**, *45* (4), pp 377-393. https://doi.org/10.1002/uog.14684.

(20) Manappallil, R. G.; Kokoori, S. V.; Valsala, N. Severe Ovarian Hyperstimulation Syndrome despite Low Dose Stimulation in Polycystic Ovarian Syndrome. *Asian J. Med. Sci.* **2019**, *10* (3), pp 50-53. https://doi.org/10.3126/ajms.v10i3.22728.

(21) Законодавство України. Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні. https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0417282-11 (редакція від 13.04.2016).

(22) Законодавство України. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження". https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005 (редакція від 01.10.2008).

(23) Законодавство України. Конвенція про захист прав людини і основоположних свобод. https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_004 (редакція від 02.10.2013).

(24) Авраменко, Н. В.; Кабаченко, О. В.; Барковський, Д. Є.; В, К. В. Загальноклінічні, Біохімічні Показники Та Рівень Гормонів Периферичної Крові Жінок в Умовах Синдрому Гіперстимуляції Яєчників. *Міжнародний медичний журнал* **2018**, *2*, 41–45.

(25) Егорова, Е. А.; Терентьева, А. П. Синдром Гиперстимуляции Яичников (Обзор Литературы и Клиническое Наблюдение). *Радиология* **2015**, *3* (51), с 29-36.

(26) Balk, R. A. Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS): Where Did It Come from and Is It Still Relevant Today? *Virulence.* **2014**, pp 20-26. https://doi.org/10.4161/viru.27135.

(27) Аншина, М. Б.; Исакова, Э. В.; Калинина, Е. А.; Калинина, Е. А.; Корнеева, И. Е.; Корсак, В. С.; Назаренко, Т. А., Смольникова, В. Ю. Синдром Гиперстимуляции Яичников. Клинические Рекомендации. *Репродуктивная медицина* **2013**, *2* (15), с 33-44.

(28) Силява, В. Л.; Гуляева, Л. С.; Прасмыцкий, О. Т. Тяжелый Синдром Гиперстимуляции Яичников При Раннем Сроке Беременности. *Медицинский журнал БДМУ* **2012**, *4*, с 129-130.

(29) Lainas, G. T.; Lainas, T. G.; Venetis, C. A.; Sfontouris, I. A.; Zorzovilis, I. Z.; Alexopoulou, E.; Tarlatzis, B. C.; Kolibianakis, E. M. Ultrasound and Hematological Changes during Early Luteal Phase in Women at High Risk for Developing Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2018**, *51* (1), pp 126-133. https://doi.org/10.1002/uog.18949.

(30) Корнеева, И. Е.; Сароян, Т. Т.; Калинина, Е. А.; Смольникова, В. Ю. Синдром Гиперстимуляции Яичников: Этиопатогенез, Клиника, Диагностика (Часть 1). *Акушерство и Гинекология* **2013**, *7*, с 8-13.

(31) Протопопова, Н. В.; Дружинина, Е. Б.; Мыльникова, Ю. В.; Болдонова, Н. А.; Свхьянова, Н. Л. Факторы Риска и Критерии Прогнозирования Синдрома Гиперстимуляции Яичников. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН* **2012**, *3* (85), с 65-70.

(32) Budev, M. M.; Arroliga, A. C.; Falcone, T. Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *CE.ritical Care Med.* **2005**, *33* (10), pp 301-306. https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000182795.31757.CE.

(33) Jahromi, B. N.; Parsanezhad, M. E.; Shomali, Z.; Bakhshai, P.; Alborzi, M.; Vaziri, N. M.; Anvar, Z. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management. *Iran. J. Med. Sci.* **2018**, *43* (3), pp 248-260.

УДК 615.9 + 547.831: 547.29.2905:54 DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-03

Гостра токсичність та гіпоглікемічна активність 7-хлоро-4-тіозаміщених хіноліну

[1,2]Богдан А. М., [2]Бражко С. О., [2]Лабенська І. Б., [2]Бражко О. А.

ORCID: 0000-0003-4397-0501,

[1]*Донецький національний медичний університет, Україна*

[2]*Запорізький національний університет, Україна*

aney.bogdan@gmail.com

Ключові слова:
гостра токсичність, гіпоглікемічна дія, цукровий діабет, похідні хіноліну

Сьогодні дуже гостро стоїть питання пошуку нових фармакологічних препаратів для лікування цукрового діабета. Це зумовлено хронічним перебігом цього захворювання й потребою вживати цукрознижуючі препарати протягом усього життя. Зараз на фармацевтичному ринку представлені різні гіпоглікемічні засоби, і пріорітетним є питання безпечності їх застосування. У статті наведено результати дослідження активності 4-тіо-7-хлоропохідних хіноліну як потенційних гіпоглікемічних препаратів. Гіпоглікемічну активність визначали з використанням глюкометра One Touch Ultra Plus Flex. Підхід до визначення глюкози цим методом базується на реакції глюкози, яка міститься в пробі крові, із флавінаденіндинуклеотидзалежною глюкозодегідрогеназою в тест-смужці, з утворенням невеликого електричного струму. За силою цього струму обчислюється рівень глюкози в сироватці крові. Високий рівень гіпоглікемічної активності при внутрішньошлунковому введенні виявляв натрій 3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)пропіонат, який достовірно знижував рівень глюкози на 18,1% порівняно з базовим рівнем та іншими сполуками. 2-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)пропанова та 2-ацетамідо-3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)пропанова кислоти практично не впливали на рівень глюкози в крові. Уведення сполуки ***3*** 3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)пропіонової кислоти експериментальним тваринам призвело до зростання показника на 19,6% відносно базового рівня глюкози. Визначено гостру токсичність 4-тіо 7-хлорзаміщених хіноліну за експрес-методом Прозоровського. Речовини вводили одноразово внутрішньоочеревинно у вигляді тонкої водної суспензії у фізіологічному розчині (стабілізатор – Твін 80) або у вигляді розчину в об’ємі не більше 1 мл. Проаналізовано залежність між структурою досліджуваних сполук і їх токсичністю. Установлено, що середньолетальна доза ($ЛД_{50}$) цих сполук коливається в межах від 200-800 мг/кг, і за ступенем токсичності їх віднесено до малотоксичних (IV клас токсичності).

Acute toxicity and hypoglycemic activity of 7-chloro-4-thiosubstituted quinoline

[1,2]Bogdan A. M., [2]Brazhko S. O., [2]Labenskaya I. B., [2]Brazhko O. A.

[1]*Donetsk National Medical University, Ukraine*

[2]*Zaporizhzhia National University, Ukraine*

Key words:
acute toxicity, hypoglycemic action, diabetes, quinoline derivatives

The search for effective and safe pharmacological drugs for the treatment of diabetes is remaining highly valuable issue due to the chronic course of the disease and the need to use antipyretic drugs during the rest of life. Currently, various hypoglycemic agents are presented in the pharmaceutical market and the safety of their application is in priority. The activity of 4-thio-7-chloroquinoline derivatives as potential hypoglycemic drugs was studied here. The hypoglycemic activity was determined using a One Touch Ultra Plus Flex meter. The approach to glucose determination by this method is based on the reaction of glucose contained in the blood sample with flavin adenine dinucleotide dependent glucose dehydrogenase in the test strip, with the formation of a small electric current. The strength of this current calculates the

level of glucose in the blood serum. Sodium 3-(7-chloroquinolin-4-ylthio)propionate demonstrates a high hypoglycemic activity after its intragastric administration. This compound significantly reduces glucose levels in rats up to 18.1% when compared with baseline and other compounds. 2-(7-Chloroquinoline-4-ylthio)propane and 2-acetamido-3-(7-chloroquinolin-4-ylthio)propanoic acid had little or no effect on serum glucose. The administration of compound 3 3-(7-chloroquinolin-4-ylthio)propionic acid in experimental animals increases the serum glucose on 19,6% comparing to the basic level. Acute toxicity of 4-thio7-chloro-substituted quinoline was determined with the Prozorovsky express method. The substances were administered once intraperitoneally as a thin aqueous suspension in saline solution (stabilizer - Twin 80) or as a solution of not more than 1 ml. The relationship between the structure of the test compounds and their toxicity is analyzed. It has been established that the mean lethal dose (LD50) of these compounds ranges from 200-800 mg/kg and is classified as low toxic that corresponds to the fourth class of toxicity.

Вступ

Згідно з останніми даними Міжнародної діабетичної федерації (International Diabetes Federation – IDF), загальна кількість хворих на цукровий діабет у віці від 20 до 79 років у світі перевищила 284,6 млн. Приблизно 9 із 10 випадків припадає на найбільш поширену форму – цукровий діабет 2-го типу (ЦД-2). При цьому ще в 343,5 млн осіб діагностовано глюкозоінтолерантність[1]. Аналіз даних свідчить, що від 1% до 3% населення планети страждає на ЦД, і щороку кількість хворих неухильно зростає[2]. Прогнозування приросту цього захворювання щорічно складає приблизно 5-7%[3,4]. Отже, популяція, про яку безпосередньо йдеться мова, сьогодні перебільшує півмільярда.

Цукровий діабет називають «епідемією XXI століття», моральний та соціальний тягар якого зумовлений, передусім, розвитком ускладнень, які істотно знижують тривалість та якість життя хворих. ЦД характеризується порушенням секреції інсуліну, а також розвитком інсулінорезистентності, які зумовлюють гіперглікемію[5]. Ранніми симптомами захворювання є полідипсія, поліфагія, поліурія і звуження поля зору[6,7]. Перебіг ЦД супроводжується розвитком низки ускладнень, до яких відносяться ангіопатія, периферична нейропатія, нефропатія та схильність до інфекційних захворювань[8]. Статистичні дані свідчать, що переважає ЦД 2-го типу, який характеризується гетерогенністю хворих. Це означає, що контроль перебігу захворювання не може бути забезпечений лише одним класом препаратів. Вибір конкретного препарату ускладняються ще й тому, що більшість протидіабетичних засобів, які призначаються у вигляді монотерапії, характеризуються майже однаковою ефективністю (зниженням рівня HbA1c приблизно на 1%)[9]. Без комплексної оцінки користі й безпечності цукрознижувальних препаратів не можливо реалізувати індивідуальний підхід до лікування хворих на ЦД.

Із позиції безпеки для застосування нових лікарських препаратів необхідне вивчити та аналізувати їх токсикологічну характеристику ще на стадії доклінічних досліджень, що дозволить у значній мірі зменшити кількість та інтенсивність проявів побічних реакцій. Тому при дослідженні перспективних біологічно (фізіологічно) активних речовин (БАР, ФАР) одне з ключових місць займає вивчення комплексу їхніх токсикометричних параметрів, що характеризують ступінь їх токсичності та безпечності. Одним із таких параметрів є гостра токсичність[10].

Сучасні напрями відбору перспективних БАР включають методи *in silico, in vitro, in vivo*. Для встановлення доцільності синтезу проводять віртуальний скринінг (VS, дослідження *in silico*) нових хімічних структур та комбінацій на основі низки програмних розробок. Методики QSAR аналізу, PASS (Росія), GUSAR (ФРН), TEST (США), AdmetSAR (КНР) дають можливість створення достовірних моделей «структура–дія», «структура–токсичність» та прогнозування імовірної біологічної дії сполук[11,12]. Хемометрична оцінка

похідних 7-хлоро-4-тіохіноліну за допомогою QSAR аналізу показала перспективність пошуку серед них цитопротекторів з антиоксидантним (АО) та мемабранопротекторним механізмом дії[13].

Крім того, за попередніми експериментальними дослідженнями біологічної активності (БА) дериватів (хінолін-4-ілсульфаніл)карбонових кислот *in vitro* та *in vivo* встановлено серед них перспективні гепато-, нейро-, радіопротектори з антирадикальними, АО, мемабранопротекторними властивостями. Вони позитивно впливали на метаболітотропні властивості клітин і відновлювали їх статус[14].

Мета роботи – дослідити 7-хлоро-4-тіопохідні хіноліну як потенційні БАР з антигіпоглікемічною дією, вивчити вплив на вміст глюкози в крові за нормоглікемією та їхню гостру токсичність.

Матеріали та методи

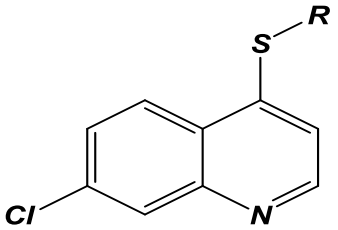
Скринінгові дослідження виконано для 4-тіопохідних хіноліну, структури яких наведено в таблиці 1. Синтез сполук здійснено в лабораторії біотехнології ФАР Запорізького національного університету (зав. лабораторії – проф., д-р біол. наук О. А. Бражко) за відомою методикою авторів[15,16].

Дослідження проведено на білих безпородних мишах обох статей вагою 16-22 г та білих безпородних щурах вагою 220-250 г, яких було отримано з розплідника Інституту фармакології та токсикології АМН України (м. Київ). Усі тварини утримувалися на стандартному раціоні харчування, при природній зміні дня і ночі[17].

Визначення гострої токсичності проводили на білих безпородних мишах, речовини вводили одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) у вигляді тонкої водної суспензії у фізіологічному розчині (стабілізатор – Твін 80) або у вигляді розчину (розчинні у воді речовини) в об'ємі не більше 1 мл.

Досліджували 4 групи тварин, кожна з яких складалась із 2 тварин. Протягом 2 діб спостерігали за поведінкою тварин, станом їхньої шкіри та слизових оболонок, нервовою збудливістю, кількістю живих і загиблих тварин. Середньолетальні дози ($ЛД_{50}$) визначали за методом Прозоровського[18,19].

Таблиця 1 – Структура досліджуваних сполук 4-тіо7-хлоропохідних хіноліну



1-8

N з/п сполуки	R	Назва сполуки	Брутто-формула	М.м.
1	CH_2COOH	2-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)-оцтова кислота	$C_{11}H_8NO_2SCl$	253,7
2	$CH(CH_3)COOH$	2-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)-пропанова кислота	$C_{12}H_{10}NO_2SCl$	267,6
3	CH_2CH_2COOH	3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)-пропанова кислота	$C_{12}H_{10}NO_2SCl$	267,6
4	$CH(COOH)CH_2COOH$	2-(7-хлорохінолін-4-іл-тіо)-сукцинатна кислота	$C_{13}H_{10}NO_4SCl$	311,7
5	$CH_2CH(NH_2)COOH$	2-аміно-3-(7-хлорохінолін-4-тіо)пропанова кислота	$C_{12}H_{11}N_2O_2SCl$	282,1
6	$CH_2CH(NHCOCH_3)COOH$	2-ацетамідо-3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)-пропанова кислота	$C_{14}H_{13}N_2O_3SCl$	324,8
7	CH_2CH_2COONa	натрій 3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)пропаноат	$C_{12}H_9NNaO_2SCl$	299,7
8	$CH_2CH(NHCOCH_3)COONa$	натрій 2-ацетамідо-3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)-пропаноат	$C_{14}H_{12}N_2NaO_3SCl$	346,8

Гіпоглікемічну активність сполук визначали на білих безпородних щурах. Кожну речовину тестували на п'яти тваринах. Досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково із застосуванням атравматичного зонду у вигляді водного розчину або дрібнодисперсної суспензії, стабілізованої Твіном 80, у дозі 0,1 ммоль/кг. Рівень глюкози визначали з використанням глюкометра OneTouch Ultra Plus Flex до введення сполук, через 60 та 120 хвилин. Підхід до визначення глюкозицим методом базується на реакції глюкози, яка міститься в пробі крові, із флавінаденіндинуклеотидзалежною глюкозодегідрогеназою в тест-смужці, з утворенням невеликого електричного струму. За силою цього струму обчислюється рівень глюкози в крові. Оцінку гіпоглікемічної активності сполук проводили у порівнянні з базовим рівнем до введення сполук, який приймали за 100 %.

Усі дослідження відповідали умовам «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях»[20,21].

Отримані результати обробляли статистично на персональному комп'ютері з використанням програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc, № AXXR712D833214FAN5) методами варіаційної статистики із застосуванням t-критерію Стьюдента. Розходження вважали статистично значущими при $P < 0,05$.

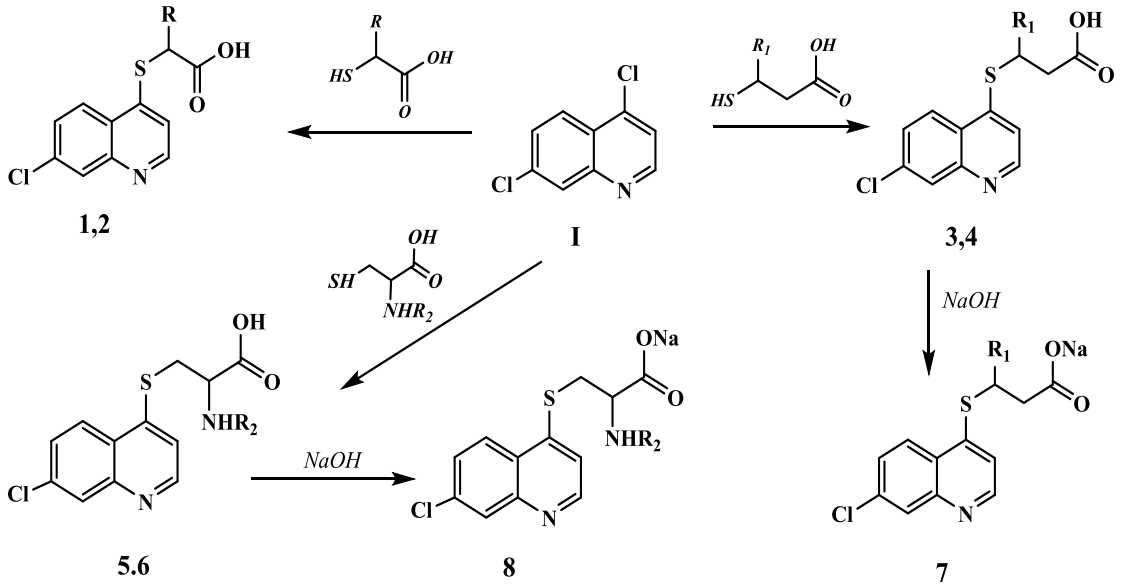
Результати

Взаємодією 4,7-дихлорохіноліну (***I***) з меркаптокарбоновими кислотами синтезовано відповідні гідрохлориди, які *in situ* нейтралізували лужними агентами та отримували відповідні кислоти. Реакцію проводили протягом 0.5-6 годин (залежно від природи замісників у хіноліновому циклі) (рис.1).

Установлення гострої токсичності синтезованих сполук було проведено в два етапи: комп'ютерне моделювання з урахуванням шляхів введення та експериментальне визначення порогу гострої токсичності і нешкідливості (табл. 2). Прогнозована токсичність досліджених сполук при внутрішньовенному введенні перебуває в межах 105,3–656,6 мг/кг, а при в/о та пероральному шляхах введення діапазон значень поступово зменшується відповідно до 153-1176 мг/кг та 1087-3374 мг/кг.

Результати експериментального дослідження гострої токсичності похідних 7-хлорохінолін-4-тіолу, які наведено у таблиці 2, свідчать, що $ЛД_{50}$ вивчених сполук перебуває в межах 283-873 мг/кг, а для сполуки ***8***, що у складі містить залишок відомого препарату Ацетилцистеїну (АЦЦ), більше 1200 мг/кг.

Вплив 4-тіопохідних хіноліну на рівень глюкози в крові щурів наведено в таблиці 3.



R = H (***1***), CH_3 (***2***); R_1 = H (***3, 7***), COOH (***4***); R_2 = H (***5***), $COCH_3$ (***6, 8***)

Рис. 1. Схема синтезу 7-хлоро-4-тіопохідних хіноліну

Таблиця 2 – Показники гострої токсичності (LD_{50}, мг/кг) 7-хлоро-4-тіопохідних хіноліну за результатами комп'ютерного моделювання та експериментального дослідження

Сполука	В/о (GUSAR)	Внутрішньовенний шлях введення, (GUSAR)	Оральний шлях введення		Експериментальна токсичність
			GUSAR	TEST	
1	292,3	355,4	758,5	484,05	283±23
2	312,8	271,1	308,4	149,38	624±83
3	260,6	430,2	603,2	747,71	466±68
4	175,3	443,2	901,3	458,29	386±52
6	610,9	486,5	929,9	506,76	873±170
8	763,2	747,0	4302,0	1119,31	>1200

Таблиця 3 – Динаміка вмісту глюкози в крові щурів при введенні похідних 7-хлорохінолін-4-тіолу порівняно з базовим рівнем

Сполука	Доза мг/кг	Вміст глюкози в крові, ммоль/л			Відносно базового рівня	
		Базовий рівень	Через 60 хв	Через 120 хв	Різниця, %	P
2	12	5,55±0,6	5,44±0,5	5,52±0,2	-0,4	>0,05
3	19	5,70±0,4	6,24±0,4	6,82±0,5	+19,6	≤0,05
7	14	5,30±0,3	4,60±0,3	4,34±0,6	-18,1	≤0,05
8	19	6,58±0,3	6,24±0,4	6,13±0,3	-6,8	>0,05

Як свідчить аналіз даних таблиці 3, в усіх групах щурів контрольний рівень глюкози (до введення сполук) коливався в середньому від 5,30 ммоль/л до 6,58 ммоль/л. Високий рівень гіпоглікемічної активності при внутрішньошлунковому введенні виявляла сполука ***7***, яка достовірно знижувала рівень глюкози на 18,1% порівняно з контролем ($P \leq 0,05$).

Обговорення

Синтез цього ряду сполук полягав у тіонуванні 4,7-дихлорохіноліну (***I***) певними нуклеофільними реагентами. Як тіонуючі реагенти було використано тіоловмісні карбонові кислоти (тіогліколева, L-цистеїн та їх аналоги). Взаємодія 4,7-дихлорохіноліну (***I***) з меркаптокарбоновими кислотами відбувалась у середовищі діоксану або водно-діоксановій суміші протягом 30-180 хв з утворенням відповідних гідрохлоридів. Останні нейтралізували 5%-м водним розчином соди та одержували відповідні S-гетарилзаміщені кислоти (***1-6***, рис. 1). Для підвищення водорозчинності сполук проводили нейтралізацію відповідних кислот взаємодією із розчином натрію гідроксиду в спиртовому середовищі та отримували натрієві солі(7-хлорохінолін-4-ілтіо)карбонових кислот (***7, 8***).

Сучасні напрями відбору перспективних сполук базуються на методах *in silico*, що надають широкі можливості створення достовірних моделей «структура–дія–токсичність». Для оптимізації синтезу та можливостей подальшого застосування синтезованих речовин як потенційних ФАР проводять VS нових хімічних структур на основі програмних розробок[11,14].

Вважають, що вірогідність прояву токсичного ефекту нижча в сполук, які мають менше значення інтегральної суми атомних поляризацій молекули, включаючи атоми Гідрогену, більшу кількість атомів Оксигену та метильних груп, більшу ліпофільність, менший розмір молекули, менше значення рефракції. Ці чинники пов'язані з транспортуванням сполук крізь мембрани клітин[13]. Отже, варіюючи замісники в кислотах та/або основах, можливо керування ступенем їх іонізації, тобто кількістю іонізованих форм у розчинах. Це важливо для проявлення БА, зокрема за рахунок змінення проникнення

речовин через мембрани та за рахунок різноманітної взаємодії з мембранами нейтральних і іонізованих молекул. Тому для проведення випробувань важливе значення мають структури речовин, які представлено або у формі відповідних молекулярних форм (кислоти ***1-6***), або перспективних водорозчинних солей – іонізовані структури (***7, 8***). 4-тіо7-хлоропохідні хіноліну відповідають або за значеннями наближаються до відомого фільтра потенційних БАР – «правилу Ліпінськи»[15,16].

За результатами позаекспериментального вивчення токсичності похідних (хінолін-4-ілтіо)карбонових кислот за допомогою моделей GUSAR, TEST та на експериментальних моделях встановлено, що ці сполуки можна віднести до малотоксичних речовин. Аналіз, проведений у програмному забезпеченні DMax Chemistry Assistant, підтвердив залежність гострої токсичності сполук від наявності замісників у 7-му положенні хіноліну, зокрема галогену, а також від довжини карбонового ланцюга і ступеня насиченості циклу[13].

Установлено, що через 20-30 хв після введення препаратів дещо знижувалася рухова активність тварин. Це можна пояснити доволі токсичним впливом речовин та їх можливою нейротропною активністю, що характерно для похідних хіноліну[14,16]. Гостра токсичність похідних 7-хлорохінолін-4-тіолу знаходиться, в основному, в інтервалі 200-800 мг/кг, що дозволяє віднести їх за класифікацією Сидорова[22] до малотоксичних. Уведення залишку сірковмісної амінокислоти (цистеїн) до структури молекул сприяє зменшенню токсичного впливу ксенобіотиків (сполуки ***6, 8***). За результатами прогнозу подовження карбонового ланцюгу в молекулі призводить до підвищення токсичного впливу, що підтвердилось експериментально (сполуки ***2,3***). Цей ефект, ймовірно, пов'язаний зі зменшенням негативного заряду на атомі Нітрогену та позитивного на Сульфурі по відношенню до аналогічних структур[13].

Отже, прогнозована та експериментально визначена токсичність похідних (7-хлорохінолін-4-ілтіо)карбонових кислот корелює з фізико-хімічними властивостями, які обумовлюють біодоступність. Той факт, що сполуки переважно належать до малотоксичних речовин, є цікавим для їх практичного використання, оскільки значний рівень токсичності деяких лікарських та ветеринарних препаратів обмежує спектр їх подальшого впровадження в практику.

Відомий позитивний вплив 4-тіохінолінів на метаболізм, функції печінки і протекторну дію цих БАР на гепатоцити[14]. Основна функція печінки у вуглеводневому обміні полягає в забезпеченні сталості концентрації глюкози в крові. Це досягається за рахунок регуляції між синтезом і розпадом глікогену. Синтез глікогену в печінці, його регуляція аналогічні до тих процесів, що протікають в інших органах та тканинах. Цей процес забезпечує тимчасовий резерв вуглеводів, необхідний для підтримки концентрації глюкози в крові у тих випадках, коли її вміст значно зменшується.

Позитивні зміни гомеостазу глюкози викликали сполуки ***7*** та ***8***. Ми припускаємо, що вони як протектори, забезпечували цілісність клітин та підтримували їх енергетичний потенціал. Важливо, що гіпоглікемічна дія сполуки виявилась вже через 60 хвилин після її введення, що є перспективним при невідкладних станах та ускладненнях ЦД. Сполуки ***2*** та ***6*** практично не впливали на рівень глюкози в крові, а введення сполуки ***3*** взагалі призвело до зростання показника на 19,6% відносно базового рівня.

Висновки

Установлено, що гостра токсичність похідних 7-хлорохінолін-4-тіолу знаходиться в діапазоні 200-800 мг/кг, і згідно з класифікацією І. К. Сидорова вони відносяться до малотоксичних (IV клас токсичності). Це важливо для їх практичного використання, оскільки значний рівень токсичності препаратів обмежує спектр їх впровадження в практику. Розглянуто 4-тіо-7-хлорхіноліни як біорегулятори, що виявляють антигіпоглікемічну активність. Найбільш перспективним серед досліджених речовин в умовах експерименту виявлено натрій 3-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)пропаноат, який знижує на 18,1% базовий рівень глюкози і рекомендується до подальших скринінгових досліджень гіпоглікемічної дії.

Література

(1) Group, I. D. A. Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: Estimates for the year 2013. Diabetes Research and Clinical Practice **2015**, 109, 461–465. DOI:10.1016/j.diabres.2015.05.037.

(2) Balabolkin, M.I. Diabetes. 2000, 471. ISBN 5-225-04591-X.

(3) Kalapko, O. N.; Shtrygol`, S. Y.; Paponov, B. V.; and L'Vov, S. V. (2014) Acute toxicity and the hypoglycemic action of N,N´-(ethane-1,2-dyyil)bis(quinoline-2-carboxamide). Klìnìčna farmacìâ **2014**, 18, 41–45. https://doi.org/10.24959/cphj.14.1303.

(4) Kekalainen, P.; Sarlund, H.; Pyorala, K.; and Laakso, M. Hyperinsulinemia cluster predicts the development of type 2 diabetes independently of family history of diabetes. Diabetes Care **1999**, 22, 86–92. https://doi.org/10.2337/diacare.22.1.86.

(5) Shchegol, I. M. Diabetes. Nursing **2019**, 52–54. doi 10.11603/2411-1597.2019.1.9989.

(6) Barr, R. G.; Nathan, D. M.; Meigs, J. B.; Singer, D. E. Tests of Glycemia for the Diagnosis of Type 2 Diabetes Mellitus. Annals of Internal Medicine **2002**, 137, 263. https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-4-200208200-00011.

(7) Olokoba, A. B., Obateru, O. A., and Olokoba, L. B. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. Oman Medical Journal **2012**, 27, 269–273. doi: 10.5001/omj.2012.68.

(8) Clark, C. M., Fradkin, J. E., Hiss, R. G., Lorenz, R. A., Vinicor, F., and Warren-Boulton, E. Promoting Early Diagnosis and Treatment of Type 2 Diabetes. Jama **2000**, 284, 363. https://doi.org/10.1001/jama.284.3.363.

(9) Ong, K. L., Cheung, B. M., Wong, L. Y., Wat, N. M., Tan, K. C., and Lam, K. S. Prevalence, Treatment, and Control of Diagnosed Diabetes in the U.S. National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2004. Annals of Epidemiology **2008**, 18, 222–229. https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2007.10.007.

(10) Lukyanchuk, V. D. Toxicometry of drugs at the preclinical stage: state of the problem, discussion aspects (literature review). Modern problems of toxicologists **1998**, 2, 12–14. DOI 10.33273/2663-4570. ISSN 1609-0470.

(11) Zakharov, A. V., Lagunin, A. A., Filimonov, D. A., and Poroikov, V. V. Quantitative Prediction of Antitarget Interaction Profiles for Chemical Compounds. Chemical Research in Toxicology **2012**, 25, 2378–2385. https://doi.org/10.1021/tx300247r.

(12) Labenskaya, I. B., Veres, G. M Acute toxicity of N-acyl S-(2-methylchinolin-4-il) -L-cystine derivatives. Zaporizhzhya National University **2016**, 2, 168-175

(13) Brazhko, A., Zavgorodniy, M., Karpun, E., Brazhko, E., Romanenko, Y., and Bogdan, A. Chemometric methods for research of biological activity of quinoline derivatives. ScienceRise **2019**, 1, 36–42. DOI: 10.15587/2313-8416.2019.155424.

(14) Brazhko, O. A., Zavgorodniy, M. P. Modern aspects of creating of drugs based QuS-program development. LAP LAMBERT Academic Publishing. 2018.

(15) Brazhko O. A., Zavgorodniy M. P., Lagron A. V., Kornet M. M., Dobrodub I. V., Syntesis and biological activity of derivatives (2-methyl (phenyl)-6-R-quinolin-4-yl-sylfanyl) carboxylic acid. Science Review. **2018**, 7, 8-10. http://archive.ws-conference.com/synthesis-and-biological-activity-of-derivatives-2-methyl-phenyl-6-r-quinolin-4-yl-sulphanyl-carboxylic-acids/.

(16) Omelyanchik L. O., Brazhko O. A., Labenskaya I. B., Zavgorodniy M. P., Petrusha Yu. Yu. Biological activity and physicochemical properties N-acid derivatives S-(2-methylquinolin-4-yl)-L-cysteine. Zaporozhye: Zaporizhzhya National University, **2018**, 211.

(17) Zapadnyuk, I. P., Zapadnyuk, V. I., Zachariah, E. A. Laboratory animals. Breeding, keeping, use in experiment **1998**, 3, 383.

(18) Prozorovsky, V. B. Tabular express method for determining average effective measures of impact on biological objects. Toxicological Bulletin. **1998** 1, 28-32.

(19) Stefanov O. V., editor. Pre-clinical study of drugs (methodical recommendation). Kyiv: Avitsena; **2001** Ukrainian.

(20) European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe, **1986**, 123, 51. http://www.arsal.ro/wp-content/uploads/2017/02/ETS-123-1.pdf.
(21) General Ethical Principles of Animal Experiments, Endocrinology. **2003**, 8, 142-145.
(22) Sidorov, K. K. On the classification of toxicity of poisons in parenteral routes of administration. Toxicology of new industrial chemicals. **1973**, 13, 47-51.

УДК 595.42(477.64) DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-04

Ефективність дії природних акарицидів на імаго іксодових кліщів (*Ixodes ricinus*)

Воронова Н. В., Горбань В. В., Богаткіна В. А.
ORCID: 0000-0002-0186-7584;
Запорізький національний університет, Україна
180270n@gmail.com

Ключові слова:
іксодові кліщі, акарициди, репеленти, ефірні олії

Необхідність обмеження популяцій іксодових кліщів – одне з найважливіших завдань сучасної науки в напрямі пошуку більш сильних, ефективних та екологічно безпечних акарицидів. Нами досліджено хімічний склад ефірних олій *Salvia officinalis* L., *Thymus serpyllum* L. та *Pinus sylvestris* L. та їхні потенційні акарицидні властивості проти іксодових кліщів. Досліджено 730 екземплярів іксодових кліщів, зібраних стандартним методом на прапор у період із травня 2018 року по червень 2019 року в біогеоценозах Запорізької області. Результати досліджень показали акарицидну дію ефірних олій шавлії, лікарської та чабрецю повзучого. Так, LD_{50}, розрахований для ефірної олії шавлії склав 3,0% за 24 години, а для чабрецю – 1,0% за 2 години. Ефірна олія сосни звичайної виявила себе як атрактант. Зроблено припущення, що ефірні олії є перспективними як альтернативні препарати для обмеження чисельності іксодових кліщів на територіях, де склалися умови інфікування кліщовими інфекціями.

The efficacy of natural acaricide application against ixodidae (*Ixodes ricinus*)

Voronova N. V., Horban V. V., Bohatkina V. A.
Zaporizhzhia National University, Ukraine

Key words:
Ixodes ticks, acaricides, repellents, essential oils

This article presents the results of experimental studies on refined methods of controlling Ixodes tick populations via the utilization of potent and effective acaricides. In order to determine potential acaricidal properties essential oils from the *Salvia officinalis* L, *Thymus serpyllum* L., and *Pinus sylvestris* L. plants were selected. In order to extract the essential oils steam distillation was used, which takes advantage of the volatility of a compound to evaporate when heated with steam and the hydrophobicity of the compound to separate into an oil phase during condensation. The composition of the essential oils was studied by gas chromatography. The search for more potent and effective acaricides that can be used to limit populations of Ixodes ticks is one of the most important tasks of modern science. The purpose of our work was to suggest the use of new methods of eliminating or controlling the tick population in the Zaporizhzhia region. The main advantage of this new proposed method, in comparison with existing strategies, is environmental safety. Experimentation involving 730 specimens in the Zaporizhzhia region began in May, 2018 and ended in June, 2019. Through our experiments, we determined the viability of *Salvia officinalis* L and *Thymus serpyllum* L essential oils as potential acaricides. The LD 50 calculated for both essential oils was 3% in 24 hours and 1% in 2 hours, respectively. The agent used to attract the ticks was pine extract. Thus, we suppose that the implementation of these essential oils as acaricides reduce tick populations, thereby limiting the chance of contracting tick-borne diseases. Our tests demonstrate that *Salvia officinalis* L., and *Thymus serpyllum* L. are the most effective repellants amongst the rest of the examined plants. The essential oils of these plants, when used as a solvent, had a more powerful influence upon *Ixodidae*. The results indicate that essential oils could be used to counter the tick populations in areas with higher incidences of tick-borne infection.

Вступ

Хвороби, що передаються іксодовими кліщами, становлять небезпеку для здоров'я населення та тварин у всьому світі[1,2]. Швидкі глобальні зміни, з якими стикається наша планета, особливо ті, що опосередковані людиною, також впливають на екологію та епідеміологію інфекційних захворювань, включаючи кліщові захворювання[3]. Іксодіди почали активно опановувати нові екологічні ніші, й зросла можливість контакту людей з цими переносниками та ймовірність зараження їх збудниками трансмісивних інфекцій. У США, незважаючи на значні зусилля, в останні десятиліття щодо поліпшення нагляду та контролю над іксодовим кліщовим бореліозом, як і раніше, Лайм бореліоз, залишається найбільш поширеним захворюванням, що передається кліщами. За офіційними даними, щороку до центру з контролю за захворюваністю надходить інформація про 30000 випадків Лайм бореліозу (Centers for Disease Control and Prevention, CDC. 24/7. https://www.cdc.gov/lyme/stats/tables.html).

У Канаді після впровадження офіційного моніторингу за Лайм бореліозом у 2009 році кількість зареєстрованих випадків збільшилася більш ніж у десятки разів – із 144 випадків до 2025 випадків, зафіксованих у 2017 році[4].

Щодо ситуації в Європі вчені проаналізували статистичні дані щодо випадків захворюваності на Лайм бореліоз. Так, було з'ясовано, що Центральна Європа має найвищі показники випадків цієї хвороби. Так, у Словенії середні показники захворюваності складали понад 130/100000. У країнах, що межують з Україною, таких як Польща та Словаччина, ці показники були нижчими –16/100000[5].

Учені з України проаналізували епідеміологічну ситуацію щодо захворюваності на Лайм бореліоз на території України[6]. Результати досліджень виявили природні вогнища захворюваності цієї хвороби щонайменше у 8 регіонах. Білецька Г. В. та інші виявили, що основним вектором поширення збудників цієї хвороби є *Ixodes ricinus.*

У попередній публікації ми також повідомляли, що в Запорізькій області існують умови для інфікування збудниками хвороб, які переносять іксодові кліщі: Лайм бореліоз, кліщовий енцефаліт (КЕ), Крим-Конго геморагічна лихоманка, лихоманка Західного Нілу та вірус Батаї. У *I. ricinus* антиген борелій та вірусу КЕ виявлено відповідно в 6,3% та 13,3% досліджуваних особин[7].

Так, одним із наймасовіших видів іксодових кліщів на території Запорізької області є *Ixodes ricinus*[8]. Цей вид майже рівномірно розподілений і в природних, і в штучних лісових біогеоценозах зони дослідження.

Зважаючи на ці факти, обмеження чисельності іксодових кліщів є одним із найважливіших завдань ветеринарної науки та вимагає пошуку нових, екологічних та високоефективних акарицидів[9,10]. Вважається, що застосування рослинних екстрактів, окремо або в комбінації, може знизити стійкість кліщів до акаридицних продуктів[11].

Із літературних джерел відомо[12], що склад ефірних олій залежить від віку рослини, пори року та кліматичних умов, тобто умов зростання загалом. Метою нашої роботи є виявлення рослини місцевої флори та ефективні концентрації ефірних олій, які виявляють акарицидну активність щодо імаго *I. ricinus*. А також з'ясувати домінуючі сполуки компонентного складу леткої фракції ефірних олій, які можуть вважатися потенційними акарицидами.

Матеріали та методи

Об'єкт дослідження – іксодові кліщі *Ixodes ricinus* природних і штучних лісових насаджень Запорізької області. Збори імаго проводилися згідно із загальноприйнятими методиками на прапор[13]. Цей метод був нами удосконалений за методикою Rulison та ін.[14], що дозволило зібрати більшу кількість кліщів. У біогеоценозах фіксували рослини, із яких були зібрані кліщі.

У лабораторних умовах голодних кліщів зберігали в пробірках із кришкою ємністю 10 мл, у яку попередньо розміщали шматок вологого стерильного бинта. На пробірці фіксували місце збору, дату і час, проводили ідентифікацію кліщів за визначником[15].

Ефірна олія була одержана із сировини рослин, зібраних у місцях мешкання іксодових кліщів у природних і штучних біогеоценозах Запорізької області: шавлії лікарської (*Salvia officinali* L.*)*, чабрецю повзучого (*Thymus serpyllum* L.), сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.*)*, методом перегонки з водяною парою за методикою, згідно з вимогами Європейської Фармакопеї[16]. Отримані ефірні олії розводили у воді, що містила 2,0 % емульгуючого агента (СПЕН 80) у потрібних концентраціях. Розчини зберігалися до одного тижня при 4°С. Перед тим як застосовувати в експерименті, флакон енергійно струшували упродовж 2 хв.

Для розділення, ідентифікації та кількості визначених компонентів в ефірних оліях ми застосовували газову хроматографію з полуменево-іонізаційним детектором «Agilent Technology» (модель 7890), яка швидко й точно ідентифікує кількість компонентів, наявних у складних системах, що містять багато летких компонентів. Для відділення летких речовин використовували капілярну колонку з плавленого кварцу DB-WAX (внутрішній діаметр 0,25 мм, товщина плівки 0,25 мм і довжина 60 м). Програмування температури склало 65°С (10 хв), потім від 65°С до 220°С (30 хв), та витримували при 220°С упродовж 10 хв. Температуру інжектора підтримували на рівні 220°С, а як газ-носій використовували гелій зі швидкістю потоку 1,5 мл/хв та з поділом 1:100. Ідентифікацію речовин проводили за часом утримання стандартних зразків (Sigma-Aldrich).

Отримані ефірні олії чабрецю повзучого, шавлії лікарської та сосни звичайної оцінювали на предмет потенційної акарицидної активності щодо самиць імаго кліщів *Ixodes ricinus* при місцевому застосуванні, а також проводили тести щодо відповіді на дозування запахової стимуляції та оцінювали рівень смертності через 2, 5 та 24 години впливу.

Для перевірки акарицидних властивостей ефірної олії при вдиханні використовували метод, що був запропонований вченими[17], із незначними модифікаціями. Імаго кліщів розміщували в циліндричні ємності місткістю 25 мл із тампоном із собачої вовни, що був підвішений на кришці. Тампони з чотирьох ємностей замочували в різних концентраціях – 0,5%, 1%, 3%, 5% розчину ефірної олії з емульгуючим агентом, а п'яту використовували для контролю. Для підтримки відповідного рівня вологості в ємності знаходився змочений водою фільтрувальний папір.

Усі біологічні дослідження проводили в лабораторних умовах при температурі 25±1ºС при відносній вологості 65±5% та 12-годинному фотоперіоді.

Гостру токсичність основних летких компонентів встановлювали зазначеним методом розведення ефірних олій. Під час досліду враховували загальний стан і загибель кліщів. LD50 розраховували за формулою Г. Кербера[18]:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma(Z \times D)}{m},$$

де: LD 100 – доза, від якої загинули всі тварини;

Σ – символ суми;

Z – половина загальної кількості тварин, які загинули від двох наступних доз;

D – різниця числового значення двох доз, які стоять поруч;

m – кількість тварин у групі на кожну дозу.

Результати вимірювань обробляли з використанням програми PAST 3.25. Для порівняння середніх значень використовували ANOVA та двосторонній рівень значимості. Критичний рівень статистичної значимості приймався рівним 0,05. Результати спостережень описували як середнє значення ± стандартна похибка (x± se) отриманих щонайменше для десяти незалежних експериментів.

Розрахунок середньосмертельної дози проводили методом найменших квадратів із використанням регресійного аналізу.

Результати

У травні-червні 2018-2019 рр. нами було зібрано 730 екземплярів самиць кліщів *I. ricinus* у природних та штучних біогеценозах Запорізької області, на яких було вивчено акарицидні властивості ефірних олій, що були отримані з трьох видів рослин місцевої флори: *Salvia officinalis, Thymus serpyllum* та *Pinus sylvestris.*

Здатність виявляти акарицидні властивості проти імаго кліща *Ixodes ricinus* показана в таблиці 1. Різні розведення двох ефірних олій спровокували гостру токсичність при застосуванні їх до імаго кліщів. Ефірна олія чабрецю повзучого виявляє більшу акарицидну дію (дуже високий рівень смертності за короткий час), порівняно з олією шавлії лікарської, а олія сосни звичайної проявляє себе як атрактант (самиці іксодових кліщів скупчувались біля вовни, що попередньо була оброблена цією олією). За умови визначення параметрів гострої токсичності встановлено, що загибель кліщів починалася вже в перші години дії препарату. Під час спостереження за кліщами відзначали пригнічення загального стану, кліщі були менш активними.

Показники смертності LD100 спостерігалися у всіх випробуваних дозах олії чабрецю (1,0 %, 3,0 %, 5,0 %), і ця токсичність спостерігалася вже на 2 годину після початку експерименту. Отже, 1,0 % розчин ефірної олії за 24 години вже був ефективним, у наслідок чого подальше збільшення концентрації ефірної олії в препараті не мало сенсу. Ефірна олія шавлії лікарської також спровокувала рівень смертності 90 % при концентрації застосовуваних емульсій 5,0 % ефірної олії. При такому дозуванні гостра токсичність спостерігалася через 24 години після початку експерименту. Більш низькі концентрації ефірної олії шавлії були неефективними, при них смертність кліщів сягала 30 % (табл. 1).

Таблиця 1– Смертність імаго самиць іксодових кліщів *I. ricinus* від дії ефірної олії ($\bar{x} \pm SE$, n = 10)

Концентрація олії	2 години	5 годин	24 години
Контрольний дослід	0,0±0,0	0,0±0,0	2,0±2,3
Олія *Salvia officinalis*			
1%	9,7±2,9	10,0±3,1	28,7±3,6
3%	26,7±3,1	35,0±6,9	67,3±10,8
5%	29,3±3,8	48,3±5,5	82,7±9,3*
Олія *Thymus serpyllum*			
1%	50,3±6,8	73,3±11,1*	97,7±2,2*
3%	89,7±6,6*	98,7±2,4*	99,0±1,7*
5%	100±0,0*	99,7±0,0*	100±0,0*
Олія *Pinus sylvestris*			
1%	0,0±0,0	2,0±1,9	2,0±2,3
3%	0,0±0,0	2,4±1,7	2,8±1,9
5%	0,0±0,0	3,2±2,8	3,2±2,8

Примітки: * – суттєва різниця відносно до контрольного досліду ANOVA (p = <0,0001).

Кількісний вміст ефірної олії, отриманий паровою перегонкою зі свіжого рослинного матеріалу для *Salvia officinalis, Thymus serpyllum* та *Pinus sylvestris*, складав 15,5 мл/кг мл, 9,2 мл/кг та 5,8 мл/кг відповідно. Аналізом GC – FID у шавлії лікарської та в сосни звичайної ідентифіковано – 11, а в чабрецю повзучого – 10 летких компонентів. Усі досліджувані олії мають основні спільні сполуки, такі як цимен та борнілацетат у різних пропорціях, що певною мірою впливає на їхні акарицидні властивості щодо кліщів (рис. 1-3).

Ми дослідили ефірні олії на наявність 25 летких компонентів. Досліджувані компоненти ефірних олій ідентифікували в процесі хроматографії за результатами порівняння зі стандартними зразками. Олії, що виявляли більші акарицидні властивості, мали подібний склад.

Головними хімічними сполуками в шавлії лікарської (*Salvia officinalis*) виявилися: терпінен-4-ол, що складала 34,6 % від загального вмісту летких компонентів ефірної олії та камфора – 39 %, тоді як у ефірній олії чабрецю повзучого *(Thymus serpyllum)* терпінен-4-ол

складав лише 1,6 % але р-цимен та тімол мали значну перевагу 22,9 % та 29,7 % відповідно. Отже, спільними сполуками виявилися терпінен-4-ол, борніл ацетат, сабініл ацетат, альфа-терпініл ацетат та борнеол Домінуючими сполуками компонентного складу леткої фракції ефірної олії сосни звичайної, яка в наших експериментах виявила себе як атрактант, є α-пінен та карен, що складали 33,6 % та 38,7 % відповідно.

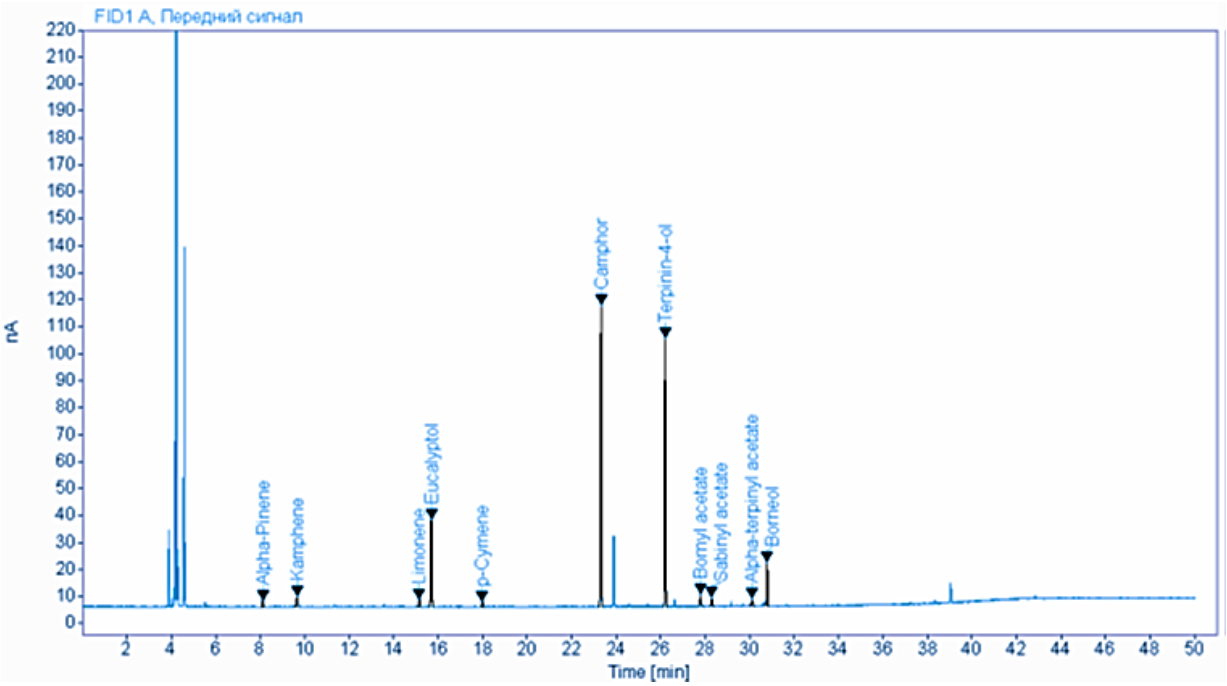


Рис. 1. Хроматограма ефірної олії *Salvia officinalis*

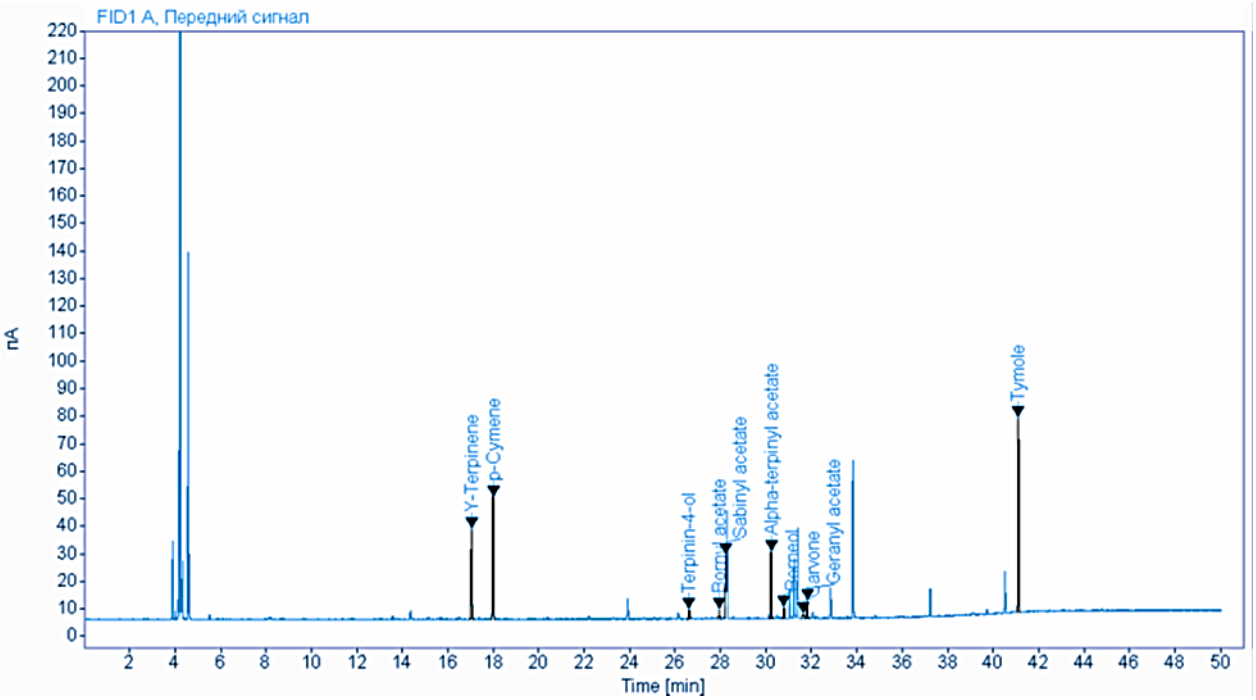


Рис. 2. Хроматограма ефірної олії *Thymus serpyllum*

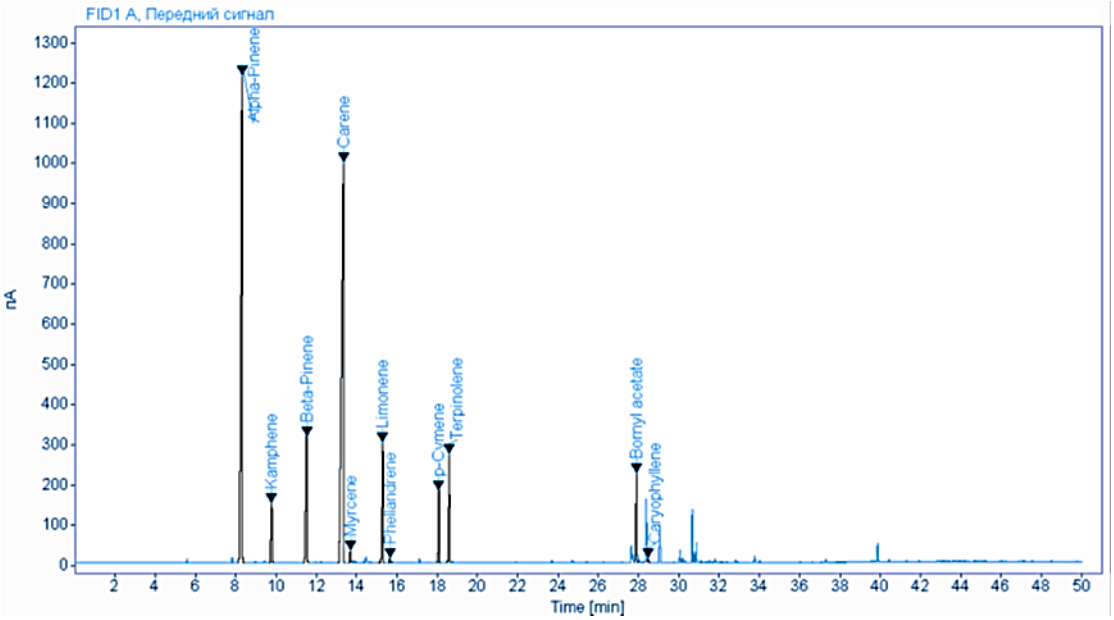


Рис. 3. Хроматограма ефірної олії *Pinus sylvestris*

Обговорення

Результати досліджень акарицидного потенціалу олій рослинного походження показали, що акарицидну дію має сполучення і концентрація біологічно активних речовин. Однак слід зазначити, для груп біологічно активних речовин із помітною акарицидною дією характерною є наявність у складі терпеноїдів – монотерпенів і сесквітерпенів.

Композиційний склад ефірних олій частково збігається з офіційними даними щодо композиційного складу олій досліджуваних рослин[16].

Але слід зазначити, що наші дослідження щодо композиційного складу *Salvia officinalis* відрізняються від попередніх досліджень[19]. Так, новим виявилося те, що домінуючими сполуками є терпінен-4-ол та камфора, тоді як у нашому дослідженні основною сполукою виявився евкаліптол. Учені Житомирського національного агроекологічного університету в публікації щодо композиційного складу *Salvia officinalis* зазначили, що в сировині, що досліджувалася в умовах ботанічного саду, виявлено 13 компонентів, із яких домінуючими виявилися такі сполуки, як ліналоол (65,877%), α-терпінеол (19,674), тимол (4,553), гераніол (3,617%), що так само відрізняється від наших результатів[20]. На нашу думку, цю відмінність частково можна пояснити часом збору сировини та екологічними відмінностями місць дослідження. Що стосується ефірної олії *Thymus serpyllum* наші дослідження підтверджують дані Віталія Кирилова та ін[21]. щодо хімічного складу. У їхніх дослідженнях основними компонентами олії виявилися тимол (5,11–58,25%), карвакрол (1,22–55,85%), р-цимен (1,28–25,46%). Компонентний склад леткої фракції ефірної олії *Pinus sylvestris* від офіційних досліджень16 відрізнявся лише відсотковим співвідношенням.

Спираючися на попередньо отримані нами дані, гіпотетично можна стверджувати, що леткі речовини, що входять до складу ефірних олій, є потенційними акарицидами[22].

Вплив ефірної олії та її окремих компонентів на іксодових кліщів уперше описано в 1992 році[23] групою авторів, якими були виявлено репелентні якості парів ацетонових екстрактів перцю духмяного, бруньок тополі, липи, осики та вільхи. Авторами Alekseev A. N.; Burenkova L. A.; Chunikhin S. P. доведено, що в парах атрактантів розвиток кліщів прискорюється, їхня маса тіла збільшується, репеленти ж чинять протилежний вплив. У наших дослідах ефірна олія сосни проявляє себе як атрактант, що підтверджує попередні

спостереження[24], у яких лісова хвоя є атрактантом для кліщів *I. ricinus*.

Що стосується сучасних досліджень акарицидних властивостей ефірних олій, то досвід закордонних учених[10], які вивчали репелентний ефект – вплив одинадцяти ефірних олій на дорослих кліщів *Dermacentor reticulatus* показав, що найбільш ефективними виявилися ефірні олії гвоздики, чабрецю повзучого та садового. Вони мали репелентні властивості на 83, 82 і 68 % кліщів при розведенні 3 % відповідно. Дані, що стосуються акарицидних та репелентних властивостей будь-яких рослинних екстрактів, або ефірної олії проти імаго Ixodes ricinus, у літературі майже відсутні, є лише кілька публікацій[25]. Дослідження щодо ефективності ефірних олій проти німфальної фази розвитку іксодових кліщів виявили позитивні результати до олії чайного дерева *(Melaleuca alternifolia Ch.)*. Крім того, дослідження вчених показали акарицидні та репелентні властивості щодо німф *I. ricinus*[17,26] таких рослин, як восковик болотний *(Myrica gale* L.*)*, багно звичайне (Rhododendron tomentosum) та полин гіркий *(Artemisia absinthium* L.*)*. Олії лаванди *(Lavandula angustifolia)* та герані *(Geranium sylvaticum)* у концентрації понад 30 % у 1,2 пропандіолі виявляють 100 % репелентні властивості щодо німф I. ricinus, які перебувають у стані пошуку хазяїна[27]. У дослідженні[9] було оцінено репелентні властивості 11 рослинних ефірних олій. Найефективнішою в лабораторному дослідженні виявилися олія *C. dioscoridis*, тому вважається, що ця рослина може бути корисним джерелом хімічних речовин для обмеження чисельності членистоногих, які мають ветеринарне значення. У дослідженнях інших учених[28] є інформація щодо акарицидних властивостей ефірних олій лівійських рослин *Salvadora persica* та *Rosmarinus officinalis*. Ефірні олії з концентрацією 0,5 мкл/мл та 1 мкл/мл в ацетоні демонстрували 20 % та 100 % смертність кліщів відповідно після 5 годин впливу.

Вивчення інсектицидних властивостей ефірних олій щодо інших кровосисних комарів та шкідників сільського господарства також є актуальним. Так, наприклад, проти комарів *Ae. aegypti*[29] – ефірної олії *Lavandula angustifolia*, проти зернових довгоносиків – *Sitophilus granarius*[30]; акарицидних властивостей летких компонентів різних ефірних олій[31].

Для України подібні дослідження є новими. У напрямі вивчення впливу ефірних олій на біологію комах-шкідників є лише кілька публікацій. Зокрема, дослідники Дніпровського університету ім. О. Гончара: Martynov V. O.; Titov O. G.; Kolombar T. M.; Brygadyrenko V. V., досліджували вплив 20 ефірних олій на міграційну активність імаго *Tribolium confusum*[32].

Отже, перспективним науковим напрямом є пошук нових натуральних репелентів щодо кровосисних членистоногих із використанням активних компонентів рослин, що зростають у своїх місцях мешкання для пошуку нових ефективних методів контролю за їх чисельністю в конкретних природних умовах.

Висновки

Ефірні олії *Salviae officinalis* L. призводили до смертності іксодових кліщів при збільшенні дози та часу утримання, а *Thymus serpyllum* L. виявляли помітну акарицидну дію й на низьких концентраціях.

У *Salviae officinalis* L. та у *Pinus sylvestris* L. ідентифіковано – 11, а у *Thymus serpyllum* L. – 10 летких компонентів, із яких виділено основні спільні сполуки, такі як цимен та борнілацетат у різних пропорціях, що, імовірно, впливає на їхні акарицидні властивості щодо іксодових кліщів.

Можна припустити, що основними хімічними сполуками ефірних олій, які виявляли акарицидну дію є терпінен-4-ол та камфора, у *Salviae officinalis* L., а у *Thymus serpyllum* L. – р-цимен та тимол.

Домінуючими сполуками компонентного складу леткої фракції ефірної олії, що виявляла себе як атрактант *(Pinus sylvestris* L.*)* є α-пінен та карен.

Результати наших досліджень можна враховувати при розробці нових репелентних препаратів та застосовувати їх як альтернативу звичайним хімічним. Для біогеоценозів Запорізької області рекомендується використання активних компонентів ефірних олій представників місцевої флори *Salviae officinalis* L. та *Thymus serpyllum* L.

Зважаючи на акарицидну активність олії чабрецю та шавлії, необхідно проведення подальших досліджень, щоб оцінити сприйнятливість кліща до цих природних продуктів у польових умовах та вивчити їхню дію на плодючість, а також їхню контактну та залишкову токсичність.

Отримані результати можуть дати нове розуміння можливого застосування ефірних олій у складі препаратів акарицидної та репелентної дії з низьким впливом на навколишнє середовище, а також здоров'я людини та тварин.

Література

(1) Marchant, A.; Le Coupanec, A.; Joly, C.; Perthame, E.; Sertour, N.; Garnier, M.; Godard, V.; Ferquel, E.; Choumet, V. Infection of Ixodes Ricinus by Borrelia Burgdorferi Sensu Lato in Peri-Urban Forests of France. *PLoS One* **2017**, *12* (8). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183543.

(2) Kowalec, M.; Szewczyk, T.; Welc-Faleciak, R.; Sinski, E.; Karbowiak, G.; Bajer, A. Rickettsiales Occurrence and Co-Occurrence in Ixodes Ricinus Ticks in Natural and Urban Areas. *Microb. Ecol.* **2019**, *77* (4), 890–904. https://doi.org/10.1007/s00248-018-1269-y.

(3) Allen, H. C.; Welliver, R. C.; Fogarty, M. W.; Gessouroun, M. E; Henry, E. D. Intravenous Immunoglobulin Therapy for Cerebral Vasculitis Associated with Rocky Mountain Spotted Fever. *J. Pediatr. INTENSIVE CARE* **2017**, *6* (2), 142–144. https://doi.org/10.1055/s-0036-1587327.

(4) Ogden, N. H.; Bouchard, C.; Badcock, J.; Drebot, M. A.; Elias, S. P.; Hatchette, T. F.; Koffi, J. K.; Leighton, P. A.; Lindsay, L. R.; Lubelczyk, C. B. et al. What Is the Real Number of Lyme Disease Cases in Canada? *BMC Public Health* **2019**, *19*. https://doi.org/10.1186/s12889-019-7219-x.

(5) Andreychyn, M.; Pańczuk, A.; Shkilna, M.; Tokarska-Rodak, M.; Korda, M.; Kozioł-Montewka, M.; Klishch, I. Epidemiological Situation of Lyme Borreliosis and Diagnosis Standards in Poland and Ukraine. *Heal. Probl. Civiliz.* **2017**, *11* (3), 190–194. https://doi.org/10.5114/hpc.2017.69020.

(6) Biletska, H.; Podavalenko, L.; Semenyshyn, O.; Lozynskyj, I.; Tarasyuk, O. Study of Lyme Borreliosis in Ukraine. *Int. J. Med. Microbiol.* **2008**, *298* (44), 154–160. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.04.004.

(7) Воронова, Н.В.; Горбань, В.В.; Лугінін, М. С. Епідеміологічне Значення Кровосисних Членистоногих Реакційних Зон Північно-Західного Приазов'я. *Вісник Запорізького державного університету. Біологічні науки* **2009**, *2*, 126–131.

(8) Воронова, Н.В.; Горбань, В.В.; Лугінін, М. С. Розподіл Іксодових Кліщів За Біогеоценозами Лісових Насаджань Запорізької Області. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки* **2011**, *1*, 17–25.

(9) El-Seedi, H. R.; Azeem, M.; Khalil, N. S.; Sakr, H. H.; Khalifa, S. A. M.; Awang, K.; Saeed, A.; Farag, M. A.; AlAjmi, M. F.; Palsson, K. . et al.; Saeed, A.; Farag, M. A.; AlAjmi, M. F.; Palsson, K.; Borg-Karlson, A.-K. Essential Oils of Aromatic Egyptian Plants Repel Nymphs of the Tick Ixodes Ricinus (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.* **2017**, *73* (1), 139–157. https://doi.org/10.1007/s10493-017-0165-3.

(10) Stefanidesova, K.; Skultety, L.; Sparagano, O. A. E. ; Špitalká E. The Repellent Efficacy of Eleven Essential Oils against Adult Dermacentor Reticulatus Ticks. *Ticks Tick. Borne. Dis.* **2017**, *8* (5), 780–786. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.06.003.

(11) Lazcano Diaz, E.; Padilla Camberos, E.; Castillo Herrera, G. A.; Estarron Espinosa, M.; Espinosa Andrews, H.; Paniagua Buelnas, N. A.; Gutierrez Ortega, A.; Martinez Velazquez, M. Development of Essential Oil-Based Phyto-Formulations to Control the Cattle Tick Rhipicephalus Microplus Using a Mixture Design Approach. *Exp. Parasitol.* **2019**, *201*, 26–33. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.008.

(12) Rashidi S.; Eikani M.; Ardjmand M. Extraction of Hyssopus Officinalis L. Essential Oil Using Instant Controlled Pressure Drop Process. *J. Chromatogr.* **2019**, *1579*, 9–19. https://doi.org/http://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.10.020.

(13) Кузнецов В. Г. К Методике Сбора и Хранения Иксодовых Клещей. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни* **1968**, *3*, 99–101.

(14) Rulison, E. L.; Kuczaj, I.; Pang, G.; Hickling, G. J.; Tsao, J. I.; Ginsberg, H. S. Flagging versus Dragging as Sampling Methods for Nymphal Ixodes Scapularis (Acari: Ixodidae). *J. Vector Ecol.* **2013**, *38* (1), 163–167. https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2013.12022.x.

(15) Ємчук Є. М. *Фауна України. Іксодові Кліщі*, Том 25.; Київ: Видавництво АН Української РСР, **1960**; pp 33-74.
(16) European Pharmacopoeia; 9.1, Ed.; **2016**; pp 285–286.
(17) Iori, A.; Grazioli, D.; Gentile, E.; Marano, G.; Salvatore, G. Acaricidal Properties of the Essential Oil of Melaleuca Alternifolia Cheel (Tea Tree Oil) against Nymphs of Ixodes Ricinus. *Vet. Parasitol.* **2005**, *129* (1–2), 173–176. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.035.
(18) Коцюмбас І. Я. Доклінічні Дослідження Ветеринарних Лікарських Засобів. *Львів Трі;* **2006**; pp 136–165.
(19) Abu Darwish, M.; Cabral, C.; Ferreira, I.; Gonçalves, M.; Cavaleiro, C.; Cruz, M.; Al-Bdour, T.; Salgueiro, L. Essential Oil of Common Sage (Salvia Officinalis L.) from Jordan: Assessment of Safety in Mammalian Cells and Its Antifungal and Anti-Inflammatory Potential. *Biomed Res. Int.* **2013**, *2013*, 538940. https://doi.org/10.1155/2013/538940.
(20) Котюк Л. А., Рахметов Р. Д. Біологічно Активні Речовини Salvia Officinalis L. та Salvia Sclarea L. при Зростанні в Умовах Ботанічного Саду ЖНАЕУ. *Ботанічні сади проблеми інтродукції та збереження рослинного різноманіття матеріали Всеукр. наук. конф., 10–11 жовт. 2013 р* **2013**, 84–89.
(21) Kirillov, V.; Stikhareva, T.; Mukanov, B.; Chebotko, N.; Ryazantsev, O.; Atazhanova, G.; Adekenov, S. Composition of the Essential Oil of Thymus Serpyllum L. from Northern Kazakhstan. *J. Essent. Oil Bear. Plants* **2016**, *19* (1), 212–222. https://doi.org/10.1080/0972060X.2015.1010600.
(22) Voronova N.V.; Gorban V.V.; Bogatkina V.A.; Lyginin N. S. Investigation and Detection of New Methods of Controlling and Abolition the Ticks in Urbanized Landscapes of Zaporozhzhya Region; Sciences, T. N. E. C. on B. and M., Ed.; The Ninth European Conference on Biology and Medical Sciences, **2016**; pp 109–111.
(23) Alekseev, A.N.; Burenkova, L.A.; Chunikhin, S. Plant Odors as Determinants of Behaviour and Development Rate of Ixodids, Vector of Diseases. *Parazitologiya* **1992**, *26* (1), 20–32.
(24) Оленев Н. О. Новые Данные о Влиянии Фитонцидов Высших Растений На Паразитических Клещей и Насекомых. *ДАН СССР*. **1950**, *75*, 149–151.
(25) Kulma, M.; Bubová, T.; Kopecký, O.; Rettich, F. Lavender, Eucalyptus, and Orange Essential Oils as Repellents against Ixodes Ricinus Females. *Sci. Agric. Bohem.* **2017**, *48*, 76–81. https://doi.org/10.1515/sab-2017-001.
(26) Jaenson, T. G. T.; Palsson, K.; Borg-Karlson, A. K. Evaluation of Extracts and Oils of Tick-Repellent Plants from Sweden. *Med. Vet. Entomol.* **2005**, *19* (4), 345–352. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00578.x.
(27) Jaenson, T.; Carboui, S.; Palsson, K. Repellency of Oils of Lemon Eucalyptus, Geranium, and Lavender and the Mosquito Repellent MyggA Natural to Ixodes Ricinus (Acari : Ixodidae) in the Laboratory and Field. *J. Med. Entomol.* **2006**, *43* (4), 731–736. https://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)43{[}731:ROOOLE]2.0.CO;2.
(28) Elmhalli, F.; Garboui, S. S.; Borg-Karlson, A.-K.; Mozuraitis, R.; Baldauf, S. L.; Grandi, G. The Repellency and Toxicity Effects of Essential Oils from the Libyan Plants Salvadora Persica and Rosmarinus Officinalis against Nymphs of Ixodes Ricinus. *Exp. Appl. Acarol.* **2019**, *77* (4), 585–599. https://doi.org/10.1007/s10493-019-00373-5.
(29) Rios, N.; Stashenko, E. E.; Duque, J. E. Evaluation of the Insecticidal Activity of Essential Oils and Their Mixtures against Aedes Aegypti (Diptera: Culicidae). *Rev. Bras. Entomol.* **2017**, *61* (4), 307–311. https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.08.005.
(30) Germinara, G. S.; Di Stefano, M. G.; De Acutis, L.; Pati, S.; Delfine, S.; De Cristofaro, A.; Rotundo, G. Bioactivities of Lavandula Angustifolia Essential Oil against the Stored Grain Pest Sitophilus Granarius. *Bull. Insectology* **2017**, *70* (1), 129–138.
(31) de Monteiro, C. M.; Maturano, R.; Daemon, E.; Aragao Catunda-Junior, F. E.; Calmon, F.; Senra, T. de S.; Faza, A.; de Carvalho, M. G. Acaricidal Activity of Eugenol on Rhipicephalus Microplus (Acari: Ixodidae) and Dermacentor Nitens (Acari: Ixodidae) Larvae. *Parasitol. Res.* **2012**, *111* (3), 1295–1300. https://doi.org/10.1007/s00436-012-2964-0.
(32) Martynov, V. O.; Titov, O. G.; Kolombar, T. M.; Brygadyrenko, V. V. Influence of Essential Oils of Plants on the Migration Activity of Tribolium Confusum (Coleoptera, Tenebrionidae). *Biosyst. Divers.* **2019**, *27* (2), 177–185. https://doi.org/10.15421/011924.

УДК 598.2 (477.46) DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-05

Зимівля водно-болотних птахів у районі Дніпровської гідроелектростанції у 2015 – 2019 роках

Козодавов С. В.
Національний заповідник «Хортиця», Україна
kozodavov@ukr.net

Ключові слова:
зимуюче угруповання птахів, видовий склад, Дніпровська гідроелектростанція, нижній б'єф, середньозимові обліки

Моніторинг орнітофауни в місцях масової зимівлі водоплавних птахів на внутрішніх водоймах України є важливою складовою заходів із збереження вразливих видів птахів та видового різноманіття взагалі. Досліджені видовий склад та чисельність водно-болотних птахів у районі Дніпровської гідроелектростанції (47,856 N, 35,073 E) у зимові періоди 2015 – 2019 рр. Загалом обраховано 77741 особину водно-болотних та хижих птахів, що відносяться до 26-ти видів, 8-ми родин та 7-ми рядів. Обліки птахів проводилися щорічно в грудні та січні, шляхом візуального обстеження акваторії та узбережжя р. Дніпро від греблі гідроелектростанції до мостових переходів через р. Дніпро у межах м. Запоріжжя. За період досліджень до зимуючих угруповань входили від 12 до 18 видів птахів. Чисельність птахів коливалася від 5318 до 17072 особин. У січні 2016 та 2017 рр., з сильними морозами та стійким льодоставом, *Mergus merganser* був абсолютним домінантом зимуючих угруповань. У ці роки індекс концентрації домінування був найбільшим та складав 0,49. У зимовий період 2017/18–2018/19 рр. із більш м'яким температурним режимом домінував *Larus canus*, субдомінантом був *Larus cachinnans*. Індекс концентрації домінування був найменшим – 0,22. На зимівлі було зареєстровано 4 види птахів з охоронним статусом. Їх частка в угрупованнях не перевищувала 0,5 %. Зимуючі угруповання у 2008/2009 рр. найбільш подібні за видовим складом до угруповань 2016/17 рр. (**C_S**=0,74). Із врахуванням частки участі кожного виду зимуючі угруповання 2008/2009 рр. найбільш подібні до угруповань 2015/16 рр. (**C_N**=0,73).

Wintering of waterbirds in the area of Dnieper hydroelectric power station in 2015 – 2019

Kozodavov S. V.
Khortytsia National Reserve, Ukraine

Key words:
wintering bird community, species composition, Dnieper River hydroelectric power station, lower reaches, midwinter counts

Monitoring of ornithofauna in wintering areas of waterbirds is an important component of the vulnerable bird species conservation and species diversity as a whole. The environmental conditions are favorable for wintering of waterbirds in the lower tail of the Dnieper River hydroelectric power station (HES) that determines the mass concentration of birds in this area. The species composition and abundance of waterbirds were studied at the Dnieper River HES (47.856N, 35.073E) during winters of 2015-2019. In total 77,741 individuals of waterbirds of 26 species, 8 families and 7 orders were counted. Bird counts were conducted in December and January. The water area and coast of the Dnieper River were inspected visually from the dam of HES to the bridge across the Dnieper River in the city of Zaporizhzhia. During the research period, 12 to 18 waterbirds species were found in the wintering bird communities. The number of birds in communities ranged from 5318 to 17072 individuals. *Mergus merganser* was an absolute dominant of winter communities in January of 2016 and 2017, years with prolonged frosts and persistent ice formation. The index of concentration of dominance was the highest in those years (0,49). In winters of 2017/2018–2018/2019 the temperature regime was milder, and the dominant species was *Larus canus*. The subdominant species was *Larus cachinnans*. The index of concentration of domination was then the lowest, 0,22. The ratio of birds of protected species in

wintering bird communities did not exceed 0.5 % in the Dnieper River HES area in winters of 2015/2016–2018/2019. Winter communities of 2008-2009 were most similar to those observed in 2016-2017 (CS = 0,74). By the ratios of each species the winter communities of 2008/2009 years were the most similar to the communities of 2015/16 (CN = 0,73).

Вступ

Моніторинг місць масової зимівлі водоплавних та навколоводних птахів на внутрішніх водоймах України є важливою складовою заходів для збереження вразливих видів та видового різноманіття в умовах антропогенної трансформації екосистем та кліматичних змін[1].

Для збору інформації про видове різноманіття та сезонну чисельність гідрофільних птахів на території водно-болотних угідь в Україні з 90-х рр. XX ст. щорічно проводиться моніторинг зимуючих водно-болотних птахів у межах міжнародної програми International Waterbird Census (IWC).

На півдні України систематичні обліки птахів у зимовий період проводяться під керівництвом Азово-Чорноморської міжвідомчої орнітологічної станції та публікуються у Бюлетенях регіонального орнітологічного моніторингу[2–4]. У межах Дніпровського екологічного коридору систематичні обліки зимуючих птахів проводяться на Київському[5,6], Канівському[7–9], Кременчуцькому[10], Середньодніпровському[11] водосховищах.

На Каховському водосховищі відомим місцем масової зимівлі водно-болотних птахів є стави-охолоджувачі Запорізької атомної електростанції з прилеглою акваторією водосховища[1]. Перспективним для зимівлі водоплавних птахів також є район Дніпровської гідроелектростанції (ГЕС). Акваторія, що не замерзає навіть у сильні морози незначне турбування з боку людини внаслідок функціонування охоронного режиму та наявність кормової бази стали сприятливими факторами для утворення нових зимуючих скупчень водно-болотних птахів у нижньому б’єфі Дніпровської ГЕС.

Дослідження зимуючої орнітофауни в нижньому б’єфі Дніпровської ГЕС проводилися з 1993 р., але не носили системного характеру, а отримані дані є фрагментованими та неповними. Так, В. І. Петроченко вказує на осілий та зимуючий статус деяких гідрофільних видів птахів на території Північно-Хортицького архіпелагу, але не приводить даних щодо їх чисельності на зимівлі[12,13]. Г. Г. Довгополий відмічає на зимівлі в районі о. Хортиця лише 5 видів гідрофільних птахів[14], що можливо, не відображає реальної ситуації. Ретроспективні дані по зимівлі деяких рідкісних видів гідрофільних птахів у акваторії р. Дніпро на території Запорізької області до 2008 р. наведені в працях О. М. Гудини[15,16]. Більш повні дані про зимуючих птахів у районі Дніпровської ГЕС з’являються у 2008/09 рр. під час перших обліків птахів у межах програми IWC[17]. За матеріалами інвентаризації фауни Національного заповідника «Хортиця», було відмічене 12 видів водно-болотних птахів[18], але дані щодо чисельності видів не наводяться. Із 12 описаних зимуючих видів 2 занесені до Європейського Червоного списку, 2 – до Резолюції №6 Бернської конвенції, 3 – до Червоної книги України[19]. Дані про чисельність видів з охоронним статусом на зимівлі в районі Дніпровської ГЕС наводяться лише за зимовий період 2008/09 рр[17].

Моніторинг зимуючої орнітофауни в районі Дніпровської ГЕС є дуже важливим у світлі кліматичних змін останніх десятиліть, які викликають перерозподіл видового складу і чисельності гідрофільних птахів на основних місцях зимівлі у межах України та утворення нових місць зимівлі. Включення у 2016 р. акваторії Каховського та Дніпровського водосховищ до Смарагдової мережі Європи зумовлює важливість моніторингу видів птахів, занесених до Резолюції № 6 Бернської конвенції, у межах заходів для управління цими об'єктами.

Мета роботи – дослідження видового різноманіття та чисельність зимуючих водно-болотних птахів у районі Дніпровської ГЕС впродовж 2015 – 2019 рр.

У результаті досліджень уперше отримано повні дані про видовий склад та динаміку чисельності зимуючих гідрофільних птахів у районі Дніпровської ГЕС протягом 4-х зимових сезонів поспіль. Результати обліків будуть використані при створенні плану управління об'єктом Смарагдової мережі «Каховське водосховище» та планів природоохоронних заходів по збереженню тваринного світу на території Національного заповідника «Хортиця». Інформація про терміни формування та існування масових зимівель водно-болотних птахів у районі Північно-Хортицького архіпелагу дозволить природоохоронним підрозділам Національного заповідника «Хортиця» вживати ефективних цільових заходів для зменшення можливого антропогенного впливу на зимуючих птахів.

Матеріал та методи

Обліки водно-болотних птахів проводилися протягом зимових періодів 2015 – 2019 рр. у районі Дніпровської ГЕС (м. Запоріжжя). Проведено 12 обліків. На 9 точках проводилися тривалі спостереження за окремими видами птахів. Загалом обраховано 77741 особину водно-болотних та хижих птахів, що відносяться до 26-ти видів, 8-ми родин та 7-ми рядів.

Обліки охопили акваторію та узбережжя р. Дніпро від греблі Дніпровської ГЕС до мостових переходів через р. Дніпро в межах м. Запоріжжя (47,856 N, 35,073 E), загальною площею 400 га (рис. 1). Межі облікового майданчика включають ділянки акваторії р. Дніпро в нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС, що не замерзають. Обліки охоплюють також частину верхнього б'єфу ГЕС, на якій відбуваються масові ночівлі та денні скупчення птахів родини Laridae у зимовий період.

У нижньому б’єфі Дніпровської ГЕС русло р. Дніпро поділяється островом Хортиця на два рукави – Новий та Старий Дніпро. Ділянка русла Нового Дніпра вздовж східного узбережжя о. Хортиця має протяжність 2,8 км, площу 200 га та ширину від 400 до 1100 м.

На цій ділянці акваторії розташований Північно-Хортицький архіпелаг з понад 30 малих островів та скель, сформованих нижньоархейськими породами Українського кристалічного щита. Навколо архіпелагу знаходяться мілководдя площею приблизно 90 га з глибинами у зимовий період до 1,5 м. На іншій частині акваторії Нового Дніпра глибини коливаються від 1,5 до 7 м. Ділянка русла Старого Дніпра вздовж північного та західного узбережь о. Хортиця має протяжність 6,4 км, площу 198 га та ширину від 120 до 530 м. Характеризується постійною течією, глибинами від 2 до 21 м, обривистими скелястими берегами[20].

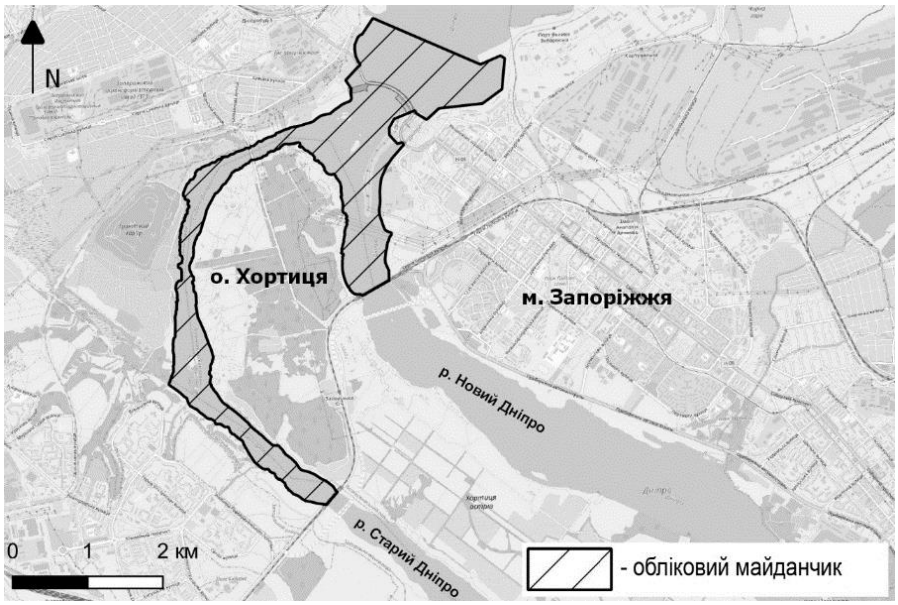


Рис. 1. Карта-схема облікового майданчика «Нижній б’єф Дніпровської ГЕС».

Розташування греблі Дніпровської ГЕС у центрі індустріального м. Запоріжжя призводить до формування взимку в нижньому б'єфі мікроклімату з температурами на 2-3 °С вищими, ніж поза межами міста. Гребля висотою 60 м захищає акваторію нижнього б'єфу від холодних північних вітрів. Острів Хортиця та найбільші острови Північно-Хортицького архіпелагу охороняються державою, вони входять до складу Національного заповідника «Хортиця» (Заповідник) та загальногеологічного заказника загальнодержавного значення «Дніпровські пороги» (Заказник). Навколо островів установлено 50 метрова охоронна зона, де заборонено полювання, рибальство, причалювання до островів та рух плавзасобів[21]. Охоронна зона гідроелектростанції патрулюється воєнізованою охороною, що є ефективним захистом прилеглої до греблі ГЕС частини акваторії р. Дніпро. Охоронний режим та закриття навігації в зимовий період мінімізують дію фактора турботи на птахів. Мілководдя навколо Північно-Хортицького архіпелагу мають значні ресурси підводної рослинності, водних молюсків та риби для годування птахів.

Об'єктом дослідження були зимуючі птахи – представники родин Podicipedidae, Phalacrocoracidae, Ardeidae, Anatidae, Laridae, а також родин Accipitridae та Falconidae, життя яких у зимовий період пов'язане з водоймами.

Середньозимові обліки в межах програми IWC проводилися щорічно, протягом одного дня з найбільш сприятливими для спостереження погодними умовами у період з 15 по 24 січня. Для відстеження динаміки зимуючих угруповань птахів проводилися додаткові обліки протягом зимового періоду.

Усі обліки проводилися за загальноприйнятою методикою IWC, адаптованою до використання в Україні науковцями Азово-Чорноморської орнітологічної станції[3]. Застосовувався метод абсолютного обліку птахів, шляхом візуального обстеження акваторії та узбережжя р. Дніпро на автомобілі та пішки із зупинками в точках спостереження, зручних для огляду. Використовувалися біноклі, кратністю 8-12×, та підзорна труба KonusSpot-80, кратністю 20-60×. Для підвищення точності обліку птахів у скупченнях проводилася фотозйомка з подальшим підрахунком чисельності птахів за фотографіями.

Як систематико-номенклатурна основа в роботі прийняте зведення Л. С. Степаняна[22]. Класифікація домінування по чисельності здійснена за шкалою Любарського[23]. Подібність угруповань розраховувалася за якісним коефіцієнтом Сьоренсона (C_S) та кількісним коефіцієнтом Сьоренсона (C_N)[24]. Для характеристики різноманітності угруповань зимуючих птахів розраховувалися індекси Шеннона (H'), Сімпсона (D) та вирівняність (E)[24]. Розрахунок індекса Шеннона проводився за натуральним логарифмом.

Відомості про погодні умови отримані з сайту http://rp5.ua по метеостанції аеропорту м. Запоріжжя, а також з архіву даних за 2015-2019 рр. Льодова обстановка на водосховищах оцінювалася методом візуального аналізу даних дистанційного зондування землі, отриманих супутниками Sentinell 2 та Landsat 8. Супутникові знімки переглядалися на сайті Earth Observing System (https://eos.com).

Результати

Зима 2015/16 рр.

Зима 2015/2016 рр. характеризується морозами до -20,5 °С наприкінці грудня та січні. Лютий був найтеплішим, із середньодобовою температурою +2,4°С (табл. 1). Льодовий покрив на Каховському та Дніпровському водосховищах сформувався лише на початку січня, але вже в другій декаді січня крига займала 95 % площі водосховищ. Відкриті ділянки води залишилися вздовж о. Хортиця та фрагментарно в прирусловій частині водосховищ.

Таблиця 1 – Температурні показники зимового періоду 2015/16 рр. за декадами

Показники температури	Температура, °С								
	І дек. грудня	ІІ дек. грудня	ІІІ дек. грудня	І дек. січня	ІІ дек. січня	ІІІ дек. січня	І дек. лютого	ІІ дек. лютого	ІІІ дек. лютого
Середньодобова	+2,1	0,0	+0,6	-8,8	-0,5	-5,9	+0,7	+3,0	+3,6
Мінімальна	-4,1	-6,9	-14,8	-20,5	-9,6	-19,1	-5,6	-5,4	-6,5
Максимальна	+8,1	+6,8	+10,4	+2,3	+7,0	+4,5	+6,4	+16,2	+11,9

Протягом зими на майданчику проведено середньозимовий облік 24 січня, та 2 додаткові обліки 8 грудня та 4 січня (табл. 2). Основу угруповання склали *Phalacrocorax carbo* (Linnaeus, 1758) з часткою 31,9 %, *Larus canus* (Linnaeus, 1758) – 30,5 % та *Larus cachinnans* (Pallas, 1811) – 20,7 %.

Облік 04 січня припав на похолодання до -21°С та формування льодового покриву на водосховищах. У цих умовах у нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС формується зимуюче угруповання птахів із домінуванням *Mergus merganser* Linnaeus, 1758 (до 62 %). Другорядними видами були *Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758 – (15 %) та *Larus canus* – (10,7 %). У січні також з'явилися поодинокі особини *Mergus albellus* Linnaeus, 1758, *Mergus serrator* Linnaeus, 1758, *Bucephala clangula* (Linnaeus, 1758). Слід відзначити різке зниження чисельності *Phalacrocorax carbo* в 6 разів порівняно з груднем, що, ймовірно, пов’язано з сезонними кочівлями виду в межах нижнього Дніпра.

Таблиця 2 – Результати обліків водно-болотних птахів у зимовий період 2015/16 рр. на майданчику «Нижній б'єф Дніпровської ГЕС».

Латинська назва виду	Дата обліку					
	08.12.2015		04.01.2016		24.01.2016	
	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %
Phalacrocorax carbo	563	31,9	90	1,69	101	2,22
Cygnus olor (Gmelin, 1789)	-	0	-	0	2	0,04
Anas platyrhynchos	55	3,12	800	15,04	400	8,79
Aythya fuligula (Linnaeus, 1758)	3	0,17	4	0,08	80	1,76
Bucephala clangula	-	0	10	0,19	-	0
Mergus albellus	-	0	1	0,02	11	0,24
Mergus serrator	-	0	5	0,09	-	0
Mergus merganser	17	0,96	3300	62,05	3600	79,1
Haliaetus albicilla (Linnaeus, 1758)	-	0	1	0,02	4	0,09
Fulica atra Linnaeus, 1758	85	4,82	100	1,88	16	0,36
Larus ridibundus	48	2,73	30	0,56	10	0,23
Larus cachinnans	365	20,7	297	5,58	150	3,3
Larus canus	537	30,5	570	10,72	120	2,65
Larus spp.	90	5,1	110	2,08	55	1,22
Всього обліковано птахів	1763	100	5318	100	4549	100
Всього видів	8		12		11	
Індекс Шеннона (***H'***)	1,61		1,26		0,87	
Індекс Сімпсона (*D*)	0,24		0,42		0,64	
Вирівняність (*E*)	0,76		0,51		0,36	

24 січня, порівняно з початком місяця, значно підвищилася чисельність *Mergus merganser* – на 17 %. Водночас удвічі скоротилася чисельність *Anas platyrhynchos*. Частка птахів родини Laridae у зимуючому угрупованні скоротилася з 19 % до 7,8 % порівняно з початком січня.

Зима 2016/17 рр.

Зима 2016/2017 рр. була найхолоднішою за період досліджень. Морози почалися в третій декаді листопада та тривали до середини другої декади лютого (табл. 3). У результаті переважання від'ємних температур із регулярними похолоданнями до -14 °С льодовий покрив на водосховищах сформувався усередині грудня та тримався до березня 2017 р. У січні-лютому від криги були вільними близько 340 га русла Дніпра в нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС вздовж узбережжя о. Хортиця.

Таблиця 3 – Температурні показники зимового періоду 2016/17 рр. по декадах

Показники температури	Температура, °С								
	І дек. грудня	ІІ дек. грудня	ІІІ дек. грудня	І дек. січня	ІІ дек. січня	ІІІ дек. січня	І дек. лютого	ІІ дек. лютого	ІІІ дек. лютого
Середньодобова	-2,8	-3,8	-3,1	-2,5	-3,6	-7,8	-6,7	-3,8	+2,3
Мінімальна	-14,5	-14,9	-12,3	-10,3	-14,8	-19,8	-18,3	-14,0	-2,2
Максимальна	+5,0	+6,0	+1,6	+1,2	+2,6	+0,9	+2,5	+4,6	+10,5

Протягом зими на майданчику проведено середньозимовий облік 20 січня та 2 додаткові обліки 16 грудня та 10 лютого. Під час обліку 16 грудня було зареєстровано 16 видів водно-болотних птахів загальною чисельністю 3158 ос. (табл. 4). Найбільш чисельним був *Larus ridibundus* – 29,7 % угруповання. Загалом птахи родини Laridae склали 78 % чисельності угруповань.

Середньозимовий облік 20 січня пройшов в умовах тривалих морозів та льодоставу на 98 % площі Каховського, Дніпровського водосховищ та русла р. Дніпро. Тому на відкритих ділянках води в нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС сформувалося зимуюче угруповання з максимальною чисельністю птахів за весь період спостережень – 17072 особини, яке включало 15 видів (табл. 4).

Таблиця 4 – Результати обліків водно-болотних птахів у зимовий період 2016/17 рр. На майданчику «Нижній б'єф Дніпровської ГЕС»

Латинська назва виду	Дата обліку					
	16.12		20.01		10.02	
	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %
Podiceps cristatus (Linnaeus, 1758)	16	0,51	8	0,047	-	0
Phalacrocorax carbo	304	9,63	350	2,05	440	4,26
Egretta alba (Linnaeus, 1758)	1	0,032	-	0	-	0
Ardea cinerea Linnaeus, 1758	5	0,158	-	0	-	0
Cygnus olor	6	0,19	3	0,018	-	0
Anas platyrhynchos	258	8,17	650	3,8	510	4,94
Aythya ferina (Linnaeus, 1758)	5	0,158	2	0,012	-	0
Aythya fuligula	25	0,79	120	0,7	75	0,73
Aythya marila (Linnaeus, 1761)	2	0,063	-	0	-	0
Clangula hyemalis	-	0	3	0,018	-	0
Bucephala clangula	3	0,095	13	0,08	5	0,05
Mergus albellus	-	0	6	0,036	-	0
Mergus merganser	19	0,6	11040	64,67	5280	51,1
Haliaetus albicilla	2	0,063	2	0,012	1	0,01
Fulica atra	47	1,49	414	2,43	262	2,54
Larus ridibundus	940	29,77	380	2,23	110	1,06
Larus cachinnans	755	23,91	641	3,75	720	6,97
Larus canus	620	19,63	3130	18,33	2735	26,4
Larus spp.	150	4,75	310	1,82	200	1,94
Всього обліковано птахів	3158	100	17072	100	10333	100
Всього видів	16		15		10	
Індекс Шеннона (***H'***)	1,81		1,22		1,42	
Індекс Сімпсона (*D*)	0,20		0,46		0,34	
Вирівняність (*E*)	0,65		0,45		0,62	

Абсолютним домінантом був *Mergus merganser* (64,7 %), субдомінантом – *Larus canus* (18 %). 6 січня у верхньому б'єфі Дніпровської ГЕС виявлено новий вид для м. Запоріжжя – 3 особини *Clangula hyemalis* (Linnaeus, 1758). 20 січня птахів спостерігали біля східного узбережжя о. Дубовий на території Заповідника.

Облік 10.02.2017 р. показав скорочення чисельності *Mergus merganser* та *Fulica atra* вдвічі. Чисельність *Larus ridibundus* скоротилася в 4 рази. Імовірно, частина угруповання, під впливом сильних морозів, виснаження кормової бази та недоступності кормів, відкочувала далі на південь.

Зима 2017/18 рр.

Перша половина зими 2017/2018 рр. була аномально теплою з температурами до +12°С. Нетривале похолодання до -16 С відбулося лише в третій декаді січня (табл. 5). Льодовий покрив на Каховському водосховищі зимою 2017/18 рр. сформувався у середині січня, а на прируслових ділянках льодоставу не відбулося. 01 лютого 2018 р. льодовий покрив займав до 70 % акваторії у верхів'ї Каховського водосховища, повністю замерзли мілководні ділянки.

Таблиця 5 – Температурні показники зимового періоду 2017/18 рр. по декадамх

Показники температури	Температура, °С								
	І дек. грудня	ІІ дек. грудня	ІІІ дек. грудня	І дек. січня	ІІ дек. січня	ІІІ дек. січня	І дек. лютого	ІІ дек. лютого	ІІІ дек. лютого
Середньодобова	+4,4	+5,8	+3,4	+1,9	-3,7	-5,2	+1,3	-1,1	-6,1
Мінімальна	-2,2	-2,4	-3,3	-5,7	-13,2	-15,7	-5,5	-6,1	-13,9
Максимальна	+11,5	+11,2	+12,1	+8,2	+4,9	+2,8	+9,4	+3,6	-0,7

Протягом зими на майданчику проведено середньозимовий облік 24 січня, та 2 додаткові обліки 19 грудня та 9 січня. Під час обліку 19 грудня було зареєстровано 16 видів водно-болотних птахів загальною чисельністю 2388 ос. (табл. 6). Птахи родини Laridae складали 81 % угруповання. Домінував *Larus cachinnans* з часткою 38 %. На верхньому б'єфі ГЕС зареєстровано 18 ос. *Podiceps nigricollis* C. L. Brehm, 1831 та 3 ос. *Podiceps grisegena* (Boddaert, 1783), які з'явилися у третій декаді жовтня; 19 грудня зареєстровано 2 ос. *Cygnus cygnus* (Linnaeus, 1758), які летіли вздовж русла Дніпра у південному напрямку.

Середньозимовий облік 24 січня проведено в період найбільшого похолодання до -16°С. Формування зимуючого угруповання птахів проходило в першій половині січня; 9 січня частка *Mergus merganser* збільшилася з 0,9 % до 7,8 %, з'явилися перші *Mergus albellus* та *Bucephala clangula*. Порівняно з груднем чисельність мартинів збільшилася в 3 рази (5230 ос.). Усього обраховано 18 видів птахів загальною чисельністю 10785 ос. (табл. 6).

У січні 2018 р. зареєстровано максимальну чисельність видів родини *Laridae* за весь період спостережень – 8205 ос., що склало 76 % зимуючого угруповання, домінантом був *Larus canus* (41 %). Чисельність *Mergus merganser* була значно меншою порівняно із зимами попередніх 2-х років – лише 14,8 % угруповання.

У 2017/18 рр. підтверджено зимівлю в районі Дніпровської ГЕС *Podiceps nigricollis* – 18 ос., *Podiceps grisegena* – 3 ос., *Cygnus olor* – 6 ос., а 3 січня 2018 р. було зареєстровано *Rufibrenta ruficollis* (Pallas, 1769) – 72 ос., що летіли зі сходу на захід над Дніпром та північною частиною о. Хортиця. 24 січня в районі ГЕС спостерігалася 1 ос. *Falco peregrinus*; 01.02.2018 р. уздовж східного узбережжя о. Хортиця спостерігалося *Haliaetus albicilla* – 12 ос.

Таблиця 6 – Результати обліків водно-болотних птахів у зимовий період 2017/18 рр. на майданчику «Нижній бєєф Дніпровської ГЕС»

Латинська назва виду	Дата обліку					
	19.12		09.01		24.01	
	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %	Чисель-ність, особин	Частка в угрупо-ванні, %
Podiceps nigricollis	18	0,75	18	0,28	15	0,14
Podicep grisegena	3	0,126	3	0,046	2	0,019
Podiceps cristatus	19	0,8	8	0,122	13	0,12
Phalacrocorax carbo	214	8,96	330	5,04	405	3,76
Egretta alba	3	0,126	9	0,138	-	0
Ardea cinerea	-	0	1	0,015	1	0,009
Cygnus olor	9	0,38	-	0	6	0,056
Cygnus cygnus	2	0,084	-	0	-	0
Anas platyrhynchos	147	6,16	294	4,49	337	3,13
Aythya ferina	6	0,25	-	0	2	0,019
Aythya fuligula	15	0,63	1	0,015	3	0,028
Bucephala clangula	-	0	5	0,076	8	0,074
Mergus albellus	-	0	14	0,21	14	0,13
Mergus merganser	22	0,92	515	7,87	1600	14,84
Haliaetus albicilla	5	0,21	-	0	9	0,083
Falco peregrinus Tunstall, 1771	-	0	-	0	1	0,009
Fulica atra	95	3,98	116	1,77	164	1,52
Larus ridibundus	260	10,89	1000	15,28	2200	20,4
Larus cachinnans	920	38,53	1290	19,71	2450	22,72
Larus canus	500	20,94	2710	41,41	3035	28,14
Larus spp.	150	6,28	230	3,52	520	4,82
Всього обліковано птахів	2388	100	6544	100	10785	100
Всього видів	16		15		18	
Індекс Шеннона (***H'***)	1,85		1,7		1,79	
Індекс Сімпсона (*D*)	0,22		0,25		0,2	
Вирівняність (*E*)	0,67		0,63		0,62	

Зима 2018/19 рр.

Зима 2018/2019 рр. минула без різких коливань температури та сильних морозів. (табл. 7). Похолодання змінювалися відлигами, у результаті чого льодовий покрив на Каховському та Дніпровському водосховищах сформувався наприкінці грудня та був нестабільним. Як і в попередню зиму, є різке похолодання у третій декаді лютого. Станом на 20.01.2019 р. льодом було вкрито близько 70 % площі акваторії Каховського водосховища та близько 90 % площі Дніпровського водосховища.

Таблиця 7 – Температурні показники зимового періоду 2018/19 рр. по декадах

Показники температури	Температура, °С								
	І дек. грудня	ІІ дек. грудня	ІІІ дек. грудня	І дек. січня	ІІ дек. січня	ІІІ дек. січня	І дек. лютого	ІІ дек. лютого	ІІІ дек. лютого
Середньодобова	-0,7	-1,1	-0,8	-3,7	-1,6	-1,7	+0,9	+1,3	-1,4
Мінімальна	-10,1	-5,4	-4,8	-12,0	-8,8	-10,0	-2,6	-6,1	-11,6
Максимальна	+4,6	+3,3	+5,8	+1,9	+3,8	+7,3	+9,5	+9,9	+6,3

У зимовий період на майданчику «Нижній б'єф Дніпровської ГЕС» проведено середньозимовий облік 16 січня, та 2 додаткові обліки 19 грудня та 28 січня. 19 грудня було зареєстровано 3828 ос., що відносилися до 17 видів водно-болотних птахів (табл. 8). Субдомінантами були *Larus canus* – 30,3 % угруповання, *Larus cachinnans* – 23 % та *Anas platyrhynchos* – 19,4 %. У районі о. Дубовий виявлено 2 ос. *Podiceps ruficollis* (Pallas, 1764), 1 ос. *Podiceps grisegena* та 2 ос. *Gallinula chloropus* (Linnaeus, 1758).

Таблиця 8 – Результати обліків водно-болотних птахів у зимовий період 2018/19 рр. на майданчику «Нижній б'єф Дніпровської ГЕС»

Латинська назва виду	Дата обліку					
	19.12		16.01		28.01	
	Чисельність, особин	Частка в угрупованні, %	Чисельність, особин	Частка в угрупованні, %	Чисельність, особин	Частка в угрупованні, %
Podiceps ruficollis	2	0,052	3	0,047	3	0,052
Podiceps nigricollis	-	0	9	0,142	7	0,122
Podiceps grisegena	1	0,026	-	0	-	0
Podiceps cristatus	21	0,55	-	0	5	0,087
Phalacrocorax carbo	407	10,63	584	9,2	473	8,25
Egretta alba	2	0,052	-	0	-	0
Ardea cinerea	6	0,157	-	0	-	0
Cygnus olor	4	0,104	-	0	-	0
Anas platyrhynchos	742	19,38	889	14,01	519	9,05
Aythya ferina	12	0,31	-	0	-	0
Aythya fuligula	5	0,132	-	0	3	0,052
Bucephala clangula	-	0	11	0,17	8	0,139
Mergus merganser	32	0,84	431	6,79	180	3,14
Haliaetus albicilla	2	0,052	-	0	7	0,122
Gallinula chloropus	2	0,052	-	0	-	0
Fulica atra	90	2,35	175	2,76	140	2,44
Larus ridibundus	360	9,4	204	3,22	290	5,06
Larus cachinnans	880	22,99	1070	16,86	1200	20,92
Larus canus	1160	30,3	2840	44,75	2750	47,95
Larus spp.	100	2,61	130	2,05	150	2,62
Всього обліковано птахів	3828	100	6346	100	5735	100
Всього видів	17		10		13	
Індекс Шеннона (***H'***)	1,79		1,65		1,59	
Індекс Сімпсона (*D*)	0,2		0,26		0,29	
Вирівняність (*E*)	0,63		0,72		0,62	

Середньозимовий облік 16 січня проведено в період потепління. Зареєстровано 10 видів птахів чисельністю 6346 ос. (табл. 8). Домінантом був *Larus canus* – 44 % угруповання. Частка *Larus cachinnans* та *Anas platyrhynchos* склала відповідно 16,8 % та 14 % угруповання. Чисельність *Mergus merganser* була найнижчою за весь період спостережень – 431 ос., що склало лише 6,8 % угруповання.

Облік 28 січня не показав суттєвих змін порівняно з серединою січня. Загальна чисельність птахів зменшилася на 10 % за рахунок *Mergus merganser* та *Anas platyrhynchos*. Зареєстровано 7 ос. *Haliaetus albicilla*. За результатами обліків уперше з 2009 р. підтверджено зимівлю 3-х ос. *Podiceps ruficollis* у районі Дніпровської ГЕС.

За період досліджень чисельність водно-болотних птахів на обліковому майданчику «Нижній б'єф Дніпровської ГЕС» перебувала в межах від 5318 до 17072 особин, що відносяться до 25 видів. Із них *Cygnus cygnus, Aythya marila, Gallinula chloropus* реєструвалися тільки у грудні, тому їх доцільно віднести до пізніх мігрантів. *Rufibrenta ruficollis* не включена до зимуючих видів, оскільки зустріч 03.01.2018 р. 72 ос., що транзитно пролітали над обліковим майданчиком, вирогідно є випадком пізнього прольоту або зальоту під час кормових кочівель.

Кожен грудень впродовж 2015-2018 рр. характеризується найменшою чисельністю птахів (від 1763 до 3828 ос.) та найбільшими показниками різноманітності і вирівняності угруповань птахів (*H'*=1,61-1,85, *E*=0,63-0,76). Концентрація домінування в грудні є найнижчою (*D*=0,2-0,24) (табл. 9).

Таблиця 9 – Різноманітність та концентрація домінування угруповань птахів за місяцями проведення обліків

Параметр	Показник								
	Місяці								
	Грудень 2015	Січень 2016	Грудень 2016	Січень 2017	Лютий 2017	Грудень 2017	Січень 2018	Грудень 2018	Січень 2019
Середня температура, °С	+1,1	-4,9	-3,1	-4,5	-2,7	+4,8	-2,1	-0,6	-2,0
Середня чисельність, ос	1763	4933	3158	17072	10333	2388	5776	3828	6040
Індекс Шеннона (*H'*)	1,61	1,06	1,81	1,22	1,42	1,85	1,74	1,79	1,62
Індекс Сімпсона (*D*)	0,24	0,53	0,2	0,46	0,34	0,22	0,22	0,2	0,21
Вирівняність (*E*)	0,76	0,43	0,65	0,45	0,62	0,67	0,62	0,63	0,67

Формування зимуючого угруповання водно-болотних птахів у нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС завершується у січні. У зими 2015/16-2016/17 рр., із сильними морозами та стійким льодоставом на понад 90 % площі водосховищ у січні, абсолютним домінантом зимуючих угруповань птахів був *Mergus merganser* із середньою часткою участі 68,6 %. У ці роки концентрація домінування в зимуючому угрупованні птахів у січні була найвищою (*D*=0,46-0,53), а індекс різноманітності найменшим (*H'*=1,06-1,22,). У більш м'які зими 2017/18-2018/19 рр. домінантом у зимуючих угрупованнях був *Larus canus* із середньою часткою участі 40,6 %, субдомінантом – *Larus cachinnans* (20,1 %). Середня концентрація домінування в зимуючому угрупованні птахів у січні 2018-2019 рр. відповідала середнім показникам грудня за чотири сезони – 0,22, індекс різноманітності складав 1,68.

На зимівлі було зареєстровано 4 види птахів з охоронним статусом. *Mergus serrator,* занесений до Європейського Червоного списку та Червоної книги України, є рідкісним нерегулярно зимуючим видом. 5 ос. цього виду були виявлені 04.01.2016 р. *Haliaeetus albicilla* та *Bucephala clangula,* занесені до Червоної книги України, є нечисельними, регулярно зимуючими видами (до 13 ос.). *Mergus albellus*, занесений до Резолюції № 6 Бернської конвенції, також є нечисельним, регулярно зимуючим видом (від 6 до 14 ос.).

Обговорення

Дефіцит наукових даних щодо зимуючих угруповань водно-болотних птахів у районі Дніпровскької ГЕС ускладнює порівняння отриманих результатів з даними попередніх років. В. І. Петроченко відмічає для Північно-Хортицького архіпелагу 2 ос. *Melanitta fusca* (Linnaeus, 1758) протягом грудня 2005 р., 4 ос. *Mergus serrator* у кінці листопада 2004 р., 2 ос. *Rufibrenta ruficollis* у жовтні 2004 р.[12] Проте дати спостережень указують, що ці види спостерігалися під час міграції. Г. Г. Довгополий описує зимівлю *Cygnus cygnus* біля о. Хортиця у 1991 р. (чисельність не наведена) та регулярну зимівлю *Anas platyrhynchos* у кількості 400-500 ос.[16]

03 та 11 січня 2009 р. проведені перші середньозимові обліки птахів у нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС. Було

зареєстровано 20 видів водно-болотних птахів максимальною чисельністю 4255 ос. Домінував в угрупованні *Mergus merganser* із середньою часткою участі 56,2 %, субдомінантом був *Anas platyrhynchos* (17,2 %). *Larus cachinnans* був другорядним видом (10,3 %)[19]. За наведеними в публікації даними були розраховані показники різноманітності угруповань зимуючих птахів у районі Дніпровської ГЕС протягом січня 2009 р. (H'=1,37, E=0,49, D=0,38). Подібність видового складу зимуючих угруповань водно-болотних птахів у січні 2009 та 2016-2019 рр. є достатньо високою. Найбільш подібними є угруповання в січні 2009 та 2017 р. **(**C_S=0,74), найменш подібним у січні 2009 та 2018 р. (C_S=0,71). Розрахунок подібності угруповань, з урахуванням частки участі кожного виду в угрупованні, проводився для максимальної чисельності особин кожного виду, зареєстрованої протягом січня 2009 р. та 2016-2019 рр. За кількісним коефіцієнтом Сьоренсона найбільш подібними були угруповання птахів у січні 2009 р. та 2016 р. **(**C_N=0,73**)**, найменш подібними – у січні 2009 р. та 2017 р. **(**C_N=0,39**)**.

Результати обліків у нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС порівнювалися з районом Канівської ГЕС, де протягом 30-ти років проводиться моніторинг зимівель гідрофільних птахів. Протягом зимових сезонів 1986/87-2012/13 рр. у районі Канівської ГЕС на зимівлі зареєстровано 27 видів птахів. Абсолютним домінантом у зимуючих угрупованнях птахів у районі Канівської ГЕС є *Anas platyrhynchos* з часткою участі 64,9 %. На другому та третьому місцях знаходяться відповідно *Bucephala clangula* (15,7 %) та *Mergus merganser* (15,2 %)[8].

У районі Канівської ГЕС частка *Anas platyrhynchos* в угрупованнях за період 1986-2013 рр. зменшилася з 94,5 % до 56,7 %. Частка *Mergus merganser* зросла з 3,1 % до 17,8 %, частка *Bucephala clangula* зросла з 0,9 % до 20,9 %. (табл. 10). Слід зазначити наднизьку чисельність на Канівській ГЕС *Phalacrocorax carbo* та *Fulica atra* (частка двох видів складає до 0,062 % угруповань). Узимку 2015/16-2016/17 рр. домінантом зимуючих угруповань птахів у районі Канівської ГЕС був *Anas platyrhynchos* з чисельністю 1750-4200 ос. Субдомінантами були *Bucephala clangula* (320-420 ос.), *Larus ridibundus* (до 400 ос.) та *Mergus merganser* (230-380 ос.). Чисельність *Larus cachinnans* доходила до 200 ос.[25–27] Домінуючим видом у районі Дніпровської ГЕС, і у 2008/09 рр., і в 2015/16-2018/19 рр., залишився *Mergus merganser* із середньою часткою участі 46,2 %. Середня частка участі *Anas platyrhynchos* в угрупованнях за період 2015/16-2018/19 рр. знизилася на 9,29 % порівняно з 2008/09 рр. та не перевищувала 7,91 %.

Таблиця 10 – Зміни частки участі найчисельніших видів у зимуючих угрупованнях у районі Канівської та Дніпровської ГЕС

Латинська назва виду	Частка участі виду в угрупованні, %				
	Канівська ГЕС			Дніпровська ГЕС	
	1986/87-1994/95 рр.*	1995/96-2003/04 рр.*	2004/05-2012/13 рр.*	2008/09 рр.	2015/16-2018/19 рр.
Phalacrocorax carbo	-	0,02	0,06	1,65	4,56
Anas platyrhynchos	94,5	64,2	56,7	17,2	7,91
Bucephala clangula	0,9	13,6	20,9	0,77	0,1
Mergus merganser	3,1	17,2	17,8	56,2	36,2
Fulica atra	-	-	0,002	0,44	1,96
Larus ridibundus	-	0,05	0,29	5,35	6
Larus cachinnans	0,4	2,9	2,8	10,3	12,5
Larus canus	0,14	0,04	0,11	6,85	27,5
Larus spp.	-	-	-	-	2.5
Інші види	0,96	1,99	1,34	1,24	0,77

Примітки: * – дані Грищенко та ін.[8]

Частка видів з охоронним статусом у зимуючих угрупованнях водно-болотних птахів у районі Канівської ГЕС за період 1986-2017 рр. збільшилася з 1,72 % до 22 %, за рахунок стрімкого зростання чисельності *Bucephala clangula.* Частка участі в угрупованнях видів птахів з охоронним статусом у районі Дніпровської ГЕС протягом зимових періодів 2015/16-2018/19 рр. не перевищувала 0,5 %.

Крім різниці у видовому складі домінантів, суттєвими є відмінності між зимуючими угрупованнями птахів у районі Дніпровської та Канівської ГЕС за показниками різноманітності та концентрації домінування. У публікаціях по обліках птахів у 2015/16-2016/17 рр. На Канівській ГЕС повні дані по зимуючих угрупованнях не наведені (акценти зміщені на динаміку передзимівельних скупчень). Для порівняння доступні дані до 2014 р. Так, у 2004/05-2012/13 рр. угруповання зимуючих птахів в районі Канівської ГЕС характеризується високою концентрацією домінування (*D*=2,51) з часткою домінантів до 95,8 % зимуючих угруповань. Середній індекс різноманітності складає 1,16[8]. Зимівельні угруповання птахів у районі Дніпровської ГЕС відрізняються більш високим різноманіттям (*H'*=1,57) і вирівняністю (*E*=0,61) та низькою концентрацією домінування (*D*=0,29).

Висновки

Протягом зимових сезонів 2015/16-2018/19 рр. у районі Дніпровської ГЕС було зареєстровано 25 видів водно-болотних птахів. Із них 4 види були пізніми мігрантами. На зимівлі підтверджений 21 вид птахів, з них зимівля *Podiceps nigricollis, Podicep grisegena, Ardea cinerea, Falco peregrinus* зареєстрована вперше. *Clangula hyemalis* є новим видом в орнітофауні м. Запоріжжя.

Максимальна чисельність водно-болотних птахів у нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС зареєстрована в січні 2017 р., при найсуворіших кліматичних умовах за весь період спостережень. Найбільша різноманітність угруповань зареєстрована у м'які зими 2017/18-2018/19 рр. Найвища концентрація домінування у зимуючих угрупованнях птахів спостерігалася у холодні зими 2015/16-2016/17 рр.

Склад зимуючих угруповань птахів у районі Дніпровської та Канівської ГЕС має суттєві відмінності. Домінантом зимуючих угруповань у нижньому б'єфі Дніпровської ГЕС є *Mergus merganser,* субдомінантами *Larus canus* та *Larus cachinnans.* У нижньому б’єфі Канівської ГЕС абсолютним домінантом у зимуючих угрупованнях є *Anas platyrhynchos*, а субдомінантом *Bucephala clangula.*

Підтвердження регулярної масової зимівлі водно-болотних птахів у районі Дніпровської ГЕС є передумовою для організації систематичного моніторингу зимуючої орнітофауни на цій території.

Література

(1) Пшеничний, С. В. *Екологічні Аспекти Зимівлі Водоплавних Та Коловодних Птахів На Внутрішніх Водоймах України*; Київ, 2010.

(2) Итоги Регионального Орнитологического Мониторинга. Зима 2002-2003 Гг. *Бюллетень РОМ* **2004**, *1*, 20.

(3) Фесенко, Г. В. Итоги Среднезимнего Учета Водно-Болотных Птиц 2006 Года в Азово-Черноморском Регионе Украины: Адаптация Методик IWC и Их Апробация. *Бюллетень РОМ* **2009**, No. 4, 24.

(4) Андрющенко, Ю. А. Итоги Среднезимних Учетов Водно-Болотных Птиц 2005, 2007-2010 Годов в Азово-Черноморском Регионе Украины. *Бюллетень РОМ* **2011**, No. 7, 64.

(5) Костюшин, В. А. Зимовки Водоплавающих Птиц На Киевском и Каневском Водохранилищах в 2011-2012 Гг. *Авіафауна України* **2014**, No. 5, 31–35.

(6) Грищенко, В. М. Мониторинг Численности Водоплавающих и Околоводных Птиц На Трипольской Зимовке (Киевская Область) в 1984-1990 гг. *Авіафауна України* **2002**, No. 2, 65–69.

(7) Грищенко, В. М. Зимівля Водоплавних Та Навколоводних Птахів На Дніпрі в Районі Канівського Заповідника у 1998-2004 Рр. *Заповідна справа в Україні* **2004**, *10* (1–2), 62–65.

(8) Грищенко, В. Н.; Яблоновская-Грищенко, Е. Д.; Гаврилюк, М. Н. Видовой Состав и Структура Населения Водоплавающих и Околоводных Птиц, Зимуючих На Днепре в Районе Каневской ГЭС. *Беркут* **2013**, *22* (1), 1–13.
(9) Грищенко, В. М.; Яблоновская-Грищенко, Е. Д. Новые Данные По Видовому Составу и Структуре Населения Водоплавающих и Околоводных Птиц, Зимующих На Днепре в Районе Каневской ГЭС. *Беркут* **2017**, *26* (2), 1–13.
(10) Гаврилюк, М. Н.; Грищенко, В. М.; Ілюха, О. В.; Яблоновська-Грищенко, Є. Д.; М., Б. М. Зимівля Водоплавних і Навколоводних Птахів у Районі Кременчуцького Водосховища в Зимові Сезони 2012/2013 Та 2013/2014 Рр. *Вісник Черкаського університету. Серія Біологічні науки* **2014**, No. 295, 32–37.
(11) Бредбиер, П. Результаты Наблюдений Околоводных Птиц у Плотины Днепродзержинской ГЭС. In *Птахи степового Придніпров'я: минуле, сучасне, майбутнє*; Дніпропетровськ, 2007; pp 125–133.
(12) Петроченко, В. І. Коловодна Орнітофауна Північно-Хортицького Архіпелагу (Запорізька Область). In *Дніпровський екологічний коридор*; Wetlands International Black Sea Programme: Київ, 2008; pp 144–150.
(13) Петроченко, В. И. Фауна Позвоночных Животных Острова Хортица. *Природа о. Хортица Сб. науч. тр. Национального заповедника "Хортица"* **1993**, No. 1, 79–101.
(14) Довгополый, Г. Г. О Зимующих Видах Птиц Острова Хортица. *Природа о. Хортица Сб. науч. тр. Национального заповедника "Хортица"* **1993**, No. 1, 147–151.
(15) Гудина, А. Н. *Редкие и Малоизученные Птицы Восточной Украины. Gaviiformes - Galliformes*; Днепровский металлург: Запорожье, 2007.
(16) Гудина, А. Н. *Редкие и Малоизученные Птицы Восточной Украины. Charadriiformes - Piciformes*; Днепровский металлург: Запорожье, 2008.
(17) Олейник, Д. С.; Козодавов, С. В. О Зимовке Птиц На Острове Хортица и Прилегающей Акватории Днепра в 2008-2009 гг. *Бранта Сб. науч. тр. Азово-Черноморской орнитологической станции* **2010**, No. 13, 160–168.
(18) Охріменко, С. Г.; Шелегеда, О. Р.; Козодавов, С. В.; Бусєл, В. А.; Муленко, М. А.; Василенко, С. В. *Природа Острова Хортиця. Колективна Монографія. Вип. 2*; Національний заповідник "Хортиця": Запоріжжя, 2016.
(19) Козодавов, С. В.; Муленко, М. А. Раритетна Компонента Фауни Національного Заповідника "Хортиця." *Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки* **2016**, No. 2, 102–121.
(20) Укрморкартографія. Навігаційна річкова карта Каховського водосховища від Дніпровської ГЕС до Каховської ГЕС http://www.charts.gov.ua/ irivers/3529/p_3529_13.png (accessed Dec 10, 2019).
(21) *Заповідна Хортиця: Збірник Праць Співробітників Заповідника*; Мірущенко, О. П., Ed.; Дике поле: Запоріжжя, 2006.
(22) Степанян, Л. С. *Конспект Орнитологической Фауны СССР*; Наука: Москва, 1990.
(23) Баканов, А. И. Количественная Оценка Доминирования в Экологических Сообществах. *Количественные методы экологии и гидробиологии* **2005**, 37–67.
(24) Мэгарран, Э. *Экологическое Разнообразие и Его Измерение*; Мир: Москва, 1992.
(25) Грищенко, В. М.; Яблоновская-Грищенко, Е. Д. Динамика Предзимовочных Скоплений Водоплавающих Птиц На Днепре в Районе Канева в 2015 г. *Авіафауна України* **2015**, No. 6, 57–61.
(26) Грищенко, В. М.; Яблоновская-Грищенко, Е. Д. Динамика Предзимовочных Скоплений и Формирование Зимовки Водоплавающих Птиц На Днепре в Районе Канева в 2016 г. *Авіафауна України* **2016**, No. 7, 63–68.
(27) Грищенко, В. М.; Яблоновская-Грищенко, Е. Д. Динамика Летне-Осенних Скоплений и Формирование Зимовки Водоплавающих Птиц На Днепре в Районе Канева в 2017 г. *Авіафауна України* **2017**, No. 8, 66–70.

УДК 547.831.6 : 547.29.2905:54 DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-06

Оцінка біологічної дії похідних 4-гідразинохіноліну

[1]Романенко Я. І., [2]Клімова О. О., [2]Бражко О. А.
ORCID: 0000-0001-9415-8391
[1]*Донецький національний медичний університет, Україна*
[2] *Запорізький національний університет, Україна*
zmunchilo18@gmail.com

Ключові слова:
хінолін, похідні 4-гідразинохіноліну, біологічна активність, ліпофільність, гостра токсичність, цитотоксичність, PASS прогноз.

Ліпофільність, біологічна активність та гостра токсичність є важливими показниками перспективності лікарських препаратів. Ці показники насамперед залежать від хімічної структури сполук, різноманітності функціональних груп та їх кількості. За допомогою ChemDraw було створено комбінаторну бібліотеку і вивчено ліпофільність та розчинність похідних оксокислот 4-гідразинохіноліну. Ліпофільна неполярна речовина розчиняється у ліпідному шарі клітинної мембрани, і чим вища ліпофільність, тим здатність проникати через клітинну мембрану у речовини більша. Паралельно визначали розчинність речовин. Віртуальні дослідження, проведені за допомогою PASS Online, дозволили здійснити прогноз біологічної активності для 4-гідразинопохідних хіноліну та їхніх аналогів, що мають метильну групу в 2-му положенні азагетероциклу (4-гідразинохінальдини). Значення LD_{50} є однією з важливих характеристик гострої токсичності. Метою вивчення гострої токсичності є визначення нешкідливих, токсичних, летальних доз речовини, її здатності до кумуляції, а також причин загибелі тварин. Експериментально досліджено гостру токсичність літію (*E*)-2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразиніліден)пентандіоату, яку за токсикологічною класифікацією віднесено до малотоксичних речовин. Цитотоксичну дію сполук вивчено шляхом дослідження впливу сполук на поділ та ріст клітин у кореневому тесті на паростках *p. Cucumis sp.* (під час досліду використовували огірки сорту «Конкурент»). Вивчення рістрегулювальної активності літію (*E*)-2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразиноіліден)-пентандіоату показало, що ця сіль найбільш активна як цитокін. Проведені дослідження на прокаріотах показали, що пігментстимулювальна здатність підсилюється пропорційно концентрації літію (*E*)-2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразиноіліден)пентандіоату у поживному середовищі для окремих культур.

Assessment of the biological effects of 4-hydrazinoquinoline derivatives

[1] Romanenko Ya. I., [2] Klimova O. O.,[2] Brazhko O. A.
[1] *Donetsk National Medical University, Ukraine*
[2] *Zaporizhzhia National University, Ukraine*

Key words:
quinoline, derivatives of 4-hydrazinoquinoline, biological activity, lipophilicity, acute toxicity, cytotoxicity, PASS prediction

Lipophilicity, biological activity and acute toxicity are important indicators of the viability of drugs. These indicators primarily depend on the chemical structure of the compound, the diversity of functional groups and their quantity. Using ChemDraw, a combinatorial library was created and the lipophilicity and solubility of 4-hydrazinoquinoline oxo acid derivatives were studied. A lipophilic non-polar substance dissolves in the lipid layer of the cell membrane, and the higher the lipophilicity, the greater the ability to penetrate through the cell membrane into substances. In parallel, the solubility of the substances was determined. Virtual studies using PASS Online made it possible to predict biological activity for 4-hydrazinopochid quinoline and their analogues having a methyl group in the 2nd position of azaheterocycles (4-hydrazinoquinaldins). The LD_{50} value is one of the important characteristics of acute toxicity. The goals of studying acute toxicity are to determine the harmless, toxic, lethal doses of a substance, its ability to cumulate, and also the causes of death of animals. Acute toxicity of lithium (E)-2-(2-(2-methylquinolin-4-yl)hydrazinylidene)pentanedioate

was experimentally investigated. The cytotoxic effect of the compounds was tested on cell division and cell growth of cucumber roots (kind «Konkurent»). The study of the growth-regulating activity of lithium (E)-2-(2-(2-methylquinolin-4-yl)hydrazinoylidene)pentanedioate showed that this salt is most active as a cytokine and is classified as a toxicological classification for low toxic substances. Studies on prokaryotes have shown that the pigment-stimulating ability is enhanced in proportion to the concentration of lithium (E)-2-(2-(2-methylquinolin-4-yl)hydrazinoylidene)pentanedioate in nutrient media for individual cultures.

Вступ

Цифрова революція розширила межі біологічних і медичних технологій. Комп'ютерне моделювання та симуляція (CM & S) або *in silico* технології об'єднують обчислювальні засоби з біологією, щоб інтуїтивно та точно проводити складний аналіз прикладних наук про життя. За допомогою цієї моделі можуть бути створені експериментальні операції, які неможливо здійснити в реальних експериментах, зберігаючи експериментальний контроль: ідеальне доповнення до досліджень *in vivo* та *in vitro.* Використовуючи комп’ютерні програми, методи *in silico* виявляють, аналізують та узагальнюють отриману з різних джерел біологічну і медичну інформацію. Отриману інформацію можна використати у створенні комп’ютерних моделей, які є основою для прогнозування, формування гіпотез і здійснення відкриттів у біоорганічній хімії та фармакології[1].

Із появою вільного доступу до програм та завдяки залученню їх до моделювання дослідники отримують інформацію про структуру та біологічну активність (БА) хімічних сполук, прогнозують профілі БА для нових речовин і створюють необхідні передумови для розвитку методів дизайну біорегуляторів, ліків, заснованих на структурі лігандів[2].

PASS Online прогнозує понад 4000 видів БА, включаючи фармакологічні ефекти, механізми дії, токсичні та несприятливі ефекти, взаємодію з метаболічними ферментами і транспортерами, вплив на експресію генів тощо. Для отримання профілю прогнозованої біологічної активності речовин необхідна лише структурна формула[3]. Отже, прогнозування можливе навіть для віртуальної структури, розробленої в комп'ютері, але ще не синтезованої.

Похідні 4-гідразинохінолінів проявляють себе як потенційні біологічно активні речовини (БАР). Серед хінолін-4-ілгідразонів привертають до себе увагу похідні оксокислот. Це пов’язано з тим, що вони беруть участь у важливих біохімічних процесах. Значний інтерес, як для синтезу, так і для біологічних досліджень, являє структурна схожість хінолін-4-ілгідразонів оксокислот з інтермедіатами (основами Шіффа) процесу трансамінування, який перебігає з участю вітаміну B_6[4].

Метою роботи є вивчення біологічної дії похідних 4-гідразинохіноліну в умовах використання методів комп’ютерного прогнозування та експериментальних досліджень.

Матеріали та методи

За допомогою ChemDraw (професійний редактор хімічної графіки) створено комбінаторну бібліотеку 4-гідразинохіноліну та його похідних оксокислот і визначено деякі їхні фізико-хімічні характеристики. Використовуючи PASS Online, проаналізовано БА цих сполук[5]. Характеристики молекул – ліпофільність (розчинність) водорозчинних сполук ***17*** та ***18*** (солей) – визначено за допомогою віртуального online-ресурсу Virtual Computational Chemistry Laboratory[6].

Дуже важливою характеристикою будь-якої БАР є такий молекулярний дескриптор (MD), як ліпофільність (гідрофобність, Log P), модель розподілу досліджуваної речовини між двома фазами, що не змішуються (найчастіше використовують систему октанол-вода). Експериментально Log P визначається як логарифм відношення концентрації досліджуваної речовини в октанолі до концентрації цієї речовини у

воді при розчиненні та розрізненні її у цих двох незмішуваних фазах.

$$\text{Log P} = \lg (C_{\text{октанол}} / C_{\text{вода}}).$$

Отже, чим ліпофільніша сполука, тим вона буде краще розчинятися в октанолі, значить, Log P > 1. Ліпофільна неполярна речовина розчиняється в ліпідному шарі клітинної мембрани, і чим вища ліпофільність, тим здатність проникати через клітинну мембрану в речовини більша. Паралельно визначали розчинність речовин (гідрофільність, Log S) [7, 8].

Токсичність речовин оцінювали віртуально (*in silico*) та експериментально – на тваринах (гостра токсичність), рослинах (цитотоксичність), мікроорганізмах (антимікобактеріальна дія).

За допомогою програмного забезпечення GUSAR (General Unrestricted Structure-Activity Relationships) проведено *in silico* прогнозування значень середньолетальних доз (LD_{50}) із чотирма типами введення (пероральний, внутрішньовенний (в/в), внутрішньоочеревний (в/о), підшкірний). GUSAR включає інформацію про ~ 10000 хімічних структур з даними про гостру токсичність[9].

Експериментально гостру токсичність встановлено *in vivo* на 8-х білих безпородних мишах обох статей масою 16-22 г. Тварини харчувалися за стандартним раціоном віварію[10,11]. Досліджувані сполуки вводили тваринам у вигляді тонкої водної суспензії (стабілізатор Твін 80) в/о на фізіологічному розчині, в об’ємі не більше 1 мл (об’єм уведеної суспензії залежить від маси тіла піддослідної тварини). Контрольній групі тварин уводили фізіологічний розчин із Твіном 80 в тому ж об’ємі, що і дослідним групам. Досліджували 4 групи тварин, кожна з яких складалася з 2-х тварин. Спостереження за тваринами проводили протягом 2 діб після одноразового введення речовин. Увесь цей час спостерігали за поведінкою тварин, станом їхньої шкіри та слизових оболонок, нервовою збудливістю, кількістю живих і загиблих тварин. Враховували кількість загиблих та тварин, що вижили, у кожній групі протягом чотирнадцяти діб. $ЛД_{50}$ визначали за методом В. Прозоровського[8].

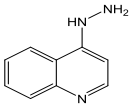
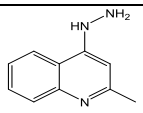
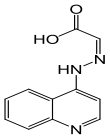
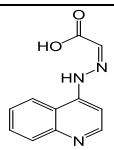
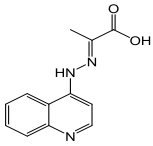
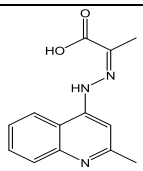
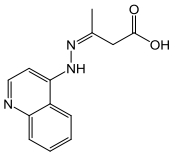
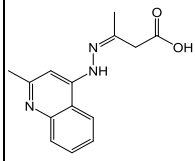
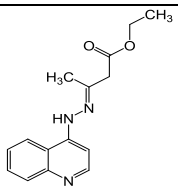
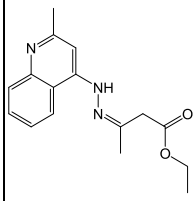
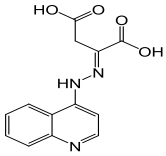
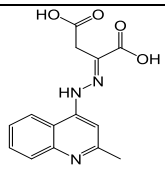
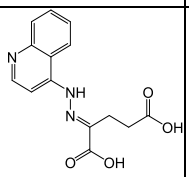
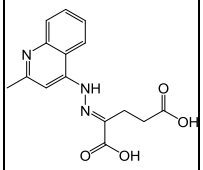
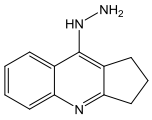
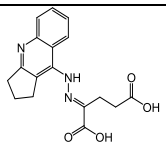
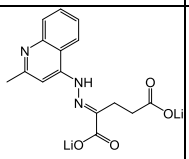
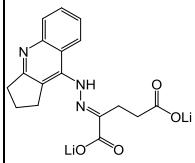
Антибактеріальну активність сполук досліджували *in vitro* за допомогою методики серійних двократних розведень у рідкому поживному середовищі – м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) (Бригер Е. Б., 1982) відносно референтних штамів бактерій *Pseudomonas fluorescens iodinum, Pseudomonas fluorescens, Serratia marcescens*[12], отриманих із колекції лабораторії мікробіології кафедри загальної та прикладної екології біологічного факультету ЗНУ.

Фітотоксичну (цитотоксичну) дію сполук вивчали в кореневому тесті на паростках рослин огірка сорту «Конкурент». Концентрація тестованих сполук перебувала на рівнях 1, 5, 20, 100, 500 мкг/мл. По 10 мл кожного розчину вносили в чашки Петрі з 20 насінинами. Було використано по 3 повторюваності для кожної із концентрацій та контрольного експерименту (вода). Протягом 72 годин чашки з насінням знаходились у темряві при 30^0С. Після цього вимірювали довжину гіпокотиля, головного кореня, зони росту бічних коренів та кількість бічних коренів. Цитотоксичність сполук оцінювали за зменшенням зазначених параметрів в експерименті та порівнювали з контролем[5].

Результати

У програмі ChemDraw побудовано комбінаторну бібліотеку похідних 4-гідразинохіноліну таким чином: виділили сполуку і натиснули: View → Show Chemical Properties window. В опублікованому вікні наведено основні розраховані характеристики та фізико-хімічні характеристики віртуальних сполук (MD). Структури сполук наведено в таблиці 1. Важливе значення для подальших досліджень (відповідність «правилу Ліпінськи») мають такі MD – молекулярна маса, кількість донорів та акцепторів водню, показники ліпофільності (розчинності) – logP (logS).

Таблиця 1 – Структура і властивості похідних 4-гідразинохінолінів

№	Структурна формула	Брутто-формула, М.м.	Ліпофільність (розчинність)	№	Сполука	Брутто-формула, М.м.	Ліпофільність (розчинність)
1		$C_9H_9N_3$ 159,19	logP = 0,83 logS = -1,92	2		$C_{10}H_{11}N_3$ 173,21	logP = 1,54 logS = -2,21
3		$C_{11}H_9N_3O_2$ 215,21	logP = 1,27 logS = -3,20	4		$C_{12}H_{11}N_3O_2$ 229,23	logP = 1,98 logS = -3,48
5		$C_{12}H_{11}N_3O_2$ 229,23	logP = 1,04 logS = -3,45	6		$C_{13}H_{13}N_3O_2$ 243,26	logP = 1,75 logS = -3,62
7		$C_{13}H_{13}N_3O_2$ 243,26	logP = 0,99 logS = -2,97	8		$C_{14}H_{15}N_3O_2$ 257,29	logP = 1,69 logS = -3,25
9		$C_{15}H_{17}N_3O_2$ 271,31	logP = 1,59 logS = -3,62	10		$C_{16}H_{19}N_3O_2$ 285,34	logP = 2,29 logS = -3,80
11		$C_{13}H_{11}N_3O_4$ 273,24	logP = 0,77 logS = -3,14	12		$C_{14}H_{13}N_3O_4$ 287,27	logP = 1,47 logS = -3,42
13		$C_{14}H_{13}N_3O_4$ 287,27	logP = 0,71 logS = -3,23	14		$C_{15}H_{15}N_3O_4$ 301,30	logP = 1,41 logS = -3,60
15		$C_{12}H_{13}N_3$ 199,25	logP = 2,01 logS = -2,48	16		$C_{17}H_{17}N_3O_4$ 327,33	logP = 1,89 logS = -3,05
17		$C_{15}H_{13}Li_2N_3O_4$ 313,16	logP = 3,47 logS = -4,34	18		$C_{17}H_{15}Li_2N_3O_4$ 339,20	logP = 3,63 logS = -4,59

Прогноз біологічної активності (БА) проведено для 4-гідразинопохідних хіноліну та їхніх аналогів, що мають метильну групу в 2-му положенні азагетероциклу (4-гідразинохінальдини). Віртуальні дослідження, що проведено за допомогою PASS Online, свідчать про широкий спектр дії досліджених сполук (Pa – наявність активності):

- протизапальна (Pa=0,4-0,5),
- антибактеріальна (Pa=0,3-0,4),
- противірусна (Pa=0,3-0,5),
- мембраностабілізуюча (Pa=0,4-0,6),
- протитуберкульозна (Pa=0,4-0,7),
- протипротозойна (Pa=0,3-0,6),
- антимікобактеріальна (Pa=0,6-0,8) тощо.

Аналіз залежності БА від ліпофільності (розчинності) показав, що найбільша дія прогнозується для сполук з logP – 0,7-1,7 (рис. 1). Залежність прояву антимікобактеріальної дії від розчинності показує, що найбільш перспективними є речовини з logS = (-3.0) - (-4.0), що також вказує на їх доволі високу можливу ліпофільність для прояву БА.

Ще однією, досить важливою характеристикою біоактивних сполук є гостра токсичність. Для оціночної характеристики всього напряму досліджень було проведено вибіркові позаекспериментальні випробування. Віртуальні дослідження похідних 4-гідразинохіноліну (табл. 2) показують, що токсичність значною мірою визначається природою замісникової компоненти в гідразиногрупі (найбільш токсична при в/о введенні сполука ***1*** – 4-гідразинохінолін, $ЛД_{50}$=61,49 мг/кг). Крім того, на токсичність впливають і шляхи введення. Так, похідні 4-гідразинохіноліну найбільш токсичні при в/о та в/в уведенні.

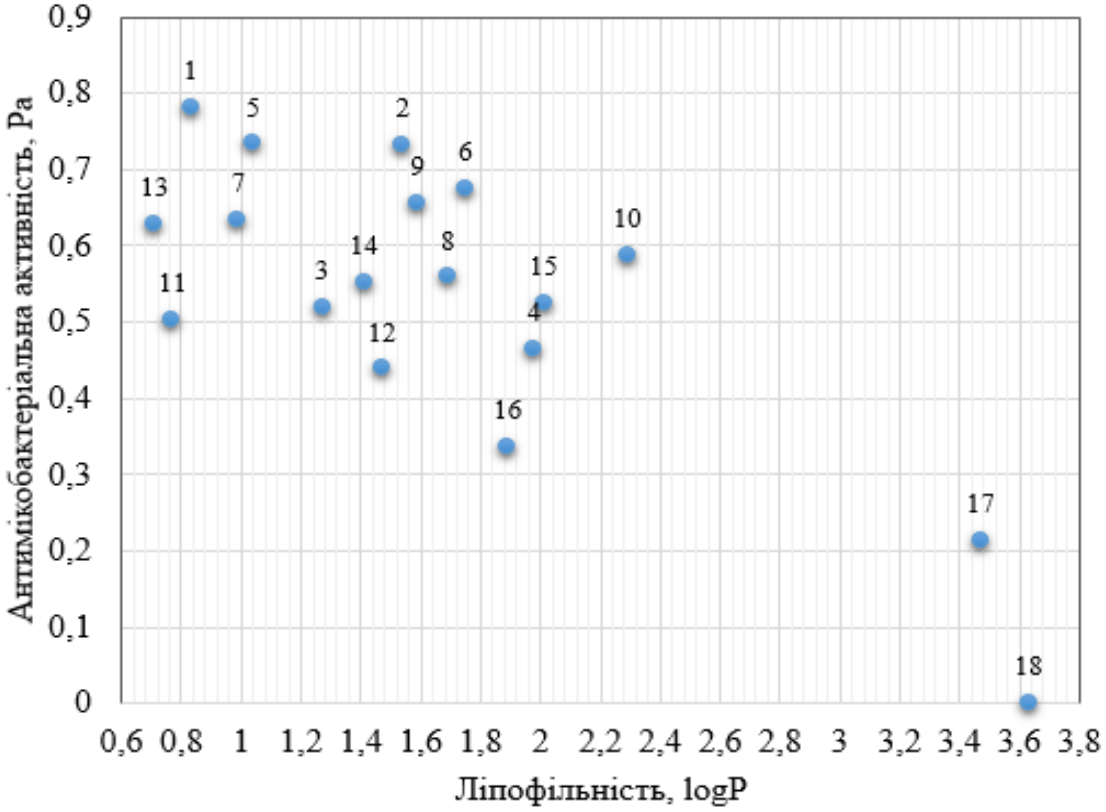


Рис. 1. Залежність ймовірності прояву антимікобактеріальної активності похідних 4-гідразинохіноліну від ліпофільності

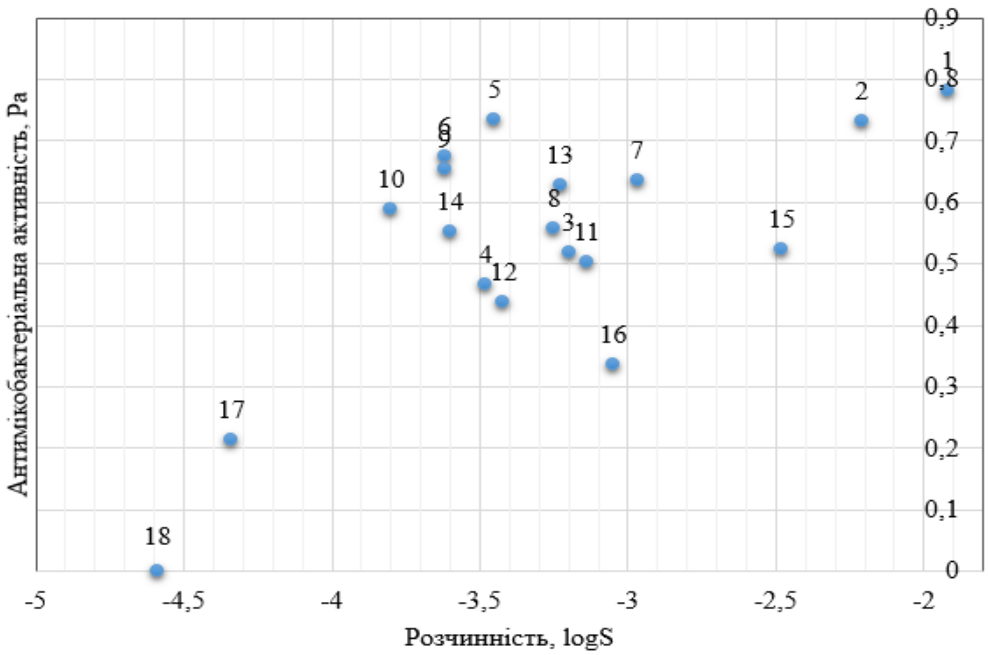


Рис. 2. Залежність ймовірності прояву антимікобактеріальної активності похідних 4-гідразинохіноліну від розчинності

Таблиця 2 – Гостра токсичність похідних 4-гідразинохіноліну (LD_{50}, mg/kg)

Сполука	В/о введення	В/в введення	Оральне введення	Підшкірне введення
1	61,49	95,9	319,6	250,2
5	96,6	230,9	661,9	318,2
9	500,9	89,15	669,1	1341,0
17	222,9	73,4	361,7	421,6

Експериментально досліджено при в/о введенні гостру токсичність сполуки ***17*** – літію (*E*)-2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразиніліден)пентандіоату. $ЛД_{50}$ для неї складає 357 ± 28 мг/кг. Ці дані доволі відрізняються від токсичності, що визначено *in silico* ($ЛД_{50}$ = 222,9 мг/кг).

Цитотоксичну та цитостатичну дію вивчено шляхом дослідження впливу сполуки на поділ та ріст клітин у кореневому тесті на паростках огірка (рис. 3.).

Дослідження на прокаріотах показали, що пігментстимулювальна здатність підсилюється пропорційно концентрації літію (*E*)-2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразиноіліден)пентандіоату (***17)*** у поживному середовищі. Ця тенденція спостерігається для культур *Ps. fluorescens iodinum, Ps. fluorescens, S. marcescens,* причому інтенсивність синтезу пігменту в цих бактерій залежить від методу посіву бактеріальної культури на середовище. Необхідно зазначити, що незалежно від методу посіву культури, максимум синтезу пігменту спостерігається при концентрації сполуки (***17)*** 100 мг/л.

Вплив речовини на ріст біомаси бактеріальних культур на МПБ при концентрації сполуки (***17)*** 100 мг/л, при початковій оптичній щільності суспензій в інтервалі 0,1-0,2 одиниці показав, що через 22 години культивування для культур *Ps. fluorescens, Serratio marcescens* оптична щільність у контролі була меншою ніж у досліді. Так, для *Ps. fluorescens* оптична щільність у контролі була 1, а в досліді – 1,19; для *Serratia marcescens* 0,77 й 1,45 відповідно. А для культури *Ps. iodinum* спостерігалася практична рівність значень оптичної щільності – 1,6 у контролі, і 1,55 у досліді. У такий спосіб стимулюючий ефект росту біомаси викликаний присутністю сполуки (***17)***, спостерігається тільки для однієї культури *S. marcescens*.

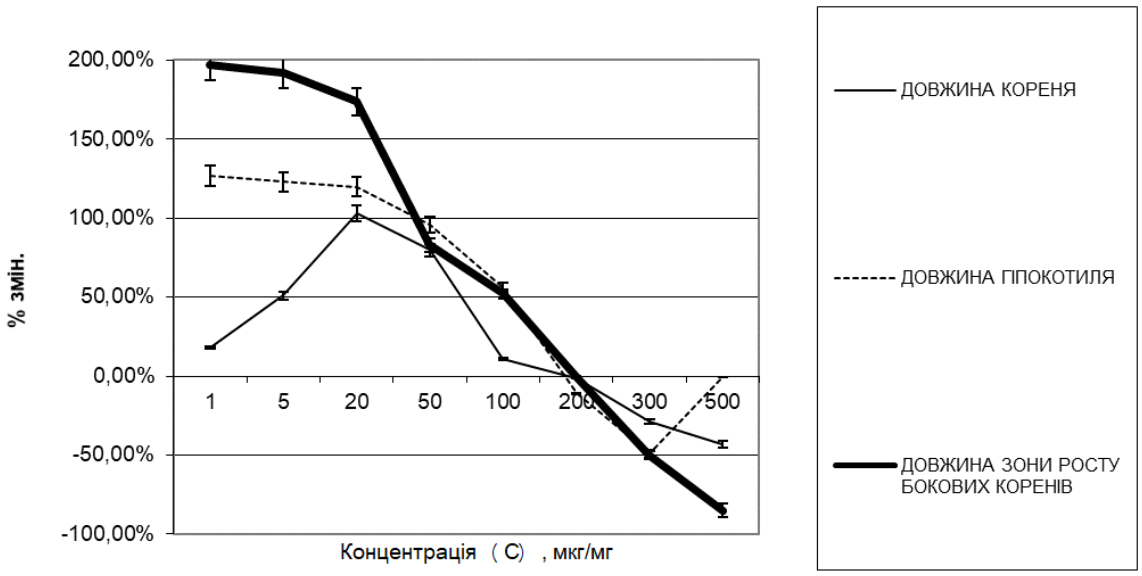


Рис. 3. Цитотоксична дія літію (*E*)-2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразиноіліден)пентандіоату (***17)***

Обговорення

Біологічна активність розглядається як внутрішня властивість речовини, що залежить тільки від її структури. Сучасні комп'ютерні програми, що використовують однаковий опис хімічної структури та універсальний математичний алгоритм залежностей «структура–активність», дозволяють прогнозувати велику кількість імовірних видів для БАР. Система PASS прогнозує за структурною формулою хімічної речовини понад 1000 видів БА, включаючи основні та побічні фармакологічні ефекти, механізми дії, мутагенність, канцерогенність, тератогенність і ембріотоксичність[5].

Ліпофільність сполук має принципове значення при розробці потенційних ліків. Ця характеристика легко модулюється за допомогою використання відповідного MD (Log P) і найчастіше використовується для оцінки здатності речовини долати біологічні мембрани[13]. Для деяких речовин саме наявність цієї властивості є необхідною умовою прояву біологічної активності середовищем. LogP є компонентом відомого фільтра для потенційних БАР – «правила Ліпінськи». Це емпіричне правило, що дозволяє оцінити біодоступність хімічної сполуки з певним набором фармакологічних активностей та його здатність бути потенційним лікарським препаратом.

Зазвичай ліпофільні групи являють собою вуглеводневі або флуоровуглецеві радикали[14]. У загальному випадку, збільшення ліпофільності можна спостерігати при введенні функціональних груп або радикалів у такий послідовності: карбоксильна > гідроксильна > альдегідна > кетогрупа > аміногрупа > аміногрупа > аміногрупа > імідогрупа (гідрофільні групи) і метил > метилен > етил > пропіл > вищий алкіл > феніл (гідрофобні радикали). Наявність полярних угруповань (-COOH, -OH) збільшує гідрофільність молекули. Також спостерігається збільшення ліпофільності при введенні галогенових замісників (Cl, Br, I), оскільки в їх присутності збільшуються дисперсійні сили, які відіграють досить важливу роль для взаємодій ліпофільних речовин з оточенням і всередині себе[15,16]. Тому важливе значення має дизайн потенційних БАР. Це було реалізовано шляхом уведення певних функціональних груп (насамперед CH_3 та COOH) до базової структури 4-гідразинохіноліну (сполука ***1***).

Усі досліджувані 4-гідразинохіноліни можуть виявляти, згідно з результатами PASS *online*, антимікобактеріальну активність. Згідно з результатами, що наведено на рис. 1 та рис. 2, спостерігається тенденція до зменшення біодії шляхом уведення додаткового карбоксильного зв'язку -COOH (похідні кислоти) до залишку оксокарбонової кислоти (сполуки ***11, 12, 16***)[17].

Інтерес становить залежність «ліофільність/розчинність – біологічна активність». Спостерігається тенденція зниження ймовірності прояву біологічного ефекту для цього ряду сполук зі збільшенням ліпофільності вище ніж Log P = 2,0 (рис. 1).

Гостра токсичність – це складне явище, яке включає дію хімічних речовин за допомогою різних біохімічних механізмів. Значення LD_{50} є однією з важливих характеристик гострої токсичності, яка відповідає дозі, що спричиняє 50% смертність протягом 24 годин після введення[5,10]. Гостра оральна, шкірна та інгаляційна токсичність, яку досліджують на експериментальних тваринах, є важливим параметром для загальної оцінки токсикологічного ризику. Водночас пероральна, в/о та в/в гостра токсичність є важливою при розробці препарату[18]. Вивчення гострої токсичності є обов'язковим етапом дослідження потенційних лікарських препаратів, оскільки дозволяє оцінити небезпечність речовин для здоров'я за умов короткотривалої дії та визначити клас токсичності й широту терапевтичної дії[19, 20].

4-Гідразинохіноліни – досить токсичні сполуки, і блокування в їхній структурі вільної первинної аміногрупи, як і для гідразидів кислот або гідразонів ацильних похідних, у більшості випадків сприяє зниженню гострої токсичності. Уведення електронодонорних замісників (6-OMe та 6-OEt) взагалі призвело до підвищення токсичності в 3-7 разів[9]. У зв’язку з цим важливе значення для прояву токсичного ефекту має природа оксокомпоненти в структурі похідних 4-гідразинохіноліну[21]. Установлено, що літію (*E*)-2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразиноіліден)пентандіоат відноситься за токсикологічною класифікацією до малотоксичних речовин[11] ($ЛД_{50}$ складає 357 ± 28 мг/кг). Експериментально доведено, що ця речовина є менш токсичною, ніж це було визначено *in silico* за допомогою програмного забезпечення GUSAR.

Вивчення рістрегулювальної активності сполуки ***17*** показало, що ця сіль літію найбільш активна як цитокін. Вона показала збільшення на 200 % довжини зони росту бокових коренів, 125% довжини гіпокотилю та 100% довжини кореня. Цікаво, що перехід від рістстимулювальної дії до цитотоксичної на всіх 3-х показниках відбувається при одній концентрації – 200 мкг/мл. $ЕД_{50}$ та IC_{50} знаходяться приблизно однаково для всіх показників, для довжини кореня їх два (8 та 75 мкг/мл).

Висновки

Створено комбінаторну бібліотеку похідних оксокислот 4-гідразинохіноліну та хемометрично вивчено їхні фізико-хімічні характеристики й потенційні біологічні властивості. Експериментально встановлено, що похідні 4-гідразинохіноліну мають високий біологічний потенціал, проявляють рістрегуляторну і пігментоутворювальну дію при помірній токсичності та не шкодять мікроорганізмам. Сукупність фізико-хімічних показників та біологічної активності дозволяє цьому класу органічних сполук окреслити загальну картину їх перспективності для подальшого дослідження.

Література

(1) Ekins, Mestres, J., and Testa. B. In silico pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. *British Journal of Pharmacology*. **2007,** 152 (1), 21-37. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707306

(2) Brazhko, A., Zavgorodniy, M., Karpun, E., Brazhko, E., Romanenko, Y., and Bogdan, A. Хемометричні методи дослідження біологічної активності похідних хіноліну. *ScienceRise*. **2019,** 1 (54), 36-42. DOI: 10.15587/2313-8416.2019.155424

(3) Savini, L., Chiasserini, L., Gaeta, A., and Pellerano, C. Synthesis and anti-tubercular evaluation of 4-quinolylhydrazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2002**, 10 (7), 2193-2198. DOI: 10.1016/s0968-0896(02)00071-8

(4) Thomas, J., Berkoff, C. E., Flagg, W. B., Gallo, J. J., Haff, R. F., Pinto, C. A., Pellerano, C., and Savini, L. Antiviral quinolinehydrazones. Modified Free-Wilson analysis. *Journal of Medicinal Chemistry.* **1975**, 18 (3), 245-250. DOI:10.1021/jm00237a005
(5) Иванов В.Б. Клеточные основы роста растений. М.: Наука, **1982**. 185 с.
(6) Virtual Computational Chemistry Laboratory - http://146.107.217.178/lab/alogps/
(7) Musiol, R., Jampilek, J., Podeszwa, B., Finster, J., Tabak, D., Dohnal, J., and Polanski, J. RP-HPLC determination of lipophilicity in series of quinoline derivatives. *Open Chemistry.* **2009**, 7 (3). DOI: 10.2478/s11532-009-0059-2
(8) Prozorovskyi V. B, Prozorovskaya M. P, Demchenko V. M. Express-method for evaluation of maen effective dose and it deviation. *Farmakologiya i toksykologiya*. **1978,** 4: 497. Russian.
(9) Веб-сервіс для прогнозування гострої токсичності сполук для ссавців [Электроний ресурс]. – URL : http://www.pharmaexpert.ru/GUSAR/acutoxpredict. html
(10) Principles of general ethics for experiments on animals. *Endokrynolohiia*. **2003**, 8 (1): 142-5. Ukrainian.
(11) Stefanov O. V., editor. Preclinical study of drugs (methodical recommendation). [Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)] Kyiv: Avitsena; **2001**. Ukrainian.
(12) Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам / Под ред. М. О. Бригера.-3-е изд. М.: Медицина, **1982**. 462 с.
(13) Ciura, K., Fedorowicz, J., Andrić, F., Greber, K. E., Gurgielewicz, A., Sawicki, W., and Sączewski, J. Lipophilicity Determination of Quaternary (Fluoro)Quinolones by Chromatographic and Theoretical Approaches. *International Journal of Molecular Sciences.* **2019,** 20 (21), 5288. DOI: 10.3390/ijms20215288
(14) Ferreira, M. D. L., Gonçalves, R. S., Cardoso, L. N. D. F., Kaiser, C. R., Candéa, A. L., Maria Das Graças M. De O. Henriques, Lourenço, M. C., Bezerra, F. A., and Souza, M. V. N. D. Synthesis and Antitubercular Activity of Heteroaromatic Isonicotinoyl and 7-Chloro-4-Quinolinyl Hydrazone Derivatives. *The Scientific World JOURNAL.* **2010**, 10, 1347–1355. DOI: 10.1100/tsw.2010.124
(15) Asif, M. A review on antitubercular activity of some 2-isonicotinoylhydrazinecarboxamide, 5-(pyridin-4-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-amine, N-(E)-heteroaromatic-isonicotino-hydrazide and 1-(7-chloroquinolin-4-yl)-2-(heteroaromatic) methylene hydrazone derivatives. *Pakistan Journal of Chemistry*. **2014**, 4 (2), 132–141. DOI: 10.15228/2014.v04.i03.p06
(16) Stańczak, A., Rzeszowska-Modzelewska, K., and Lewgowd, W. Determination of the lipophilicity of pyrimido[5,4-c]quinoline derivatives by reversed-phase thin-layer chromatography. Part 1. Lipophilicity of pyrimido[5,4-c]quinolin-4(3H)-ones and 1,2,3,4-tetrahydropyrimido[5,4-c]quinolin-2,4-diones. *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC*. **2002**, 15 (3), 169–176. DOI: 10.1556/JPC.15.2002.3.2
(17) Al-Sha'Alan, N. Antimicrobial Activity and Spectral, Magnetic and Thermal Studies of Some Transition Metal Complexes of a Schiff Base Hydrazone Containing a Quinoline Moiety. *Molecules.* **2007**, 12 (5), 1080–1091. DOI: 10.3390/12051080
(18) Birkholz, D. A., Coutts, R. T., Hrudey, S. E., Danell, R., and Lockhart, W. Aquatic toxicology of alkyl-quinolines. *Water Research.* **1990,** 24 (1), 67–73. DOI: 10.1016/0043-1354(90)90066-F
(19) Birkholz, D. A., Coutts, R. T., Hrudey, S. E., Danell, R., and Lockhart, W. Aquatic toxicology of alkyl-quinolines. *Water Research.* **1990,** 24 (1), 67–73. DOI: 10.1016/0043-1354(90)90066-F
(20) Korotkova, E., Avramchik, O., Angelov, T., and Karbainov, Y. Investigation of antioxidant activity and lipophilicity parameters of some preservatives. *Electrochimica Acta.* **2005**, 51 (2), 324–332. DOI: 10.1016/j.electacta.2005.04.031
(21) Бражко О. А., Омельянчик Л. О., Коваленко Д. С., Завгородний М. П. Біологічна активність похідних 2- та 4-гідразинохінолінів / *Запорізький державний університет, Вісник ЗНУ. Фізико-метаматичні науки. Біологічні науки.* **2004**, 2, 108-112.

УДК 576.8:57.081.17:311.2 DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-07

Визначення раціонального обсягу вибірки в паразитологічних дослідженнях бутстреп-методом

[1]Швидка С. П., [1]Левчук С. А., [2]Сарабєєва Є. В.

ORCID: 0000-0002-9773-278X

[1]*Запорізький національний університет, Україна*

[2]*Запорізька гімназія № 28, Україна*

svetlana.shvydka@gmail.com; levchukser65@gmail.com

Ключові слова:
бутстреп, довірчий інтервал, точність, агрегований розподіл, паразити риб

Висока трудомісткість і вартість паразитологічних досліджень вимагає використання раціонального обсягу вибірки як балансу між інформативністю даних із малих вибірок та непотрібними витратами на отримання надлишкових даних. Агрегований характер розподілу паразитів у популяціях хазяїв створює принципові труднощі при розрахунку інтервальних оцінок вибіркових характеристик методами класичної статистики. У таких ситуаціях доцільно застосовувати непараметричні методи і ресамплінг. Запропоновані практичні рекомендації дозволяють визначати раціональний обсяг вибірки для обчислення інтервальних оцінок статистичних характеристик із заданою точністю з використанням методу Bag of Little Bootstraps. Точність визначається як довірчий інтервал, такий, що оцінка середнього значення повинна бути в межах певної величини істинного середнього із заданою ймовірністю. Підхід проілюстровано на прикладі визначення раціонального обсягу вибірки для обчислення інтервальних оцінок вибіркового середнього значення чисельності паразитів роду *Ligophorus*, *L. llewellyni* та *L. pilengas.* Для кожного з видів паразитів обсяг емпіричних вибірок дорівнював 224 елементам. Результати дослідження показали, що обсяг вибірки значною мірою залежить від рівня точності та параметра агрегації. Виявлено, що для вибірок обсягом 45 елементів і більше довжина довірчого інтервалу дорівнює емпіричному середньому або є меншою; вибірки з чисельністю у діапазоні 20 – 35 екземплярів недооцінюють значення вибіркового середнього, а малі вибірки (n=10) призводять до ненадійних оцінок. Схожі результати отримані в попередніх дослідженнях Маркес і Кабрал. Запропонований підхід стане в нагоді паразитологам при плануванні дизайну вибірки та допоможе визначити рівень точності вибіркового середнього значення у дослідженнях.

Determination of rational sample size in parasitological studies by bootstrap method

[1]Shvydka S. P., [1]Levchuk S. A., [2]Sarabeeva Ye. V.

[1]*Zaporizhzhia National University, Ukraine*

[2]*Zaporizhzhia high school №28, Ukraine*

Key words:
bootstrap, confidence interval, precision, aggregated distribution, fish parasites

Sampling of field material in parasitological studies is a highly time consuming procedure, which successful implementation also requires substantial financial and human resources. Therefore it is important to determine the rational sample size as a balance between the informative of the data from the small samples and the excess costs for collecting the unnecessary data. Due to aggregated distribution of parasites in populations of hosts it is difficult to calculate the confidence intervals of the statistical characteristics using the methods of classical statistics. In such situations it is need to use the non-parametric methods and resampling. The study offers practical recommendations to determine the rational sample size for calculation the interval estimates of the statistical parameters and the precision using the Bag of Little Bootstraps. The precision is defined as a confidence interval such that the estimate of the mean should be within some value of the true mean. The approach is illustrated on the example of monogenean parasites of *Ligophorus*

llewellyni and *L. pilengas* from the so-iuy mullet. The initial data set included 224 elements for each parasite species. The results showed that the level of precision and parameter of aggregation are strongly affected by the sample size. It was found that the width of the confidence interval was equal or less of the empirical mean for samples more than 45 elements. The mean abundance is systematically underestimated for samples with 20–35 individuals. The small samples (n=10) have led to the unreliable estimates. The similar results were obtained in studies of Marques and Cabral. The proposed here approach will relief the sampling plan design and will help researchers to define the rational sample size and the precision level for the estimated mean abundance in parasitological studies.

Вступ

Обсяг вибірки є одним із визначальних елементів планування статистичного дослідження в будь-якій галузі науки. Занадто велика вибірка призводить до невиправданих витрат та неефективного використання ресурсів, а недостатня – до незадовільної якості результатів дослідження. З огляду на це, питання розробки підходів до визначення раціонального обсягу вибірки, яка б гарантувала якість результатів спостереження при плануванні вибіркового дослідження, залишається актуальним і сьогодні.

Існує декілька стратегій для визначення обсягу вибірки[1]. Першим підходом є використання усієї сукупності даних, що виключає помилку вибірки та надає дані про всі особи у популяції. Цей метод є прийнятним лише для невеликих популяцій (наприклад, 200 або менше). Другий підхід полягає у використанні такого самого обсягу вибірки, як і в попередніх дослідженнях, схожих на ті, що плануються. У такому разі огляд літератури може надати рекомендації щодо «типової» вибірки, але при цьому необхідно проаналізувати коректність процедури визначення розміру вибірки в попередніх дослідженнях. Третій спосіб передбачає використання опублікованих таблиць[1,2], які містять інформацію про обсяг вибірки для заданої множини критеріїв (розміра популяції, точність, довірчий інтервал, закон розподілу). Використання четвертого підходу, а саме розрахунку обсягу вибірки за допомогою математичних формул[3–5], вимагає виконання передумови про певний теоретичний закон розподілу результатів спостереження. Нарешті, п’ятим шляхом є застосування некласичних методів статистики, що суттєво спираються на можливості сучасної комп’ютерної техніки. Такі методи базуються на ідеї генерації штучних вибірок на основі результатів спостереження. Подальший аналіз генерованих даних дозволяє отримати задовільну статистичну інформацію.

Проблема аналізу паразитологічних даних ускладняється тим, що у випадку природних інфекцій паразити зазвичай демонструють агрегований розподіл, тобто більшість хазяїв містять невелику кількість паразитів і окремі особи – занадто багато паразитів[6–8]. У більшості випадків такий розподіл може бути математично змодельованим за допомогою негативного біноміального розподілу $NB(m,k)$, де m – вибіркове середнє, k – параметр, що характеризує агрегацію[7]. Агрегований характер розподілу паразитів впливає на вибіркове середнє та його інтервальну оцінку[9], тому при визначенні раціонального обсягу вибірки слід знайти компроміс між репрезентативністю паразитологічних даних із малих вибірок та непотрібними витратами на отримання надлишкових даних. Попередні дослідження[5,10] продемонстрували, що найбільш потужними інструментами визначення оптимального обсягу вибірки для агрегованих даних є Монте-Карло симуляції та бутстреп-процедури.

Метою роботи є надання практичних рекомендацій щодо оптимізації визначення обсягу вибірки в паразитологічних дослідженнях із використанням бутстреп-моделювання.

Традиційний метод бутстрепа[11] вимагає, щоб вибірки бутстрепа були такого самого розміру, що й оригінальна вибірка. На відміну від нього, метод Bag of Little Bootstraps (BLB)[12] формує вибірки бутстрепа з декількох підвибірок або підмножин

вибірки, яка отримана внаслідок експерименту або спостереження. Згідно з BLB-методом, спочатку з оригінальної вибірки будують кілька підвибірок однакового обсягу, для яких потім застосовують традиційний бутстреп-метод, отримуючи кілька бутстреп-характеристик. Отже, на відміну від традиційного бутстрепа, який дає одне-єдине значення статистичної характеристики, BLB-метод дозволяє отримати бутстреп-характеристики для кожної з підвибірок. Зауважимо, що підвибірки з оригінальної вибірки містять менше унікальних спостережень, а отже, менше інформації, ніж вибірки традиційного бутстрепа, побудовані на основі оригінального набору даних. У BLB-методі вказана проблема вирішується шляхом осереднення усіх бутстреп-характеристик для підвибірок однакового обсягу.

Для практичної реалізації бутстреп-моделювання досить зручним є використання статистичного середовища R (https://www.r-project.org), яке стрімко набуває популярності при проведенні статистичних обчислень.

Матеріали та методи

Згідно з BLB-методом, визначення раціонального обсягу вибірки для знаходження обґрунтованої інтервальної оцінки вибіркової характеристики може бути виконане за схемою:

1) з емпірчної вибірки даних випадковим чином утворити підвибірку обсягом *n*. Значення *n* має бути меншим ніж обсяг початкової емпіричної вибірки або дорівнюватися цьому обсягу;

2) для створеної підвибірки побудувати *B* вибірок бутстрепа та обчислити бутстреп-характеристику вибіркового параметра;

3) кроки 1 і 2 повторити *N* раз;

4) для отриманих *N* бутстреп-характеристик значення вибіркового параметра виконати ранжування за збільшенням;

5) для побудови 95% довірчого інтервалу знайти значення вибіркового параметра, які являють собою 2,5 та 97,5 процентилі. Це будуть ліва та права межі 95% довірчого інтервалу;

6) повторити кроки 1 – 5 для різних значень *n*, зважаючи на цілі дослідження;

7) проаналізувати зміну довжини довірчого інтервалу зі зміною величини *n* і обрати раціональний обсяг вибірки як баланс між задовільною для практичного застосування інтервальною оцінкою вибіркового параметра та допустимим рівнем невизначеності такої оцінки;

8) використовуючи межі довірчого інтервалу, обчислити точність.

Алгоритм процесу отримання довірчого інтервалу для бутстреп-характеристики наведено на рисунку 1.

Запропонований підхід проілюстровано на прикладі визначення раціонального обсягу вибірки для обчислення обґрунтованих інтервальних оцінок вибіркового середнього значення ектопаразитичних моногенетичних сисунів роду *Ligophorus, L. llewellyni* та *L. pilengas*, від кефалі піленгаса, зібраної з Японського моря в період 2004 – 2005 років у межах виконання проєкту ІНТАС № 03-51-5998. Для кожного з видів паразитів обсяг емпіричних вибірок складав 224 елементи. На основі отриманих вибірок були виконані розрахунки для *n* від 10 до 100 з кроком 5 та таких параметрів: *B*=1000, *N*=10000. Розрахунки проведені в середовищі R (version 3.6.1, R Development Core Team, 2019) з використанням такого коду:

```
R> install.packages("MASS") # інсталяція пакета
R>library(MASS) # завантаження пакета
R> outp = matrix(nrow=N, ncol=2) # створення матриці для запису бутстреп вибіркових середніх значень
R> for(i in 1:N){ # цикл, що дозволяє обчислювати вибіркові середні значення бутстрепа для N різних підвибірок
R> subsample<-c(sample(data,10)) # створення підвибірки обсягом 10 елементів з емпіричних даних
R> boot <-numeric(B) # створення вектору для зберігання вибіркових середніх значень для кожної вибірки бутстрепа
R> for (j in 1:B) boot[j] <-(mean(sample(subsample,replace=T))) # бутстреп
R> mean(boot) # бутсреп вибіркове середнє значення для підвибірки
R> outp[i,] = c(i,mean(boot)) # запис N бутстреп вибіркових середніх значень
R> }
```

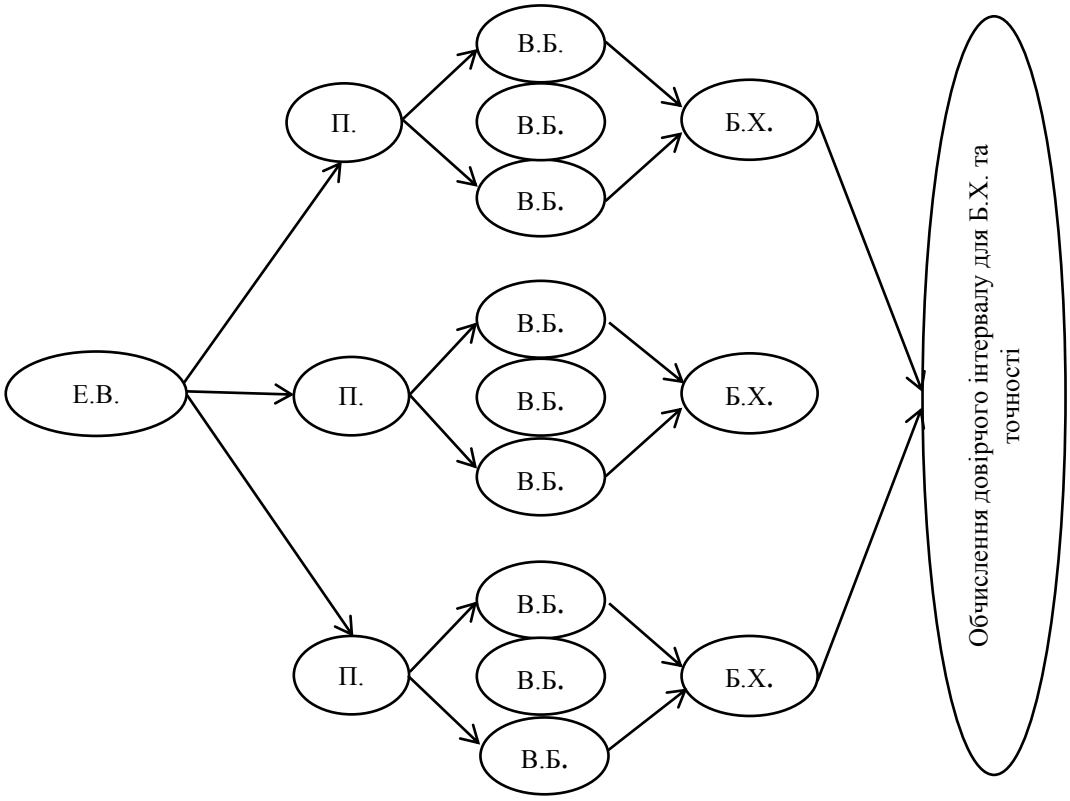


Рис. 1. Алгоритм процесу отримання довірчого інтервалу для бутстреп-характеристики (Б.Х.); Е.В. – емпірична вибірка, П. – підвибірка, В.Б. – вибірка бутстрепа

Для порівняння результатів, отриманих бутстреп-моделюванням, були використані методи класичної статистики, а саме розрахунок обсягу вибірки за допомогою математичної формули[3]:

$$n = \left(\frac{Z_{\alpha/2}}{D}\right)^2 \left(\frac{1}{m} + \frac{1}{k}\right), \qquad (1)$$

де $Z_{\alpha/2}$ – квартиль нормального розподілу, D – точність, m – вибіркове середнє значення, k – параметр, що характеризує агрегацію. За M. G. Karandinos[3], одним із найпоширеніших шляхів до визначення точності D є визначення її як довірчого інтервалу, такого, що оцінка середнього значення повинна бути в межах певної величини істинного середнього значення:

$$CI/2 = D \times m. \qquad (2)$$

Результати

Розподіл чисельності обох досліджених видів моногеней у популяції хазяїна мав виражений агрегований характер (відношення дисперсії до середнього значення значно більше за 1 (табл. 1)). Перевірка закону розподілу з використанням тесту χ^2 показала, що обидві вибірки паразитів підпорядковуються негативному біноміальному розподілу (табл. 1).

Таблиця 1 – Статистичні характеристики емпіричних даних

Вид моногеней	Вибіркове середнє	Дисперсія	*k* (*p*-значення)
Ligophorus llewellyni	42.83	5921.869	0.45 (0.28)
L. pilengas	22.19	1852.44	0.34 (0.11)

Результати бутстреп-моделювання вибіркового середнього значення надані на рисунку 2 у вигляді діаграм розмаху для вибірок обсягом від 10 до 50 елементів. Із діаграм видно, що для малих вибірок розподіл бутстреп-характеристик вибіркового середнього має правосторонню асиметрію. Для таких несиметричних розподілів медіана дає більш точну характеристику ознаки, і тому її

використовують замість вибіркового середнього значення. Для обох видів паразитів вибірки обсягом менше ніж 35 елементів недооцінюють значення вибіркового середнього.

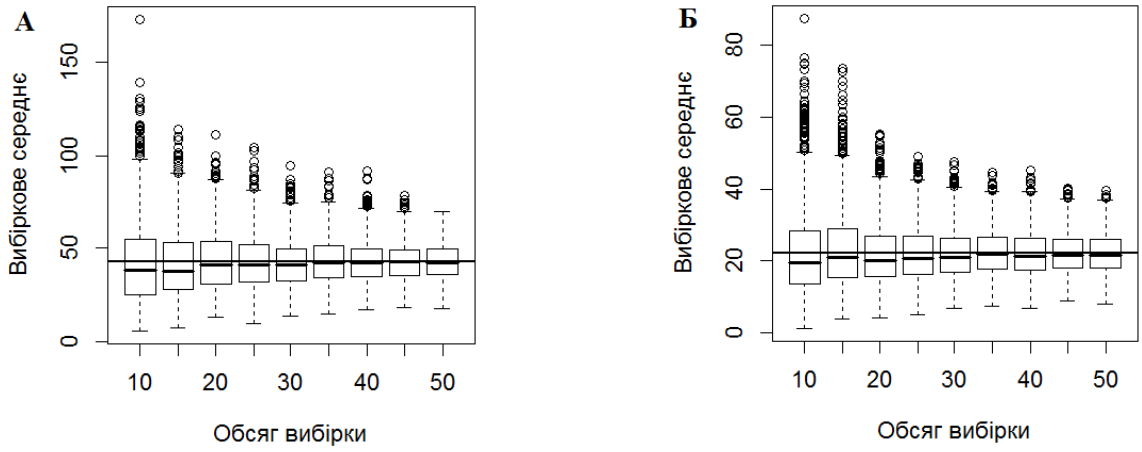


Рис. 2. Розподіл вибіркового середнього значення, отриманий для вибірок різного обсягу за допомогою BLB-методу; *L. llewellyni* (А) та *L. pilengas* (Б). Прямокутник включає значення між першим і третім квартилями. Вертикальні лінії (вуса), докреслені до прямокутника, відображають мінливість значень за межами верхнього й нижнього квартилів, мінімальне та максимальне значення, позначені рисками, викиди – кругами. Лінією в прямокутнику позначена медіана. Пряма лінія – емпіричне значення вибіркового середнього

На рисунку 3 наведено 95% довірчі інтервали для вибіркового середнього значення. Як видно, довірчі інтервали є несиметричними, що відповідає асиметрії вибіркового середнього чисельності паразитів. При збільшенні розміру вибірки інтервали помітно звужуються. Найшвидше зменшення довжини довірчого інтервалу спостерігалося для невеликих вибірок (< 40 елементів), тоді як подальше збільшення обсягу вибірок призвело до сповільненого зменшення довжини довірчого інтервалу. За умови збільшення обсягу вибірки на однакову величину для малих та великих вибірок, довжина довірчого інтервалу змінюється по-різному. Наприклад, збільшення обсягу вибірки з 20 до 40 та з 50 до 70 елементів зменшує довжину довірчого інтервалу на величину 0,5 × вибіркове середнє та 0,17 × вибіркове середнє, відповідно. Збільшення обсягу вибірки з 70 до 100 елементів не призводить до помітного звуження довжини довірчого інтервалу, зменшуючи його лише на величину 0,18 × вибіркове середнє.

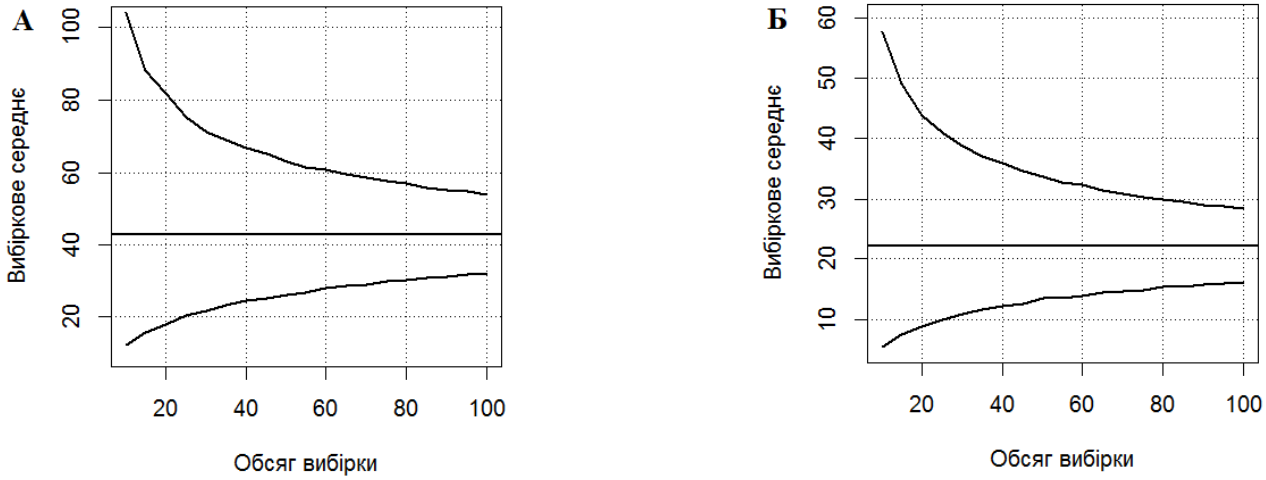


Рис. 3. Вибіркові середні значення та їхні 95% довірчі інтервали (пряма лінія – емпіричне значення вибіркового середнього); *L. llewellyni* (А) та *L. pilengas* (Б)

Криві зміни обсягу вибірки від точності D, побудовані на рис. 4, ілюструють швидке збільшення точності для малих вибірок, що містять від 10 до 40 елементів, та значно сповільнений її ріст для великих вибірок (> 40 елементів). За умови фіксованої точності саме параметр агрегації *k* має визначальний вплив на обсяг вибірки. Зі зменшенням величини *k*, інакше кажучи, при збільшенні рівня агрегації, слід розглядати вибірки більшого обсягу. Для однакових значень точності, обчислення, виконані за формулою (1), добре узгоджуються з результатами бутстреп-моделювання (рис. 4).

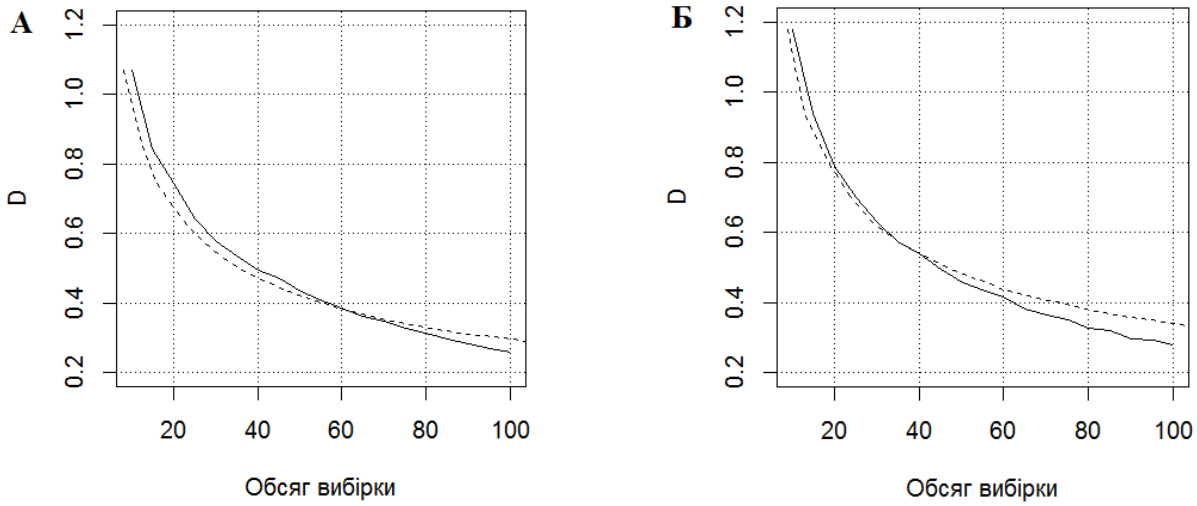


Рис. 4. Вплив точності D на обсяг вибірки для оцінки вибіркового середнього значення для моногеней *L. llewellyni* (А) та *L. pilengas* (Б). Неперервна лінія розрахована на основі емпіричних даних з використанням бутстреп-моделювання та формули (2), переривчаста лінія – за формулою (1)

Обговорення

Проведене комп'ютерне моделювання виявило ефективність використання бутстреп-процедури для задачі визначення раціонального обсягу вибірки для обчислення обґрунтованих інтервальних оцінок вибіркових характеристик з прийнятним рівнем точності в паразитологічних дослідженнях. Обсяг вибірки залежить від двох факторів: необхідного рівня точності та параметра агрегації. За інших однакових умов, для даних з високим рівнем агрегації обсяг вибірки має бути більшим для досягнення високого рівня точності. Це пояснюється рідкістю спостереження сильно заражених хазяїв і тому, швидше за все, ймовірність виявлення їх у вибірках невеликого обсягу є незначною[8].

Інтервальні оцінки статистичних параметрів дозволяють дослідникам оцінити значимість отриманих результатів, а довжина довірчих інтервалів – надати інформацію про точність вибіркових характеристик. У ситуаціях з агрегованими наборами даних доцільно застосовувати непараметричні методи і ресамплінг, що намагаються зрозуміти розподіл емпіричних даних безпосередньо у ході обчислень і оцінити параметри невідомих та складних законів розподілу. Бутстреп-моделювання дозволяє проводити детальний аналіз емпіричного матеріалу таким чином, що кожний окремий елемент з експериментальної вибірки дає свій вагомий внесок у формування кінцевого результату. На відміну від методів класичної статистики, моделювання дозволяє не втратити статистичних особливостей емпіричних даних, тоді як перші їх згладжують. Особливо це є актуальним для даних з асиметричним розподілом, якими є агреговані дані.

Швидке збільшення точності з ростом обсягу вибірки вказує на зниження рівня невизначеності, а отже, означає, що вибірка стає репрезентативною для отримання допустимих інтервальних оцінок. Подальше повільне лінійне збільшення точності зі збільшенням обсягу вибірки пояснюється високою загальною кількістю ненульових значень у вибірках. Невеликі вибірки є

достатніми у випадках, коли менший рівень точності є прийнятним, а також для даних із невеликою агрегацією[4, 5].

Для обох видів паразитів результати, отримані в роботі, добре узгоджуються з попередніми дослідженнями. Із використанням методу Монте-Карло J. F. Marques і H. N. Cabral[10] з'ясували, що невеликі вибірки (< 40 елементів) систематично занижують значення показників середньої чисельності та середньої інтенсивності паразитів. Цей факт пояснюється наявністю правосторонньої асиметрії у розподілі паразитологічних даних із великою кількістю нулів, що означають відсутність паразита, та незначною кількістю великих даних, які характеризують сильно заражених риб. У роботі[5] показано, що для вибірок обсягом 80 елементів і більше величина довірчого інтервалу дорівнює емпіричному середньому значенню або є меншою; вибірки з чисельністю в діапазоні 25-40 екземплярів недооцінюють значення середнього, а малі вибірки (n=10) призводять до ненадійних оцінок.

Застосований підхід, по-перше, дає змогу уникнути необхідності робити не завжди обґрунтовані припущення про певний закон розподілу випадкової величини, що досліджується. Процес розрахунку не привносить в отримані статистики жодної зайвої інформації та дозволяє досить ретельно аналізувати статистичні дані, що представлені складними законами розподілу, не допускаючи втрати інформації. По-друге, алгоритм процесу дозволяє прослідкувати зміну розподілу вибіркових характеристик при використанні практично необмеженої кількості штучних повторних вибірок, отриманих в однакових умовах. Зрештою, реалізація підходу не є складною і звільняє від необхідності пошуку математичних формул та критеріїв, які є найкращими для статистичної обробки конкретних даних.

Висновки

Запропонований алгоритм побудови інтервальних оцінок вибіркових параметрів стане в нагоді паразитологам при плануванні перспективного дизайну вибірки та допоможе дослідникам зрозуміти рівень точності вибіркових характеристик у паразитологічних дослідженнях.

Розглянутий підхід до визначення раціонального обсягу вибірки дозволяє проводити обробку експериментальних даних, що представлені вибірками малого обсягу та складними законами розподілу, а також у випадках, коли методи класичної статистики не можуть бути застосовані. При аналізі невеликих вибірок, метод бутстрепа буде корисним для обчислення описової статистики з відповідними довірчими інтервалами. Такий підхід є доцільним у ситуаціях, коли малі вибірки є неминучими, наприклад, при роботі з видами, які перебувають на межі вимирання. Сучасні інформаційно-обчислювальні технології допоможуть реалізувати практичні рекомендації і дадуть наочні результати, які легко піддаються інтерпретації.

Подяки

Автори висловлюють подяку доценту кафедри біології лісу, мисливствознавства та іхтіології Запорізького національного університету Сарабєєву В. Л. за допомогу та слушні поради щодо постановки наукової проблеми, а також за люб'язно надані емпіричні дані.

Робота Швидкої С. П. частково підтримана Національною стипендіальною програмою Словацької Республіки (SAIA – National Scholarship Programme of the Slovak Republic), проєкт № ID 24637.

Література

(1) Israel, G. D. *Determining Sample Size*; PEOD6; 1992.

(2) Курочкин, Ю. В. *Методическое пособие по паразитологическому инспектированию морских рыб*; ТИНРО: Владивосток, 1979.

(3) Karandinos, M. G. Optimum Sample Size and Comments on Some Published Formulae. *Bull. Entomol. Soc. Am.* **1976**, *22* (4), 417–421 DOI: 10.1093/besa/22.4.417.

(4) Opit, G. P.; Throne, J. E.; Flinn, P. W. Sampling Plans for the Psocids Liposcelis entomophila

and Liposcelis decolor (Psocoptera: Liposcelididae) in Steel Bins Containing Wheat. *J. Econ. Entomol.* **2009**, *102* (4), 1714–1722 DOI: 10.1603/029.102.0440.

(5) Shvydka, S.; Sarabeev, V.; Estruch, V. D.; Cadarso-Suárez, C. Optimum sample size to estimate mean parasite abundance in fish parasite surveys. *Helminthologia* **2018**, *55* (1), 52–59 DOI: 10.1515/helm-2017-0054.

(6) Anderson, R. M.; Gordon, D. M. Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology* **1982**, *85 (Pt 2)*, 373–398.

(7) Shaw, D. J.; Dobson, A. P. Patterns of macroparasite abundance and aggregation in wildlife populations: a quantitative review. *Parasitology* **1995**, *111 Suppl*, S111-27.

(8) Poulin, R. Explaining variability in parasite aggregation levels among host samples. *Parasitology* **2013**, *140*, 541–546 DOI: 10.1017/S0031182012002053.

(9) Rózsa, L.; Reiczigel, J.; Majoros, G. Quantifying parasites in samples of hosts. *J. Parasitol.* **2000**, *86* (2), 228–232 DOI: 10.1645/0022-3395(2000)086[0228:QPISOH]2.0.CO;2.

(10) Marques, J. F.; Cabral, H. N. Effects of sample size on fish parasite prevalence, mean abundance and mean intensity estimates. *J. Appl. Ichthyol.* **2007**, *23* (2), 158–162 DOI: 10.1111/j.1439-0426.2006.00823.x.

(11) Efron, B.; Tibshirani, R. J. *An introduction to the bootstrap. Monographs on Statistics and Applied Probability, No. 57. Chapman and Hall, London, 436 p*; Chapman and Hall: London, 1993; Vol. 57.

(12) Kleiner, A.; Talwalkar, A.; Sarkar, P.; Jordan, M. I. A scalable bootstrap for massive data. *J. R. Stat. Soc. Ser. B (Statistical Methodol.* **2014**, *76* (4), 795–816 DOI: 10.1111/rssb.12050.

РОЗДІЛ ІІ. ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

УДК 597.556.333.7:595.132(262.5) DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-08

Helminth parasites of grey mullets (Teleostei: Mugilidae) in the Mediterranean region: a review

Sarabeev V. L., Tkach Ie. V.
ORCID ID: 0000-0003-4724-3141
Zaporizhzhia National University, Ukraine
volodimir.sarabeev@gmail.com

Key words:
Mediterranean and Azov-Black Seas, Mugil cephalus, Chelon labrosus, Chelon auratus, Chelon ramado, Chelon saliens, Planiliza haematocheila

Helminths are a diverse and rich group of fish parasites, some of which are dangerous pathogens of epidemic potential. The present review is focused on helminth parasites from grey mullets (Mugilidae) in the Mediterranean and Azov-Black Seas. These fish are of great economic importance, for supplying food and recreation services. This study covers helminth parasites of six species: *Mugil cephalus* (L.), *Chelon labrosus* (Risso), *C. auratus* (Risso), *C. ramado* (Risso), *C. saliens* (Risso) and *Planiliza haematocheila* (Temminck, Schlegel). This paper gives a brief overview of the history of taxonomic and faunistic studies of helminth parasites from grey mullets in the Mediterranean. The history of the helminth parasites from grey mullets goes back to over 200 years ago to the first species described by Rudolphi in 1819. One hundred and four helminth species have been recorded in about 130 published papers. Fewer than 10 species have been recorded prior to 1900. Since 1960s, taxonomic efforts have rapidly increased, reaching the highest level in the first decade of the 21st century. Only one new species has been recorded in Mediterranean mullets in the last decade. We suggest that the decrease in the number of described species observed in the last decade is the consequence of previous intensive taxonomic efforts result in actual estimation of species diversity for the studied area. Digeneans and specialist (oioxenic and stenoxenic) parasites dominated in the structure of helminth fauna of mullets. The highest richness of helminths is found in the Azov-Black Seas mullets, while the poorest in the Eastern Mediterranean. A relatively large number of species (20) identified only to generic or family levels remain the taxonomic subject of future studies.

Гельмінти кефалей (Teleostei: Mugilidae) Середземноморського регіону: літературний огляд

Сарабєєв В. Л., Ткач Є.В.
Запорізький національний університет, Україна

Ключові слова:
Середземне море, Азово-Чорноморський регіон, Mugil cephalus, Chelon labrosus, Chelon auratus, Chelon ramado, Chelon saliens, Planiliza haematocheila

Гельмінти - різноманітна і багата група паразитів риб, серед яких є небезпечні збудники захворювань, що можуть призводити до масових епізоотій серед популяцій риб. Огляд присвячено гельмінтам кефалевих риб (Mugilidae), що мешкають у водах Середземного та Азово-Чорноморського басейнів. Кефалі мають велике економічне значення з огляду на споживання та рекреацію. Дослідження охоплює огляд гельмінтів від шести видів: *Mugil cephalus* (L.), *Chelon labrosus* (Risso), *C. auratus* (Risso), *C. ramado* (Risso), *C. saliens* (Risso) та *Planiliza haematocheila* (Temminck, Schlegel). Наведено стислий огляд історії таксономічних та фауністичних досліджень паразитів гельмінтів від кефалей у Середземномор'ї. Історія вивчення гельмінтів кефалей сягає понад 200 років та бере початок від опису акантоцефали, виконаного Рудольфі в 1819 році. Сто чотири види гельмінтів було відзначено у близько 130 опублікованих працях. До 1900 року було зареєстровано

менше ніж 10 видів, переважно досить великих. Із 1960-х років таксономічні зусилля дослідників гельмінтів кефалей швидко зростали, сягнувши найвищого рівня в першій декаді XXI століття (описано 13 нових видів). Але за останнє десятиріччя було виявлено та описано лише один новий вид гельмінтів від кефалей. Ми припускаємо, що зменшення кількості описаних видів, що спостерігалося протягом останнього десятиріччя, є наслідком попередніх інтенсивних таксономічних зусиль. Імовірно, це призвело до фактичної оцінки різноманітності видів для досліджуваної території. У структурі гельмінтофауни переважають дигенеї і специфічні паразити. Найбагатше різноманіття гельмінтів виявлено в Азово-Чорноморських кефалей, тоді як найбідніше – у східному Середземномор'ї. Порівняно велика кількість видів (20), визначених до родового або родинного рівня, залишають перспективи для подальших таксономічних досліджень гельмінтів кефалей.

Introduction

Helminths represent one of the most diverse group of fish parasites. Many species are dangerous pathogens of epidemic potential, that may cause serious damage in both wild and farmed animals[1,2]. Taxonomic and faunistic studies are the first step in ecological and epidemiological investigations and are important for discovering and documenting species diversity, their geographic distribution, host specificity and pathogenicity.

The present study focuses on a variety and number of helminth parasites from grey mullets (Mugilidae) in the Mediterranean and Azov-Black Seas. Mullets are of great economic importance[3], supplying food and recreation services. The demand for mullet roe has grown considerably in recent decades elevated the status of grey mullets to be being called «grey gold»[4,5]. This review covers helminth parasites of six species from three genera of the Mugilidae family: flathead mullet *Mugil cephalus*, thicklip mullet *Chelon labrosus*, golden grey mullet *Chelon auratus*, thinlip mullet *Chelon ramado*, leaping mullet *Chelon saliens* and so-iuy mullet, also known as haarder or red-lip mullet, *Planiliza haematocheila*[6]. *Oedalechilus labeo* (Cuvier, 1829) also occurs in the Mediterranean[6], but only one reference reports two species of flatworms from this host[7]. *P. haematocheila* was deliberately introduced in the Black and the Azov Seas. The main goal of the introduction was seeking ways to increase the fishing capacity of natural water reservoirs and to use abundant and underutilized amount of detritus[8]. The fish translocation with subsequent induced breeding and fry release in the 1970s-1980s resulted in the establishment of a self-reproducing population of the so-iuy mullet in the new distribution range[9]. The so-iuy mullet has been officially subject to commercial fishing in Ukraine since 1993[10]. This fish is one of the most important and common commercial fish, which is dominant in catch composition, and effectively replacing the depleted stocks of local mullets[9,11].

The history of the helminth parasites from grey mullets goes back to over 200 years ago to the first species described[12]. The first review of the parasitic species recorded from worldwide mullets was provided by Paperna and Overstreet in 1981[2]. More recently, Radujković and co-authors[7,13–16], and Dmitrieva and Gaevskaya[17] reviewed the parasite species list of grey mullets from the Adriatic and the Azov-Black Seas, respectively. A review of microparasites, also including viral, prokaryotic, and fungal pathogens, of mullets worldwide was performed by Ovcharenko[18]. Thus, a review of helminth parasites of grey mullets at the large geographic scale of the Mediterranean region is needed to analyse the literature available, compile a species list, examine the structure of the helminth fauna and evaluate further perspectives. The present work is specifically designed to cater for these objectives.

History of taxonomic and faunistic studies of helminth parasites from grey mullet fish in the Mediterranean and Azov-Black Seas

It is likely that the first record of parasites from a grey mullet host was published by Rudolphi[12] in 1819. Rudolphi's monograph includes a description of *Neoechinorhynchus*

agilis (as *Echinorhynchus agilis*) from the Mediterranean flathead grey mullet. Since this first description, this acanthocephalan species has been recorded in numerous marine and freshwater locations in the Northern Hemisphere and from a broad range of host species[15,17,19–24]. The first description of a digenean *Haplosplanchnus pachysomus* (as *Distoma pachysoma*), one of the largest metazoan species reported from *C. auratus* (as *Mugil auratus*), was done by Eysenhardt[25] in the early 19th century. One species of intestinal digenean, *Haploporus benedenii* (Stossich, 1887) (as *Distomum benedeni*) and three species of ectoparasitic monogeneans, *Solostamenides mugilis* (Vogt, 1878) (as *Microcotyle mugilis*), *Ligophorus vanbenedenii* (Parona and Perugia, 1890) (as *Tetraonchus vanbenedenii*) and *Benedenia monticellii* (Parona and Perugia, 1895) (as *Phylline monticellii*) were described in the late 19th century[26–28]. The scarce information gained in 19th century indicate that parasites of grey mullets were studied sporadically at that time (fig.1).

In the early 20th century, Looss published two papers with description of eight new intestinal digenean species from grey mullets off the coast of Trieste[29] and Egypt[30]. Looss[29] erected four new genera (*Haploporus*, *Dicrogaster*, *Saccocoelium* and *Lecithobothris*) to allocate digeneans from Mediterranean mullets, which were later assigned to Haploporidae Nicoll, 1914[31]. The extent of intra- and interspecific variation in species from these four genera is virtually unknown, since most species within the genus are known only from their original descriptions. Although the Mediterranean forms of *Haploporus*, *Dicrogaster*, *Saccocoelium* and *Lecithobothris*, are the most widely reported species, there are few documented reports providing data on their morphology[32–34]. Therefore, a taxonomic review of Haploporidae was needed and this huge work has been recently done by Blasco-Costa and co-authors[32–35]. These author reviewed *Haploporus*, *Dicrogaster*, *Saccocoelium*, *Lecithobothris* and *Forticulcita* Overstreet, 1982, erected a new genus, *Ragaia* Blasco-Costa, Montero, Gibson, Balbuena & Aneta Kostadinova, 2009, and described six new species of haploporid digeneans.

The first record of helminth parasites from the Black Sea mullets was published by Wlassenko[36]. In this work, Wlassenko registered undetected monogenean species *Dactylogyrus* sp. and three digeneans, including *S. tensum* Looss 1902, *H. pachysomus* and a new species of *Haploporus*, *Haploporus longicolum (Vlassenko, 1931).* Skrjabin[37] erected *Wlassenkotrema* Skrjabin, 1956 to allocate the latter species. Yamaguti[38] treated *Wlassenkotrema* as a junior synonym of *Haploporus*, while Overstreet and Curran[39] considered *W. longicolum* as a synonym of *S. obesum* Looss 1902. Osmanov[40], Chernyshenko[41], Butskaya[42] and Pogoreltseva[43] studied parasite fauna of the Black Sea fish, including grey mullets, extending the list of parasite fauna to eight species. The subsequent publication of Reshetnikova[44] merits special attention. This work provided an analysis of faunal, as well as regional, age and seasonal dynamics of infection parameters of parasites from three grey mullet hosts across different localities in the Azov-Black Seas. Thirteen, 15 and 11 species were reported from *M. cephalus*, *C. auratus* and *C. saliens*, respectively. Based on the patterns of seasonal and age dynamics practical recommendations were given for the optimal age for introduction of grey mullets in estuaries for aquaculture exploitation[44]. Thus, studies of the Black Sea grey mullet parasites in the first half of the 20th century were mostly carried out at the Caradag Biological Station, Kurortne, Crimea, Ukraine, but with Department of Ecological Parasitology, O. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Sevastopol, Ukraine in the second half of the 20th century and up to the present time.The team of the Department of Ecological Parasitology together with the Odessa and Karadag branches published over 25 papers devoted to the parasite fauna[17,45–63], taxonomy[53,56,60,64–70], ecology[70,71] and pathogens[72] of grey mullets of the Azov-Black Seas. Researchers of the Sevastopol's team described two monogenean species from grey mullets, *Ligophorus euzeti* Dmitrieva and Gerasev, 1996, and

Polyclithrum ponticum Gerasev, Dmitrieva and Gaevskaya, 2002[53,66]. Recently, a number of monographs published by Gaevskaya[73–75] were devoted to studies of fish parasites and pathogens from the Azov-Black Seas, including parasites of grey mullets. The Black Sea mullets have also been studied along the Bulgarian[76,77] and Turkish[78–80] coastal waters. These studies report new faunistic records of parasites.

Coming back to the Mediterranean, some studies of Euzet and co-authors devoted to monogenean parasites of grey mullets were published in the second half of the 20th century[81–83]. Euzet and Suriano[82] erected *Ligophorus* within the Ancyrocephalidae (Monogenea), and included 11 species parasitizing the gills of grey mullets: *L. vanbenedenii* (Parona and Perugia, 1890); *L. szidati* Euzet and Suriano, 1977; *L. mugilinus* (Hargis, 1955); *L. chabaudi* Euzet and Suriano, 1977; *L. macrocolpos* Euzet and Suriano, 1977; *L. acuminatus* Euzet and Suriano, 1977; *L. minimus* Euzet and Suriano, 1977; *L. heteronchus* Euzet and Suriano, 1977; *L. angustus* Euzet and Suriano, 1977; *L. imitans* Euzet and Suriano, 1977 and *L. confusus* Euzet and Suriano, 1977. Subsequently Euzet and Sanfilippo[83] added one new species to the genus, *L. parvicirrus* Euzet and Sanfilippo 1983. Since the erection of *Ligophorus*, about 60 new species have been described infecting worldwide mullets. The taxonomic revision of the Atlantic and the Pacific of *Ligophorus* has been performed by Sarabeev et al.[84] Thirty-five nominal species of *Ligophorus* known from the Atlantic and the Pacific waters were covered in this review. Thirty of them, were considered valid, one incertae sedis, one species inquirendae, two junior synonyms and one was transferred to another genus.

The Atlantic and Mediterranean grey mullets, *C. labrosus* and *C. ramado*, also harbour another genus of Dactylogyridae, *Ergenstrema* Paperna, 1964, whose members co-occur on gills with species of *Ligophorus*. This genus includes only two species, *Ergenstrema mugilis* Paperna, 1964 and *E. labrosi* Anderson, 1981 from *C. ramado* and *C. labrosus*, respectively[85,86].

Overstreet[87] reviewed the taxonomy of *Saturnius* Manter, 1969, a small hemiurid genus of stomach parasites specific to grey mullets, and described *Saturnius papernai* Overstreet, 1977 from *Mugil cephalus* in Bardawil Lagoon, Eastern Mediterranean. This species has been subsequently reported elsewhere in the Mediterranean basin[17,20,22,56,76,88–90]. Dimitrov[76] provided a redescription of *S. papernai* from the Bulgarian coast of the Black Sea. Two new species of *Saturnius* (*S. minutus* Blasco-Costa, Pankov, Gibson, Balbuena, Raga, Sarabeev & Kostadinova, 2006 and *Saturnius dimitrovi* Blasco-Costa, Pankov, Gibson, Balbuena, Raga, Sarabeev & Kostadinova, 2006) were described from the Western Mediterranean that raised the number of species of the genus up to three in this region[91]. A new genus and species of hemiurid digenean (*Robinia aurata* Pankov, Webster, Blasco-Costa, Gibson, Littlewood Balbuena, Kostadinova, 2006) was proposed[92].

There are several taxonomic and faunistic studies providing information on mullet parasites from the Mediterranean and the Adriatic Sea off Italy[20,22,93–101] and Montenegro[7,13,14,16,102]. Two new species on nematode and acanthocephalan parasites, *Cucullanus bioccai* Orecchia and Paggi, 1987 and *Acanthogyrus (Acanthosentis) lizae* (Orecchia, Paggi, Radujkovic, 1988) Amin, 2005, were described from *M. cephalus* and *C. auratus*, respectively in the Adriatic[95,102].

Paperna and co-authors published a set of papers on helminth parasites from the Eastern Mediterranean grey mullets (Israel and Egypt)[2,86,103,104]. Abu Samak[105–107] reported three species of *Ligophorus* from *C. ramada* in the Mediterranean coastal waters of Egypt. There are also a few papers with helminths records from the Marmara Sea and Turkish Mediterranean[108–110].

First reports of parasites from the introduced population of *P. haematocheila* in the Azov Sea appeared in papers of Sabodash and Semenenko[111,112]. These authors recorded five parasite species in so-iuy mullets from the Molochny Estuary. Maltsev and co-authors studied parasites of the migrated population of *P. haematocheila* through the

Kerch Chanel[113–115]. Their taxonomic works were predominantly focused on monogeneans from the so-iuy mullet. Maltsev and Miroshnichenko[114,115] redescribed *Gyrodactylus mugili* Zhukov, 1970, *G. zhukovi* Ling 1962 and *G. anguillae* Ergens, 1960 and description of a new species *Ligophorus gussevi* Maltsev and Miroshnichenko, 2004 across different localities in the Azov Sea. However, based on comparative analysis of shape and measurements of sclerotized characters of worms from the so-iuy mullet *L. gussevi* was considered as the junior synonym of *Ligophorus pilengas* Sarabeev and Balbuena, 2004[116].

Sarabeev and co-authors studied the parasite fauna of *P. haematocheila* and local fish species across localities in the north-western Azov Sea. Sixty-three species of parasites were recorded in the fish studied[88,117–122]. Two new species were described from the so-iuy mullet in the Azov Sea, digenean *Bunocotyle constrictus* Domnich and Sarabeev, 1999 and monogenean *L. pilengas*. The former species was later considered as the junior synonym of *S. papernai*[90]. In addition, two species of *Ligophorus*, *L cephali* Rubtsova, Balbuena, Sarabeev, Blasco-Costa & Euzet, 2006 and *L. mediterraneus* Sarabeev, Balbuena & Euzet, 2005, were described from the Mediterranean and Azov-Black Seas flathead mullet[123,124]. The taxonomic status of *N. agilis* from grey mullets (Mugilidae) across localities in the North-east Atlantic and the North-west Pacific areas was reviewed by Tkach et al.[125]. This review based on morphological features of acanthocephalans showed that there are three different species of *Neoechinorhynchus* occurring in grey mullet, two of those were recorded in the Atlantic (*Neoechinorhynchus* (*Neoechinorhynchus*) *agilis* and *Neoechinorhynchus* (*Hebesoma*) *personatus* Tkach, Sarabeev et Shvetsova, 2014) and one in the Pacific waters (*Neoechinorhynchus* (*Hebesoma*) *yamagutii* Tkach, Sarabeev et Shvetsova, 2014). Molecular analysis performed on 18S rRNA partial gene sequences has confirmed the species status of *N. personatus* and *N. yamagutii*[126].

Míguez-Lozano et al.[127] provided a detailed description of the helminth communities of *C. auratus* in the Spanish Mediterranean and analysed the role of spatial, temporal, and host variables in shaping the infracommunities. The spatial structure of helminth infracommunities has been found to be determined by a combination of differences in local environmental conditions and the transmission ability of each helminth species along spatial and temporal scales[127]. A quantitative complex analysis of helminth species richness of invasive so-iuy mullet across different native and introduced populations was performed by Sarabeev[128]. This study showed that the helminth diversity was apparently higher in the introduced population of *P. haematocheila* than in those of their native habitat, but this trend was not confirmed when the sampling efforts were controlled for.

The cumulative number of helminth species described in grey mullets is presented in Figure 1. Fewer than 10 species, predominantly large ones, were recorded prior to 1900. After 1900, the three waves of species description are remarkable in the history of taxonomic studies of helminth parasites. Those are related with papers of Looss[30,129], Euzet and Suriano[82] and Blasco-Costa et al.[32–35,91,92,130–132], Sarabeev and co-authors[122–124]. An increase in the number of authors suggests that taxonomic effort has increased since the 1960s reaching the highest number of species described (13) in the first decade of the 21st century, w hile only one new species was found in the last decade. Since the number of species is limited for any community[133], we suggest that the decrease in the number of described species observed for the last decade is the consequence of previous intensive taxonomic efforts probably resulted in actual estimation of species richness for the studied area.

Although taxonomic and faunistic studies of helminth parasites from grey mullets have a long history originating from Rudolphi's work in 1819[12] and were frequent enough (counting up to 130 references), they could not be considered as completed. There are two reasons for this. First, regardless of whether the cause is anthropogenic or natural, the environment is changing mostly due to climate change, pollution and introduction of alien species[134,135].

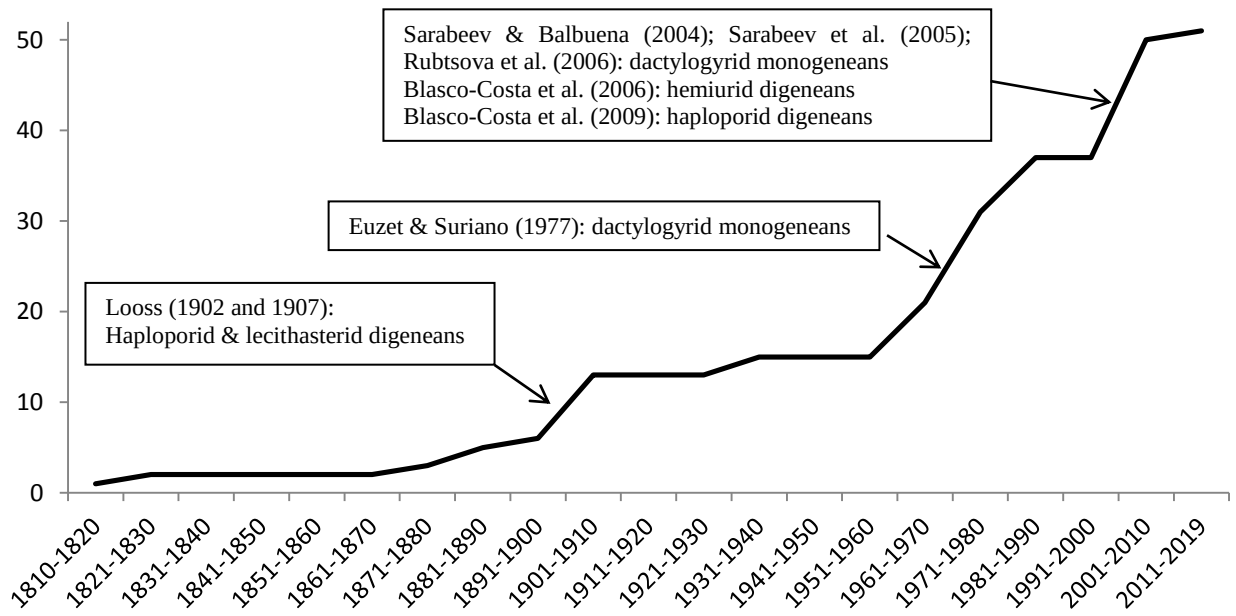


Fig. 1. Cumulative number of helminth species described from grey mullets per decade since 1819.

Environmental change affects species diversity of aquatic and terrestrial ecosystems resulting in the extinction of species or loss of populations from a particular region, and expansion of invasive or introduced species to new areas[134,135]. Since every fish species usually harbors a number of species, it is no surprising that co-introduced parasites commonly make the trip with their invasive host. The Pacific so-iuy mullet introduced in the Azov-Black Seas provides one example of this. Six helminth species of this invasive host have also invaded the new areas[128] (Appendix A). In this context, the Lessepsian migration of grey mullets increases the probability of alien helminth species introduced from the Red Sea to the Mediterranean[136]. For instance, *Forticulcita glabra* and *Saccocoelium gohari* reported in Eastern Mediterranean localities obviously have a Red Sea origin. Second, application of modern tools and techniques, such as transmission and scanning electron microscopy, molecular and population approaches provides new possibilities for the discovery of new species. The description of two species of mixosporidians of the genus *Kudoa* from Mediterranean grey mullets[137,138] is a good example of such research achievement.

Structure of helminth communities from grey mullets in the Mediterranean

Altogether 104 species of helminth parasites from 53 genera and 29 families have so far been reported in Mediterranean grey mullets; of these, 17 and 3 have been identified to generic and family levels only (Appendix A).

Digeneans represent the most diverse group of helminths in these hosts (53%) accounting for 29 (28%) and 26 (25%) species at the adult and larval stages, followed by monogeneans, nematodes, acanthocephalans and cestodes (29 (28%), 12 (11%), 6(6%) and 2(2%) species, respectively) (fig. 2). Specialist parasites accounted for a considerable portion of the parasite communities, including both oioxenic 25 (24%) and stenoxenic 27 (26%) species, vs. 47 (45%) species of generalists; specificity could not be determined for 5 (5%) species. The digestive tract harboured the highest helminth species richness (38 species, 36%). There is almost equal number of species occurring on gills, the external surface of the body (29 species, 28%) and in the body cavity, internal organs and tissues (31 species, 30%).

The number of parasite species reported is unequal in the four Mediterranean geographic areas considered (table 1). The highest number of species was found in the Azov-Black Seas, followed by the Western, Eastern and Central Mediterranean areas. We tend to associate the richest fauna of helminth parasites revealed from the Azov-Black Seas region with the intensity of research efforts. Since the first report of flatworms by Wlassenko[36] in 1931, the studies of grey mullet parasites has been quite intensive amounting to over 60 papers.

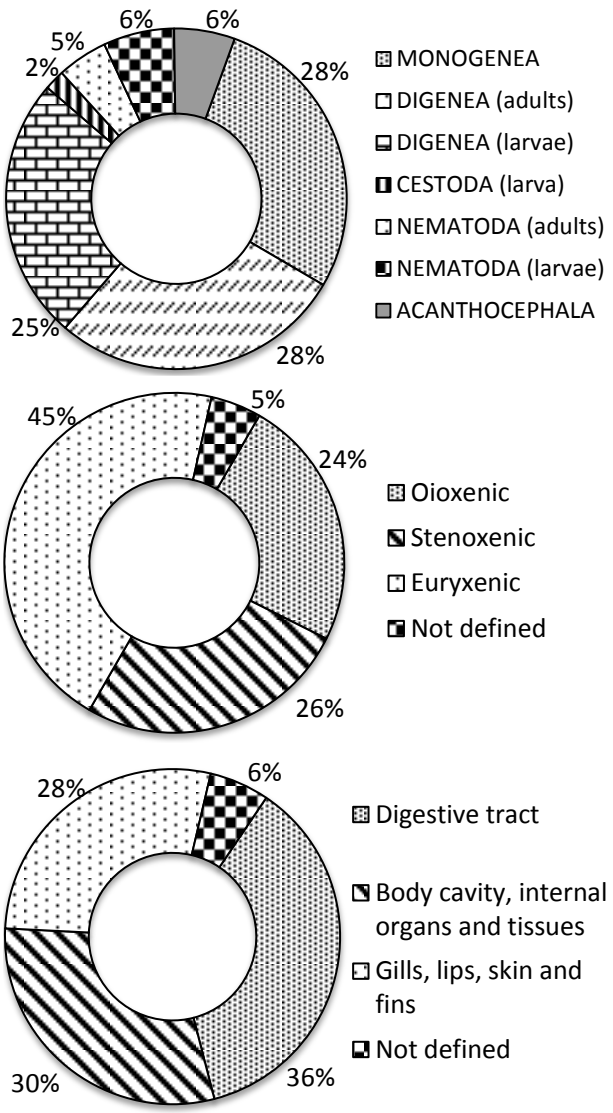


Fig. 2. Structure of the helminth fauna of grey mullets in the Mediterranean region: A – higher-level taxonomic groups and stages, B – host specificity, C – infection site.

Currently, four research teams are active in the Azov-Black Sea, including the Sinop University, Sinop, Turkey; the Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria; the Institute of Biology of the Southern Seas O. O. Kovalevskoho, the National Academy of Sciences of Ukraine, Sevastopol, Crimea; and the Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, Ukraine. In contrast, only about 10 papers have reported helminths in the Eastern Mediterranean area across marine localities of Egypt, Israel and Turkey. Similarly, since 1949 fourteen papers were published to discover helminth assemblages of Central Mediterranean region providing data for parasites of the Adriatic Sea and Italian coastal waters (see the previous section).

One interesting finding of the present study is that each geographic region is characterized by a specific set of euryxenic parasites. In contrast to oioxenic and stenoxenic helminths, some of which have been reported in all four areas, euryxenic parasites predominantly known for one or maximum two regions (Appendix A). The exception from this pattern is *Ascocotyle longa* metacercaria, which were registered in the Western, Eastern Mediterranean and Azov-Black Seas. This finding opens new possibilities to use helminth parasites as bioindicators of fish catches and the stock location.

Table 1 – Number of helminth species reported from different parts of the Mediterranean region: WM – Western Mediterranean; CM – Central Mediterranean; EM – Eastern Mediterranean; AZ-BL – Azov-Black Seas

Taxon	WM	CM	EM	AZ-BL
MONOGENEA	17	17	10	20
DIGENEA (adults)	19	10	13	19
DIGENEA (larvae)	7	1	7	14
CESTODA (larva)	0	0	1	2
NEMATODA (adults)	1	2	2	3
NEMATODA (larvae)	1	1	1	6
ACANTHOCEPHALA	3	3	2	5
Total	48	34	36	69

Conclusions

As a result of all of these, the current list of helminth species recorded from the Azov-Blck Seas and the Western Mediterranean grey mullets is likely well defined. Marked advances have been made in recent decades, but progress in understanding the helminth

fauna, particularly from the Eastern and Central Mediterranean regions, will continue to be restricted by the lack of competent taxonomists specialised in specific groups of helminth parasites and the lack of routing monitoring and appropriate samples. Nevertheless, it is evident from our current knowledge that the helminths form a very diverse group of parasites in the grey mullets accounting at list 103 species in the Mediterranean and Azov-Black Seas. A relatively large amount of species (20) identified at generic or family level remains the opportunity for further taxonomic studies. The Eastern Mediterranean remains an intriguing area for the further faunistic research. There are limited studies on parasites from grey mullets in this region and the Lessepsian migration of fish increases the probability of invasion of new parasite species in the Eastern Mediterranean.

Acknowledgements

This work was partially supported by ASSEMBLE PLUS project, grant agreement No. 730984.

References

(1) *Fish diseases and disorders. Volume 1: protozoan and metazoan infections*, 2nd ed.; Woo, P. T. K., Ed.; CABI: Wallingford, 2006.

(2) Paperna, I.; Overstreet, R. M. Parasites and diseases of mullets (Mugilidae). *Aquac. grey mullet* **1981**, 411–493.

(3) Mićković, B.; Nikčević, M.; Hegediš, A.; Regner, S.; Gačić, Z.; Krpo-Ćetković, J. Mullet Fry (Mugilidae) in coastal waters of montenegro, their spatial distribution and migration phenology. *Arch. Biol. Sci.* **2010**, *62* (1), 107–114 DOI: 10.2298/ABS1001107M.

(4) Hung, C.-M.; Shaw, D. The impact of upstream catch and global warming on the grey mullet fishery in Taiwan: a non-cooperative game analysis. *Mar. Resour. Econ.* **2006**, *21* (3), 285–300 DOI: 10.1086/mre.21.3.42629512.

(5) Whitfield, A. K.; Panfili, J.; Durand, J.-D. D. *A global review of the cosmopolitan flathead mullet Mugil cephalus Linnaeus 1758 (Teleostei: Mugilidae), with emphasis on the biology, genetics, ecology and fisheries aspects of this apparent species complex*; 2012; Vol. 22.

(6) Froese, R.; Pauly, D. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (10/2018) www.fishbase.org.

(7) Radujković, B. M.; Šandić, D.; Šundić, D. Parasitic flatworms (Platyhelminthes: Monogenea, Digenea, Cestoda) of fishes from the Adriatic Sea. *Nat. Montenegrina* **2014**, *13* (1), 7–280 DOI: 10.13140/RG.2.1.1401.5448.

(8) Sabodash, V. M.; Semenenko, L. I. *Ecologic–biological base of the acclimatization of far east mullet–pilengas (Mugil so–iuy) in the water basins of Ukraine. Vestnik zoologii. Supplement 6*; 1998.

(9) Starushenko, L. I.; Kazansky, A. B. *Introduction of mullet haarder (Mugil so-iuy Basilewsky) into the Black Sea and the Sea of Azov. Studies and Reviews*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, 1996.

(10) Матишов, Г.; Лужняк, В. Расширение нерестового ареала дальневосточного акклиматизанта пиленгаса *Liza haematocheilus* (Temminck et Schlegel, 1845) в Азово-Черноморском бассейне: новые факты из экологии размножения. *Доклады Академии наук* **2007**, *414* (3), 428–429.

(11) Minos, G.; Imsiridou, A.; Economidis, P. S. *Liza haematocheilus* (Pisces, Mugilidae) in the northern Aegean Sea. In *Fish Invasions in the Mediterranean Sea: Change and Renewal*; Golani, D., Appelbaum-Golan, B., Eds.; Pensoft Publishers: Sofia–Moscow, 2010; pp 313–332.

(12) Rudolphi, C. A. *Entozoorum synopsis, cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi*; Sumtibus Augusti Rücker: Berlin, 1819.

(13) Radujković, B. M.; Petrović, Z. Étude de la parasitofaune des muges de l'Adriatique (*Chelon labrosus* Risso, *Liza aurata* Risso et *Liza saliens* Risso – Pisces: Mugilidae) et son influence sur le coefficient de condition des poissons hôtes. *Montenegrian Acad. Sci. Arts. Glas. Sect.*

Nat. Sci. **1986**, *5*, 203–215.
(14) Radujković, B. M.; Raibaut, A. Faune des parasites de poissons marins du Montenegro (Adriatique Sud). In *Acta Adriatica. Vol. 30*; Radujković, B. M., Raibaut, A., Eds.; Split, 1989; pp 1–324.
(15) Radujković, B. M. Parasites des poissons marins du Monténégro: acanthocéphales. *Acta Adriat.* **2002**, *12* (1), 67–69.
(16) Radujković, B. M. Adriatic Sea mullets parasitofauna. *Rev. Rom. Parazitol.* **2002**, *12* (1), 67–69.
(17) Дмитриева, Е. В.; Гаевская, А. В. Паразитологические аспекты марикультуры и интродукции кефалевых рыб в Азово-Черноморском бассейне. *Экология моря* **2001**, *55*, 73–78.
(18) Ovcharenko, M. Microparasites of worldwide mullets. *Ann. Parasitol.* **2015**, *61* (4), 229–239 DOI: 10.17420/ap6104.12.
(19) Al-Hadilhri, I.; Daoud, Y. T.; Habash, A. H. Seasonal abundance of *Neoechinorhynchus agilis* in *Mugil hishni* from Shatt Al-Arab. *J. Gulf Arab. Penins. Stud.* **1980**, No. 6, 127–139.
(20) Di Cave, D.; Kennedy, C. R.; D'Amelio, S.; Berrilli, F.; Orecchia, P. Struttura della comunità dei metazoi parassiti di *Liza ramada* (Risso, 1826) nel lago di Burano. *Biol. Mar. Mediterr.* **1997**, *4*, 321–323.
(21) Caillot, C.; Morand, S.; Muller-Graf, C.; Faliex, E.; Marchand, B. Parasites of *Dicentrarchus labrax*, *Anguilla anguilla* and *Mugil cephalus* from a pond in Corsica, France. *J. Helminthol. Soc. Washingt.* **1999**, *66*, 95–98.
(22) Merella, P.; Garippa, G. Metazoan parasites of grey mullets (Teleostea: Mugilidae) from the Mistras Lagoon (Sardinia, western Mediterranean). *Sci. Mar.* **2001**, *65* (3), 201–206 DOI: 10.3989/scimar.2001.65n3201.
(23) Jithendran, K. P.; Kannappan, S. A short note on heavy infection of acanthocephalan worm (Neoechinorhynchus agilis) in grey mullet, Mugil cephalus. *J. Parasit. Dis.* **2010**, *34* (2), 99–101 DOI: 10.1007/s12639-010-0019-y.
(24) Shih, H. H.; Chen, H. Y.; Lee, C. Y. Acanthocephalan fauna of marine fish in Taiwan and the differentiation of three species by ribosomal DNA sequences. *Taiwania* **2010**, *55* (2), 123–127.
(25) Eysenhardt, K. W. Einiges über Eingeweidewürmer. In *Verhandlungen der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin*; Reimer, G. und V. bei G., Ed.; Berlin, 1829; pp 144–153.
(26) Vogt, C. Über die Fortpflanzungsorgane einiger ectoparasitischer mariner Trematoden. *Zeitschift für Wissenschaftliche, Zool.* **1878**, *30*, 306–342.
(27) Parona, C.; Perugia, A. Dei trematodi delle branchie di pesci Italiani. *Atti della Soc. Ligustica di Sci. Nat. e Geogr.* **1890**, *1*, 59–70.
(28) Parona, C.; Perugia, A. Sopra due nuove specie di Trematodi ectoparassiti di pesci marini. *Boll. dei Musei di Zool. e Anat. Comp. della R. Unoversitá di Genova* **1895**, *31*, 1–4.
(29) Looss, A. Die Distomenunter familie der Haploporinae. *Arch. Parasitol.* **1902**, *6*, 129–143.
(30) Looss, A. Zur Kenntnis der Distomenfamilie Hemiuridae. *Zool. Anz.* **1907**, *31*, 585–620.
(31) Nicoll, W. Trematode parasites of fishes in the English Channel. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* **1914**, *10*, 466–505.
(32) Blasco-Costa, I.; Montero, F. E.; Balbuena, J. A.; Raga, J. A.; Kostadinova, A. A revision of the Haploporinae Nicoll, 1914 (Digenea: Haploporidae) from mullets (Mugilidae): Dicrogaster Looss, 1902 and Forticulcita Overstreet, 1982. *Syst. Parasitol.* **2009**, *72* (3), 187–206 DOI: 10.1007/s11230-008-9165-3.
(33) Blasco-Costa, I.; Gibson, D. I.; Balbuena, J. A.; Raga, J. A.; Kostadinova, A. A revision of the Haploporinae Nicoll, 1914 (Digenea: Haploporidae) from mullets (Mugilidae): Haploporus Looss, 1902 and Lecithobotrys Looss, 1902. *Syst. Parasitol.* **2009**, *73* (2), 107–133 DOI: 10.1007/s11230-009-9175-9.
(34) Blasco-Costa, I.; Montero, F. E.; Gibson, D. I.; Balbuena, J. A.; Raga, J. A.; Kostadinova, A.

A revision of the Haploporinae Nicoll, 1914 (Digenea: Haploporidae) from mullets (Mugilidae): *Saccocoelium* Looss, 1902. *Syst. Parasitol.* **2009**, *72* (3), 159–186 DOI: 10.1007/s11230-008-9163-5.

(35) Blasco-Costa, I.; Montero, F. E.; Gibson, D. I.; Balbuena, J. A.; Kostadinova, A. A revision of the Haploporinae Nicoll, 1914 (Digenea: Haploporidae) from mullets (Mugilidae): two new haploporine genera and a key to the genera of the subfamily. *Syst. Parasitol.* **2009**, *72* (3), 207–215 DOI: 10.1007/s11230-008-9164-4.

(36) Власенко, П. В. К фауне паразитических червей рыб Черного моря. *Труды Карадагской биологической станции* **1931**, *4*, 88–135.

(37) Скрябин, К. И. Семейство Haploporidae Nicoll, 1914. In *Трематоды животных и человека. Основы трематодологии. Том 12*; Скрябин, К. И., Ed.; АН СССР: М., 1956; pp 7–49.

(38) Yamaguti, S. *Systema helminthum. The digenetic trematodes of vertebrates. Vol. I.*; Interscience: New York, 1958.

(39) Overstreet, R. M.; Curran, S. S. Family Haploporidae Nicoll, 1914. In *Keys to the Trematoda. Vol. 2*; Jones, A., Bray, R. A., Gibson, D. I., Eds.; CAB International: Wallingford, 2005; pp 129–165.

(40) Османов, С. У. Материалы к паразитофауне рыб Черного моря. *Ученые записки Ленинградского государственного педагогического института* **1940**, *30*, 187–265.

(41) Чернышенко, А. С. Новые гельминты рыб Черного моря. *Праці Одеського Державного Університету* **1949**, *4* (57), 21–40.

(42) Буцкая, Н. А. Паразитофауна черноморских промысловых рыб предустьевого про-странства Дуная. *Труды Ленинградского об-ва естествоиспытателей* **1952**, *71* (4), 10–26.

(43) Погорельцева, Т. П. Новые трематоды для рыб Чёрного моря. *Труды Карадагской биологической станции* **1952**, *12*, 29–39.

(44) Решетникова, А. В. Паразитофауна кефали Черного моря. *Труды Карадагской биологической станции* **1955**, *13*, 71–95.

(45) Чернышенко, А. С. С. Паразитофауна молоди кефали, зимующей в зимовалах Шаболатского лимана. *Труды Одесского государственного ун-та. Серия биологических наук* **1962**, *152* (11), 100–104.

(46) Савчук, М. Я. О зараженности кефали Черного моря трематодой *Aphanurus stossichi*. In *Проблемы паразитологии*; Наукова Думка: К., 1967; pp 497–498.

(47) Мачкевский, В. К.; Скрябин, В. А. Некоторые особенности гельминтофауны мальков черноморских кефалей. In *III Всесоюз. совещ. по болезням и паразитам рыб*; Наука: Л., 1979; pp 70–71.

(48) Солонченко, А. И. *Гельминтофауна рыб Азовского моря*; Наукова думка: К., 1982.

(49) Солонченко, А. И.; Ткачук, В. П. Зараженность гельминтами кефалей Азово-Черноморского бассейна. *Экология моря* **1985**, *20*, 39–43.

(50) Гаевская, А. В.; Найденова, Н. Н. Паразиты черноморских кефалей. *Рыбное хозяйство* **1989**, *2*, 35–36.

(51) Юрахно, В. М. Новые сведения о фауне миксоспоридий рыб Черного моря. *Паразитология* **1993**, *27* (4), 320–326.

(52) Юрахно, В. М. Миксоспоридии рыб Черного моря: систематика, фауна, экология, зоогеография: Автореф. дисс. На соискание канд. биол. наук, Севастополь, 1994.

(53) Дмитриева, Е. В.; Герасев, П. И. Моногенеи рода *Ligophorus* (Ancyrocephalidae) – паразиты черноморских кефалей (Mugilidae). *Паразитология* **1996**, *30* (5), 440–448.

(54) Дмитриева, Е. В. Фауна моногеней дальневосточного пиленгаса (Mugil soiuy) в Черном море. *Вестник зоологии* **1996**, *30* (4–5), 95–97.

(55) Дмитриева, Е. В. Е. В. Моногенеи рыб Черного моря (фауна, экология, зоогеография): Диссертация … канд. биол. наук: 03.00.18., Севастополь, 1998.

(56) Пронькина, Н. В. Особенности формирования гельминтофауны мальков сингиля *Liza*

aurata (Risso) в Черном море. *Экология моря* **2001**, No. 58, 50–52.
(57) Корнийчук, Ю. М. Первая находка трематод у вселенца в Черное море – пиленгаса *Mugil soiuy* Basilewsky (Pisces: Mugilidae). *Экология моря* **2002**, No. 59, 21–22.
(58) Юрахно, В. М.; Мальцев, В. Н. Новые сведения о миксоспоридиях кефалевых рыб в бассейне Атлантического океана. *Экология моря* **2002**, *61*, 39–42.
(59) Белофастова, И. П. *Acanthosentis (Acanthogyrus) lizae* (Acanthocephala, Acanthosentidae) - новый паразит черноморского сингиля (*Liza aurata*). *Вестник зоологии* **2003**, *37* (3), 42.
(60) Пронькина, Н.В. Белофастова, И. П. Новые данные о нематодах черноморского сингиля *Liza aurata* (Pisces: Mugilidae). *Экология моря* **2005**, No. 68, 77–82.
(61) Попюк, М. П. Гельминтофауна пелагических рыб прибрежных вод крыма (Чёрное море). *Экология моря* **2009**, No. 78, 75–80.
(62) Гаевская, А. В.; Гусев, А. В.; Делямуре, С. Л.; Донец, З. С.; Искова, Н. И.; Корнюшин, В. В.; Ковалёва, А. А.; Маргаритов, Н. М.; Маркевич, А. П.; Мордвинова, Т. Н.; et al. *Определитель паразитов позвоночных Чёрного и Азовского морей*; Наукова Думка: К., 1975.
(63) Gaevskaya, A. New data on trematodes of the families Opecoelidae and Accacoelidae from fishes in Atlantic Ocean and its Seas. *Parasitologia* **2002**, *36* (3), 219–223.
(64) Гаевская, А. В.; Дмитриева, Е. В. *Haplosplanchnus pachysomus* (Trematoda: Haplosplanchnidae) — паразит кефалей Черного моря. *Паразитология* **1992**, *26* (1), 385–388.
(65) Гаевская, А. В.; Дмитриева, Е. В. Трематоды рода *Saccocoelium* – паразиты рыб Черного моря. *Вестник зоологии* **1993**, *1*, 75–78.
(66) Герасев, П. И.; Дмитриева, Е. В.; Гаевская, А. В. *Polyclithrum ponticum* sp.n. (Monogenea: Gyrodactylidae: Polyclithrinae) с *Mugil cephalus* из Черного моря и проблема надродовой систематики гиродактилид. *Паразитология* **2002**, *36* (5), 396–404.
(67) Dmitrieva, E. V; Gerasev, P. I.; Pron'kina, N. V. *Ligophorus llewellyni* n. sp. (Monogenea: Ancyrocephalidae) from the redlip mullet *Liza haematocheilus* (Temminck & Schlegel) introduced into the Black Sea from the Far East. *Syst. Parasitol.* **2007**, *67* (1), 51–64 DOI: 10.1007/s11230-006-9072-4.
(68) Dmitrieva, E. V; Gerasev, P. I.; Merella, P.; Pugachev, O. N. Redescription of *Ligophorus mediterraneus* Sarabeev, Balbuena & Euzet, 2005 (Monogenea: Ancyrocephalidae) with some methodological notes. *Syst. Parasitol.* **2009**, *73* (2), 95–105 DOI: 10.1007/s11230-009-9177-7.
(69) Dmitrieva, E. V; Gerasev, P. I.; Merella, P.; Pugachev, O. N. Redescriptions of *Ligophorus cephali* Rubtsova, Balbuena, Sarabeev, Blasco-Costa & Euzet, 2006 and *L. chabaudi* Euzet & Suriano, 1977 (Monogenea: Ancyrocephalidae), with notes on the functional morphology of the copulatory organ. *Syst. Parasitol.* **2009**, *73* (3), 175–191 DOI: 10.1007/s11230-009-9192-8.
(70) Pronkina, N. V.; Dmitrieva, E. V.; Polyakova, T. A.; Popyuk, M. P. The lifecycle of Dichelyne minutus (Rudolphi, 1819) (Nematoda: Cucullanidae) in the estuarine biocenosis of the Black Sea. *Russ. J. Mar. Biol.* **2017**, *43* (2), 148–155 DOI: 10.1134/S1063074017020079.
(71) Гаевская, А. В.; Дмитриева, Е. В.; Корнийчук, Ю. М. Популяционный подход к изучению гельминтов черноморских рыб: возможности и перспективы использования. *Морський екологічний журнал* **2002**, *1*, 78–89.
(72) Найденова, Н. Н.; Захалева, В. А. Некоторые болезни кефалевых, камбаловых и других видов рыб при выращивании в морской воде. *Бюл. ЦНИИТЭИРХ* **1986**, No. 1, 3–25.
(73) Гаевская, А. В. *Паразитология и патология рыб: Энциклопедический словарь-справочник*; Изд-во ВНИРО: М., 2003.
(74) Гаєвська, А. В.; Гаевская, А. В. *Паразитологія та патологія риб: енциклопедичний*

словник-довідник; Наукова Думка: К., 2004.

(75) Гаевская, А. В. *Паразиты и болезни рыб Чёрного и Азовского морей: I – морские, солоноватоводные и проходные рыбы*; ЭКОСИ-Гидрофизика: Севастополь, 2012.

(76) Dimitrov, G. I.; Arapoglou, F. K.; Georgiev, B. B. First record of *Saturnius papernai* Overstreet, 1977 in the Black Sea, with a review of the genus *Saturnius* Manter, 1969 (Digenea, Bunocotylidae). *Syst. Parasitol.* **1998**, *40*, 43–48.

(77) Pankov, P.; Gibson, D. I.; Kostadinova, A. The translocated *Liza haematocheila* (Teleostei: Mugilidae) as a new host of four species of *Saturnius* Manter, 1969 (Digenea: Hemiuridae) within its invasive range in the Black Sea. *Syst. Parasitol.* **2009**, *74* (1), 29–39 DOI: 10.1007/s11230-009-9186-6.

(78) Ozturk, T.; Ozer, A. Monogenean Fish Parasites, Their Host Preferences and Seasonal Distributions in the Lower Kızılırmak Delta (Turkey). *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* **2014**, *14* (2), 367–378 DOI: 10.4194/1303-2712-v14_2_07.

(79) Özer, A.; Kırca, D. Y. Parasite fauna of the grey mullet Mugil cephalus L. 1758, and its relationship with some ecological factors in Lower Kızılırmak Delta located by the Black Sea, Turkey. *J. Nat. Hist.* **2015**, *49* (15–16), 933–956 DOI: 10.1080/00222933.2014.979259.

(80) Tepe, Y.; Oğuz, M. C. Nematode and acanthocephalan parasites of marine fish of the eastern Black Sea coasts of Turkey. *Turkish J. Zool.* **2013**, *37* (6), 753–760 DOI: 10.3906/zoo-1206-18.

(81) Euzet, L.; Combes, C. Contribution à l'étude des Microcotylidae (Monogenea), parasite de *Mugil cephalus* L. (Teleostei). *Parasitol. Sb. vol. jub. B.E. Bychowski* **1969**, *24*, 91–105.

(82) Euzet, L.; Suriano, D. M. *Ligophorus* n. g. (Monogenea, Ancyrocephalidae) parasite des Mugilidae (Téléostéens) en Méditerranée. *Bull. du Muséum Natl. d'Histoire Nat. 3e série, Zool.* **1977**, *472*, 799–821.

(83) Euzet, L.; Sanfilippo, D. *Ligophorus parvicirrus* n. sp. (Monogenea, Ancyrocephalidae), parasite of *Liza ramada* (Risso, 1826) (Teleostei, Mugilidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* **1983**, *58* (4), 325–335.

(84) Sarabeev, V. L.; Rubtsova, N. Y.; Yang, T.; Balbuena, J. A. Taxonomic revision of the Atlantic and Pacific species of *Ligophorus* Euzet and Suriano, 1977 (Monogenea: Dactylogyridae) from mullets (Teleostei: Mugilidae) with proposal of a new genus and description of four new species. *Vestn. Zool. Suppl. 28* **2013**, 112.

(85) Anderson, M. *Ergenstrema labrosi* sp. nov. on the gills of the thick lipped grey mullet *Chelon labrosus* at Plymouth. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* **1981**, *61*, 827–832.

(86) Paperna, I. Parasitic helminths of inland-water fishes in Israel. *Isr. J. Zool.* **1964**, *13* (1), 1–24.

(87) Overstreet, R. M. A revision of *Saturnius* Manter, 1969 (Hemiuridae: Bunocotylinae) with descriptions of two new species from the striped mullet. *Excert Parasitol. en Mem. del Dr. Eduardo Caballer. Publicaciones Espec.* **1977**, *4*, 273–284.

(88) Domnich, I. F.; Sarabeev, V. L. Trematodes of the genus *Bunocotyle* (Trematoda, Halipegedae) from the haarder (*Mugil so-iuy*) acclimatized in Azov sea. *Parazitologiya* **1999**, *33* (1).

(89) Сарабеев, В. Л.; Домнич, И. Ф. Возрастная динамика зараженности дальневосточной кефали пиленгаса (*Mugil soiuy*) в Молочном лимане Азовского моря. *Вестник зоологии, отдельный выпуск «Экологические исследования в Украине»* **2000**, *14* (2), 6–12.

(90) Домнич, И. Ф.; Сарабеев, В. Л. Трематоды дальневосточной кефали-пиленгаса (*Mugil soiuy*) в Азовском море. *Вестник зоологии* **2000**, *34* (3), 7–15.

(91) Blasco-Costa, I.; Pankov, P.; Gibson, D. I.; Balbuena, J. A.; Raga, J. A.; Sarabeev, V. L.; Kostadinova, A. *Saturnius minutus* n. sp. and *S. dimitrovi* n. sp. (Digenea: Hemiuridae) from *Mugil cephalus* L. (Teleostei: Mugilidae), with a multivariate morphological analysis of the Mediterranean species of *Saturnius* Manter, 1969. *Syst. Parasitol.* **2006**, *65* (1), 77–91 DOI: 10.1007/s11230-006-9043-9.

(92) Pankov, P.; Webster, B. L.; Blasco-Costa, I.; Gibson, D. I.; Littlewood, D. T. J.; Balbuena, J. A.; Kostadinova, A. *Robinia aurata* n. g., n. sp. (Digenea: Hemiuridae) from the mugilid Liza aurata with a molecular confirmation of its position within the Hemiuroidea. *Parasitology* **2006**, *133* (2), 217 DOI: 10.1017/S0031182006000126.

(93) Paggi, L.; Orecchia, P.; Di Cave, D. Elmintofauna di specie ittiche eurialine di interesse commerciale del lago di Sabaudia (Latina-Italia). *Parassitologia* **1988**, *30*, 126–127.

(94) Paggi, L.; Orecchia, P.; Cancrini, G.; Minervini, R. Aspetti morfologici ed ecologici dei parassiti di alcune specie ittiche di ambiente salmastro (Lago di Saubaudia–Prov. Latina–Italia). *Atti della Soc. Ital. delle Sci. Vet.* **1979**, *33*, 279.

(95) Orecchia, P.; Paggi, L. *Cucullanus bioccai* n. sp. (Nematoda: Cucullanidae), parassita di *Mugil cephalus* L. *Parassitologia* **1987**, *29* (1), 71–74.

(96) Orecchia, P.; Paggi, L. Aspetti di sistematica e di ecologia degli elminti parassiti di pesci marini studiati presso l'Istituto di Parassitologia dell'Università di Roma. *Parassitologia* **1978**, *20* (1–3), 73–89.

(97) Ferretti, G.; Paggi, L. Ridescrizione di *Saccocoelium obesum* Looss, 1902 (sin. *Saccocoelium tensum* Looss,1902) trematoda parassita di *Mugil cephalus*. *Riv. Parassitol.* **1965**, *26*, 229–239.

(98) Palombi, A. I trematodi d`Italia. Parte 1. Trematodi monogenetici. *Arch. Zool. Ital.* **1949**, *34*, 203–408.

(99) D'Amelio, S.; Di Cave, D.; Orecchia, P.; Paggi, L. Le comunità dei metazoi parassiti di *Liza ramada* (Risso, 1826) (Pisces: Mugilidae) nei laghi di Sabaudia (LT) e del Fusaro. *Suppl. alla Richerche di Biol. della Selvag.* **1996**, *24*, 671–676.

(100) Culurgioni, J.; Sabatini, A.; De Murtas, R.; Mattiucci, S.; Figus, V. Helminth parasites of fish and shellfish from the Santa Gilla Lagoon in southern Sardinia, Italy. *J. Helminthol.* **2014**, *88* (4), 489–498 DOI: 10.1017/S0022149X13000461.

(101) Culurgioni, J.; Figus, V.; Cabiddu, S.; De Murtas, R.; Cau, A.; Sabatini, A. Larval helminth parasites of fishes and shellfishes from Santa Gilla Lagoon (Sardinia, Western Mediterranean), and their use as bioecological indicators. *Estuaries and Coasts* **2015**, *38* (5), 1505–1519 DOI: 10.1007/s12237-014-9894-2.

(102) Orecchia, P.; Paggi, L.; Radujkovic, B. M. Sur une nouvelle espece d'eocanthocephale *Acanthogyrus (Acanthosentis) lizae* n. sp. (Gyracanthocephala, Quadrigyridae) parasite de *Liza aurata* (Risso). *Bull. du Museum Natl. d'Histoire Nat. Sect. A Zool. Biol. Ecol. Anim.* **1988**, *10* (3), 529–534.

(103) Paperna, I. Parasites and diseases of the grey mullet (Mugilidae) with special reference to the seas of the Near East. *Aquaculture* **1975**, *5* (1), 65–80 DOI: 10.1016/0044-8486(75)90018-6.

(104) Dzikowski, R.; Paperna, I.; Diamant, A. Use of fish parasite species richness indices in analyzing anthropogenically impacted coastal marine ecosystems. *Helgol. Mar. Res.* **2003**, *57* (3–4), 220–227 DOI: 10.1007/s10152-003-0138-2.

(105) Abu Samak, O. A.; Hassan, S. H. Microhabitat and distribution of three monogenean parasites on the gills of the mugilid fish, *Liza ramado*. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.* **1998**, *26* (D), 273–283.

(106) Abu Samak, O. A.; Hassan, S. H. Prevalence and mean intensity of three monogeneans infesting the gills of the mugilid fish *Liza ramada*. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.* **1999**, *29*, 39–48.

(107) Abu Samak, O. A. Studies on egg morphology of *Ligophorus imitans* and *L. parvicirrus* (Dactylogyridea: Ancyrocephalidae) and egg development, hatching mechanism and anatomy of the oncomiracidium of *L. imitans*. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.* **1997**, *23*, 181–198.

(108) Aydoğdu, A.; Emre, N.; Emre, Y. Prevalence and intensity of parasitic helminths of thicklip grey mullet *Chelon labrosus* in hosts in Beymelek Lagoon Lake in Antalya, Turkey, according to season, host size, age, and sex of the host. *Turkish J. Zool.* **2015**, *39*, 643–651 DOI: 10.3906/zoo-1403-55.

(109) Oguz, M. C.; Bray, R. a. Digenetic trematodes of some teleost fish off the Mudanya Coast (Sea of Marmara, Turkey). *Helminthologia* **2006**, *43* (2007), 161–167 DOI: 10.2478/s11687-

006-0030-0.

(110) Oguz, M.; Bray, R. Cestoda and monogenea of some teleost fishes off the Mudanya Coast (Sea of Marmara, Turkey). *Helminthologia* **2008**, *45* (4), 192–195 DOI: 10.2478/s11687-008-0038-8.

(111) Сабодаш, В. М.; Семененко, Л. И. Паразитофауна дальневосточного пиленгаса (*Mugil soiuy*) в водоемах Украины. *Вестник зоологии* **1994**, No. 2, 44–46.

(112) Сабодаш, В. М.; Семененко, Л. И. Экология и интродукция дальневосточной кефали *Mugil so-iuy* Basilewsky в водоемах Украины. *Гидробиологический журнал* **1995**, *31* (5), 38–45.

(113) Мальцев, В. Н.; Ждамиров, В. Н. О паразитофауне пиленгаса (*Mugil soiuy* Basilewsky) Керченского пролива. *Труды ЮгНИРО* **1996**, *42*, 229–232.

(114) Мирошниченко, А. И.; Мальцев, В. Н. Ligophorus gussevi sp. nov. (Monogenea, Ancyrocephalidae) - новый вид жаберного паразита пиленгаса (Mugil soiuy). In *Вопросы развития Крыма. Научно-практический дискуссионно-аналитический сборник. Вып. 15. Проблемы инвентаризации крымской биоты*; Дулицкого, А. Н., Вахрушевой, Л. П., Мишнева, В. Г., Ена, В. Г., Евстафьева, И. Л., Ена, А. В., Стенько, Р. П., Мирошниченко, А. И., Eds.; Таврия-Плюс: Симферополь, 2004; pp 186–192.

(115) Мирошниченко, А. И.; Мальцев, В. Н. Новые для Азово-Черноморского бассейна виды гиродактилюсов (Monogenea: Gyrodactylidae) от пиленгаса. *Труды ЮгНИРО* **1998**, *44*, 116–125.

(116) Balbuena, J. A.; Rubtsova, N. Y.; Sarabeev, V. L. *Ligophorus pilengas* Sarabeev & Balbuena, 2004 (Monogenea: Ancyrocephalidae) is proposed as the senior synonym of *L. gussevi* Miroshnichenko & Maltsev, 2004. *Syst. Parasitol.* **2006**, *63* (2), 93–96 DOI: 10.1007/s11230-005-9000-z.

(117) Юрахно, В. М.; Домнич, И. Ф.; Сарабеев, В. Л. Первые сведения о находке *Myxobolus najdenova* (Protozoa: Cnidospora: Myxosporea) в Азовском море. *Паразитология* **1999**, No. 2, 218–223.

(118) Домніч, І. Ф.; Сарабєєв, В. Л. Сучасна фауна паразитів риб у північній частині Азовського моря. *Вісник Запорізького державного університету. Фізико-математичні науки. Біологічні науки* **2000**, No. 1, 224–230.

(119) Домніч, І. Ф.; Сарабєєв, В. Л. Паразитофауна піленгаса (*Mugil soiuy*) Азовського моря та шляхи її формування. *Вісник Запорізького державного університету. Фізико-математичні науки. Біологічні науки* **1999**, *2* (2), 218–223.

(120) Domnich, I. F.; Sarabeev, V. L. Parasitic fauna structure of the pilengas in the Azov Sea. In *Acta parasitol. Vol. 45, abstracts EMOP VIII.*; Poznan, 2000; p 268.

(121) Domnich, I. F.; Sarabeev, V. L. Forming of the parasitic fauna of the pilengas in the Azov Sea. In *Acta parasitol. Vol . 45, abstracts EMOP VIII.*; Poznan, 2000; p 265.

(122) Sarabeev, V. L.; Balbuena, J. A. *Ligophorus pilengas* n. sp. (Monogenea: Ancyrocephalidae) from the introduced So-iuy mullet, *Mugil soiuy* (Teleostei: Mugilidae), in the Sea of Azov and the Black Sea. *J. Parasitol.* **2004**, *90* (2), 222–228 DOI: 10.1645/GE-163R.

(123) Rubtsova, N. Y.; Balbuena, J. A.; Sarabeev, V. L.; Blasco-Costa, I.; Euzet, L. Description and morphometrical variability of a new species of *Ligophorus* and of *Ligophorus chabaudi* (Monogenea: Dactylogyridae) on *Mugil cephalus* (Teleostei) from the Mediterranean basin. *J. Parasitol.* **2006**, *92* (3), 486–495 DOI: 10.1645/GE-747R.1.

(124) Sarabeev, V. L.; Balbuena, J. A.; Euzet, L. Taxonomic status of *Ligophorus mugilinus* (Hargis, 1955) (Monogenea, Ancyrocephalidae), with a description of *Ligophorus mediterraneus* n. sp. from *Mugil cephalus* (Teleostei, Mugilidae) from the Mediterranean Basin. *J. Parasitol.* **2005**, *91* (6), 1444–1451 DOI: 10.1645/GE-418R.1.

(125) Tkach, I.; Sarabeev, V.; Shvetsova, L. Taxonomic status of *Neoechinorhynchus agilis* (Acanthocephala, Neoechinorhynchidae), with a description of two new species of the genus from the Atlantic and Pacific mullets (Teleostei, Mugilidae). *Vestn. Zool.* **2014**, *48* (4), 291–306 DOI: 10.2478/vzoo-2014-0035.

(126) Sarabeev, V. L.; Tkach, I. V.; Sueiro, R. A.; Leiro, J. Molecular data confirm the species status of *Neoechinorhynchus personatus* and *N. yamagutii* (Acanthocephala, Neoechinorhynchidae) from the Atlantic and Pacific grey mullets (Teleostei: Mugilidae). *Vestn. Zool.* **2020**, *54* (1), 1–10 DOI: 10.15407/zoo2020.01.001.
(127) Míguez-Lozano, R.; Pardo-Carranza, T. V; Blasco-Costa, I.; Balbuena, J. A. Spatial structure of helminth communities in the golden grey mullet, *Liza aurata* (Actinopterygii: Mugilidae), from the Western Mediterranean. *J. Parasitol.* **2012**, *98* (5), 904–912 DOI: 10.1645/GE-2897.1.
(128) Sarabeev, V. L. Helminth species richness of introduced and native grey mullets (Teleostei: Mugilidae). *Parasitol. Int.* **2015**, *64* (4), 6–17 DOI: 10.1016/j.parint.2015.01.001.
(129) Looss, A. Die Distomenunterfamilie der Haploprinae. *Arch. Parasitol.* **1902**, *6*, 129–143.
(130) Blasco-Costa, I.; Montero, F. E.; Gibson, D. I.; Balbuena, J. A.; Raga, J. A.; Shvetsova, L. S.; Kostadinova, A. A revision of the species of Saturnius Manter, 1969 (Digenea: Hemiuridae), parasites of mullets (Teleostei: Mugilidae). *Syst. Parasitol.* **2008**, *71* (1), 53–74 DOI: 10.1007/s11230-008-9141-y.
(131) Blasco-Costa, I.; Balbuena, J. a; Raga, J. a; Kostadinova, a; Olson, P. D. Molecules and morphology reveal cryptic variation among digeneans infecting sympatric mullets in the Mediterranean. *Parasitology* **2010**, *137*, 287–302 DOI: 10.1017/S0031182009991375.
(132) Blasco-Costa, I.; Balbuena, J. A.; Kostadinova, A.; Olson, P. D. Interrelationships of the Haploporinae (Digenea: Haploporidae): A molecular test of the taxonomic framework based on morphology. *Parasitol. Int.* **2009**, *58* (3), 263–269 DOI: 10.1016/j.parint.2009.03.006.
(133) Walther, B. A.; Morand, S. Comparative performance of species richness estimation methods. *Parasitology* **1998**, *116*, 395–405.
(134) Occhipinti-Ambrogi, A. Global change and marine communities: Alien species and climate change. *Mar. Pollut. Bull.* **2007**, *55* (7–9), 342–352 DOI: 10.1016/j.marpolbul.2006.11.014.
(135) Stephens, K. L.; Dantzler-Kyer, M. E.; Patten, M. A.; Souza, L. Differential responses to global change of aquatic and terrestrial invasive species: evidences from a meta-analysis. *Ecosphere* **2019**, *10* (4), e02680 DOI: 10.1002/ecs2.2680.
(136) Torcu, H.; Mater, S. Lessepsian fishes spreading along the coasts of the Mediterranean and the Southern Aegean Sea of Turkey. *Turkish J. Zool.* **200AD**, *24* (2), 139–148.
(137) Yurakhno, V. M.; Ovcharenko, M. O.; Holzer, A. S.; Sarabeev, V. L.; Balbuena, J. A. *Kudoa unicapsula* n. sp. (Myxosporea: Kudoidae) a parasite of the Mediterranean mullets *Liza ramada* and L. aurata (Teleostei: Mugilidae). *Parasitol. Res.* **2007**, *101* (6), 1671–1680 DOI: 10.1007/s00436-007-0711-8.
(138) Holzer, A. S.; Blasco-Costa, I.; Sarabeev, V. L.; Ovcharenko, M. O.; Balbuena, J. A. *Kudoa trifolia* sp. n. - Molecular phylogeny suggests a new spore morphology and unusual tissue location for a well-known genus. *J. Fish Dis.* **2006**, *29* (12), 743–755 DOI: 10.1111/j.1365-2761.2006.00770.x.

Appendix A. Helminths species recorded in grey mullets in the Mediterranean with information on host specificity, site of infection and distribution range

Helminth species*	Speci-ficity**	Infection site	Geographic area***
MONOGENEA			
Dactylogyridae Bychowsky, 1933			
1. *Ligophorus acuminatus* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, AZ-BL
2. *Ligophorus angustus* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, EM
3. *Ligophorus cephali* Rubtsova, Balbuena, Sarabeev, Blasco-Costa & Euzet, 2006	O	Gills	WM, AZ-BL
4. *Ligophorus chabaudi* Euzet & Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM
5. *Ligophorus confusus* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, EM
6. *Ligophorus heteronchus* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, AZ-BL
7. *Ligophorus imitans* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, EM
8. *Ligophorus kaohsianghsieni* (Gussev, 1962) [CO]	O	Gills	AZ-BL
9. *Ligophorus llewellyni* Dmitrieva, Gerasev & Pron'kina, 2007 [CO]	O	Gills	AZ-BL
10. *Ligophorus macrocolpos* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, AZ-BL
11. *Ligophorus mediterraneus* Sarabeev, Balbuena & Euzet, 2005	O	Gills	WM, CM, AZ-BL
12. *Ligophorus minimus* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, AZ-BL
13. *Ligophorus parvicirrus* Euzet et Sanfilippo, 1983	O	Gills	WM, CM, EM
14. *Ligophorus pilengas* Sarabeev et Balbuena, 2004 [CO]	O	Gills	AZ-BL
15. *Ligophorus szidati* Euzet et Suriano, 1977	O	Gills	WM, CM, EM, AZ-BL
16. *Ligophorus vanbenedenii* (Parona & Perugia, 1890)	O	Gills	WM, CM, EM, AZ-BL
17. *Ergenstrema labrosi* Anderson 1981	O	Gills	WM, CM
18. *Ergenstrema mugilis* Paperna, 1964	O	Gills	WM, CM, EM
Gyrodactylidae van Beneden & Hesse, 1863			
19. *Gyrodactylus mugili* Zhukov, 1970 [CO]	O	Gills, skin, fins	AZ-BL
20. *G. zhukovi* Ling, 1962 [CO]	O	Gills, skin, fins	AZ-BL
21. *Gyrodactylus anguillae* Ergens, 1960	N	Gills	AZ-BL
22. *G. alviga* Dmitrieva & Gerasev, 2000	E	Gills	AZ-BL
23. *Polyclithrum mugilini Rogers, 1967*	O	Gills	AZ-BL
24. *Polyclithrum ponticum* Gerasev, Dmitrieva & Gaevskaya, 2002	O	Gills	AZ-BL
Microcotylidae Taschenberg, 1879			
25. *Metamicrocotyla cephalus* (Azim, 1939)	S	Gills	WM, CM, EM
26. *Solostamenides mugilis* (Vogt, 1878)	S	Gills	WM, CM, EM, AZ-BL
27. *Solostamenides* sp. 1 [CO]	S	Gills	AZ-BL
28. *Solostamenides* sp. 2	N	Gills	AZ-BL
Capsalidae Baird, 1873			
29. *Benedenia monticelii* (Parona et Perugia, 1895)	S	Gills, lips, skin	CM, EM
DIGENEA (adults)			
Haploporidae Nicoll, 1914			
30. *Dicrogaster contracta* Looss, 1902	S	Intestine	WM, CM, EM, AZ-BL
31. *Dicrogaster perpusilla* Looss, 1902	S	Intestine	WM, CM, EM
32. *Forticulcita gibsoni* Blasco-Costa, Montero, Balbuena, Raga & Kostadinova, 2009	S	Intestine	WM
33. *Forticulcita glabra* Overstreet, 1982	S	Intestine	EM
34. *Haploporus benedenii* (Stossich, 1887)	S	Intestine	WM, CM, EM, AZ-BL
35. *Lecithobotrys putrescens* Looss, 1902	S	Intestine	WM, CM, EM, AZ-BL
36. *Ragaia lizae* Blasco-Costa, Montero, Gibson, Balbuena, Kostadinova, 2009	O	Intestine	WM
37. *Saccocoelium brayi* Blasco-Costa, Balbuena, Raga,	S	Pyloric caeca	WM

Helminth species*	Speci-ficity**	Infection site	Geographic area***
Kostadinova & Olson, 2009			
38. *Saccocoelium cephali* Blasco-Costa, Montero, Gibson, Balbuena, Raga & Kostadinova, 2009	S	Intestine	WM, AZ-BL
39. *Saccocoelium currani* Blasco-Costa, Montero, Gibson, Balbuena, Raga & Kostadinova, 2009	S	Intestine	WM
40. *Saccocoelium gohari* Ramadan, Saoud, Ashour & Mansour, 1989	S	Intestine	EM
41. *Saccocoelium obesum* Looss, 1902	S	Intestine	WM, CM, EM, AZ-BL
42. *Saccocoelium tensum* Looss, 1902	S	Intestine	WM, CM, EM, AZ-BL
Haplosplanchnidae Poche, 1926			
43. *Haplosplanchnus pachysomus* (Eysenhardt, 1829)	S	Intestine	WM, CM, EM, AZ-BL
44. *Schikhobalotrema sparisoma* (Manter, 1937)	S	Intestine	WM, AZ-BL
45. *Schikhobalotrema* sp.	N	Intestine	CM, EM
Hemiuridae Looss, 1899			
46. *Bunocotyle cingulata* Odhner, 1928	E	Intestine	AZ-BL
47. *Aphanurus stossichii* (Monticelli, 1891)	E	Oesophagus, stomach	AZ-BL
48. *Hemiurus appendiculatus* (Rudolphi, 1802)	E	Stomach, intestine	CM, AZ-BL
49. *Robinia aurata* Pankov, Webster, Blasco-Costa, Gibson, Littlewood Balbuena, Kostadinova, 2006	S	Stomach	WM
50. *Saturnius minutus* Blasco-Costa, Pankov, Gibson, Balbuena, Raga, Sarabeev & Kostadinova, 2006	S	Stomach	WM, AZ-BL
51. *Saturnius papernai* Overstreet, 1977	S	Stomach	WM, EM, AZ-BL
52. *Saturnius dimitrovi* Blasco-Costa, Pankov, Gibson, Balbuena, Raga, Sarabeev & Kostadinova, 2006	S	Stomach	WM, AZ-BL
53. *Saturnius* sp.	N	Stomach	AZ-BL
Lecithasteridae Odhner, 1905			
54. *Aponurus tschugunovi* Issatschikov, 1928	E	Intestine	AZ-BL
55. *Lecithaster confusus* Odhner, 1905	S	Intestine	WM, CM, EM, AZ-BL
56. *Lecithaster galeatus* Looss, 1907	S	Intestine	EM, AZ-BL
Aporocotylidae Odhner, 1912			
57. *Cardicola mugilis* Yamaguti, 1970	O	Blood vessels of heart and gills	WM
Opecoelidae Ozaki, 1925			
58. *Helicometra fasciata* (Rudolphi, 1819)	E	Intestine	AZ-BL
DIGENEA (larvae)			
Acanthocolpidae Lühe,1906			
59. Acanthocolpidae gen. sp.	E	Muscles	WM
Bucephalidae Poche, 1907			
60. *Rhipidocotyle* sp.	E	Heart, liver, spleen, kidney	WM
61. *Bucephalus minimus* (Stossich, 1887)	E	Heart, liver, spleen	WM
62. *Bucephalus* sp.	E	N	EM
Diplostomidae Poirier, 1886			
63. *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819)	E	Eye lenses	AZ-BL
64. *Diplostomum* spp.	E	Eye lenses	AZ-BL
65. *Posthodiplostomum brevicaudatum* (Nordmann, 1832)	E	Eyes	AZ-BL
66. *Tylodelphys clavata* (Nordmann, 1832)	E	Vitreous humor of eye	AZ-BL
Echinostomatidae Looss, 1899			
67. *Stephanoprora* sp. (as *Mesorchis* sp.)	E	Gills filaments	AZ-BL
Cryptogonimidae Ward, 1917			
68. *Timoniella imbutiforme* (Molin, 1859)	E	Pharyngeal pad, muscles, eyes,	AZ-BL
Clinostomatidae Lühe, 1901			
69. *Clinostomum* sp. (as *Clinostomum piscidium*)	E	Skin, abdominal cavity	AZ-BL
Heterophyidae Odhner, 1914			

Helminth species*	Speci-ficity**	Infection site	Geographic area***
70. *Ascocotyle coleostoma* (Looss, 1896)	E	Gills	AZ-BL
71. *Ascocotyle longa* Ransom, 1920	E	Pharyngeal pad, muscles, esophagus, intestine, heart, liver, spleen, kidney	WM, EM, AZ-BL
72. *Ascocotyle sinoecum* (Ciurea, 1933)	E	Pharyngeal pad, esophagus, intestine, liver	AZ-BL
73. *Cryptocotyle concavum* (Creplin, 1825)	E	Gills filaments	AZ-BL
74. *Cryptocotyle* sp.	E	N	EM
75. *Galactosomum* sp.	E	Brain	WM
76. *Galactosomum timondavidi* Pearson & Prévot, 1971	E	Brain	WM
77. *Haplorchis* sp.	E	N	EM
78. *Heterophyes aequalis* Looss, 1902	E	Pharyngeal pad, muscles, esophagus, intestine, heart, liver, spleen	EM
79. *Heterophyes dispar* Looss, 1902	E	Pharyngeal pad, muscles, esophagus, intestine, heart, liver, spleen	EM
80. *Heterophyes heterophyes* Siebold, 1852	E	Pharyngeal pad, muscles, esophagus, intestine, heart, liver, spleen	EM, CM
81. *Pygidiopsis genata* Looss, 1907	E	Pharyngeal pad, esophagus, intestine, heart, liver, spleen	AZ-BL
82. *Stictodora sawakinensis* Looss, 1899	E	N	EM
Microphallidae Travassos, 1920			
83. Microphallidae gen. sp.	E	N	AZ-BL
Strigeidae Railliet, 1919			
84. *Cardiocephalus longicollis* (Rudolphi, 1819)	E	Brain	WM, AZ-BL
CESTODA (larva)			
Diphyllobothriidae Lühe, 1910			
85. *Ligula* sp.	E	Abdominal cavity	AZ-BL
Tetraphyllidea			
86. Tetraphyllidea gen.sp.	E	Intestine	EM, AZ-BL
NEMATODA			
Acuariidae Railliet, Henry & Sisoff, 1912 (larvae)			
87. *Paracuaria adunca* (Creplin, 1846)	E	Mesentery	AZ-BL
88. *Cosmocephalus obvelatus* (Creplin, 1825)	E	Abdominal cavity, intestine	AZ-BL
Anisakidae (Railliet & Henry, 1912) (larvae)			
89. *Contracoecum rudolphii* (Hartwich, 1964)	E	Gall bladder	AZ-BL
90. *Contracaecum microcephalum* (Rudolphi, 1809)	E	Abdominal cavity, mesentery	AZ-BL
91. *Contracaecum* sp.	E	Abdominal cavity, mesentery	WM, CM, EM, AZ-BL
92. *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802)	E	Abdominal cavity, liver, mesentery	AZ-BL
Capillariidae Railliet, 1915			
93. *Capillaria* sp.	E	Digestive tract	CM
94. *Pseudocapillaria tomentosa* (Dujardin, 1843)	E	Intestine	AZ-BL
Cucullanidae Cobbold, 1864			
95. *Cucullanus bioccai* Orecchia & Paggi 1987	S	Intestine	WM, CM, EM
96. *Dichelyne minutus* (Rudolphi, 1819) (larva)	E	N	AZ-BL
Philometridae Baylis & Daubney, 1926			
97. *Philometra tauridica* Ivashkin, Naidenova, Kovaleva &	E	Abdominal cavity	AZ-BL

Helminth species*	Speci-ficity**	Infection site	Geographic area***
Khromova, 1971			
98. *Philometra* sp.	N	Esophagus	EM, AZ-BL
ACANTHOCEPHALA			
Neoechinorhynchidae Ward, 1917			
99. *Floridosentis elongata* Ward, 1953	E	Intestine	AZ-BL
100.*Neoechinorhynchus agilis* (Rudolphi, 1819)	S	Intestine	WM, CM, EM
101.*Neoechinorhynchus personatus* Tkach, Sarabeev & Shvetsova, 2014	S		WM, CM, EM, AZ-BL
Quadrigyridae Van Cleave, 1920			
102.*Acanthogyrus (Acanthosentis) adriaticus* Amin, 2005	O	Intestine	WM, CM, AZ-BL
Illiosentidae Golvan, 1960			
103.*Telosentis exiguus* Von Linstow, 1901	E	Intestine	AZ-BL
Polymorphidae Meyer, 1931 (cystacant)			
104.*Southwellina hispida* (Van Cleave, 1925)	E	Abdominal cavity	AZ-BL

Footnotes: *The species status and taxonomic affinities follow the WoRMS data base (http://www.marinespecies.org/); [CO]co-introduced species of helminth parasites reported in *Planiliza haematocheila* after the host translocation from the Sea of Japan to the Azov-Black Sea;
**Specificity abbreviations: O, oioxenic; S, stenoxenic; E, euryxenic; N, not determined.
***WM: Western Mediterranean; CM: Central Mediterranean; EM: Eastern Mediterranean; AZ-BL: Azov-Black Seas

РОЗДІЛ ІІІ. НАУКОВА ХРОНІКА

УДК 378.4:001.89:577.1(477.64)“2017/2019” DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-09

Наукова школа біологічного факультету Запорізького національного університету «Біоорганічна хімія»: здобутки та перспективи розвитку

Омельянчик Л. О.

Запорізький національний університет,Україна
bf@znu.edu.ua

Ключові слова:
наукова школа, біоорганічна хімія, хіноліни, піридини, акридини, антиоксидантна активність, програма PASS

Проведено огляд тематики та здобутків наукової школи «Біоорганічна хімія» за 2017-2019 роки. Напрямом діяльності школи є: пошук біологічно активних речовин синтетичного та рослинного походження, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей та біологічної активності. Праці науковців школи присвячені азотовмісним гетероциклам (піридин, хінолін, акридин, тетрагідроакридин) та ендогенним тіолам із кислотами (цистеїн, цистеанін, лактат тощо). За звітний період колективом наукової школи видано 6 монографій; 15 навчальних посібників; опубліковано 62 фахові статті, зокрема такі, що входять до наукометричних баз SCOPUS та Web of Science – 9; отримано 5 патентів України на винахід та корисну модель. Фахівці школи брали участь у більш ніж 80 конференціях регіонального, всеукраїнського та міжнародного рівня. Відзначені монографії та патенти, які стали переможцями Всеукраїнського конкурсу НАН Вищої освіти України та науковці школи, що захистили кандидатські дисертації. Результати роботи впроваджено у виробничу діяльність підприємств та організацій поза межами університету, а також в освітній процес кафедр біологічного факультету ЗНУ. Показано активність фахівців у грантовій діяльності, виконанні держбюджетної та госпрозрахункової тем. Висвітлюються перспективи розвитку школи щодо найближчих п’яти років: пошук біологічно активних сполук, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей та біологічної активності серед N- та S-похідних азагетероциклів, лікарських рослин; раціональний дизайн, сучасний органічний синтез, дослідження на біологічних моделях потенційних радіопротекторних структур; проведення VI Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (17-19 вересня 2020 р.); участь у конкурсах наукових проєктів національних та міжнародних фондів.

Scientific school of Biological Faculty of Zaporizhzhia National University «Bioorganic chemistry»: achievements and future prospects

Omelyanchik L. O.

Zaporizhzhia National University, Ukraine
bf@znu.edu.ua

Key words:
science school, bioorganic chemistry, quinolines, pyridines, acridines, antioxidant activity, program PASS

An overview of the key topics and achievements of the Scientific School «Bioorganic Chemistry» for the period of 2017-2019 was performed. The main activity of the school included: search for biologically active substances of synthetic and vegetable origin, study of their physical and chemical properties and biological activity. The work of the school is devoted to nitrogen-

containing heterocycles (pyridine, quinoline, acridine, tetrahydroacridine) and endogenous thiols with acids (cysteine, cysteine, lactate, etc.). During the reporting period, the researchers of the scientific school issued 6 monographs; 15 student handbooks; 62 papers published in refereed journals, including those in SCOPUS and Web of Science (9); obtained 5 national patents. Researchers of the School have participated in more than 80 conferences of regional, national and international levels. The monographs and patents, which were wined by the All-Ukrainian competition of the NAS of Higher Education of Ukraine were marked. The results of the work were implemented in the production activities of enterprises and organizations outside the university, as well as in the educational process of the biological department of ZNU. The involvement of researchers of the scientific school in grant activity was shown. At the end of the review further plans and perspectives are highlighted. Among them: the search for biologically active compounds to study their physicochemical properties and biological activity among N- and S-derivatives of azageterocycles and study of for the biological activity of complex compounds of medicinal plants; rational design, modern organic synthesis and study of biological models of potential radioprotective structures; organization the VI International Scientific and Practical Conference «Modern Issues in Biology, Ecology and Chemistry» (September 17-19, 2020); participation in open calls conducted by national and international funds.

Вступ

У праці надається огляд основної тематики та здобутків наукової школи «Біоорганічна хімія» за 2017-2019 роки. Ця школа під керівництвом д.фарм.наук, професора, академіка НАН Вищої освіти України Омельянчик Людмили об’єднує провідних науковців біологічного факультету ЗНУ: д.біол. наук, професор, академік НАН Вищої освіти України Олександр Бражко, д.біол. наук, професор Валентина Бовт, д.біол. наук, доцент Юлія Єщенко, доценти кафедри хімії Вікторія Генчева, Юлія Петруша, Ірина Лабенська, Марина Корнет, Ніна Синяєва, Тамара Панасенко, Ольга Луганська, доценти кафедри фізіології, імунології та біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Наталія Новосад, Олена Клімова та ін.

Основна тематика та здобутки

Тематика діяльності наукової школи: пошук біологічно активних речовин синтетичного та рослинного походження, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей та біологічної активності. Праці науковців школи «Біоорганічна хімія» присвячені похідним, що поєднують у своїй структурі азотовмісний гетероцикл (піридин, хінолін, акридин, тетрагідроакридин) та ендогенні тіоли або кислоти (цистеїн, цистеамін, лактат тощо). Сполуки такої будови широко застосовують у медицині як антималярійні, антимікробні, фунгіцидні, протипаразитарні засоби, вони є пестицидами, барвниками, комплексонами, проявляють ноотропну, антидепресивну, протизапальну, протипухлинну, радіозахисну та інші види активності, тому розробки в цьому плані є досить актуальними.

Здобутки наукової школи

1. Комплексний підхід, а саме використання віртуального скринінгу (*PASS*-прогнозу, автоматизованого QSAR-аналізу), методів хемоінформатики та лабораторного синтезу органічних речовин, сучасних фізико-хімічних методів підтвердження їхньої будови та чистоти, біологічних, біохімічних, цитологічних, фармакологічних та статистичних методів, які покладено в основу дослідження S-гетерилпохідних ендогенних сульфуровмісних сполук, дозволив виконати поставлені завдання – отримати нові перспективні біологічно активні субстанції, які після поглиблених доклінічних досліджень можуть бути конкурентоспроможними лікарськими засобами у ветеринарії та медицині, а також застосовуватися як біорегулятори в сільському господарстві.

2. За допомогою віртуального скринінгу та QSAR-аналізу розроблено ефективну поетапну стратегію цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин, що об’єднує підходи біоорганічної хімії з методологією *in vitro* та *in vivo* біологічних досліджень, у межах якої синтезовано

ряд нових S-гетерилпохідних ендогенних сульфуровмісних сполук та їх функціональних заміщених (понад 40 нових біологічно активних сполук). Виконано біологічний скринінг цих сполук, що включав дослідження токсичної, аналгетичної, діуретичної дії, антиоксидантної активності *in vitro* та *in vivo*, стану антиоксидантної системи захисту клітин нейроцитів щурів, антимікробної активності та ін.

3. Проаналізовано кореляційні показники токсичної дії серед S-гетерилзаміщених ендогенних сульфуровмісних сполук. Визначено фактори молекулярної будови тіопохідних азагетероциклів, які впливають на величину їхньої напівлетальної дози, побудовано відповідні QSAR-моделі «структура-токсичність». Розраховано квантово-хімічні константи похідних S-гетерилзаміщених тіокислот та виявлені молекулярні дескриптори, які впливають на величину прояву прогнозованої біологічної дії.

4. Удосконалено методи синтезу та уперше одержано понад 200 нових оригінальних сполук на основі різних галогенопохідних азагетероциклів із використанням реакції нуклеофільного заміщення з меркаптокислотами (L-цистеїн, N-ацетил-L-цистеїн, 3-меркаптопропіонова, 2-меркаптобурштинова, тіомолочна, тіогліколева кислоти) та функціоналізовано їх за аміно- та карбоксильними групами. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та спектрально, чистоту – методом тонкошарової хроматографії. Уперше описано фізико-хімічні властивості (температуру плавлення, ліпофільність, константу іонізації).

5. Уперше синтезовано комплексні сполуки S-(2-метил-6-алкоксихінолін-4-іл)-L-цистеїнів з мікроелементами (Zn^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{3}), досліджено їхні фізико-хімічні властивості (розчинність, $t_{пл.}$, хроматографічні константи). Проаналізовано ІЧ-спектри комплексів S-(2-метил-6-алкоксихінолін-4-іл)-L-цистеїнів із катіонами металів-комплексоутворювачів Zn^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{3+} та досліджено їхню антирадикальну активність *in vitro*.

6. Доведено, що гостра токсичність похідних S-гетерилкарбонових кислот значною мірою визначається природою замісників у гетероциклі та перебуває в широкому діапазоні доз (від 43 мг/кг до 5000 мг/кг), що дозволяє віднести їх до класу помірнотоксичних, малотоксичних або нетоксичних сполук. Установлено, що досліджені речовини не виявляють токсичного впливу стосовно грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів.

7. Уперше в єдиній експериментальній постановці *in vitro* на 6-ти моделях ініціації вільнорадикального окиснення (ВРО) вивчено антирадикальну (АРА) й антиоксидантну активність (АОА) похідних S-гетерилпохідних карбонових кислот. З'ясовано, що найбільш активними антиоксидантами серед досліджених речовин є 5,8-диметоксизаміщені хіноліни, які за дією перевищують референс-препарати. Установлено, що в процесі вільнорадикального окиснення вони набувають властивостей «пасток» супероксид-аніону, перехоплюють гідроксил-радикал, знижують рівень пероксидів і гальмують утворення монооксиду азоту.

8. Установлено, що за умов одночасного модулювання трансмембранного транспорту іонів Zn^{2+} (доза іонофору 400 мг/кг) та блокування циклооксигенази в слизовій оболонці дистального відділу тонкої кишки на першу добу відзначається зменшення активності мієлопероксидази на 28 % ($p<0,01$), супероксиддисмутази – на 27 % ($p<0,01$), каталази – на 22 % ($p<0,01$), концентрація нітритів знижується на 27 % ($p<0,001$) порівняно з показниками тварин, які зазнавали лише блокування циклооксигенази.

9. Установлено, що на моделі окисного стресу *in vivo* (ішемія головного мозку) похідні (хінолін-4-ілтіо)карбонових кислот виявляють АО й нейропротекторну дію щодо ферментів АО захисту в тканинах головного мозку. Досліджені сполуки зменшують вміст продуктів ВРО, нормалізують рівень АО ферментів (СОД, каталази, ГПР), знижують рівень деструкції нейронів.

10. Виявлено, що серед похідних (хінолін-4-ілтіо)карбонових кислот найбільш перспективними аналгетиками є

речовини, які мають у своїй структурі 6-бромо- та 5,8-диметоксигрупи, а наявність двох метоксигруп у положеннях 5 та 8 гетероциклу зумовлює підвищення інтенсивності сечовидільної дії до рівня препарату порівняння – гіпотіазиду.

11. Установлено, що 3-(2-метил-5,8-диметоксихінолін-4-ілтіо)пропанова кислота є ефективним антиоксидантним засобом, який проявляє виражену антиоксидантну активність, переважає за ефективністю референс-препарат (ацетилцистеїн) і може бути використаний після доклінічних випробувань у медичній та ветеринарній практиці.

12. Розроблено лабораторний регламент синтезу, методику кількісного аналізу з використанням йоноселективних електродів та досліджено специфічну активність та ймовірний механізм дії – динатрієвої солі 2-(2-метил-5,8-диметоксихінолін-4-ілтіо)сукцинатної кислоти як перспективного нейрометаболічного антиоксиданта і церебропротектора для лікування інсультів у гострому періоді ішемії. Установлено, що її активність може реалізуватися за рахунок здатності зв'язувати активні форми кисню та монооксиду азоту, підвищувати активність ферментів антиоксидантного захисту, сприяти збереженню структурно-функціональної організації біомембран та гальмувати загибель нейронів.

13. Визначено ноотропну та антигіпоксичну дії нетоксичної сполуки – динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти. За ноотропною дією вона перебуває на рівні еталону порівняння – відомого ноотропного засобу «Пірацетам», але за вираженістю дії перевищує його. За антигіпоксичною дією динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти в дозі 50 мг/кг перевищує відомий ноотропний засіб «Пірацетам». Тривалість життя піддослідних тварин порівняно з контролем збільшується на 17,5 % при введенні сполуки в дозі 25 мг/кг та на 35 % – в дозі 50 мг/кг. Для «Пірацетаму» цей показник становить 24,5 %. Результати досліджень дозволяють рекомендувати динатрієву сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти як перспективну субстанцію для створення на її основі нових нетоксичних ноотропних засобів.

14. Порівняльний аналіз прогнозованого та експериментального визначення біологічної активності дав змогу поповнити банк даних ЕОМ новими дескрипторними центрами для подальшого молекулярного дизайну в цих рядах сполук.

Протягом зазначеного періоду виконано держбюджетну тему 6/15 «Створення біологічно активних речовин на основі S-заміщених ендогенних сульфуровмісних сполук», № держреєстрації 0115U000763, науковий керівник Л. О. Омельянчик. Продовженням цієї теми є проєкт молодих вчених кафедри хімії «Раціональний дизайн S,N-модифікаційних амінотіолів як потенційних протирадіаційних засобів» (керівник проєкту доц. М. М. Корнет).

За звітний період колективом наукової школи видано 6 монографій[1-6]; 15[7-21] навчальних посібників; опубліковано 62 фахові статті, зокрема таких, що входять до наукометричних баз SCOPUS та Web of Science – 9[22-30]; отримано 5 патентів України на винахід та корисну модель[31-35]. Фахівці школи брали участь у більш ніж 80 конференціях регіонального, всеукраїнського та міжнародного[36-46] рівня. Дві монографії «Проблеми здоров’я, хвороб і метаболізм металів» та «Біологічна активність і фізико-хімічні властивості N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну» подавалися на участь у конкурсі «Краще видання року», що проводився восени 2018 року НАН Вищої освіти України, й обидві стали лауреатами ІІ премії конкурсу в номінації «Монографії». Монографія англійською мовою «Biological activity and physiocochemical properties of N-acid derivatives S-(2-methylguinoline-4-yl)-L-cysteiny» у номінації «Монографія» та патент на винахід №118735 «Спосіб одержання 10-((5-меркапто-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-2R-метил)акридин-9(10H)-онів» у номінації «Патенти» у 2019 році стали лауреатами І премії. Варто наголосити, що на участь у конкурсному відборі подали 780 наукових праць зі всіх закладів вищої освіти України.

Результати науково-дослідної роботи науковці школи впроваджують у виробництво та педагогічний процес. Усього за 2017-2019 рр. отримано 7 актів упровадження результатів НДР поза межами ЗНУ (табл. 1).

Таблиця 1 – Розробки, які впроваджено за період 2017-2019 рр. за межами ЗВО

№ з/п	Назва та автори розробки	Важливі показники, які характеризують рівень отриманого наукового результату, переваги над аналогами, економічний, соціальний ефект	Місце впровадження (назва організації, відомча належність, адреса)	Дата акта впровадження	Практичні результати, які отримано ЗВО / науковою установою від впровадження (обладнання, обсяг отриманих коштів, налагоджено співпрацю для подальшої роботи тощо)
1	Аналітичні методики виділення та аналізу ізомерів біологічно активних речовин на основі S гетерил-карбонових кислот. Автори: Омельянчик Л. О., Завгородній М. П., Бражко О. А., Бражко О. О. та ін. (НДР № 0115U000763 «Створення біологічно активних речовин на основі S-заміщених ендогенних сульфуровмісних сполук»))	Удосконалено відомі методи синтезу та виділення біологічно активних речовин, що дозволило підвищити вихід нових біологічно активних сполук та зменшити їх собівартість. Уперше розроблено лабораторний регламент синтезу сполуки лідера – динатрієвої солі 2-(2-метил-5,8-диметоксихінолін-4-ілтіо)сукцинатної кислоти. Використання парофазної газової хроматографії дозволило підвищити селективність синтезу та аналізу отриманих ізомерів	Запорізький державний медичний університет, Міністерство охорони здоров'я України, пл. Маяков-ського, 26, м. Запоріжжя, 69035	10.10.2017 р.	Проведено експеримент, здійснено апробацію результатів кандидатської дисертації. Опубліковано спільну статтю в журналі, що входить до наукометричної бази даних Scopus
2	Нові регулятори росту рослин для ландшафтного дизайну та методика їх використання. Автори: Омельянчик Л. О., Завгородній М. П., Бражко О. А., Бражко О. О. Петруша Ю. Ю. та ін. (НДР № 0115U000763 «Створення біологічно активних речовин на основі S-заміщених ендогенних сульфуровмісних сполук»))	Запропоновано нові регулятори росту на основі S гетерил-карбонових кислот для вирощування квітів, що використовують у ландшафтному дизайні. Ці речовини відносяться до класу малотоксичних і є екологічно безпечними	Комунальний вищий навчальний заклад «Хортицька національна навчально-реабілітаційна академія», Запорізька обласна рада, вул. Наукового містечка, 59, о. Хортиця, м. Запоріжжя, 69017	05.12.2017 р.	Проведено експеримент з пошуку регуляторів росту для рослин ландшафтного дизайну. Опубліковано дві спільні статті, що входять до наукометричних баз даних
3	Іоноселективний електрод для аналізу біологічно активних речовин. Автори: Омельянчик Л.О., Луганська О.В. та ін. (НДР № 0115U000763 «Створення біологічно активних речовин на основі S-заміщених ендогенних сульфуровмісних сполук»))	Методика кількісного аналізу сполуки лідера – динатрієвої солі 2-(2-метил-5,8-диметоксихінолін-4-ілтіо)сукцинатної кислоти з використанням іоноселективного електрода дозволила підвищити ефективність та селективність аналізу	Запорізька державна інженерна академія, МОН України, пр. Соборний, 226, м. Запоріжжя, 69006	26.05.2017 р.	Налагоджено співпрацю для подальшої роботи. Проведено експеримент
	Дослідження біодеградації нафтопродуктів іммобілізованими на «ВІЯ» бактеріальною біотою та перифітоном. Автори: Рильський О. Ф.,	Надані наукові рекомендації, які дозволять зменшити концентрацію нафтопродуктів, оливи та інших органічних забруднень за рахунок	ПАТ «Запорізький металургійний комбінат "Запоріжс-таль"», вул. Південне шосе, 72, м. Запоріжжя,	21.12. 2018	30,000 тис. грн за виконання госпдоговірної НДР 0118U006251.

4	Дударєва Г.Ф., Петруша Ю.Ю., Крупей К. С.	використання перефітону в стічній воді гідроспоруди, що забезпечить ефективне очищення виробничо-зливових стічних вод підприємства.	69008		

Окрім цього, результати досліджень упроваджуються в освітній процес кафедр біологічного факультету ЗНУ (перелік впроваджень наведено нижче), науковці також беруть активну участь у виконанні госпдоговірних тем (табл. 2).

Таблиця 2 – Участь науковців школи «Біоорганічна хімія» у виконанні госпдоговірних тем

№ з/п	Назва НДДКР ПІБ наукового керівника, науковий ступінь	Підстава до виконання - дата, № документа	Терміни виконання	Організація, що фінансує роботу	Обсяг фінансування тис. грн
1	Моніторинг якості доочищення стічних вод іммобілізованими мікро-гідробіоценозами. **Прикладна НДР** Рильський Олександр Федорович, проф., д-р біол. наук Виконавці: Петруша Ю. Ю., Лашко Н. П.	05.05.2017 р. № 6/17	05.05.2017-31.12.2017	ПАТ «Мотор Січ» м. Запоріжжя	25,0
2	Моніторингові дослідження гідрохімічного, гідробіологічного та іхтіопаразитологічного стану ставка, що знаходиться на території Біляківської сільської ради Семенівського району Полтавської області з метою оцінки його придатності для господарського використання. Послуга Сарабєєв Володимир Леонідович, доц., канд. біол. наук Виконавці: Лашко Н. П., Синяєва Н. П.	01.08.2017 р. № 10/17	01.08.2017-31.07.2018	ТОВ «Сапсан-Семенівка» Полтавської області	12,0
3	Дослідження біодеградації нафтопродуктів іммобілізованими на волокнистому носії типу «ВІЯ» бактеріальною біотою та перифітоном. Прикладна НДР Рильський Олександр Федорович, проф., д-р біол. наук Виконавці: Лашко Н. П., Петруша Ю. Ю.	01.07.2018 р. № 6/18	01.07.2018-31.12.2018	ПАТ «Запорізький металургійний комбінат «Запоріжсталь»	30,0
4	Моніторингові дослідження гідрохімічного, гідробіологічного та іхтіопаразитологічного стану ставка, що знаходиться на території Біляківської сільської ради Семенівського району Полтавської області з метою його	01.08.2018 р. № 7/18	01.08.2018-31.07.2019	ТОВ «Сапсан-Семенівка» Полтавської області	15,0

	використання та оптимального ведення рибного господарства. Послуга Сарабєєв Володимир Леонідович, доц., канд. біол. наук Виконавці: Петруша Ю. Ю., Синяєва Н. П.				

Перелік впроваджень результатів досліджень в освітній процес кафедр біологічного факультету ЗНУ

1. Дисципліна «Органічна хімія» (для спеціальності 102 «Хімія») – нові розробки включено до навчальної та робочої програми дисципліни з тем «Гетероцикли» та «Синтези органічних сполук».
2. С/К «Біотехнологія фізіологічно активних речовин» (для спеціальності 102 «Хімія») – нові розробки включено до навчальної та робочої програми дисципліни з теми «Методи виділення та ідентифікації».
3. Дисципліна «Біологічно активні речовини» (для спеціальності 102 «Хімія») – нові розробки включено до навчальної та робочої програми дисципліни з теми «Біологічно активні речовини шестичленних гетероциклів».
4. Дисципліна «Фізичні методи дослідження речовин» (для спеціальності 102 «Хімія») – нові розробки включено до навчальної та робочої програми дисципліни з теми «Визначення фізико-хімічних констант кислот та їх похідних».
5. Дисципліна «Комп'ютерна хімія» (для спеціальності 102 «Хімія») – нові розробки включено до навчальної та робочої програми дисципліни з теми «Візуалізація просторових формул молекул».
6. Дисципліна «Хімічний аналіз якості води» (для спеціальності 102 «Хімія») – нові розробки включено до навчальної та робочої програми дисципліни з теми «Оптичні методи аналізу якості води».
7. Дисципліна «Біохімія» (для спеціальності 102 «Хімія») – нові розробки включено до навчальної та робочої програми дисципліни з теми «Модифікації амінокислот».
8. Дисципліна «Фізико-хімічні методи в біології» (для спеціальності 102 «Хімія») – у курс лабораторного практикуму впроваджено потенціометричне визначення вітаміну С в біологічній сировині.
9. При виконанні наукових робіт студентами та учнями в системі МАН за темою «Дослідження хімічних та біологічних властивостей похідних хіноліну», почав застосовуватися метод потенціометрії з використанням алгоритмів розрахунків для різних типів слабких електролітів.
10. Дисципліна «Фізична хімія» (для спеціальності 102 «Хімія») – до курсу лабораторних робіт уведено метод потенціометричного визначення вмісту іонів NH_4^+ та NO_3^- у водному середовищі.
11. Дисципліна «Аналітична хімія» (для спеціальності 102 «Хімія») – у курс лабораторного практикуму впроваджено потенціометричне визначення кислоти та лугу із застосуванням іоноселективного електрода.
12. Розроблено методику "Потенціометричне визначення рКа фізіологічно-активних речовин", що застосовується в науково-дослідницькій роботі.

Проєктна діяльність наукової школи

Фахівці школи беруть активну участь у тренінгах, круглих столах та семінарах щодо міжнародного наукового співробітництва, друкуються в міжнародних наукових виданнях та беруть участь (зокрема, очну) у міжнародних конференціях. Щороку збільшується кількість заявок, поданих на отримання фінансування науково-дослідної роботи за рахунок грантів з країн ЄС (табл. 3). За звітний період під керівництвом Л. О. Омельянчик захищено 2 кандидатські дисертації (Бражко О. О., Карпенко Ю. В.).

Наукові зв'язки

Наукова школа підтримує ділові контакти та проводить спільні роботи з науковими центрами України, близького і далекого

зарубіжжя. Зокрема, активно співпрацює із Запорізьким державним медичним університетом, Інститутом біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, науково-технологічним комплексом «Інститут монокристалів» НАН України, Запорізьким обласним інститутом післядипломної педагогічної освіти, Київським національним університетом ім. Т. Шевченка, Харківським національним університетом, науково-дослідним інститутом «Титан», ДП МОУ, Запорізьким державним авіаційним ремонтним заводом «Міг-ремонт», ВАТ «Мотор Січ», ДП Запорізьким науково-виробничим центром стандартизації та метрології «ЗАПОРІЖЖЯ-СТАНДАРТМЕТРОЛОГІЯ», ЗАТ «Запорізький оліяжиркомбінат», Запорізьким інститутом тваринництва Української аграрної академії наук. Неодноразово приїздили до ЗНУ та відвідували кафедру хімії науково-педагогічні працівники зі США, Франції та Німеччини. Крім того, існують педагогічні та наукові зв'язки з університетом Ле-Ман (Франція) та Магдебурзьким університетом (Галле, Німеччина).

Таблиця 3 – Проєктна діяльність наукової школи «Біоорганічна хімія» за 2017-2019 роки

№ з/п	Назва програми/ конкурсу	Назва проєкту/ Напрям проєкту	Виконавці (склад робочої групи)	Дата подання проєкту	Очікуваний обсяг фінансування
1	Ф73 на грантову підтримку науково-дослідних проєктів Державного фонду фундаментальних досліджень і Білоруського республіканського фонду фундаментальних досліджень	Моделювання та дослідження потенційних радіопротекторних субстанцій на основі ендогенних тіолів, їхніх похідних та водних екстрактів культивованих лікарських базидіоміцетів	Бражко О.О. Завгородній М.П., Корнет М.М., Карпенко Ю.В.	2016-2018 (строк виконання)	50000 UAH
2	Конкурсний відбір МОН проєктів наукових робіт та науково-технічних (експериментальних) розробок молодих учених	Використання біологічно активних речовин природного походження у біотехнологічних процесах переробки молока	Корнет М.М., Деревянко Н.П., Левчук А.М., Крупєй К.С., Литвиненко Р.О., Карпенко Ю.В.	2016-2018 (строк виконання)	1017,656 тис. UAH
3	Програма НАТО «Science for Peace and Security Program»	Design of Thiol-based Radioprotectors for Lethal Dose of Radiation	Бражко О.А.	01.08.2017	300 000EUR
4	Фонд Спенсера	Підготовка викладачів хімії до 3D-моделювання в освітньому процесі	Бражко О.А. – керівник, Перетятько В.В. – відповідальний виконавець, Корнет М.М. – координатор.	01.02.2018	10 тис. $.

			Члени проєктної групи: Завгородній М.П., Бражко О.О., Євлаш А.С.		
5	Active Citizens British Council	Лекторій на природі	Корнет М.М., Бойка О.А., Бережна А.М.	лютий 2018	15000 грн.

Крім того, існують педагогічні та наукові зв'язки з університетом Ле-Ман (Франція) та Магдебурзьким університетом (Галле, Німеччина).

Наукові співробітники є членами спеціалізованих вчених рад, членами редакційних колегій, наукових фахових видань, членами наукової та методичних рад МОН України. Зокрема, спеціалізованої вченої ради Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету; членами редакційних колегій «Вісник ЗНУ. Біологічні науки», «Питання біоіндикації та біоекології», «Актуальні питання біологічних та хімічних наук»; членами експертної ради №15 МОН України; експертами НАЗЯВО.

Досягнення фахівців наукової школи високо відзначені спільнотою та керівництвом держави. Отримано почесні грамоти МОН України, грамоти Запорізької обласної державної адміністрації, Запорізької обласної ради, районних адміністрацій міста Запоріжжя, ректора ЗНУ, нагрудний знак за наукові досягнення МОН України «Петро Могила», ювілейні медалі Запорізької обласної державної адміністрації «За розвиток Запорізького краю», стипендія КМУ для молодих вчених та ін.

Наукові співробітники беруть активну участь у Всеукраїнських олімпіадах та конкурсах. Так, були членами журі Всеукраїнських олімпіад учнів із хімії проф. Л. О. Омельянчик, проф. О. А. Бражко, доц. Т. В. Панасенко. Проф. Л. О. Омельянчик була головою, а проф. О. А. Бражко – членом журі Всеукраїнських наукових конкурсів студентів із біології та хімії. Науковці є постійними учасниками програм на телеканалах Запорізького регіону «ТВ-5», «ЗТРК», «Запоріжжя», ТК «Алекс», радіо «ЮНІВЕРС» тощо, а також авторами рубрик у друкованих ЗМІ (газети "Наш город", "Міг").

Перспективи розвитку школи на подальші 5 років

Планується:

1. Продовжити пошук біологічно активних сполук, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей та біологічної активності серед N- та S-похідних азагетероциклів, лікарських рослин (2020-2025 рр);
2. Раціональний дизайн, сучасний органічний синтез, дослідження на біологічних моделях потенційних радіопротекторних структур (2020-2025 рр);
3. Провести VI Міжнародну науково-практичну конференцію «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (17-19 вересня 2020 р.).
4. Участь у конкурсі проєктів фундаментальних і прикладних досліджень та науково-технічних (експериментальних) розробок закладів вищої освіти та наукових установ, зокрема молодих вчених у МОН України (2020-2025 рр).
5. Підвищити активність науковців школи в проєктній та грантовій діяльності (2020-2025 рр).
6. Публікувати статті у виданнях, що включені до міжнародних наукометричних баз (Scopus, Web of Science) (2020-2025 рр).
7. Участь у виконанні господарських договорів (2020-2025 рр).
8. Організовувати та проводити на базі біологічного факультету олімпіаду та другий тур всеукраїнського конкурсу захисту науково-дослідницьких робіт учнів членів МАН України з хімії, а також організовувати заняття з учнями-переможцями (2020-2025 рр).

9. Продовжувати роботу з розширенням міжнародних зв'язків та отримання міжнародних грантів (2020-2025 рр).

Література

(1) Омельянчик, Л. О.; Бражко, О. А.; Завгородній, М. П.; Петруша, Ю.Ю. *Синтез, фізико-хімічні властивості та біологічна активність N- та S-заміщених шестичленних азотовмісних гетероциклів*; Запоріжжя: ЗНУ, 2017.

(2) Омельянчик, Л. О.; Бражко, О. А.; Лабенська, І. Б.; Завгородній, М. П.; Петруша, Ю. Ю. *Біологічна активність та фізико-хімічні властивості N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну*; Запоріжжя: ЗНУ, 2017.

(3) Михалюк, Є. Л.; Бражко, О. А. *Фармакологічна корекція перевтоми і відновлення спортивної працездатності*; Запоріжжя: ЗДМУ, 2017.

(4) Омельянчик, Л. О.; Бражко, О. А.; Завгородній, М. П.; Бражко, О. О.; Петруша, Ю. Ю. *Біологічна активність S-похідних азагетероциклів*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(5) Omelianchyk, L.; Brazhko, O.; Labenska, I.; Zavgorodniy, M.; Petrusha, Yu. *Biological activity and physicochemical properties N-acid derivatives S-(2-methylquinolin-4-yl)-L-cysteine*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(6) Бражко, О. А.; Завгородній, М. П. *Modern aspects of creating of drugs based QuS-program development*; Естонія: Lap Lambert Academic Publishing, 2018.

(7) Панасенко, Т. В.; Омельянчик, Л. О.; Ткачук, О. В.; Петруша, Ю. Ю. *Аналітична хімія. Якісний аналіз: лабораторний практикум для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра напрямів підготовки «Біологія» та «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2017.

(8) Бражко, О. А.; Завгородній, М. П.; Генчева, В. І. *Хімія гетероциклічних сполук: навчальний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2017.

(9) Луганська, О. В. *Сучасні проблеми хімічної науки*: *методичні вказівки до самостійної роботи для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(10) Омельянчик, Л. О.; Генчева, В. І. *Біохімія для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(11) Панасенко, Т. В.; Петруша, Ю. Ю.; Омельянчик, Л. О. *Неорганічна хімія: методичні рекомендації до лабораторних занять для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(12) Луганська, О. В. *Контроль якості продукції: методичні вказівки до семінарських занять для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра напряму підготовки «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(13) Корнет, М. М.; Генчева, В. І. *Хімія: конспект лекцій для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Лісове господарство» освітньо-професійної програми «Лісове та садово-паркове господарство»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(14) Омельянчик, Л. О.; Генчева, В. І.; Новосад, Н. В. *Біохімія: методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія» денної та заочної форм навчання*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(15) Лабенська, І. Б.; Бражко, О. А.; Бражко, О. О. *Електрохімічні методи аналізу: методичні рекомендації до самостійної роботи для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2018.

(16) Генчева, В. І.; Лашко, Н. П.; Бражко, О. А. *Реологія харчової сировини та продуктів: навчальний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2019.

(17) Бражко, О. А.; Корнет, М. М.; Євлаш, А. С. *Сучасні методи досліджень в хімії: навчальний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2019.

(18) Панасенко, Т. В.; Омельянчик, Л. О.; Карпенко, Ю. В. *Хімія лікарських засобів. Частина 1. Хімія неорганічних лікарських засобів: навчальний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2019.
(19) Генчева, В. І.; Бражко, О. А.; Омельянчик, Л. О.; Панасенко, Т. В. *Методичні рекомендації до написання, оформлення та захисту кваліфікаційної роботи для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2019.
(20) Омельянчик, Л. О.; Генчева, В. І. *Хімічні процеси в живих організмах: методичні рекомендації до лабораторних занять для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія» денної форми навчання*; Запоріжжя: ЗНУ, 2019.
(21) Генчева, В. І.; Лабенська, І. Б. *Хімія високомолекулярних сполук: методичні рекомендації до лабораторних занять для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»*; Запоріжжя: ЗНУ, 2019.
(22) Murlykina, M. V.; Kornet, M. N.; Desenko, S. M.; Shishkina, S. V.; Shishkin, O. V.; Brazhko, A. A.; Musatov, V. I.; Van der Eycken, E. V.; Chebanov, V. A. New tricks of well-known aminoazoles in isocyanide-based multicomponent reactions and antibacterial activity of the compounds synthesized. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2017**, 13, pp 1050-1063.
(23) Karpenko, Y. V.; Omelyanchik, L. O.; Panasenko, T. V. Experimental and theoretical spectroscopic study of thione-thiol tautomerism of new hybrides 1,3,4-oxadiazole-2-thion with acridine-9(10H)-one. *Chemistry & Chemical Technology* **2018**, 12 (4), pp 419-428.
(24) Karpenko, Y. V.; Omelyanchik, L. O.; Samura, T. O.; Omelyanchik, V. M. Synthesis and study of the «acute toxicity vs. structure» dependence of new hybrid 1,3,4-oxadiazole-2-thione with acridine-9(10H)-one. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii* **2018**, 4, pp 5-13.
(25) Karpenko, Y. V.; Omelyanchik, L. O.; Panasenko, T. V.; Kuchmenko, A. R. Chromatographic evaluation of the lipophilic properties of some derivated acridin-9(10h)-one. *Methods and objects of chemical analysis* **2018**, 13 (3), pp 115-120.
(26) Карпенко, Ю. В.; Омельянчик, Л. О. Дослідження кінетики рідкофазного гідразинолізу бутилових естерів 2-(2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)етанових кислот. *Journal of Chemistry and Technologies* **2018**, 26 (1), с 31-39.
(27) Brazhko, O. A.; Yevlash, A. S.; Zavgorodnii, M. P.; Kornet, M. M.; Brazhko, O. O.; Lagron, A. V. Basic approaches to the synthesis of pyrrolo[1,2-a]quinolines derivatives: a review. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii* **2019**, 6, pp 6-16.
(28) Murlykina, M. V.; Kolomiets, O. V.; Kornet, M. M.; Sakhno, Y. I.; Desenko, S. M.; Dyakonenko, V. V.; Brazhko, O. A. Doebner-type pyrazolopyridine carboxylic acids in an Ugi four-component reaction. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2019**, 15, pp 1281-1288.
(29) Labenska, I. B.; Brazhko, O. A.; Martynenko, Y. V.; Antypenko, O. M.; Kovalenko, S. I. Directed search of biologically active compounds among hydrogenated isoindolylalkyl-(alkaryl-, aryl-)carboxylic acids with quinazoline fragment that influence on the carbohydrate metabolism: design, synthesis and modification. *Acta Chimica Slovenica* **2019**, 66 (1), pp 145–154.
(30) Ярошенко, А. І.; Панасенко, Т. В.; Пругло, Є. С. Вплив замісників різної природи у 3- та 5-му положеннях 4*H*-1,2,4-триазолу на поведінку похідних в умовах ГХ-МС-аналізу. *Journal of Chemistry and Technologies* **2019**, 27 (2), с 264-275.
(31) Бражко, О. О.; Бєленічев, І. Ф.; Омельянчик, Л. О.; Бражко, О. А.; Завгородній, М. П. (Запорізький національний університет). Динатрієва сіль 2-(2-метил-5,8-диметоксихінолін-4-ілтіо)сукцинатної кислоти, що проявляє антиоксидантну та нейропротекторну активності. Патент України 113479, Січ 25, 2017.
(32) Луганська, О. В.; Омельянчик, Л. О.; Синяєва, Н. П.; Ніколаєва, Т. Г. (Запорізький національний університет). Спосіб кількісного визначення алкілдиметилбензиламонію хлориду у водному розчині. Патент України 117201, Черв 26, 2017.
(33) Луганська, О. В.; Омельянчик, Л. О.; Синяєва, Н. П.; Ніколаєва, Т.Г. (Запорізький національний університет). Склад мембрани іоноселективного електрода. Патент України 117202, Черв 26, 2017.

(34) Луганська, О. В.; Омельянчик, Л. О.; Ткач, В. В.; Калінін, П. А. (Запорізький національний університет). Спосіб кількісного визначення алкілдиметилбензиламонію хлориду у водному розчині. Патент України 131055, Січ 10, 2019.
(35) Карпенко, Ю. В.; Омельянчик, Л. О. (Запорізький національний університет). Спосіб одержання 10-(5-меркапто-1,3,4-оксадіазол-2-ил)метил)-2R-акридин-9(10H)-онів. Патент України 118735, Лют 25, 2019.
(36) Омельянчик, Л. О.; Карпенко, Ю. В. Проведение молекулярного моделирования, связывание соединений производных 10-азолилметилакридонов с ДНК-полимеразой. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации*, Сборник тезисов докладов LXXI Международной Научно-практической Конференции Студентов и Молодых Учёных, Минск, Беларусь, Апрель 17-19, **2017**; БМУ: Минск, 2017; с 199.
(37) Петруша, Ю. Ю. Антигипоксическая активность динатриевой соли 2-(пиридин-4-илтио)янтарной кислоты в опытах in vivo *Актуальные вопросы современной медицины и фармации*, Материалы 69-й Итоговой Научно-Практической Конференции Студентов и Молодых Ученых, Витебск, Беларусь, Апрель 19-20, 2017; ВГМУ: Витебск, **2017**; с 221-222.
(38) Євлаш, А. С.; Бражко, О. А.; Бражко, С. О; Лагрон, А. В. Virtual screening of pyrrolo[1,2-a]quinoline derevatives. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации*, Сборник тезисов докладов LXXIII Международной Научно-практической Конференции Студентов и Молодых Учёных, Минск, Беларусь, Апрель 17-19, **2019**; БМУ: Минск, 2019; с 155.
(39) Узленкова, Н. Є.; Корнет, М. М.: Бражко, О. А.; Скоробогатова, Н. Г.; Кривко, А. І.; Бражко, О. О. Evaluation of the S-heteryl modified cysteamine as a radiation protector. *Радиобиология: современные проблемы*, Материалы Международной Научной Конференции, Гомель, Беларусь, Сентябрь 26-27, **2019**; Институт радиобиологии НАН Беларуси: Гомель, 2019; с 37-40.
(40) Murlykina, M.; Kornet, M.; Van der Eycken, E.; Schols, D.; Tsygankov, A.; Chebanov, V. Controlled Doebner-, Groebke- and Ugi-type multicomponent reactions involving aminoazoles with further in vitro antibacterial and antiviral activity evaluation studies of the reaction products. *7th International Conference on Multicomponent Reactions and Related Chemistry*, Düsseldorf, Germany, August 26-31, **2018**; Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2018; p 63.
(41) Eschenko, J. V.; Luganska, O. V.; Zavgorodny, M. P.; Bovt, V. D.; Omelyanchik, L. O. Modeling of ecopathologies and the possibility of creating medicines for their prevention and treatment. *Advances of science*, Proceedings of Articles The International Scientific Conference, Czech Republic, Karlovy Vary –Ukraine, September 28, **2018**; КНУ ім. Т. Шевченка: Київ, 2018; с 52-57.
(42) Eschenko, J.; Luganska, O.; Zavgorodny, M.; Bovt, V.; Omelyanchyk, L. Creating of systems for biomonitoring and pathologies modeling, connected with disorders of metal-ligand homeostasis and modern aspects of creating of new potential drugs. *Аналитика РБ-2018*, Сборник тезисов Шестой Республиканской Научной конференции по Аналитической химии с Международным Участием, Минск, Беларусь, Май 16-19, **2018**; БГУ: Минск, 2018; с 156.
(43) Tkach, V. V.; Kushnir, M. V.; Lukanova, S. M.; Bilous, V. V.; De Oliveira, S. C.; Velyka, A. V.; Kornet, M. M. A descrição teórica da determinação eletroanalítica das quantidades residuais do agente químico adamsita, assistida pela poli(9-trifenilfosfazoacridina), dopada pelo éster específico do ácido molibdênico. *I Encontro Georgiano-Brasileiro de Eletrossíntese e Eletroanálise*, Salvador, Brasil, 19 a 21 de maio de **2019**; Salvador: BA, 2019; pp 34-35.
(44) Панасенко, О. І.; Буряк, В. П.; Панасенко, Т. В. The world drug problem and sustainable development. *Naukowa mysl informacyjnej powieki*, Матеріали XIV Міжнародної Науково-практичної Конференції, Пшемисль, Польща, Березень 7-15, **2018**; Пшемисль: Nauka i studia, 2018; с 19-21.
(45) Панасенко, О. І.; Буряк, В. П.; Кейтлін, І. М.; Панасенко, Т. В. General chemistry and pharmacy. *Dny Vedy – 2018*, Матеріали XIV Міжнародної Науково-практичної Конференції, Прага, Чехія, Березень 22-30, **2018**; Praha, 2018; с 9-11.
(46) Карпенко, Ю. В.; Омельянчик, Л. О. Антибактериальная активность новіх 10-((1,3,4-оксадиазол-2-ил)метил)акридин-9(10H)-онов. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации*, Сборник тезисов докладов LXXIII Международной Научно-

практической Конференции Студентов и Молодых Учёных, Минск, Беларусь, Апрель 17-19, **2019**; БМУ: Минск, 2019; с 161.

УДК.....

Вимоги до оформлення статей у «Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки»

До друку приймаються статті українською та англійською мовами за спеціальністю 091 «Біологія». Наукові напрями:

- Біоекологія
- Біоорганічна хімія
- Біохімія
- Генетика, фізіологія рослин та прикладана ботаніка
- Гідробіологія
- Зоологія
- Імунологія
- Іхтіологія та аквакультура
- Мікробіологія
- Паразитологія
- Фізіологія людини та тварин.

Метою журналу є поширення біологічних знань у вигляді публікації наукових статей, створення майданчика для обговорення ідей та результатів досліджень серед вітчизняних та зарубіжних науковців. Журнал публікує наукові матеріали з усього світу, приділяючи першочергову увагу дослідженням, що проводяться в Україні. До друку приймаються статті, відзначені високим науковим рівнем, містять глибокий самостійний аналіз сучасних проблем розвитку науки. Журнал дотримується політики відкритого доступу до статей та швидкої онлайн публікації рукописів після їх прийняття до друку.

ТИПИ СТАТЕЙ

- дослідницька стаття
- оглядова стаття
- коротке повідомлення

РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ОФОРМЛЕННЯ СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Дослідницька стаття

За структурою дослідницька стаття має відповідати міжнародному стандарту IMRAD та містити такі обов’язкові елементи: Вступ, Матеріали та методи, Результати, Обговорення, Висновки, Література. Обсяг основного тексту дослідницької статті від 11 до 60 тисяч знаків з пробілами (анотація, список використаних джерел, таблиці та підписи до рисунків не враховуються). Бібліографічний список за обсягом не має перевищувати 80 джерел.

Назва статті. Якомога коротша, але достатня для розуміння змісту роботи, скорочення – тільки загальноприйняті. Слід уникати беззмістовних слів, таких як «вивчення», «дослідження», «спостереження» тощо. Якщо йдеться про сполуку, біологічний вид тощо, – вкажіть їх у назві, якщо про країну чи регіон – теж. У перекладі заголовків статей англійською не повинно бути жодних транслітерацій, окрім неперекладних назв власних імен, приладів та інших об’єктів, що мають власні назви; також не використовується неперекладний сленг. Це стосується також анотацій і ключових слів.

Анотація. Структурована за стандартом IMRAD, відтворює структуру статті, доповнює назву, якомога стисліша, завершена, без абревіатур, літературних посилань та ілюстраційних матеріалів. Обсяг української та англійської анотацій – 1800 знаків кожна.

Ключові слова. Не повторюють слова із назви, доповнюють та деталізують назву роботи; кількість ключових слів або словосполучень – 5-6.

Вступ висвітлює сучасний стан, та актуальність проблеми, визначає місце дослідження в контексті відомого. Доводить важливість проблеми, новизну дослідження, наукову «прогалину», яку закриває пропоноване дослідження. У вступі слід визначити мету або робочі гіпотези (не більше трьох гіпотез). Бажано, щоб не всі гіпотези було підтверджено. Вступ слід розпочати із загальної проблеми та перейти до вузької теми, представленій у роботі. В останньому параграфі коротко описати, що саме представлено в роботі, але не повторювати анотацію.

Матеріали та методи мають забезпечити відтворюваність експерименту та містити методи лабораторного експерименту або польового дослідження; обсяг використаних для аналізу даних (розмір вибірки); опис використаних статистичних процедур обробки даних із зазначенням спеціалізованих програм, у яких виконано аналіз. Рекомендовано використовувати тести ANOVA, ANCOVA, MANOVA, лінійну регресію, метод бутстреп аналізу тощо. Забороняється використовувати критерій Стьюдента для порівняння вибірок. Слід вказати, чи підпорядковується вибірка нормальному розподілу.

Автори зобов'язані дотримуватись етичних норм при роботі з тваринами відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 р. (https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137). Рецензенти звертатимуть увагу на дотримання авторами етичних норм при поводженні з тваринами, недотримання таких норм може бути підставою для відхилення рукопису.

Результати наводять лише опис та аналіз власних матеріалів, не змішаних з дискусією, не містять посилань на літературу. Описуються лише основні результати (а не все що було зроблено), які відповідають меті дослідження або підтверджують/відхиляють робочу гіпотезу(-и). Припускається використання не хронологічного, а логічного опису. Результати слід ілюструвати мінімально необхідними зведеними даними (вихідні дані або проміжні розрахунки можуть бути в додаткових матеріалах). Перед формуванням ілюстраційних матеріалів потрібно точно визначити, на яке з поставлених у роботі питань або гіпотез відповідатимуть та чи інша таблиця або рисунок. Надаються лише ті ілюстрації, що безпосередньо висвітлюють суть роботи. Таблиці не повинні дублювати вже наведені в тексті дані. Таблиці можуть бути також використані для синтезу не тільки числових, але й літературних даних.

Обговорення не повторює результатів, порівнює та обговорює отримані власні дані з літературними. Обговорення має бути стислим, максимально доводити правильність точки зору автора, узагальнюючи результати власних досліджень та дані інших авторів щодо підтвердження тієї чи іншої наукової гіпотези. Порядок викладення обговорення має йти від окремого до загального. Обговорення має відповідати меті або висунутим науковим гіпотезам, які окреслені у Вступі, а також не містити висновків, а лише підводити до них.

Висновки стисло характеризують основні результати описані в рукописі, без нумерації в довільній формі. Не містять текстових повторень, викладених у попередніх розділах роботи. Наприкінці цього розділу слід визначити перспективи подальших досліджень.

<u>Оглядова стаття</u>

Обсяг основного тексту оглядової статті – від 11 до 60 тисяч знаків з пробілами (анотація, список використаних джерел, таблиці та підписи до рисунків не враховуються). Бібліографія не має перевищувати 100 джерел. Рукопис має містити такі структурні елементи: **вступ** з окресленням проблеми та описом останніх подій/досліджень, що визначають актуальність та **мету** наведеного огляду; стислі **інформативні, пов'язані між собою розділи** із заголовками, що мають представляти осмислений автором(ами) синтез літератури та власних ідей; критичний аналіз опублікованих праць за цією тематикою, із визначенням не вирішених проблем та питань; **висновки** з проведеного огляду і **перспективи подальших досліджень.** Оглядова стаття має містити **текстові бокси, рисунки або таблиці** з метою викладення основних концепцій або ідей роботи, огляду тематичних досліджень, деталізації підходів та

методик. Анотації українською та англійською мовами структуровані та відповідають змісту рукопису, обсягом 1800 знаків кожна.

Коротке повідомлення

У вигляді короткого повідомлення можуть опубліковуватися перші географічні знахідки видів; опис оригінальної методики, що не планується до патентування; констатація важливих, виняткових, неочікуваних випадків експериментальних досліджень.

Коротке повідомлення не структуроване на розділи, але має містити основні елементи дослідницької статті (Вступ, Матеріали та методи, Результати, Обговорення, Висновки). Обсяг основного тексту – до 10 тисяч знаків з пробілами (анотація, список використаних джерел, таблиці та підписи до рисунків не враховуються). Методологія має бути короткою, але достатньою для відтворення. Анотація подається лише англійською мовою обсягом 1800 знаків, структурована та відповідає змісту повідомлення. Ключові слова – 5-6 слів або словосполучень англійською мовою. Ілюстраційний матеріал у кількості не більше трьох елементів (таблиць, рисунків, текстових боксів). Бібліографія – не більше 20 літературних джерел. **У одному номері публікується не більше трьох коротких повідомлень**.

Загальні рекомендації до статей

Виклад матеріалу рукопису має бути послідовним, логічно завершеним, із чіткими формулюваннями, що виключають подвійне тлумачення або неправильне розуміння інформації; мова тексту має відповідати літературним нормам, бути професійною і лаконічною. Автор зобов'язаний забезпечити високий науковий рівень викладеного матеріалу, повноту і системність висвітлення питання, достовірність результатів і наведених даних, правильність цитування та посилань на літературні джерела. Бібліографічні посилання наводяться мовою оригіналу.

ОФОРМЛЕННЯ РУКОПИСУ

Для рукопису використовується формат А4 з полями по 2 см з усіх боків. Нумеруються сторінки та рядки (для полегшення процесу рецензування). Використовується шрифт Times New Roman, 14 пт, полуторний інтервал між рядками. Заголовок статті та структурні елементи рукопису розміщуються по центру, напівжирним, усі рядкові.

Перед заголовком у лівому куті розміщується УДК.

Після заголовку в наступник рядках, по центру:

- ПІБ автора(ів)
- ORCID або ResearcherID;
- установа;
- країна;
- електронна адреса автора;
- анотації 1800 знаків;
- ключові слова (*курсивом*).

Після анотацій із ключовими словами з абзацу викладається основний текст статті.

Якщо стаття подається **українською мовою**, першою розміщується україномовна анотація з ключовими словами. Другою анотацією є англомовна, перед якою вказується назва статті, прізвища та ініціали авторів, повна адреса та назва установи. Наприкінці анотації – ключові слова англійською мовою.

Якщо стаття подається **англійською мовою**, першою надається англомовна анотація з ключовими словами. Другою – анотація українською мовою з ключовими словами, перед якою вказується назва статті, прізвища та ініціали авторів, повна адреса та назва установи.

Анотації, ключові слова, основний текст статті, перелік літературних джерел мовою оригіналу вирівнюються по ширині.

При оформленні статті не припускається:

– підкреслювати заголовки, підписи і надписи;
– переносити слова в тексті статті;
– використовувати виноски.

ВИМОГИ ДО ІЛЮСТРАЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ

Рисунки мають бути оригінальними, підписаними та послідовно пронумерованими арабськими цифрами: Рис. 1, Рис. 2. Номер рисунка та підпис розташовуються безпосередньо під рисунком. Ілюстрації мають бути підготовані та масштабовані так, щоб розміри букв тексту на ілюстраціях не перевищували розміру букв основного тексту статті більше ніж на 50%.

Таблиці повинні мати назву та бути послідовно пронумеровані арабськими цифрами: Таблиця 1, Таблиця 2. Номер та назва таблиці розташовуються безпосередньо над таблицями.

Текстові бокси призначені для пояснення основних понять, концепцій або ідей роботи, огляду тематичних досліджень, деталізації підходів та методик. Бокси повинні мати коротку назву (не більше 8 слів) та бути послідовно пронумеровані арабськими цифрами: Бокс 1, Бокс 2. Номер та назва текстового боксу розташовуються безпосередньо над ним. Бокси можуть містити невеликі рисунки та таблиці, що позначаються римськими цифрами (наприклад Рис. I, Рис. II; Таблиця I, Таблиця II). Нумерація літератури – наскрізна з урахуванням тексту та боксів. Обсяг тексту не більше 300 слів на бокс.

Усі ілюстраційні матеріали (рисунки, таблиці, текстові бокси) розміщуються в тексті рукопису після першого згадування.

Літературні джерела послідовно нумеруються арабськими цифрами в порядку появи в тексті статті і зазначаються верхнім регістром, із вказівкою порядкового номера джерела (наприклад «…за загальноприйнятими методиками[3-5]…» або «…за Івановим[6]…»). Перелік літературних джерел мовою оригіналу подається в порядку їх нумерації після основного тексту статті з підзаголовком: «**Література**». Список літератури оформлюється відповідно до міжнародного стилю Американського хімічного товариства (ACS STYLE), рекомендованого Наказом МОН України №40 від 12.01.2017. Опис бібліографічного стилю наведено в методичних рекомендаціях Української бібліотечної асоціації (Боженко, О.; Корян, Ю.; Федорець, М. *Міжнародні правила цитування та посилання в наукових роботах: методичні рекомендації*; Українська бібліотечна асоціація: Київ, 2016). Звертаємо увагу, що відповідно до ACS стилю бібліографічні посилання мають наводитись із зазначенням DOI. При оформленні списку літератури конче рекомендовано використовувати **бібліографічні менеджери**, такі як Mendeley (https://www.mendeley.com), EndNote тощо.

РУКОПИСИ ТА СУПРОВІДНІ ДОКУМЕНТИ приймає редакційна колегія «Вісника ЗНУ» в електронному вигляді (електронна пошта: visnik.znu.bio@gmail.com)

Перелік обов'язкових документів:

1) **Рукопис,** що включає УДК, назву рукопису, ПІБ автора/ів, назву установи, електронну адресу автора, відповідального за кореспонденцію, анотації (українську та англійську), основний текст роботи з ілюстраційними матеріалами, подяки (за необхідності), бібліографію (у форматі doc, docx) – надсилається електронною поштою. Назва файла повинна містити транслітероване прізвище першого автора: (приклад назви файла: Ivanov_stattya. doc, docx);

2) **Допоміжні матеріали** (за бажанням автора) з додатковими таблицями, рисунками, схемами тощо (приклад назви файлу: Ivanov_suppl.pdf) для публікації електронного варіанту разом зі статтею.

3) **Лист** на ім'я головного редактора (приклад назви файла: Ivanov_letter.doc, docx) із такою інформацією:

Відомості про автора, відповідального за кореспонденцію, містять таку інформацію: прізвище, ім'я, по батькові (повністю); місце роботи або навчання; електронна адреса для листування; номер мобільного телефона;

Декларацію автора про таке:

- він є автором (співавтором) рукопису;
- авторські права цього рукопису не передані іншому видавцю;
- цей рукопис не був раніше опублікований і не буде опублікований у будь-якому іншому виданні;
- він не порушив права інтелектуальної власності інших осіб.

Відомості про трьох потенційних рецензентів (прізвище, місце роботи, електронна пошта, контактний номер телефона), які мають бути з іншої установи, а не тієї, де працюють автори, що подали роботу та мають задовольняти вимоги підпункту 6 пункту 6 Порядку формування Переліку наукових фахових видань України, а саме здійснювати дослідження за спеціальністю і мати за останні три роки не менше однієї публікації у виданнях, включених до Переліку, або в закордонних виданнях, включених до Web of Science Core Collection та/або Scopus. Для уникнення конфлікту інтересів автори, за бажанням, можуть надавити **прізвища небажаних рецензентів**, що враховується редколегією при виборі рецензентів. Якщо статтю подає один із членів редколегії, то список потенційних рецензентів повинен включати щонайменше 4-х фахівців.

Відомості про науковий напрям, за яким подається рукопис відповідно до наведеного в переліку**.**

Усі статті, що надійшли до редакції, проходять «сліпе» рецензування, на підставі якого редакційна колегія приймає рішення про рекомендацію статті до друку.

Статті, рекомендовані до друку, проходять редагування, коригування та технічну верстку згідно з видавничим форматом і шаблонами видання.

Нагадуємо:

У статтях і повідомленнях висловлені погляди, які не завжди збігаються з поглядами редакції.

Автор несе відповідальність за достовірність фактичних даних та інформації, що містяться в статтях, чіткість викладення тексту, цитування, а також за мовностилістичний рівень написання матеріалів.

Редакційна колегія здійснює зовнішнє та внутрішнє рецензування статей та залишає за собою право відмовляти в їх опублікуванні, якщо статті не відповідають цим вимогам.

Відповідальні редактори: ***Задорожня Вікторія Юліївна*** *– 097-166-25-85; 098-549-01-09*

Лебедєва Наталія Іванівна *– 050-970-03-01*

Електронна пошта: visnik.znu.bio@gmail.com

Адреса редакційної ради біологічного факультету: *69600, Україна, Запоріжжя, Запорізький національний університет, вул. Гоголя, 62 (ІІІ корпус ЗНУ), к. 308а.*

Збірник наукових праць

Вісник Запорізького національного університету
Біологічні науки

№ 1, 2019

Технічний редактор *О. М. Міхєєва*

Верстка, дизайн, оригінал-макет і друк
виконані у редакційно-видавничому відділі
Запорізького національного університету
тел. (061) 289-12-98

Підписано до друку 11.11.2019. Формат 60 х 90/8.
Папір Data Copy. Гарнітура «Таймс».
Друк ризографічний. Ум. друк. арк. 8.
Замовлення № 224. Наклад 100 прим.

Запорізький національний університет
69600, м. Запоріжжя, МСП-41
вул. Жуковського, 66

Свідоцтво про внесення суб’єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготівників
і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 2952 від 30.08.2007 р.