

ISSN 2410-0943

Міністерство освіти і науки України
Запорізький національний університет

Засновано у 1998 р.
Зареєстровано з новою назвою у 2021 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію
друкованого засобу масової інформації
Серія КВ № 24765-14705Р від 25.03.2021 р.

Acta Biologica Ukrainica

Адреса редакції:

вул. Жуковського 66, корп. 1, ауд. 216,
м. Запоріжжя, Україна, 69060

Телефон

для довідок:
+38 066 53 57 687

№ 1, 2021



Видавничий дім
«Гельветика»
2021

Acta Biologica Ukrainica. Запоріжжя: Видавничий дім «Гельветика», 2021. № 1. 70 с.

На підставі Наказу Міністерства освіти і науки України № 886 від 02.07.2020 р. (додаток 4) журнал включено до Переліку наукових фахових видань України категорії «Б» у галузі біологічних наук (091 – Біологія, 101 – Екологія).

До 25 березня 2021 р. журнал виходив під назвою «Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки».

У зв'язку зі зміною назви журналу було внесено відповідні зміни до Переліку наукових фахових видань України на підставі Наказу Міністерства освіти і науки України № 735 від 29.06.2021 р. (додаток 3).

Журнал індексується в міжнародній наукометричній базі даних Index Copernicus.

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

Головний редактор

Сарабеев В.Л. – кандидат біологічних наук, доцент, доктор габлітований (Франція), Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)

Заступники головного редактора, відповідальні за наукові напрями:

- Амінов Р.Ф. – кандидат біологічних наук, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Бражко О.А. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Дворщенко К.О. – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Київського національного університету ім. Т. Шевченка (Київ, Україна)
Домбровський К.О. – кандидат біологічних наук, доцент, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Кружиліна С.В. – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Інституту рибного господарства НААН України (Київ, Україна)
Лях В.О. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Межжерін С.В. – доктор біологічних наук, професор Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАНУ (Київ, Україна)
Христенко Д.С. – кандидат біологічних наук, доцент Національного університету біоресурсів та природо-користування України (Київ, Україна)
Фролов О.К. – доктор медичних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)

Члени редакційної колегії журналу:

- Корнет М.М. – кандидат біологічних наук, доцент, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Швец В.М. – доктор біологічних наук, доцент, Запорізький державний медичний університет (Запоріжжя, Україна)
Омельянчик Л.О. – доктор фармацевтичних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Попеску К.Г. – доктор філософських наук, доцент, Університет Питешті (Питешті, Румунія)
Бальбуена Х. А. – доктор філософії Інституту біорізноманіття та еволюційної біології ім. Каванійес Університету Валенсії (Валенсія, Іспанія)
Рубцова Н.Ю. – кандидат біологічних наук, доцент, Інститут паразитарних захворювань, Центр паразитології, Інс (PCI) (Скоттсдейл, США)

Відповідальний

редактор:

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

ЗМІСТ

РОЗДІЛ I. ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

ГІРУДОТЕРАПІЯ ЯК МОЖЛИВИЙ ПОТЕНЦІЙНИЙ МЕТОД ПРОФІЛАКТИКИ, ДОПОМІЖНОГО ЛІКУВАННЯ ТА ШВИДКОГО РЕАБІЛІТАЦІЙНОГО ВІДНОВЛЕННЯ В РАЗІ COVID-19: ОГЛЯД.....	5
Амінов Р. Ф.	
ОРГАН НЮХУ: ОСНОВНІ ПІДХОДИ ДО ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ПРОБЛЕМИ ПОРІВНЯННЯ В КОСТИСТИХ РИБ.....	18
Титюк О. В., Ульянов В. О., Степанюк Я. В.	

РОЗДІЛ II. ДОСЛІДНИЦЬКІ СТАТТІ

QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF MAST CELLS IN THE COURSE OF WOUND HEALING IN RATS WITH CHRONIC SOCIAL STRESS.....	34
Макуєєва Л. В., Алієва О. Г., Фролов О. К.	
ОЦІНКА СТАНУ МІСЬКОГО СЕРЕДОВИЩА ЗА ПОКАЗНИКАМИ ФЛУКТУЮЧОЇ АСИМЕТРІЇ ЛИСТКІВ <i>BETULA PENDULA</i> ROTH. (НА ПРИКЛАДІ М. МОГИЛІВ-ПОДІЛЬСЬКИЙ).....	41
Машталер О. В., Милка А. В., Мікуліч Л. О.	
МОЖЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНОЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОХІМІЧНОГО МЕТОДУ ВИЯВЛЕННЯ ГРИБІВ У ПРАКТИЦІ ГІСТОЛОГА.....	48
Мельник О. О., Ліскіна І. В., Мельник О. Л.	
ВПЛИВ ЕКСТРАКТІВ ЧОРНОМОРСЬКИХ ВОДОРОСТЕЙ-МАКРОФІТІВ НА ПОКАЗНИКИ ПРОРОСТКІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ.....	57
Собітняк М. Т., Ткаченко Ф. П.	

РОЗДІЛ III. КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

МОРФОЛОГІЧНА БУДОВА КВІТКИ <i>NONEA PULLA</i>	63
Бойка О. А.	

CONTENTS

SECTION I. REVIEW ARTICLES

- HIRUDOTHERAPY AS A POSSIBLE POTENTIAL METHOD OF PREVENTION,
ADJUVANT TREATMENT AND RAPID REHABILITATION RECOVERY
IN COVID-19: A REVIEW.....5
Aminov R. F.
- OLFACTORY ORGAN: MAIN APPROACHES TO THE INVESTIGATION
AND DIFFICULTIES WHILE COMPARING IN TELEOSTEI.....18
Tytiuk O. V., Ulyanov V. O., Stepanyuk Ya. V.

SECTION II. RESEARCH ARTICLES

- QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF MAST CELLS IN THE COURSE
OF WOUND HEALING IN RATS WITH CHRONIC SOCIAL STRESS.....34
Makyeyeva L. V., Aliyeva O. G., Frolov O. K.
- EVALUATING THE URBAN ENVIRONMENT BY FLUCTUATING ASYMMETRY
OF LEAVES *BETULA PENDULA* ROTH. IN MOHYLIV-PODILSKYI CITY.....41
Mashtaler O. V., Mylka A. V., Mikulich L. O.
- POSSIBILITIES OF MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION
AND TECHNOLOGICAL FEATURES OF HISTOCHEMICAL METHOD
OF FUNGI DETECTION IN HISTOLOGIST'S PRACTICE.....48
Melnik O. A., Liskina I. V., Melnik A. L.
- INFLUENCE OF BLACK SEA ALGAE-MACROPHYTE EXTRACTS
ON SOFT WHEAT SEEDLING PARAMETERS.....57
Sobitnyak M. T., Tkachenko F. P.

SECTION III. SHORT MESSAGES

- MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE FLOWER *NONEA PULLA*.....63
Boika O. A.

РОЗДІЛ I. ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

УДК 595.143.6: 578.834.1

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2021-1-01>

Гірудотерапія як можливий потенційний метод профілактики, допоміжного лікування та швидкого реабілітаційного відновлення в разі COVID-19: огляд

Амінів Р. Ф.

ORCID: 0000-0002-8471-1525

Запорізький національний університет

91_amin_91@ukr.net

Ключові слова: COVID-19, SARS-CoV-2, коронавіруси, гірудотерапія, біологічно активні речовини, медичні п'явки.

Інфекційне захворювання COVID-19, спричинене коронавірусом SARS-CoV-2, – найнебезпечніше інфекційне захворювання зі швидким поширенням. Наразі встановлено етіологію, епідеміологію та патогенез цього захворювання. Проявляється в легкій і тяжкій формах. У легкій формі здебільшого відбувається інфекція дихальних шляхів, у тяжких випадках виникає прогресуюча пневмонія та тромбози через порушення коагуляції, гомеостатичної регуляції імунної системи. Надалі уражається ендотелій легень, виникає мікросудинний тромбоз та відбувається альвеолярне пошкодження. У більш тяжкій формі виникає септичний шок, який проявляється пошкодженням усіх важливих органів та може призвести до смерті. Найбільш чутливі органи до цього захворювання – легені, серце, стравохід, нирки, сечовий міхур, клубова кишка. У роботі подано короткий огляд гірудотерапії як можливого потенційного методу, який здатний відновити серцево-судинну, дихальну та імунну системи після COVID-19, зменшити ускладнення й тяжкість перебігу захворювання. Також розглядаються інші ефекти: антитромботичний, тромболітичний, антигіпертензивний, антиатерогенний, антигіпоксичний, регенераційний, антимікробний, антивірусний, імуномодулюючий та анальгезуючий, які здатні зменшити ускладнення та фактори ризику цього захворювання. Розглянуто основні біологічно активні речовини медичних п'явок, які беруть участь у тих чи інших біологічних ефектах. Розглядається вирішення патологічних станів, які можуть виникати під час захворювання на COVID-19. У статті проводиться опис механізмів розвитку та поширення COVID-19 в організмі, відновлення його за допомогою гірудотерапії з посиленням на наукові роботи вчених. Комплекс біологічно активних речовин медичної п'явки має потенціал перевершити за ефективністю відомі препарати світового рівня. Попередні отримані експериментальні результати в медицині та ветеринарії переконливо це доводять.

Hirudotherapy as a possible potential method of prevention, adjuvant treatment and rapid rehabilitation recovery in COVID-19: a review

Aminov R. F.

ORCID: 0000-0002-8471-1525

Zaporizhia National University

91_amin_91@ukr.net

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, coronaviruses, hirudotherapy, biologically active substances, medical leeches.

Infectious disease COVID-19 is caused by the coronavirus SARS-CoV-2 and is the most dangerous infectious disease with rapid spread. Nowadays the etiology, epidemiology and pathogenesis of the disease have been established. This disease can be divided into mild and severe forms. In the mild form there is mainly a respiratory tract infection, in severe cases there is progressive pneumonia and thrombosis due to coagulation disorders, disorders of homeostatic regulation of the immune system. Later, the pulmonary endothelium is affected due to microvascular thrombosis and alveolar damage. In a more severe form, septic shock occurs, which manifests itself in damage to all important organs and can lead to death. The most sensitive organs to this disease: lungs, heart, esophagus, kidneys, bladder, ileum. The paper considers hirudotherapy as a possible potential method that can restore the cardiovascular, respiratory and immune systems after COVID-19, reduce complications and severity of the disease. Also, other effects are considered: antithrombotic, thrombolytic, antihypertensive, antiatherogenic, antihypoxic, regenerative, antimicrobial, antiviral, immunomodulatory and analgesic, which can reduce complications and risk factors for this disease. The main biologically active substances of medical leeches, which are involved in certain biological effects, are considered. The solution of pathological conditions that may occur during COVID-19 disease is considered. The sections describe the mechanisms of development and spread of COVID-19 in the body, its restoration with hirudotherapy. The complex of biologically active substances of medical leeches has the potential to surpass the world-famous drugs in effectiveness. Previous experimental results in medicine and veterinary medicine convincingly prove this.

Вступ

За останні два роки зросла кількість хворих на небезпечне інфекційне захворювання COVID-19, спричинене коронавірусом SARS-CoV-2. Під час проведення доклінічних і клінічних експериментальних досліджень учені виявили етіологію, епідеміологію та патогенез цього захворювання^{1, 2}. У легкій формі здебільшого відбувається інфекція дихальних шляхів, яка проявляється лихоманкою, кашлем, задишкою, втомою, болем у горлі, нежиттю, нудотою та блюванням, втратою нюху і смаку³⁻⁷. У тяжких випадках виникає прогресуюча пневмонія та тромбози через порушення коагуляції, порушення гомеостатичної регуляції імунної системи. Надалі уражається ендотелій легень, виникає мікросудинний тромбоз та відбувається альвеолярне пошкодження. Після чого в більш тяжкій формі виникає септичний стан, який проявляється пошкодженням усіх важливих органів^{4, 8}: легенів, серця, стравоходу, нирків, сечового міхура,

клубової кишки тощо. Інфекційне захворювання COVID-19 визнане Всесвітньою організацією охорони здоров'я як найнебезпечніше інфекційне захворювання зі швидким механізмом поширення⁹. Тому вчені з різних країн світу шукають методи та ліки, які сприятимуть полегшенню стану хворого під час захворювання та у процесі реабілітації.

Створено різні вакцини (BioNTech, Pfizer; CoronaVac; Johnson & Johnson; Moderna; AstraZeneca тощо), які зменшують відсоток зараження та ускладнення після COVID-19. Проводяться дослідження з пошуку синтетичних і природних речовин, які можуть впливати на коронавірус SARS-CoV-2^{1, 4}.

Запроваджене використання лікарських рослин (*Curcuma angustifolia*, *Cuminum cyminum*, *Allium sativum*, *Terminalia bellirica*, *Cinnamomum species*, *Piper nigrum*, *Vitis vinifera*), які мають властивості підвищувати імунітет і противірусну дію та можуть бути використані як допоміжне лікування COVID-19¹⁰. Наукова спільнота широко досліджує

терапевтичні ефекти біологічно активних речовин (далі – БАР) з тваринного організму як можливих потенційних засобів протидії ускладненням через COVID-19, серед яких актуальні на цей час БАР медичної п'явки (далі – МП), що забезпечують антитромботичну, тромболітичну, антигіпертензивну, антиатерогенну, антигіпоксичну, регенераційну, антимікробну, антивірусну, імуномодулюючу та анальгезуючу дію¹¹⁻¹⁷.

Метою статті є оцінка ефективності гірудотерапії (далі – ГТ) як можливого засобу для профілактики, допоміжного лікування та швидкого реабілітаційного відновлення після перенесеного COVID-19 на підставі аналізу публікацій, що відображають результати доклінічних і клінічних досліджень.

Можливість відновлення серцево-судинної системи в разі захворювання на COVID-19

COVID-19 насамперед вражає органи дихання (див. рис. 1). Потім вірус розходить по всьому організму та вражає інші системи організму (див. рис. 1), але найчастіше викликає ускладнення з боку серцево-судинної системи (див. рис. 2):

міокардити, гостру серцеву недостатність, аритмії, артеріальні гіпертензії, тромбози тощо^{1, 2, 9}. Унаслідок цього людина може навіть загинути від смертельних ускладнень.

Згідно з результатами вчених, серед БАР МП є речовини, які здатні відновлювати серцево-судинну систему. До них належить і гірудин – високоспецифічний інгібітор ферменту тромбіну, який блокує всі відомі реакції, активатором яких є тромбін (див. рис. 1). За деякими аспектами гірудин має перевагу перед найчастіше використовуваними у клінічній практиці фібринолітиками та антикоагулянтами, оскільки не впливає на активність інших білків плазми¹⁹. За результатами дослідників, гірудин, гірудиноподібні фактори та подібні до нього препарати є одними з найперспективніших антикоагулянтів і розглядаються як альтернатива гепарину¹⁷. Інтерес до унікальних властивостей ферменту підтверджується ефективним його використанням у разі тромботичних станів, зокрема тромбозів коронарних, мозкових та інших артерій¹¹⁻¹⁹. Іншою речовиною є калін, який також пригнічує згортання крові¹⁹. Ще іншою БАР

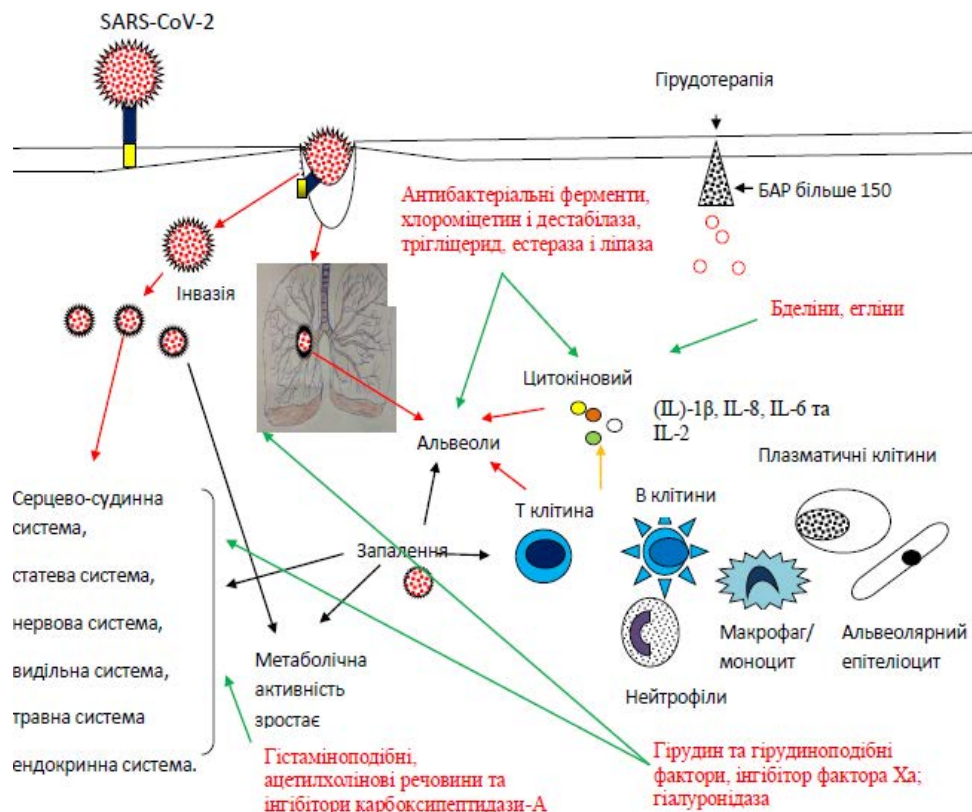


Рис. 1. Схема загального патогенезу COVID-19 та можливості використання гірудотерапії (біологічно активних речовин)

Примітки: червоні стрілки – потрапляння вірусу та його поширення; чорні стрілки – пошкодження, які викликає вірус; зелені стрілки – направлення на відновлювальні ефекти від біологічно активних речовин медичної п'явки

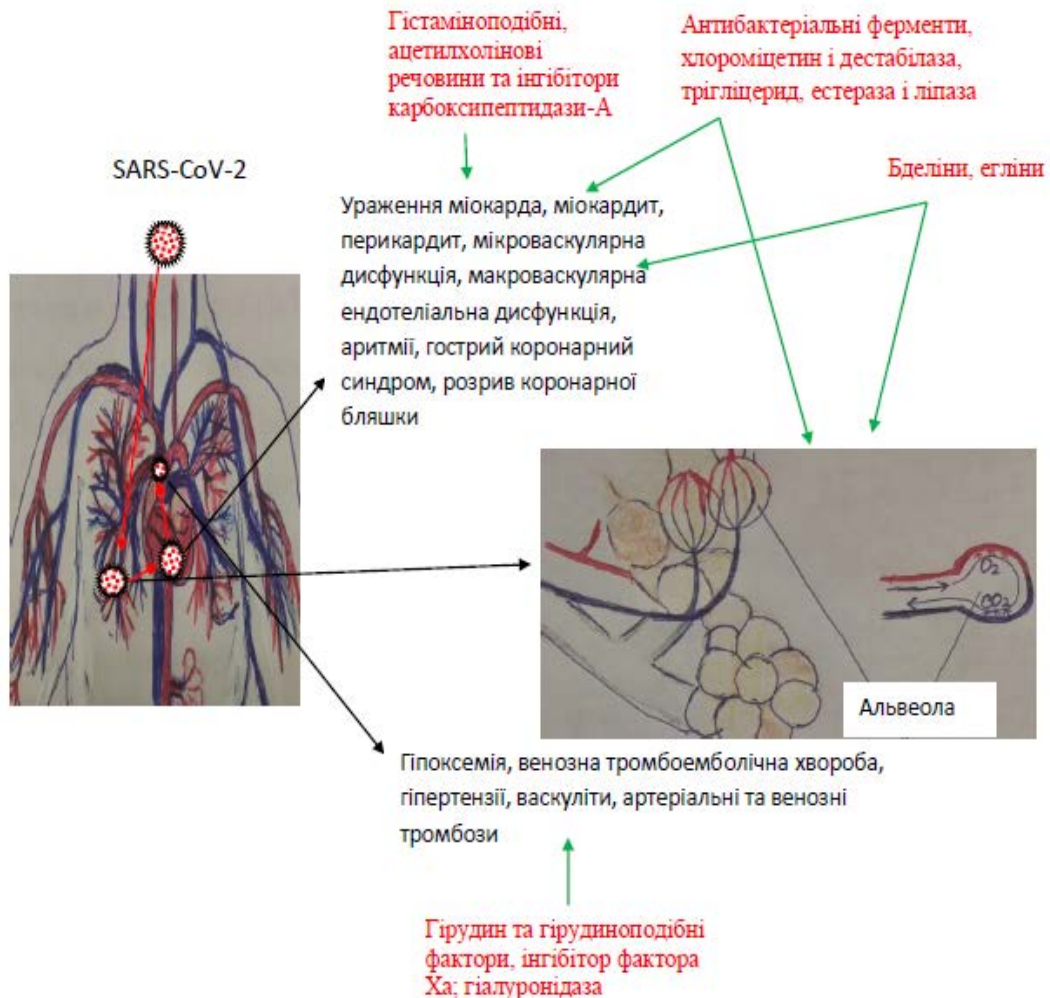


Рис. 2. Патогенез ураження серцево-судинної системи та можливість лікування за допомогою гірудотерапії (біологічно активні речовини)

Примітки: червоні стрілки – потрапляння вірусу та його поширення; чорні стрілки – пошкодження, які викликає вірус; зелені стрілки – направлення на відновлювальні ефекти від біологічно активних речовин медичної п'явки

є дестабілаза, яка розчиняє фібринові згустки та пригнічує утворення тромбу (див. рис. 1). Слина МП також містить БАР – інгібітор фактора Ха, який стримує коагулюючу дію фактора згортання, а також містить гіалуронідазу, яка покращує в'язкість інтерстиціальної рідини²⁰, містить гістаміноподібні, ацетилхолінові речовини та інгібітори карбоксипептидази-А²⁰ (див. рис. 1), які володіють судинорозширювальними ефектами²¹.

Згідно з проведеними експериментальними дослідженнями було доведено, що МП сприяє зменшенню набряку й болю, розчиненню тромбів у разі варикозного розширення вен^{22, 22} та гемоною²⁴, облітеруючого ендартеріїту кінцівок¹⁷. ГТ ефективно показала себе в лікуванні різних форм гіпертонії, особливо в разі її сполучення з проявами церебрального атеросклерозу, у лікуванні кардіалгій, стенокардії²⁵, у комплексному ліку-

ванні серцевої недостатності^{26,27}, у разі гіпертонічної хвороби, інфекційного міокардиту, ішемічної хвороби серця, постінфарктного кардіосклерозу під час лікування тромбофлебітів²⁸⁻³⁵.

Доведена ефективність ГТ в разі лікування серцево-судинних захворювань: пограничної артеріальної гіпертензії, гіпертонії, ішемічної хвороби серця, вегето-судинної дистонії. Лікувальний ефект, згідно з отриманими даними, наступав із 3–5-го сеансу та тривав від 3 до 8 місяців. Відбувається зниження протромбінового індексу, збільшується час згортання крові, зменшується в'язкість крові за рахунок зміни реологічних властивостей³⁶. Достовірно знижується гемоглобін та кількість еритроцитів. Причому ці дані простежуються у хворих із гіпертонією та ішемічною хворобою серця з показниками, що значно перевищують норму (150–180 г/л). Ці

зміни можуть свідчити про гомеостатичну дію БАР МП³⁶. У середньому знижується протромбінний індекс на 12,3% ($p < 0,05$), при цьому час згортання крові збільшується на 41,4% ($p < 0,05$).

Таким чином, згідно з даними ГТ призводить до гальмування активації ключових факторів внутрішнього механізму згортання крові (задіяні калікреїн, Ха, тромбін) та забезпечення гіпокоагуляції. МП виділяють бделіни (інгібують плазмін) та егліни, що гальмують активацію альфа-антитрипсину, тобто ці речовини гальмують та активують фібриноліз³⁶. Також було доведено, що ГТ знижує вміст глюкози у крові, що свідчить про нормалізацію функції ендокринних залоз. Зареєстроване зниження середньодобового систолічного артеріального тиску та тенденція до зменшення величини діастолічного артеріального тиску³⁶.

У ветеринарії гірудологічний вплив широко використовують у лікуванні судинних захворювань у коней та інших сільськогосподарських і домашніх тварин³⁶⁻⁴¹. Згідно з аналізом вище-

згаданих експериментальних доклінічних та клінічних даних учених, гірудотерапія ефективно зарекомендувала себе в медицині та ветеринарії в лікуванні серцево-судинних захворювань, які можуть виникнути як ускладнення після перенесеного COVID-19.

Здатність БАР медичної п'явки відновлювати органи дихання після COVID-19

Один із несприятливих сценаріїв хвороби, викликаній вірусом SARS-CoV-2, – пневмонія⁴². Вірус SARS-CoV-2, інфікуючи пневмоцити, спричиняє їх десквамацію в альвеолах (див. рис. 3), унаслідок чого в них відбувається набряк і кровотеча, порушується газообмін, що призводить до дихальної недостатності.

Водночас зменшується кількість сурфактанту, а отже, знижується здатність легень розширюватися та стискатися під час акту дихання, що може призвести до колапсу легень під час видиху. У міру заповнення альвеол рідиною наростає дихальна недостатність, а в більш тяжкому

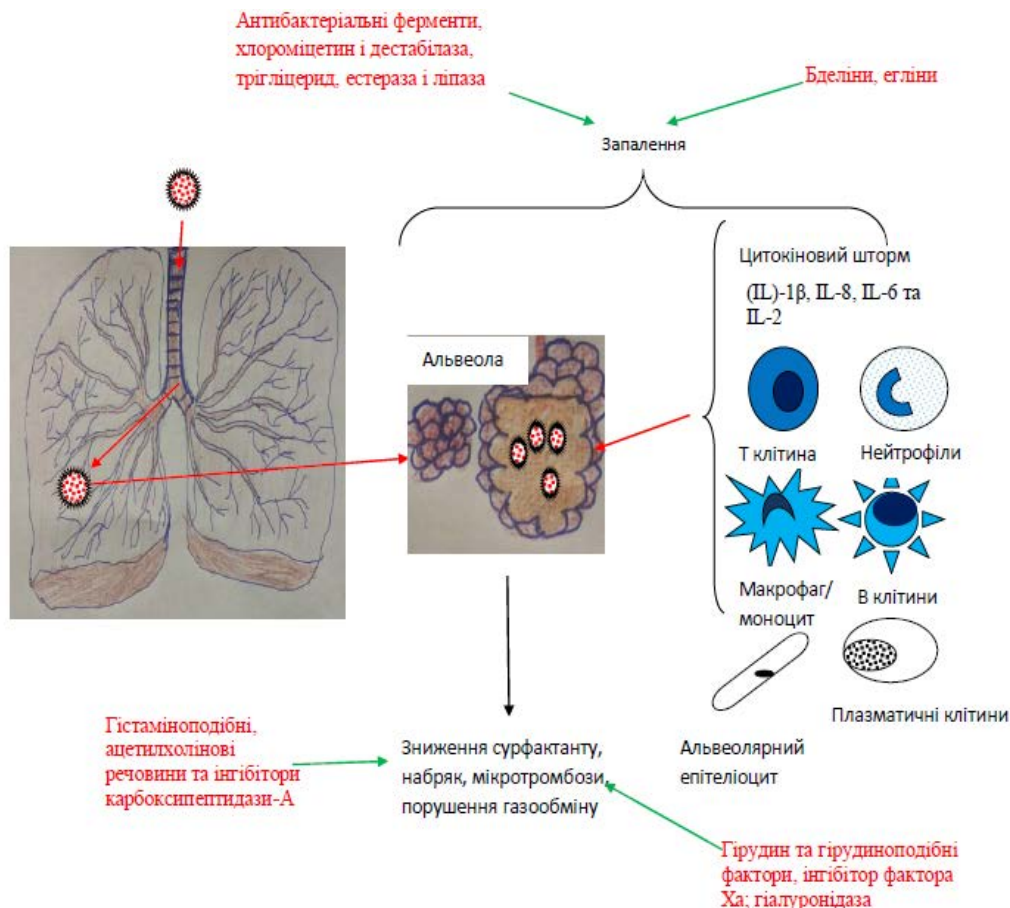


Рис. 3. Схема ураження легень COVID-19 та можливість їх функціонального відновлення після гірудотерапії

Примітки: червоні стрілки – потрапляння вірусу та його поширення; чорні стрілки – пошкодження, які викликає вірус; зелені стрілки – направлення на відновлювальні ефекти від біологічно активних речовин медичної п'явки

випадку виникає інтоксикація, яка призводить до септичного шоку. Дуже тяжке запалення легень розвивається через інтенсивну цитокинову відповідь на SARS-CoV-2. Прозапальні цитокіни й хемокіни, зокрема IL-6, TNF α , IL-1 β (див. рис. 2), притягують запальні клітини до місця інфекції. Нейтрофіли та цитотоксичні Т-клітини поряд із цитокінами спричинюють пошкодження тканин легень, зокрема підвищення проникності судин і стимуляцію легеневого фіброзу⁴³.

Згідно з результатами вчених МП широко використовується під час лікування запальних процесів органів дихання (хронічного бронхіту, ларингіту, бронхіальної астми, хронічної пневмонії, хронічних синуситів^{44, 45}), оскільки в їх організмі є речовини, які здатні боротися із запаленням та інтоксикацією. Серед таких речовин – бделіни, які володіють протизапальною дією і пригнічують трипсин, плазмін та акроцин (див. рис. 1); антибактеріальні ферменти – БАР, які зміцнюють імунну систему для боротьби з подальшою інфекцією; інші протизапальні засоби, які допомагають зменшити запалення, завдяки чому кров може вільно проходити в судини та постачати кисень по всьому організму⁴⁶. Детоксикація організму може здійснюватися за допомогою інших БАР, наприклад: тригліцерид БАР, яка володіє детоксикаційною дією; естераза й ліпаза беруть участь у розщепленні жирів і знижують рівень холестерину, а також мають детоксикаційну дію⁴⁷ (див. рис. 1); інші дві важливі БАР – хлороміцетин і дестабілаза, які мають антимікробну активність. Дестабілаза володіє β -глікозидазною активністю, яка безпосередньо порушує β 1–4 зв'язки, необхідні в пептидоглікановому шарі стінок бактеріальних клітин. Навіть дозозалежний бактеріостатичний ефект демонструє ненасичена форма дестабілази на *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*. Хлороміцетин – потужний антибіотик, що міститься у слині п'явок. Крім того, теромізін, пептид В і теромацин також проявляють антибактеріальний ефект^{48–50}. Дослідження вчених доводять, що курси ГТ сприяють відновленню легень і частоти дихання в пацієнтів зрілого та старечого віку після перенесеної коронавірусної хвороби, ускладненої хронічним бронхітом і бронхіальною астмою⁵¹.

Згідно з аналізом наведених даних та відомостями про потужний комплекс БАР гірудотерапія може ефективно застосовуватися як допоміжний засіб для відновлення органів дихання в разі запалення під час COVID-19.

Відновлення імунної системи гірудотерапією в разі захворювання на COVID-19

Для боротьби з COVID-19 важливі як вроджена, так і адаптивна імунні ланки (див. рис. 1). Знижений імунітет призводить до тяжкої і множин-

ної патології легень (що описана нами більш детально в інших роботах), порушення згортання крові, тромбоемболічних явищ, серцево-судинних ускладнень⁵². Нормальні альвеолярні проміжки заповнені альвеолярними макрофагами, гранулоцитами, базофілами та еозинофілами⁵³ (див. рис. 1 та 2). Альвеолярні макрофаги та дендритні клітини – ключові антигенпрезентуючі клітини в легенях, де разом зі слизовою оболонкою та комплементом створюють бар'єр для вірусних інфекцій⁴⁷.

SARS-CoV-2 проникає у клітини та викликає їх смерть. Апоптотичні клітини поглинаються легневими макрофагами та лейкоцитами⁵⁴, запускаючи прозапальну передачу сигналів, збільшується секреція цитокинів, підвищуються прозапальні фактори – фактор некрозу пухлин (ФНП)- α , інтерлейкін (IL)-1 β , IL-8 та IL-6⁵⁵ (див. рис. 1 та 2). Підвищена концентрація цитокинів у мікросередовищі легень може призвести до ураження легень. Зростає виробництво противірусних інтерферонів I типу (ІФН)⁵⁶. ІФН типу I продукуються дендритними клітинами. Вони стимулюють фагоцитоз у макрофагах, активують Т-хелперні клітини⁵⁷. Після зараження легеневої дендритні клітини мігрують до лімфатичних вузлів для представлення оброблених антигенів SARS-CoV-2. Індукується утворення вірусспецифічних антитіл В-клітинами та CD8+ (цитотоксичними) Т-лімфоцитами. Як CD4+, так і CD8+ Т-клітини відіграють важливу роль. CD4+ Т-клітини сприяють активації В-клітин і є необхідними для вироблення нейтралізуючих антитіл. CD8+ Т-клітини запускають апоптоз інфікованих клітин. Ці різноманітні Т-клітинні відповіді здатні знищити інфекцію SARS-CoV-2. Формування пам'яті В- й Т-клітини після інфікування SARS-CoV-2 довгострокове⁵⁸.

За більш тяжкого стану відбувається імунodefіцитний стан та підвищення запального процесу. Він характеризується посиленням залученням запальних клітин, що викликає цитокиновий шторм, який характеризується підвищенням IL-6 та TNF- α ⁵⁹. IL-8 залучає нейтрофіли, уражаються легені⁶⁰ (див. рис. 1). Активовані нейтрофіли сприяють згортанню крові. Цитокіни також викликають зменшення проникності судин і набряк. Збільшується кількість С-реактивного білка та інших факторів запалення, а також відбувається лімфопенія, пов'язана або з апоптозом цитокінами, або із зараженням Т-клітин вірусом SARS-CoV-2⁶¹. Знижується кількість натуральних кілерів⁶². Підвищується кількість моноцитів CD14+ / CD16+, популяція макрофагів FCN1+⁶³. І тут знову на допомогу для відновлення гомеостатичного стану імунної системи в разі інфікування COVID-19 у пригоді стає ГТ, яка має загальний імунотуляторний ефект. Основну роль

у відновленні імунної системи відіграє БАР апіраза, яка володіє імуномодельюючою дією, а також бделіни та егліни, які мають протизапальну дію.

Оригінальні дослідження вчених показали, що ГТ може забезпечувати активацію попередньо знижених фагоцитарних показників моноцитів / макрофагів до нижньої межі норми та підвищувати функціональну активність системи фагоцитуючих макрофагів, що може бути пов'язано з БАР дестабілазою, яка здатна впливати на функціональну активність різних клітин: ендотеліоцитів, лімфоцитів, тромбоцитів, макрофагів тощо⁶⁴. Відновлюватися вміст цитокінів у крові має зі зниженням попередньо підвищених рівнів прозапальних ІЛ-1 β , ІЛ-2, ФНП- α , нормалізувати рівень протизапального ІЛ-4, відповідно до цього нормалізується також співвідношення прозапальних і протизапальних цитокінів, що може бути пов'язано з активацією БАР бделінів та еглінів⁶⁵.

Під час лікування перитоніту ГТ знижується рівень ФНП- α ⁶⁶. Комплексне використання ГТ та імуномодулюючих препаратів показує позитивний ефект у лікуванні хронічного тонзиліту, асоційованого із синдромом вторинного імунодефіциту, де спостерігається відновлення фагоцитарної та секреторної функцій поліморфноядерних лейкоцитів, а також деяке зниження кількості зрілих імунних клітин (CD3+, CD4+, CD8+) і підвищення CD20+ лімфоцитів. Спостерігається підвищення спонтанної проліферації мононуклеарних клітин периферичної крові та зростання стимульованої, що веде до деякого збільшення коефіцієнту стимуляції. Знижується концентрація ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-4 у сироватці крові, спонтанна продукція ІЛ-1 та ФНП- α в культурі мононуклеарних клітин, а стимульована, навпаки, зростає⁶⁷.

Дослідження впливу ГТ на системний і місцевий імунітет, продукцію ІЛ у хворих із хронічними захворюваннями слизової оболонки рота показують, що ГТ здійснює стимулюючий вплив насамперед на клітинні та секреторні механізми місцевого захисту, а потім і на системний імунітет⁶⁸. ГТ у хворих із верхівковим періодонтитом здійснює виражений дезінтоксикаційний, протизапальний, протибольовий і деконгестивний вплив. Протизапальна дія ГТ при цьому підтверджувалася зниженням показників цитозу та абсолютного вмісту нейтрофілів, підвищенням вмісту лізосомально-катіонних білків у нейтрофілах, що свідчить про нормалізацію стану їх кисневонезалежної системи та активацію механізмів місцевого неспецифічного імунного захисту⁶⁹. Експериментально доведено лімфостимулюючий вплив живої МП та настою листя брусниці звичайної на інтерстиціальний гуморальний транспорт і лімфатичний дренаж тканин⁷⁰. Дослідження ГТ в лікуванні суглобової форми ревматоїдного артриту

показало позитивний її вплив на стан ендотеліальної функції, антиоксидантного захисту, процесів ліпопероксидації та деяких цитокінів⁷¹.

Використання ГТ у ветеринарії у процесі аналізу крові кіз зареєструвало міграційний перерозподіл лімфоцитів крові з тимчасовим їх депонуванням у місцях приставки МП, підвищенням ФАН⁷². Дослідження І.С. Попової (2003 р.) вказує на ефективність застосування гірудопунктури в корів: під час аналізу їхньої крові спостерігається статистично значиме збільшення кількості еритроцитів і гемоглобіну, базофілів, еозинофілів, альбумінів, підвищується фагоцитарна активність лейкоцитів, бактерицидна та лізоцимна активність; дещо зменшується фагоцитарний індекс, вміст лейкоцитів, сегментоядерних ейтрофілів, тромбоцитів; уповільнюється швидкість згортання крові⁷³.

Згідно з нашими попередніми експериментальними дослідженнями, проведених на лабораторних щурах, гірудотерапія сприяє збільшенню проліферативної активності лімфоцитів та кісткового мозку, поглинаючої і метаболічної активності, загальної кількості лейкоцитів та еритроцитів, підвищенню рівня гемоглобіну, відновленню морфологічної будови селезінки та тимусу, стимуляції репродуктивної системи самців і самок⁷⁴⁻⁸⁵.

Тому, відповідно до прояву вищезгаданих ефектів, виокремлених ученими, та наших експериментальних результатів, ГТ можна ефективно використовувати для відновлення й підтримки імунної системи щодо COVID-19.

Застосування гірудотерапії за інших патологій та захворювань COVID-19 може викликати порушення функцій усіх важливих органів і систем^{1, 2, 86}. Тому пошук інших терапевтичних ефектів БАР має також вагомий значення для зменшення ризиків ускладнення від цього захворювання, а ГТ має багато біологічних і терапевтичних ефектів, які можуть сприяти їх уникненню. Ефективне використання ГТ доведено у процесі лікування низки захворювань у всіх галузях медицини, серед яких – цереброваскулярні захворювання⁸⁷⁻⁸⁹, хронічні дерматози⁹⁰, псоріаз⁹¹, хронічні та дистрофічні захворювання слинних залоз, стоматити, альвеоліти, пульпіти^{92, 93}, ендометріоз, нефрити, міома матки, хронічні запалення придатків⁹⁴, загоєння ран⁹⁵, діабет і діабетичні виразки стопи^{96, 97}, туберкульоз⁹⁸, а також у лікуванні інфекційних захворювань (бактеріальних, грибових і вірусних⁹⁹⁻¹⁰⁴), ефективному знешкодженні ракових клітин¹⁰⁵ тощо^{17, 106, 107}.

Протипоказання та побічні ефекти гірудотерапії

Перед призначенням сеансу ГТ пацієнту показана консультація лікаря-фізіотерапевта, який має спеціальну підготовку з лікування МП, оскільки важливо не тільки оцінити показання до цього

виду немедикаментозної терапії, а й виключити протипоказання, оцінити можливі ризики та індивідуальну непереносимість.

До основних протипоказань до гірудотерапії належать:

захворювання, що супроводжуються порушеннями згортання крові (гемофілія та геморагічні діатези);

анемії (коли рівень гемоглобіну нижчий за 100 г/л); лейкози;

кахексія (виражене виснаження);

ерозивно-виразкові ураження та пухлини шлунково-кишкового тракту;

гострі лихоманкові захворювання з невідомою етіологією;

підгострий бактеріальний ендокардит;

активні форми туберкульозу;

стан гострого психічного збудження;

стан алкогольного сп'яніння;

різке виснаження;

артеріальна гіпотонія;

вагітність;

стан після операцій на мозку та хребті;

індивідуальна непереносимість медичних п'явок (спостерігається дуже рідко)⁴⁴.

ГТ практично не має побічних ефектів за правильного її використання з дотриманням усіх санітарних норм. Однак ученими було виявлено деякі негативні побічні ефекти після ГТ, а саме: описаний випадок бешихового запалення¹⁰⁸, випадок розвитку червоного плоского лишая¹⁰⁹, серія випадків виникнення шкірної псевдолімфоми¹¹⁰, випадок гемартрозу¹¹¹, описано розвиток неоклюзійної мезентеріальної ішемії¹¹²,

орбітального целюліту¹¹³, синдрому Коуніса¹¹⁴, тривалі кровотечі¹¹⁵⁻¹¹⁷ та формування шрамів на місці укусу, а також різні алергічні реакції, зокрема анафілактичний шок¹¹⁸. У шлунково-кишковому тракті МП мешкають декілька видів бактерій, переважно *Aeromonas hydrophila* та *Aeromonas veronii biovar sobria*, які допомагають їм перетравлювати кров та здатні інфікувати людей¹¹⁹. Для профілактики розвитку інфекції після пластичних операцій у США, де використовують МП, рекомендують проводити курси антибіотикотерапії препаратами фторхінолонового ряду (наприклад, ципрофлоксацин), проте до деяких антибіотиків є резистентними штами бактерій¹²⁰.

Висновки

Узагальнюючи проведений огляд наукової літератури, можемо зазначити, що ГТ під час захворювання чинить гомеостатичну модуляторну дію на клітини вродженого й адаптивного імунітету, що сприяє посиленню антиінфекційного імунного захисту організму та інтенсифікує регенераційні процеси. Також БАР МП володіють широким спектром терапевтичних ефектів, практично без побічних ефектів, які можуть зменшити ускладнення та ризики від коронавірусу SARS-CoV-2. Комплекс БАР МП має потенціал перевершити за ефективністю відомі препарати світового рівня. Попередні результати переконливо це доводять, тому зазначені БАР варті більш детального подальшого доклінічного експериментального аналізу їхніх біологічних і терапевтичних ефектів із наступним клінічним упровадженням.

Література

- (1) World Health Organization. Clinical Management of Severe Acute Respiratory Infection When Novel Coronavirus (nCoV) Infection is Suspected: Interim Guidance. Geneva. **2020**. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331446>.
- (2) Huang, C.; Wang, Y.; Li, X.; Ren, L.; Zhao, J.; Hu, Y. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, **2020**, *395*, pp. 497–506.
- (3) Calvi, E.; Bernardi, N.; Cimino, G.; Pascariello, G.; Faggiano, P.; Gavazzi E.; Vizzardardi, E.; Metra, M. Unusual intracardiac thrombosis in two patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): case series. *European Heart Journal – Case Reports*, **2020**, pp. 1–7. URL: <https://academic.oup.com/ehjcr/advance-article/doi/10.1093/ehjcr/ytaa518/6054745>.
- (4) Clinical management protocol for COVID-19. Government of India Ministry of Health and Family Welfare. Version 6. URL: <https://www.mohfw.gov.in/pdf/PostCOVID13092020.pdf>.
- (5) Carfi, A.; Bernabei, R.; Landi, F. Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. *J. Am. Med. Assoc.*, **2020**, *324*, pp. 603–605.
- (6) Tenforde, M.W. Symptom duration and risk factors for delayed return to usual health among outpatients with COVID-19 in a multistate health care systems network – United States, March – June 2020. *Morb. Mortal. Wkly Rep.*, **2020**, *69*, pp. 993–998.
- (7) Huang, C. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet.*, **2021**, *397*, pp. 220–232.
- (8) Gupta, A. et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat. Med.*, **2020**, *26*, pp. 1017–1032.
- (9) Amaral, C.M.; Lima O. Information about the new coronavirus disease (COVID-19). *Radiol Bras.*, **2020**, *53*(2), pp. 5–6. URL: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-3984.2020.53.2e1>.

- (10) Tiwari, N.N.; Dudhamal, T.S.; Prasad, S.M.; Shah, R.K.; Patel, B.D.; Shah, B. Ayurveda and COVID 19 pandemic in Nepal. *Healer Journal*, **2020**, *1*(1), pp. 1–5.
- (11) Müller, C.; Lukas, P.; Sponholz, D.; Hildebrandt, J-P. The hirudin-like factors HLF3 and HLF4 – hidden hirudins of European medicinal leeches. *Parasitology Research.*, **2020**, *119*, pp. 1767–1775. URL: <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06697-1>.
- (12) Каменев, О.Ю.; Барановский, А.Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии: руководство для врачей. Санкт-Петербург: ИГ «Весь», **2006**; с. 108–114.
- (13) Геращенко, Л. Всё о пиявке. Гирудотерапия для разных типов людей. Санкт-Петербург: Питер: **2007**; с. 170–178.
- (14) Жаров, Д.Г. Секреты гирудотерапии, или как лечиться пиявками. Ростов-на-Дону: Феникс, **2003**; с. 180–196.
- (15) Савинова, В.А. Гирудотерапия: руководство. Москва: Медицина, **2004**; с. 270–288.
- (16) Коритнюк, Р.; Борисенко Т. Пиявочка-козявочка. *Фармацевт-практик*, **2009**, *1*, с. 34–37.
- (17) Ковальова, О.В.; Ковальова А.А.; Шкопинський Є.О.; Кошля О.В. Гирудотерапія як засіб фізичної реабілітації. *Естетична медицина*, **2013**, *2*(32), с. 18–23.
- (18) Долженко, М.М. Пацієнт молодого віку з COVID-19: у фокусі – серцево-судинні ускладнення та реабілітація. *Здоров'я України*, **2021**, *2*(495), с. 41–42.
- (19) Baskova, I.P.; Zavalova, L.L. Proteinase inhibitors from the medicinal leech *Hirudo medicinalis*. *Biochemistry*, **2001**, *66*(7), pp. 703–714. URL: <https://doi.10.1023/a:1010223325313>.
- (20) Hu, B.; Xu, L.; Li, Y.; Bai, X.; Xing, M.; Cao, Q. A peptide inhibitor of macrophage migration in atherosclerosis purified from the leech *Whitmania pigra*. *J Ethnopharmacol.*, **2020**, *254*, 112723. URL: <https://doi.10.1016/j.jep.2020.112723>.
- (21) Babenko, V.V.; Podgorny, O.V.; Manuvera, V.A.; Kasianov, A.S.; Manolov, A.I.; Grafaskaia, E.N. Draft genome sequences of *Hirudo medicinalis* and salivary transcriptome of three closely related medicinal leeches. *BMC genomics.*, **2020**, *21*(1), pp. 1–16. URL: <https://doi.10.1186/s12864-020-6748-0>.
- (22) Singh, A.P. Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview. *Complement Ther Clin Pract.*, **2010**, *16*(4), pp. 213–215. URL: <https://doi.10.1016/j.ctcp.2009.11.005>.
- (23) Baranzini, N.; Pulze, L.; Reguzzoni M.; Roncoroni R.; Orlandi V.T.; Tettamanti, G.; Acquati, F.; Grimaldi, A. 3D Reconstruction of HVRNASET2 Molecule to Understand Its Antibacterial Role. *Int. J. Mol. Sci.*, **2020**, *21*, pp. 9722. URL: <https://doi.10.3390/ijms212497221-17>.
- (24) Afroz, A.T.; Najar, F.A.; Faisal, M.; Fatima, M. Effect of Irsale Alaq (leech therapy) in thrombosed pile mass: a case study. *Int J Sci Rep.*, **2020**, *6*(6), pp. 220–222.
- (25) Кузнецова, Л.В.; Фролов, В.М.; Пересадин, М.О.; Круглова, О.В. Сучасні підходи до гірудорефлексо-терапії при захворюваннях серцево-судинної системи. *Український морфологічний альманах*, **2010**, *8*(1), с. 32–35.
- (26) Кузнецова, Л.П.; Люсов, В.А.; Волов, Н.А. Место гирудотерапии в комплексном лечении хронической сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал*, 2008, *2*, с. 28–30.
- (27) Свиридкина, Л.П.; Боровая, Е.П.; Махнева А.В. Гирудотерапия в комплексном санаторно-курортном лечении больных ишемической болезнью сердца. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*, **2008**, *3*, с. 12–15.
- (28) Джиоев, И.А. Методика гирудотерапии при лечении венозных трофических язв нижних конечностей в условиях поликлиники. *Аспирант и соискатель*, **2006**, *4*, с. 221–224.
- (29) Porshinsky, B.S.; Saha, S.; Grossman, M.D. Clinical uses of the medicinal leech: a practical review. *J. Postgrad. Med.*, **2011**, *57*, pp. 65–71.
- (30) Ahmad, T.; Anwar, M. Clinical importance of Leech therapy. *Indian J. Tradit. Know.*, **2009**, *8*, pp. 443–445.
- (31) Nigar, Z.; Alam, M.A. Effect of taleeq (leech therapy) in dawali (varicose veins). *Anc. Sci. Life.*, **2011**, *30*, pp. 84–91.
- (32) Pospelova, M.L.; Barnaulov, O.D. Hirudotherapy in the treatment of bilateral internal carotid artery occlusion: case report. *Curr. Top. Neurol. Psychiatr. Relat. Discip.*, **2010**, *18*, pp. 51–53.
- (33) Prakash, A.; Parikshit, D.; Arun, G.R. Raj A review on the role of jalaukavacharana (hirudotherapy) in the management of the venous ulcer. *Universal Journal of Pharmacy*, **2013**, *2*(4), pp. 38–43.
- (34) Пospelова, М.Л.; Сорокоумов, В.А.; Алексеева, Т.М.; Иванова, Н.Е. Гирудотерапия в лечении цереброваскулярной патологии. История и современность. *Артериальная гипертензия*, **2018**, *24*(2), с. 217–222. URL: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2018-24-2-217-222>.
- (35) Копыртаева, Н.Н.; Гржибовский, А.М.; Каусова, Г.К.; Жернов, В.А.; Калматаева, Ж.А. Гирудотерапия при болезнях системы кровообращения. *Экология человека*, **2015**, *6*, с. 57–64.

- (36) Гончарова, А. Эффективность гирудотерапии при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. *Збірник наукових праць міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Проблеми та перспективи розвитку науки на початку третього тисячоліття у країнах СНД»* (Переяслав-Хмельницький, 27–28 лютого 2014 р.). Переяслав-Хмельницький, **2014**; с. 8–12. URL: <http://conferences.neasmo.org.ua/ru/art/142>.
- (37) Крячко, О.В.; Лукоянова, Л.А. Влияние гирудотерапии на некоторые гематологические и биохимические показатели при интоксикационном синдроме у собак. *Ветеринарная практика*, **2009**, *1*, с. 65–68.
- (38) Canpolat, İ.; Sağlam N. Treatment of diffuse hematoma in a dog with the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, **2004**, *2* (2), pp. 97–99.
- (39) Canpolat, İ.; Sağlam, N. Treatment of aural hematomas in dog with the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, **2004**, *2* (2), pp. 67–69.
- (40) Cooper, J.E. Veterinary surgeons and leeches. *The Veterinary Record*, **1989**, *29*, pp. 116–117.
- (41) Sobczak, N.; Kantyka M. Hirudotherapy in veterinary medicine. *Annals of Parasitology*, **2014**, *60* (2), pp. 89–92.
- (42) Малий, В.П.; Асоян, І.М.; Сай, І.В.; Андрусович, І.В. Патогенез коронавірусної інфекції COVID-19. *Інфекційні хвороби*, **2020**, *3*(101), с. 73–83.
- (43) Андрейчин, М.А.; Ничик, Н.А.; Завіднюк, Н.Г.; Йосик, Я.І.; Іщук, І.С.; Івахів О.Л. COVID-19: епідеміологія, клініка, діагностика, лікування та профілактика. *Інфекційні хвороби*, **2020**, *2*(100), с. 41–55. URL: <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2020.2.11285>.
- (44) Тараба Т.С. Гирудотерапия (часть 1): дефиниция, показания, противопоказания. *Вестник клинической больницы*, **2016**, *51*, с. 9–13.
- (45) Bharanija, K.S.; Jalagandeswarar, K.; Ashok V. Hirudotherapy-A Cure in Vampire's kiss: A Review. *J. Pharm. Sci. & Res.*, **2016**, *8*(8), pp. 822–827.
- (46) Sudhadevi, M. Leech therapy: A holistic treatment. *International Journal of Advance Research in Nursing*, **2020**, *3*(1), pp. 130–132.
- (47) Лукоянова Л.А. Патогенетическое обоснование использования гирудотерапии при интоксикационном синдроме у собак: дисс. ... канд. мед. наук; Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины. Санкт-Петербург, **2009**.
- (48) Grafkskaia, E.N.; Nadezhdin, K.D.; Talyzina, I.A.; Polina, N.F.; Podgorny, O.V.; Pavlova, E.R. Medicinal leech antimicrobial peptides lacking toxicity represent a promising alternative strategy to combat antibiotic-resistant pathogens. *Eur J Med Chem.*, **2019**, *180*, pp. 143–153. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.080>.
- (49) Wilmer, A.; Slater, K.; Yip, J.; Carr, N.; Grant, J. The role of leech water sampling in choice of prophylactic antibiotics in medical leech therapy. *Microsurgery*, **2013**, *33*(4), pp. 301–304. URL: <https://doi.org/10.1002/micr.22087>.
- (50) Malik, B.; Astuti, D.A.; Arief, D.J.F.; Rahminiwati M. A study on antioxidative and antimicrobial activities of saliva extract of Indonesian local leeches. *IOP Conf. Ser. Earth. Environ.*, **2019**, *251*, pp. 1–16.
- (51) Fattakhov, N.K.; Tilyakhodzhaeva, G.B., Abdulkhakimov A.R. Efficiency of application of hirudotherapy to have been having coronaviral infection. *Journal of applied research*, **2021**, *7*(4), pp. 2908–2911.
- (52) Merrill, J.T.; Erkan, D.; Winakur, J. Emerging evidence of a COVID-19 thrombotic syndrome has treatment implications. *Nat. Rev. Rheumatol.*, **2020**, *16*(10), pp. 581–589.
- (53) Whitsett, J.A.; Alenghat, T. Respiratory epithelial cells orchestrate pulmonary innate immunity. *Nat. Immunol.*, **2015**, *16*(1), pp. 27–35.
- (54) Zhou, Z.; Ren, L.; Zhang, L. Overly Exuberant Innate Immune Response to SARS-CoV-2 Infection. *SSRN Electronic Journal*, **2020**. URL: <https://doi.org/10.2139/ssrn.3551623>.
- (55) Zhou, Z.; Ren, L.; Zhang, L. Heightened Innate Immune Responses in the Respiratory Tract of COVID-19 Patients. *Cell Host Microbe*, **2020**, *27*(6), pp. 883–890.
- (56) Li, G.; Fan, Y.; Lai, Y. Coronavirus infections and immune responses. *J. Med. Virol.*, **2020**, *92*(4), pp. 424–432.
- (57) Seif, F.; Khoshmirsafa, M.; Aazami, H. The role of JAKSTAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells. *Cell Commun. Signaling*, **2017**, *15*(1), pp. 21–23.
- (58) Juno, J.A.; Tan, H.-X.; Lee, W.S. Humoral and circulating follicular helper T cell responses in recovered patients with COVID-19. *Nat. Med.*, **2020**, *26*, pp. 1427–1428.
- (59) Herold, T.; Jurinovic, V.; Arnreich, C. Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **2020**, *146*(1), pp. 128–136.

- (60) Barnes, B.J.; Adrover, J.M.; Baxter-Stoltzfus, A. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J. Exp. Med.*, **2020**, *217*, e20200652.
- (61) Cao, X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nat. Rev. Immunol.*, **2020**, *20*(5), pp. 269–270.
- (62) Maucourant, C.; Filipovic, I.; Ponzetta, A. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Science Immunology*, **2020**, *5*(50), eabd6832.
- (63) Cherneva, R.; Cherneva, Z.; Cherneva, R.V.; Cherneva, Z.V. Infection, inflammation and immunity in COVID-19 infection. *Scientific review*, **2021**, *3*, XLVIII, pp. 77–82. URL: <https://doi.org/10.2478/AMB-2021-0040>.
- (64) Фролов, В.М.; Гарник, Т.П.; Пересадин, Н.А.; Высоцкий, А.А. Динамика показателей фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных с синдромом психоэмоционального выгорания при гирудотерапии. *Український медичний альманах*, **2008**, *11*(4), с. 175–178.
- (65) Зельоний, І.І.; Кузнецова, Л.В.; Фролов, В.М.; Пересадин, М.О. Вплив гірудотерапії на показники цитокінового профілю крові у хворих на рецидивуючу бешіху на тлі варикозної хвороби вен гомілки. *Український медичний альманах*, **2010**, *13*(1), с. 52–55.
- (66) Глагович, М.В. Лапаростомія та гірудотерапія в комплексному лікуванні перитоніту у дітей: дис. ... канд. мед. наук; Івано-Франківський державний медичний університет. Івано-Франківськ, 2006.
- (67) Хабаров, А.С.; Зяблицкая, Н.К.; Волощенко, Л.Г.; Шойхет, Я.Н. (Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»). Способ лечения хронического тонзиллита у больных с иммунодефицитным состоянием. Патент России 2391991, 20.06.2010.
- (68) Спицына, В.И. Иммуные нарушения и патогенетическое обоснование их коррекции у больных хроническими заболеваниями слизистой оболочки полости рта: дисс. ... канд. мед. наук; Государственное образовательное учреждение «Институт повышения квалификации Федерального управления». Ставрополь, **2005**.
- (69) Денискина, Е.В. Клинико-лабораторное обоснование гирудотерапии в комплексном лечении хронического верхушечного периодонтита: дисс. ... канд. мед. наук; Московский государственный медико-стоматологический университет. Москва, **2003**.
- (70) Боровая, Е.П. Гирудотерапия и энтозкологическая реабилитация в комплексном санаторно-курортном лечении больных ишемической болезнью сердца среднего и пожилого: дисс. ... канд. мед. наук; Российский научно-исследовательский институт геронтологии. Москва, **2008**.
- (71) Захарова, О.А. Патогенетическое обоснование гирудотерапии у больных суставной формой ревматоидного артрита: дисс. ... канд. мед. наук; Читинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию. Чита, **2008**.
- (72) Фролов, А.; Копейка, В.; Федотов Е. Влияние гирудотерапии на физиологические показатели у коз. *Тваринництво України*, **2010**, *7*, с. 7–10.
- (73) Попова, И.С. Воспроизводительная способность молочных коров разных генотипов и использование гирудопунктуры для ее коррекции: дисс. ... канд. мед. наук; Воронежский государственный университет имени К.Д. Глинки. Воронеж, **2003**.
- (74) Aminov, R.F.; Frolov, A.K. Influence of ectoparasite – *Hirudo verbana* on morphogenetic reactions of the host organism – *rattus*. *Current trends in immunology*, **2017**, *18*, pp. 107–117.
- (75) Aminov, R.F.; Frolov, A.K. The impact of fetal load of *Hirudo verbana* saline extract antigens morphometrical, hematological and immunological parameters of rats in the early stages of postembryonic development. *Annals of parasitology*, **2018**, *64*(1), pp. 13–20.
- (76) Амінов, Р.Ф.; Фролов, О.К. Фагоцитарна та метаболічна активність нейтрофілів щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку за впливу біологічно активних речовин сольового екстракту *Hirudo verbana*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, **2016**, *7*, pp. 96–100.
- (77) Амінов, Р.Ф.; Фролов, О.К. Проліферативна активність клітин кісткового мозку щурів за впливу біологічно активних речовин медичної п'явки. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, **2017**, *8*(4), pp. 501–505.
- (78) Амінов, Р.Ф.; Фролов, О.К.; Федотов, Є.Р. Реакція бластної трансформації лімфоцитів крові нелінійних самиць щурів, їх приплоду на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні впливу сольового екстракту *Hirudo verbana*. *Вісник Запорізького національного університету. Серія «Біологічні науки»*, **2018**, *1*, с. 46–52.
- (79) Амінов, Р.Ф. Гемопоетична активність кісткового мозку щура на фоні впливу сольового екстракту *Hirudo verbana* Carena, 1820. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Кара-*

- зіна. Серія «Біологія», **2018**, 30, с. 87–94. URL: <https://doi.org/10.26565/2075%2D5457%2D2018%2D30%2D10>.
- (80) Амінов, Р.Ф.; Фролов, О.К.; Федотов, С.Р.; Макеева, Л.В. Морфометричні показники тіла щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні впливу антигенів сольового екстракту медичної п'явки в передембріональній і ембріональній періоди розвитку. *Вісник Запорізького національного університету. Серія «Біологічні науки»*, **2016**, 1, с. 43–48.
- (81) Амінов Р.Ф.; Сирцов В.К.; Федосеева О.В.; Фролов О.К. Морфологічні показники селезінки та тимусу щурів після впливу сольового екстракту *Hirudo verbana*. *Світ медицини та біології*, **2019**, 4(70), с. 183–187.
- (82) Амінов, Р.Ф. Проліферативна активність лімфоцитів крові нелінійних самиць щурів, їх приплоду на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні гірудовпливу. *Acta Biologica Ukrainica*, **2018**, 1, с. 40–45. URL: <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-05>
- (83) Аминов Р.Ф.; Фролов А.К.; Федотов Е.Р. Влияние внутриутробной нагрузки биологически активными веществами солевого экстракта *Hirudo verbana* на морфометрические и гематологические показатели крыс на ранних этапах постэмбрионального развития. *Иммунпатология, аллергология, инфектология*, **2016**, 4, с. 6–11.
- (84) Амінов, Р.Ф.; Фролов, О.К.; Амінова, А.С. Вплив гірудотерапії на репродуктивну функцію лабораторних щурів. *Acta Biologica Ukrainica*, **2020**, 1, с. 29–36. URL: <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-04>.
- (85) Aminov R.; Aminova A. Indirect effect of substances of the hemophagous parasite *Hirudo verbana* on the immune system of the host rats. *Annals of Parasitology*, **2021**, 67(4), pp. 603–610.
- (86) Zheng, K.I.; Feng, G.; Liu, W-Y.; Targher, G.; Byrne, C.D.; Zheng M-H. Extrapulmonary complications of Covid-19: A multisystem disease? *J Med Virol.*, **2021**, 93, pp. 323–335. URL: <https://doi.org/10.1002/jmv.26294>.
- (87) Добрынин, Ю.В.; Живогляд, Р.Н.; Хадарцева, К.А.; Шипилова Т.Н. Оценка эффективности секрета слюны пиявки в лечении цереброваскулярной и гинекологической патологии. *Вестник новых медицинских технологий*, **2008**, 15(1), с. 96–97.
- (88) Морозова, С.В.; Аксенова, О.В. Гирудотерапия в лечении периферических кохлеовестибулярных нарушений сосудистого. *Вестник оториноларингологии*, **2009**, 4, с. 51–53.
- (89) Pospelova, M.L.; Barnaulov, O.D. Effects of hirudotherapy on intravascular thrombosis activation in different groups of patients with cerebrovascular pathologies. *Aktuelnosti neurol, psihijatrije granicnih podrucja*, **2010**, 18(3), pp. 27–32.
- (90) Прохоров, Д.В.; Нгема, М.В.; Пияльцева Е.А. Опыт применения гирудотерапии в комплексном лечении хронических дерматозов. *Вестник физиотерапии и курортологии*, **2004**, 3, с. 64–65.
- (91) Kumar, S.A. Anti inflammatory effect of leech therapy in the patients of psoriasis (ek kusta). *J. Pharmaceut and Sci. Innovat.*, **2012**, 1(1), pp. 71–74.
- (92) Бургонский, В.Г.; Юркина, А.В. Применение гирудотерапии в практической стоматологии. *Современная стоматология*, **2016**, 1, с. 7–13.
- (93) Абдуллаева, А.И.; Притыко, А.Г.; Воронин, П.А.; Михайлова, Е.Г. Анализ результата применения метода гирудотерапии при лечении хронического апикального периодонтита. *Вестник РГМУ*, **2020**, 3, с. 92–95.
- (94) Сорокина, А.В. Гирудотерапия в гинекологической практике. *Медицинская сестра*, **2008**, 7, с. 19–20.
- (95) Amani, L.; Motamed, N.; Ardakani, M.M.; Shasaltaneh, M.D.; Malek, M.; Shamsa, F.; Fatemi, E.; Amin, M. Semi-solid product of medicinal leech enhances wound healing in rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.*, **2021**, 1(4), pp. 32–38. URL: <https://doi.org/10.5812/jjnpp.113910>.
- (96) Shirbeigi, L.; Eghbalian, F.; Bakhtyari, L. Treatment of diabetic foot ulcer with medicinal leech therapy and honey curcumin dressing: a case report. *Traditional Medicine Research*, **2019**, 4(6), pp. 338–344.
- (97) Amani, L.; Fadaei, F.; Shams, M.; Mehran A.; Ardakani, M.; Shirbeigi, L. Treatment of Diabetic Foot Ulcer (DFU) with Pharmaceutical Product using *Hirudo orientalis*: A Case Report. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*, **2020**, 28(129), pp. 225–229.
- (98) Ojo, P.; Babayi, H.; Olayemi, I.; Peter, O.; Fadipe, L.; Baba, E.; Izebe, K. Anti-Tubercular Activities and Molecular Characterization of Salivary Extract of Leech (*Hirudo medicinalis*) against *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Tuberculosis Research*, **2018**, 6, pp. 1–9. URL: <https://doi.org/10.4236/jtr.2018.61001>.
- (99) Habrmanova, M.; Cechova, A.; Cickova, H.; Takac, P. Detoxification by Medicinal Leeches (*Hirudo medicinalis*). *Medical Research Archives*, **2020**, 8(12), pp. 1–12.

- (100) Павлова, И.Б.; Юдина, Т.Г.; Баскова, И.П.; Даньян, Г.Г.; Лейли, Ч.Ч.; Феоктистова, Н.А.; Васильев, Д.А.; Золотухин, С.Н. Изучение перспектив использования секрета слюнных клеток медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* и препарата «Пиявит» как антимикробных комплексов, не вызывающих резистентности у микроорганизмов. *Современные проблемы науки и образования*, **2015**, 2-3, с. 1–11.
- (101) Григорьева, Д.В.; Горудко, И.В.; Графская, Е.Н.; Лацис, И.А.; Соколов, А.В.; Панасенко, О.М.; Лазарев, В.Н. Влияние новых антимикробных пептидов медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* на функциональную активность белков гранул нейтрофилов. URL: <https://journals.eco-vector.com/MAJ/article/view/77649>.
- (102) Павлова, И.Б.; Даньян, Го; Чен, Л.Ч.; Юдина Т.Г. Чувствительность к природным антимикробным комплексам возбудителей микозов – представителей рр. *Candida* и *Fusarium*. *Journal of scientific articles “Health and Education Millennium”*, **2017**, 19(1), pp. 109–113.
- (103) Nakanekar, A.; Khobarkar, P.; Dhotkar, S. Management of herpes zoster in Ayurveda through medicinal leeches and other composite Ayurveda Treatment. *Journal of ayurveda and integrative medicine*, **2020**, 11(3), pp. 352–356. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2020.05.008>.
- (104) Hwang, K.; Kim, H.M.; Kim, Y.S. Staphylococcus aureus methicillin-resistant staphylococcus aureus following leech application at a congested flap after a mastectomy. *Arch Aesthetic Plast Surg.*, **2017**, 23(3), pp. 143–145. URL: <https://doi.org/10.14730/aaps.2017.23.3.143>.
- (105) Shakouri, A.; Adljouy, N.; Abdolizadeh J. Anti-Cancer Activity of Liposomal Medical Leech Saliva Extract (LSE). *Proceedings of the 3rd World Congress on Recent Advances in Nanotechnology (RAN'18)* (Budapest, Hungary, April 10–12, 2018). Budapest, **2018**. URL: <https://doi.org/10.11159/nddte18.102>.
- (106) Davoodi, F.; Taheri, S.; Raisi, A.; Rajabzadeh, A.; Zakian, A.; Hablolvarid, M.H.; Ahmadvand H. Leech therapy (*Hirudo medicinalis*) attenuates testicular damages induced by testicular ischemia/reperfusion in an animal model. *BMC Veterinary Research*, **2021**, 17(256), pp. 1–15. URL: <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02951-5>.
- (107) Nair, V.; Das, K.P.; Saha N. Hirudotherapy: will the glorious past return? *Journal of Medicine and Health Research*, **2017**, 2(3), pp. 97–105.
- (108) Чоботар, А.І. Випадок бешихи після гірудотерапії. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*, **2009**, 4(35), с. 41–44.
- (109) Daye, M.; Işık, B.; Kılınc, F. Lichen planus due to hirudotherapy. *Turkiye parazitolojii dergisi*, **2021**, 45(2), pp. 149–152. URL: <https://doi:10.4274/tpd.galenos.2020.7066>.
- (110) Hanner, S.; Stroh, H.; Enk, A.; Hoffmann, J. Cutaneous pseudolymphoma after hirudotherapy: Case report and review. *Der Hautarzt; Zeitschrift Fur Dermatologie, Venerologie, Und Verwandte Gebiete*, **2021**. URL: <https://doi:10.1007/s00105-021-04812-6>.
- (111) Curcio, A.; Lloyd, C.M. Leech me alone! Atraumatic hemarthrosis after hirudotherapy. *Cureus*, **2020**, 12(2), p. e6915. URL: <https://doi:10.7759/cureus.6915>.
- (112) Akalin, Ç.; Ekmen, N. Non-occlusive mesenteric ischemia due to hirudotherapy: a case report. *Cureus*, **2020**, 12(7), p. e9467. URL: <https://doi:10.7759/cureus.9467>.
- (113) Kılıç, M.; Ak, R. Orbital cellulitis due to leech therapy. *Bulletin of emergency and trauma*, **2019**, 7(3), pp. 335–336. URL: <https://doi:10.29252/beat-0703020>.
- (114) Çakmak, O.; Çaltekin, İ.; Gökçen, E.; Savrun, A.; Yaşar, E. Kounis syndrome due to hirudotherapy (leech therapy) in emergency department; a case report. *Turkish journal of emergency medicine*, **2018**, 18(2), pp. 85–87. URL: <https://doi:10.1016/j.tjem.2017.12.005>.
- (115) Güven, R. Treatment of a patient in hemorrhagic shock due to leech bite with tranexamic acid. *The American journal of emergency medicine*, **2016**, 34(11), pp. 2253.e3–2253.e4. URL: <https://doi:10.1016/j.ajem.2016.05.021>.
- (116) Yantis, M.A.; O’Toole, K.N.; Ring, P. Leech therapy. *The American journal of nursing*, **2009**, 109(4), pp. 36–42. URL: <https://doi:10.1097/01.NAJ.0000348601.01489.77>.
- (117) Kaya, B.; Bat, O.; Bulut, N.E.; Altun, H.; Memisogl, K. Prolonged venous bleeding due to traditional treatment with leech bite: a case report. *Journal of medical case reports*, **2011**, 5. p. 172. URL: <https://doi:10.1186/1752-1947-5-172>.
- (118) Spear, M. Medicinal leech therapy: friend or foe. *Plastic Surgical Nursing: official journal of the American society of plastic and reconstructive surgical nurses*, 2016, 36(3), pp. 121–125. URL: <https://doi:10.1097/PSN.0000000000000152>.
- (119) Maetz, B.; Abbou, R.; Andreoletti J.B. et al. Infections following the application of leeches: two case reports and review of the literature. *Journal of medical case reports*, **2012**, 6, p. 364. URL: <https://doi:10.1186/1752-1947-6-364>.
- (120) Wang, E.W.; Warren, D.K.; Ferris, V.M.; Pharm E.C.; Nussenbaum, B. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.*, **2011**, 137(2), pp. 190–193. URL: <https://doi:10.1001/archoto.2010.257>.

Орган нюху: основні підходи до досліджень та проблеми порівняння в костистих риб

Титюк О. В., Ульянов В. О., Степанюк Я. В.

Волинський національний університет імені Лесі Українки

tytiuk.olha@vnu.edu.ua

Ключові слова: орган нюху, нюхова розетка, морфологія, костисті риби.

Проведено аналіз досліджень морфології та морфогенезу периферичного відділу нюхового аналізатора костистих риб від початку його вивчення до сьогодні. Незважаючи на значну кількість робіт, які присвячені морфології дефінітивних органів нюху риб, нині досліджені лише окремі представники більшості рядів променеперих без урахування екологічної спеціалізації видів. Досліджень із морфогенезу органа нюху від стадії плакоти до дефінітивного стану ще менше.

Вивчення будови органа нюху та його розвитку дає змогу зрозуміти основні фактори, які впливають на його організацію. У статті висвітлено основні проблеми, які виникають під час порівняння результатів морфологічних досліджень органа нюху риб, а саме використання різних методик у роботі (вивчення серійних гістологічних зрізів, електронної мікроскопії, імуногістохімії) та різних термінів для позначення ідентичних структур («нюхова ямка», «ніздря», «сенсорні війчаті / мікроворсинчасті клітини»). Нами запропоновано нову термінологію, яку варто використовувати у процесі опису дефінітивного органа нюху, та критерії для ідентифікації стадій його морфогенезу. Оскільки в літературі немає єдиного підходу до опису дефінітивного органа нюху, нами запропоновано алгоритм (схему) проведення дослідження. У розробленій схемі виділено окремі морфологічні критерії, на які необхідно звернути увагу у процесі опису дефінітивного органа нюху. Важливим під час опису дефінітивного органа нюху є поетапний опис його морфології: зовнішніх ніздрів (кількість, форма), нюхової камери (розташування, наявність додаткових носових структур), нюхової розетки (розміщення нюхових ламел у нюховій камері), нюхових ламел (кількість, форма), нюхового епітелію (типи сенсорних клітин, розташування несенсорних клітин). Такий підхід дасть можливість провести порівняльно-морфологічне дослідження нюхового аналізатора не лише в риб, а й у представників інших класів хребетних.

Olfactory organ: main approaches to the investigation and difficulties while comparing in teleostei

Tytiuk O. V., Ulyanov V. O., Stepanyuk Ya. V.

Lesya Ukrainka Volyn National University

tytiuk.olha@vnu.edu.ua

Key words: olfactory organ, olfactory rosette, morphology, teleostei.

Studies of morphology and morphogenesis of peripheral part of the olfactory analyzer in teleostei from the beginning of that research to nowadays were analyzed. Despite the significant number of scientific works dedicated to morphology of the definitive olfactory organs of fish, only some representatives of most orders of Actinopterygii are investigated so far, without considering ecological specialization of species. Studies on morphogenesis of the olfactory organ from placode to its definitive state are even less.

Investigating the construction of the olfactory organ and the process of its formation allows to understand the main factors having impact on its organization. The article highlights basic problems that arise while comparing results of morphological studies of olfactory organ of fish, namely when different methodologies for the work (studying serial histological preparations, electron microscopic study, immunohistochemistry) or different terms for identical structures (e. g., “olfactory pit”, “nostril”, “ciliated olfactory sensory neurons / microvillous olfactory sensory neurons”) are adopted. We propose a new terminology worth to be used while describing the definitive olfactory organ and clear criteria for identifying stages of its morphogenesis. Since in scientific literature there is no unified approach to describing the definitive olfactory organ, we suggest the algorithm (scheme) for future investigations in this area. In the scheme we elaborated, morphological criteria the attention should be paid to while describing the definitive olfactory organ are determined. It is important to follow the step-by-step description of the morphology of the definitive olfactory organ: external nostrils (number, form), olfactory chamber (location, presence / absence of additional structures), olfactory rosette (location of olfactory lamellae in olfactory chamber), olfactory lamellae (number, form), olfactory epithelium (sensory cells types, destitution of non-sensory cells). Such approach will enable to undertake the comparative morphological research of the olfactory analyzer not only for fish, but for representatives of other classes of vertebrates.

Вступ

Розвиток дистантних аналізаторів хребетних визначається середовищем існування та стратегією живлення видів¹⁻⁴. Одне з провідних місць у життєдіяльності хребетних належить нюховій сенсорній системі. Про це свідчить велика мінливість центрального відділу нюхового аналізатора в риб, які живуть на різних глибинах. Разом із центральним відділом досить мінливим є периферичний відділ нюхового аналізатора, який представлений органом нюху⁵⁻¹⁰. Незважаючи на те, що морфологією органа нюху цікавилися здавна, досі залишається багато нез'ясованих питань, які стосуються як його будови, так і розвитку. У більшості риб дефінітивний орган нюху представлений нюховою розеткою з нюховими ламелами, які вистелені сенсорним епітелієм¹¹⁻²¹. На сьогодні більшість робіт присвячена морфології

дефінітивних органів нюху риб. Водночас часто досліджують лише окремих представників ряду та не розглядають різні екологічні групи. У процесі дослідження органа нюху видів риб часом з'ясовуються морфологічні особливості, які, на жаль, не завжди можна порівняти з іншими дослідженнями, оскільки вчені можуть застосовувати різні терміни для позначення структур²²⁻²⁵, методи дослідження²⁶⁻²⁹, підходи до визначення стадій розвитку^{22, 30-34} тощо.

Вивчення будови органа нюху та його розвитку дає можливість зрозуміти основні фактори, що впливають на формування органів, та екологічні чинники, у яких розвивається й живе певний вид. На сьогодні є лише декілька оглядових робіт, які присвячені узагальненню даних щодо морфології периферичного відділу нюхового аналізатора костистих риб^{6, 8, 35, 36}.

М. Kuciel та співавтори у процесі опису загальної морфології органа нюху порівнюють його особливості у круглоротих, пластинчастозябрових та костистих риб¹⁶. Науковці подають коротку характеристику типової білатеральної нюхової розетки, а також детально описують ультраструктуру нюхового епітелію костистих риб. J. Cox, акцентуючи на вивченні механізму омивання органа нюху, також вказував на різноманіття нюхових розеток і мінливість ніздрів костистих риб³⁷. О. Касумян під час здійснення схожих досліджень описав також морфологію нюхових ламел та ультраструктуру нюхового епітелію³⁸. А. Hansen і В. Zielinski вивчили зв'язок між будовою (мультиламелярною чи уніламелярною) нюхового органа риб, їх таксономічним положенням та філогенією³⁹. У процесі опису загальної морфології органа нюху автори звертають увагу на наявність та кількість додаткових носових мішків, а також ультраструктуру нюхового епітелію нюхової порожнини. Робота є цікавою, оскільки, окрім опису морфології, подано схему морфогенезу носової порожнини від утворення нюхової ямки до формування носового мосту.

Очевидно, що на сьогодні накопичилася велика кількість матеріалу з морфології та розвитку органа нюху костистих риб, які необхідно систематизувати для того, щоб правильно знайти «білі плями», які потрібно заповнити. **Мета роботи** – провести аналіз досліджень із морфології та морфогенезу органа нюху костистих риб, а також створити алгоритм для опису органа нюху. Вивчення будови органа нюху риб різних екологічних груп дає можливість зрозуміти, які фактори впливають на його формування, а порівняння його морфогенезу доповнює інформацію про спорідненість видів. Вивчення будови й розвитку органа нюху у видів костистих риб є цікавим та актуальним, оскільки встановлення філогенетичних зв'язків між різними групами тварин сьогодні є одним із пріоритетних напрямів науки.

Етапи вивчення морфології дефінітивного органа нюху костистих риб

Перші роботи щодо вивчення органа нюху риб були виконані на дорослих особинах, тобто стосувалися будови органів нюху в дефінітивному стані.

На початку процесу досліджень основну роль відіграли німецькі вчені W. Bateson (1890 р.), R. Burne (1909 р.), W. Reinke (1936 р.), H. Teichmann (1954 р.)⁴⁰⁻⁴³. У 1890 р. вийшла праця W. Bateson, що стосувалася макроморфології органа нюху⁴⁰. Першими опис основних типів ніздрів та топографії нюхових ламел у різних видів риб здійснили W. Bateson, K. Liermann, G. Bertmar, H. Kleerekoper⁴⁴⁻⁴⁷.

У другій половині ХХ ст. роботи з вивчення морфології органа нюху костистих риб набули

більшої популярності (вийшли за межі Німеччини). Уперше увагу на ультраструктуру нюхового епітелію звернув Т. Nara⁴⁸⁻⁵⁰. Розподіл сенсорного та несенсорного епітелію на нюхових ламелах і вистилку нюхових камер в окремих видів вивчали J. Diaz зі співавторами, М. Дорошенко та А. Коровіна, І. Клименков, R. Belanger, М. Kuciel зі співавторами, Н-Т. Kim та J-Y Park^{3, 4, 51-55}. М. Yamamoto вперше виділив чотири основні моделі розподілу сенсорного епітелію на ламелах: неперервний, переривчастий, сітчастий і плямистий розподіл. Подібні дослідження стали можливими із застосуванням електронної мікроскопії⁵⁶.

Після 1970 р. з'явилися дослідження, у яких було проаналізовано механізми омивання органа нюху. Встановлено три їх варіанти: за допомогою биття війок несенсорного епітелію, нагнітання води в нюхову порожнину за допомогою додаткових носових мішків та завдяки пасивному току води під час плавання риби^{15, 37, 57-59}.

Отже, на сьогодні вивчено морфологію дефінітивних органів нюху представників різних рядів риб, а саме: Авлоподібні¹⁴; Аттериноподібні⁶⁰; Бичкоподібні⁶¹; Вугроподібні⁶²⁻⁶⁴; Іглицеподібні²⁶; Камбалоподібні^{65, 66}; Коропозубоподібні⁶⁷; Колючкоподібні^{68, 69}; Коропоподібні^{21, 70-81}; Лососеподібні^{82, 83}; Окунеподібні^{13, 84-90}; Опахоподібні⁹⁰; Сомоподібні^{15, 19, 57, 91-95}; Тріскоподібні^{96, 97}; Оселедцеподібні⁹⁸.

Незважаючи на значну кількість робіт, які присвячені морфології дефінітивних органів нюху риб, часто досліджено лише окремих представників більшості рядів променеперих без урахування екологічної спеціалізації видів.

Історія дослідження морфогенезу органа нюху костистих риб

Для того щоб з'ясувати особливості морфології структури, необхідно дослідити її розвиток. Тому під час вивчення будови органа нюху в різних костистих варто звертати увагу на морфогенез периферичного відділу нюхового аналізатора.

Уперше розвиток органа нюху риб дослідив та описав С. Hoffmann⁹⁹. Він встановив перші етапи морфогенезу органа нюху від плакоди до формування носового мосту. Цей дослідник уперше описав механізм утворення передньої та задньої ніздрі шляхом зростання носових виростів. Пізніше такий механізм розділення отвору нюхової ямки на передню й задню ніздрі підтвердили інші науковці^{18, 20, 21, 42, 43, 81, 86, 100-111}. В. Theisen і співавтори встановили, що не в усіх видів риб морфогенез нюхової порожнини завершується утворенням передньої та задньої ніздрі, а орган нюху може залишатися на стадії нюхової ямки¹¹².

Перші дослідження фрагментарні, у них акцент зроблений на встановленні розвитку окремої структури органа нюху (наприклад, розвитку додаткових

мішків у *Gasterosteus aculeatus* (Gasterosteidae), формуванні носового мосту в *Siphonostomum typhle*¹¹³. W. Reinke вперше детально комплексно описав розвиток нюхової камери, закладку ламел та формування ніздрів і додаткових носових мішків на прикладі *Cyprinus carpio* (Cyprinidae), *Pleuronectes platessa* (Pleuronectidae), *Esox lucius* (Esocidae), *Lebistes reticulatus* (Poeciliidae), *Umbra krameri* (Umbridae), *Macropodus opercularis* (Osphronemidae). Водночас у його роботі не вивчено будову нюхового епітелію, без якого неможливо описувати морфологію ламел⁴². У пізніших дослідженнях детально розкрито розвиток плакоти та нюхової ямки^{18, 21, 81, 86, 100, 102, 108, 110, 114–120}. Дослідники встановили час закладки ламел та звернули увагу на особливості їх морфології^{11, 13, 15, 16, 19, 42, 43, 57, 62, 82, 86, 95, 102, 103, 105, 115, 121}.

Частково розвиток нюхових розеток, а точніше закладку нюхових ламел, описували R. Harvey, Г. Девічина та А. Кажлаєв, А. Hansen та Е. Zeiske, G. Kawamura зі співавторами, Y. Yamamoto та інші вчені^{22, 122–125}. G. Bertmar уперше продемонстрував формування вторинних нюхових ламел у костистих риб⁸². Пізніше їх формування вивчали А. Rahmani та S. Khan, М. Matsuoka^{126, 127}. Н. Kudo та співавтори вперше показали походження шва в нюховій розетці лососевих. Їхня робота є інформативною, хоча в ній немає опису розвитку нюхової ямки, перших ламел та формування ніздрів¹²⁸.

Розвиток нюхового епітелію під час ембріонального та постембріонального періодів розвитку риби описали G. Bertmar, Н. Breucker зі співавторами на прикладі нюхового епітелію *Salmo trutta*^{82, 100}, В. Zielinski та Т. Hara – на прикладі *Oncorhynchus mykiss*¹²⁹, G. Kawamura та N. Washiyama – на прикладі *Tilapia nilotica* (Cichlidae)¹³⁰, J. Sobcroft та P. Pankhurst – у *Latris lineata* (Latridae)¹¹⁸, L.-S. Lim та Y. Mukai – у *Epinephelus fuscoguttatus* (Serranidae)¹³¹, М. Arvedlund та А. Takemura – на прикладі *Apogon cyanosoma* (Apogonidae)¹³.

Дослідженням розвитку нюхового нерва та нюхових цибулин займалися L. Jahn, Fiorentino та співавтори, М. Doldan та інші вчені^{101, 105, 132}. N. Miyasaka зі співавторами, вивчаючи модельний вид *Danio rerio*, доповнили попередні дослідження аналізом формування шляхів передачі імпульсів від сенсорних клітин до нюхової цибулини¹³³.

Спочатку розвиток органа нюху вивчався на лососевих^{99, 121, 134}. На сьогодні найкраще досліджений морфогенез органа нюху у представників родини Коропові¹¹⁵. На прикладі *Phoxinus phoxinus*, *Stenopharyngodon idella*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Labeo rohita*, *Danio rerio* детально досліджено етапи розвитку носових виступів та формування носового мосту, описано не лише закладку ламел і формування нюхової розетки, а й їх мор-

фологію. Морфогенез у видів ряду Осетроподібні, а саме *Acipenser ruthenus*, *Acipenser baerii*, *Acipenser naccarii*, *Polyodon spathula*, *Acipenser stellatus*, незважаючи на велику кількість охоплених видів, не відображає всі етапи розвитку органа нюху; відсутні дані про раннє формування нюхової розетки, немає детального опису формування ніздрів.

Розвиток органа нюху у представників інших рядів вивчений лише на окремих видах. Так, в Оселедцеподібних його досліджував М. Matsuoka¹⁰⁶, в Окунеподібних уперше вивчали R. Elston та інші вчені¹³⁵. У представників ряду Сомоподібні повного дослідження розвитку органа нюху немає досі, відомо лише про ступінь розвитку органа нюху *Clarias gariepinus* на личинковій стадії¹⁰⁷.

Окремі дані про розвиток органа нюху *Amia calva* (ряд Амієподібні) можна отримати з таблиць нормального розвитку цього виду¹³⁶. У представника ряду Анабатоподібні *Anabas testudineus* А. Rahmani та S. Khan дослідили розвиток вторинних ламел, не звертаючи увагу на інші аспекти в розвитку органа нюху (Anabantidae)¹³⁷. У *Anguilla anguilla* з ряду Вугреподібні досліджено лише розвиток нюхового епітелію та розподіл сенсорного й несенсорного епітелію на нюхових ламелах у личинкових і ювенільних стадіях онтогенезу. Уявлення про розвиток органа нюху у представників ряду Камбалоподібні формують роботи Y. Yamamoto, F. Padrós, R. Harvey, хоча в них досліджуються різні види та лише окремі періоди онтогенезу^{123, 138, 139}. У *Gasterosteus aculeatus* та *Siphonostomum typhle* під час дослідження морфогенезу органа нюху відсутні ранні стадії розвитку риби⁴⁵.

Морфологічний підхід до класифікації органа нюху

У макроморфологічних дослідженнях були спроби класифікувати орган нюху за формою нюхової розетки та топографією нюхових ламел. W. Bateson виділив чотири типи органа нюху: а) з радіально розміщеними ламелами; б) із центральним швом, по обидва боки якого розміщуються два ряди нюхових ламел; в) округлу чи еліптичну розетку з підвищенням, від якої беруть початок інші ламели; г) розетки з одним рядом нюхових ламел⁴⁰. Інші типи нюхових розеток (овальну, округлу та видовжену) виділив R. Burne⁴¹. Пізніше також були спроби класифікувати органи нюху за його розмірами, формою нюхової розетки, кількістю та розміщенням нюхових ламел^{20, 37, 38, 42, 43, 56}. Принцип виділення різних типів периферичного відділу органа нюху костистих риб змінювався, оскільки досліджувалося дедалі більше видів та знаходили нові морфологічні особливості.

На сьогодні немає єдиної схеми класифікації органа нюху костистих риб – у роботах трапля-

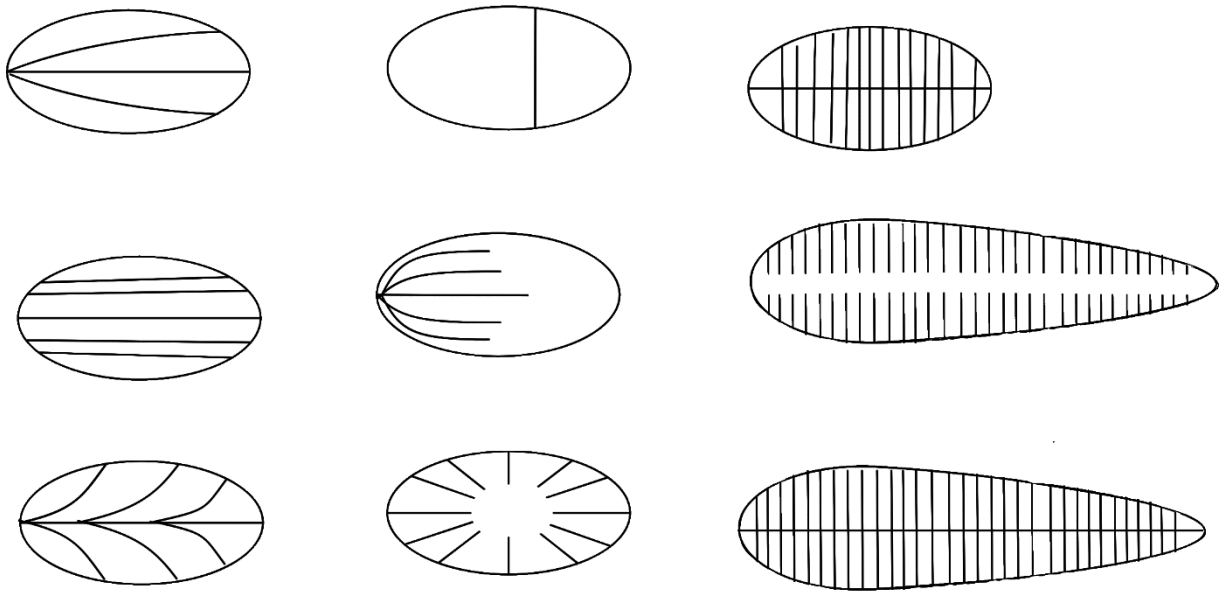


Рис. 1. Типи нюхових розеток різних видів костистих риб за А. Kasumyan (В)³⁸, Н. Teichmann (С)⁴³, Е. Zeiske і співавторами²⁰ (зі змінами)

ються описи нюхової розетки за різними ознаками (див. рис. 1). Це ускладнює порівняння результатів досліджень, а найголовніше – не дає змогу виявляти закономірності в морфології органів нюху у представників різних екологічних груп. На основі власного досвіду та аналізу літературних даних із морфології та морфогенезу органа нюху ми систематизували основні морфологічні ознаки для створення алгоритму опису органа нюху костистих риб. Ми вважаємо, що у процесі опису дефінітивного органа нюху необхідно звернути увагу на окремі морфологічні критерії (див. табл. 1).

Важливим під час опису дефінітивного органа нюху є поетапний опис його морфології: зовнішніх ніздрів, нюхової камери, нюхової розетки, нюхових ламел, нюхового епітелію. Для таких досліджень найкраще застосовувати не один метод, а декілька, наприклад вивчення серійних гістологічних зрізів та аналіз результатів скануючої електронної мікроскопії.

Використання різних методик дослідження

На сьогодні для дослідження органа нюху костистих риб найчастіше використовують такі методики, як світлова, електронна (скануюча та трансмісійна) мікроскопії та гістохімічні методи. Кожен із них передбачає свою методику підготовки матеріалу: фіксацію, дегідратацію, заливку, різку, фарбування. Поєднання цих методик дає цілісну картину про морфологію та морфогенез органа нюху. Натомість застосування лише одного методу може призвести до неточної інтерпретації результатів дослідження. Крім того, використання різних методів фіксації матеріалу ускладнює або

унеможливує порівняльний аналіз результатів.

Для дослідження будови нюхових структур застосовують світлову, скануючу та трансмісійну електронні мікроскопії. З великої кількості фіксаторів (2,5% глютаральдегід^{31, 140–144}, фіксатор Карнуа¹⁴⁵, 70% етанол¹⁴⁶, формалін^{22, 53, 147–149}, розчин Буена^{30, 148, 150}, спиртовий розчин Буена⁸⁶) для дослідження нюхового органа костистих риб найчастіше використовують 10% розчин формаліну та розчин Буена.

Вибір фіксатора залежить від особливостей досліджуваного об'єкта та завдань дослідження. Некоректний вибір фіксатора чи режиму фіксації може пошкодити й деформувати досліджувані структури, що може призвести до неправильної інтерпретації результатів^{151–153}.

Особливістю роботи у процесі вивчення розвитку сенсорних систем загалом та органа нюху зокрема є те, що вибір фіксатора дуже важливий, оскільки фіксація об'єкта проводиться на різних стадіях розвитку. Ембріони на різних стадіях розвитку, личинки, дорослі особини відрізняються за формою клітин, типом тканин і їх щільністю. У дослідженнях встановлено, що використання для фіксації формаліну може призвести до неправильної інтерпретації отриманих результатів дослідження²⁸.

Проблеми ідентифікації структур органа нюху риб

Термінологія структур органа нюху. Основними структурними елементами органа нюху у променеперих є передній носовий отвір, або передня ніздра (коротка вузька трубка індіфе-

Таблиця 1 – Основні морфологічні характеристики органа нюху костистих риб

№	Ознака	Додатковий опис
1.	Розміщення нюхової камери латеральне.....	2 Особливості розміщення
–	Розміщення нюхової камери дорсальне.....	2
–	Розміщення нюхової камери дорсолатеральне.....	2
2.	Одна ніздря.....	3
–	Дві ніздрі.....	4
3.	Носовий міст не формується.....	8 Розміри ніздрі (абсолютний та щодо ока)
–	Одна ніздря редукується.....	8
4.	Передня та задня ніздрі розділені між собою лише невеликою шкіряною складкою.....	5
–	Передня та задня ніздрі розташовані на значній відстані.....	6
5.	Ніздрі не перекриваються між собою.....	6
–	Передня та задня ніздрі перекриваються.....	7
6.	Передня ніздря трубчаста.....	7 Особливості форми та розмірів передньої ніздрі
–	Передня ніздря іншої форми (округла, овальна, лійчаста).....	7
7.	Задня ніздря відкрита округла.....	8 Особливості форми та розмірів задньої ніздрі
–	Задня ніздря іншої форми (з клапаном, оточена складками).....	8
8.	Нюхова камера має округлу / овальну форму.....	9
–	Нюхова камера має нетипову форму (каналоподібну тощо).....	9
9.	Є додаткові носові мішки біля нюхової камери.....	10 Особливості додаткових нюхових структур
–	Додаткові носові мішки відсутні.....	10
10.	Нюхова камера без ламел.....	20
	У нюховій камері є ламели.....	11
11.	1–2 нюхові ламели.....	17 Особливості розташування ламел
	Нюхових ламел 3 й більше.....	12
12.	Нюхові ламели розташовуються паралельно або перпендикулярно до ростро-аборальної осі нюхової камери.....	14
–	Нюхові ламели утворюють нюхову розетку.....	13
13.	Нюхова розетка розташовується на дні нюхової камери.....	14
–	Нюхова розетка розташована на медіальній стінці нюхової камери.....	14
14.	Нюхові ламели з'єднуються між собою та утворюють потовщений шов.....	15
–	У нюховій розетці ламели не утворюють шва.....	16
15.	Центральний шов видовжений.....	17 Особливості сполучення ламел між собою та нюховою камерою
–	Центральний шов короткий, округлий.....	17
16.	Між ламелами є лише сполучнотканинний видовжений тяж.....	17
–	Між ламелами – невелике зниження.....	17
17.	Нюхові ламели булавоподібні, невисокі.....	19
–	Нюхові ламели видовжені, високі.....	18
18.	Нюхові ламели мають пальцеподібні вирости.....	19 Морфологічна характеристика ламел
–	На нюхових ламелах можна виявити язикоподібні відростки.....	19
19.	Нюхові ламели однакового розміру та форми.....	20
–	Форма й розміри ламел у нюховій камері відрізняються.....	20
20.	Сенсорні клітини двох типів: війчасті та мікрроворсинчасті.....	21 Детальна характеристика кількості та розмірів сенсорних відростків
–	Сенсорні клітини мають 1 або 3 типи сенсорних клітин.....	21
21.	Можна чітко розділити ділянки сенсорних і несенсорних клітин.....	22
–	Різні типи сенсорних клітин розміщені хаотично.....	Додаткові особливості органа нюху
22.	Сенсорні клітини вистилають верхівку та грані ламел.....	Додаткові особливості органа нюху
–	Сенсорні клітини залягають між ламелами, вистилають нижню частину нюхових ламел.....	

рентного епітелію), носовий міст (шкірна складка щільної сполучної тканини, яка розділяє передню та задню ніздрі), передня носова трубка, нюхова камера (порожнина над нюховою розеткою), нюхова розетка (зі швом, який кріпиться до дна власне носового мішка з первинними ламелами, які відходять від шва), власне носовий мішок (об'єднує носову камеру та нюхову розетку), задня носова трубка та задня ніздря¹⁵⁴.

Ми вважаємо, що під час опису як дефінітивного органа нюху, так і його морфогенезу не варто розмежовувати поняття «передня носова трубка» та «передній носовий отвір», а також «задня носова трубка» та «задній носовий отвір». Передня ніздря в різних видів варіює в розмірі й формі та може мати вигляд трубки або простого отвору. Окрім того, дефінітивного вигляду ніздря набуває різними шляхами та на різних етапах онтогенезу. Тому ми вважаємо, що отвір передньої ніздрі та епітелій над нею доцільно об'єднувати в поняття «передня ніздря», а отвір задньої ніздрі та епітелій над нею – у поняття «задня ніздря»^{16, 61, 70}. Незважаючи на те, що передня ніздря може мати вигляд простого отвору або мати невеликий валик, вважаємо недоцільним вживати терміни «передня пора» й «задня пора» для позначення передньої та задньої ніздрі¹³⁹.

У більшості костистих риб передня й задня ніздрі формуються внаслідок утворення носового мосту, який розділяє отвір органа нюху на передню та задню ніздрі. До моменту формування носового мосту ми вважаємо некоректним називати єдиний отвір над нюховим епітелієм ніздрею, як у *Epinephelus fuscoguttatus* (Serranidae) та *Misgurnus anguillicaudatus* (Cobitidae)^{131, 155}, оскільки може виникнути хибне уявлення про те, що спочатку закладається одна ніздря і лише згодом – інша, як у коропазубоподібних¹⁵⁶, або що цей отвір залишається єдиною ніздрею впродовж життя риби, як у *Belone belone* (Belonidae)¹¹².

У процесі опису дефінітивних органів нюху зазначають, що нюхова розетка розміщена в «нюховій камері», «носовій камері», «носовій порожнині», «нюховій порожнині», «нюховому мішку» або «нюховій капсулі»^{14, 18, 77, 93, 157–160}. Ми вважаємо, що нюхова порожнина – це простір, який розміщений над нюховим епітелієм після прогинання нюхової плакоти, тобто після формування нюхової ямки. У результаті поглиблення нюхової ямки та формування над нею покрівлі внаслідок збільшення її медіального й латерального країв вона трансформується в нюхову камеру. Ми згодні з думкою, що передня та задня ніздрі утворюються в результаті змикання над нюховою ямкою носових виростів та формування носового мосту, і не підтримуємо погляди, згідно з якими ніздрі розділені шкірним клапаном чи міжніздревим епідермісом^{77, 106}.

Складовими елементами нюхової розетки є нюхові ламели, які вистелені нюховим епітелієм,

а не нюхові складки, як вважають Н. Пашенко та А. Касумян^{21, 81}. На нашу думку, термін «нюхові складки» неточно відображає структуру нюхових ламел, оскільки нюхова ламела виникає як потовщення нюхового епітелію, а не утворення складки.

Клітини, які ще не можна розрізнити на сенсорні та несенсорні, ми називаємо клітинами нюхової плакоти (плакодальними клітинами). Вважаємо, що назва «примітивний нюховий епітелій» щодо недиференційованих клітин у нюховій плакоті, як зазначають Y. Yamamoto та співавтори, є неточною, оскільки це не різновид типів епітелію, а одна зі стадій його диференціювання¹³⁹.

Вивчаючи епітелій нюхових ламел, J. Wilson та R. Westerman виділили такі типи клітин, як нюхові рецепторні клітини, підтримуючі клітини, слизові клітини, шаруваті клітини, базальні клітини¹⁶¹.

Ми замість терміна «рецепторні клітини» вживаємо «сенсорні», оскільки часто в літературі нюховий епітелій розділяють на два основні типи – сенсорний і несенсорний¹⁶². До сенсорних клітин належать війчасті та мікрворсинчасті клітини (див. рис. 2).

У роботах різних авторів для позначення цих типів клітин вживають різноманітні синоніми, зокрема:

- 1) війчасті, мікрворсинчасті рецепторні нейрони⁷⁰;
- 2) війчасті, мікрворсинчасті нюхові клітини¹⁶³;
- 3) війчасті та мікрворсинчасті нюхові рецепторні клітини^{77, 88, 159};
- 4) війчасті нюхові рецепторні клітини, невійчасті нюхові рецепторні клітини¹⁶⁴;
- 5) війчасті, мікрворсинчасті нейрони¹⁶⁵;
- 6) війчасті, мікрворсинчасті нюхові сенсорні нейрони³⁹.

Окрім того, у нюховому епітелії деяких видів риб виявлено криптові клітини, або криптові нейрони^{39, 70, 77, 163, 166, 167}, які не знайдено в досліджених нами видів риб.

Найчастіше підтримуючі клітини називають опорними клітинами^{75, 168}. Саме останній термін ми використовуємо в описі ультраструктури нюхового епітелію досліджуваних видів. Опорні клітини містять на своїй поверхні невеликі апікальні виступи, які іноді називають «нерегулярними виступами»⁷⁵ або апікальними частинками⁷⁷. Слизові клітини найчастіше розміщені в ділянках несенсорного епітелію. Іноді слизові клітини називають келихоподібними^{39, 71, 75, 77, 94, 169, 170} або слизовими келихоподібними⁸⁸.

Окрім війчастих несенсорних клітин, окремим типом клітин є несенсорні клітини, які переважно вистилають носові вирости, бічні стінки нюхової ямки, ділянку навколо нюхової ямки. Для їх позначення ми використовуємо термін «епідермальні

клітини з мікрогребенями», а не поняття «клітини з лабіринтоподібним рисунком гребенів», «багатошаровий епітелій із мікрогребенями у вигляді відбитків пальців» чи «клітини з лабіринтовими мікрогребенями»^{75, 77, 98, 171}.

Періодизація етапів розвитку органа нюху.

Як і більшість авторів, ми вважаємо, що орган нюху протягом морфогенезу проходить етапи нюхової плакоти, нюхової ямки та нюхової камери з ламелами. Натомість М. Matsuoka¹⁰⁶ відкидає етап нюхової ямки та вважає, що перша ламела утворюється на плагоді. Однак для виділення меж цих етапів застосовують різні підходи, що ускладнює порівняльний аналіз морфогенезу в різних видів риб.

У костистих риб нюхова плакота на ранніх стадіях розвитку покрита епідермісом. Згодом (найчастіше ще в ембріональний період) епідерміс над нюховою плакотою зникає. У такому випадку утворюється заглиблення на поверхні голови, при цьому нюхова плакота може мати округлий край, не прогинатися. Ми вважаємо, що нюхова ямка утворюється після інвагінації позбавленого епідермісу нюхового епітелію. На нашу думку, найкраще розрізнити момент зникнення епітелію над плакотою та інвагінацію стінки плакоти можна за допомогою дослідження гістопрепаратів нюхових структур методом світлової і скануючої електронної мікроскопії. Багато досліджень розвитку органа нюху риб ґрунтуються на аналізі лише скануючої електронної мікроскопії, за допомогою якої найчастіше можна спостерігати лише заглиблення на поверхні голови без розуміння механізму утворення нюхової ямки.

Інший механізм утворення ямки виявлено в *Acipenser baeri* та *Acipenser stellatus* (Acipenseridae). У них на ранніх етапах ембріонального розвитку невелика ямка на поверхні голови утворюється завдяки утворенню епідермісом підвищення (борта) навколо нюхової плакоти, яка залишається покритою епідермісом, а ямка розвивається після розриву епідермісу внаслідок прогинання плакоти¹¹⁰. Незрозумілим залишається твердження про те, що нюхова ямка розвивається на поверхні плакоти^{110, 111}. Ми вважаємо, що під час опису морфогенезу варто вважати нюхову плакоту та нюхову ямку окремими етапами розвитку органа нюху риб, щоб уникнути неточностей у процесі порівняння морфогенезу органа нюху в різних риб.

У *Psetta maxima* (Scophthalmidae) на момент вилуплення з'являється одночасно отвір в епідермісі та формується прогинання – це формування нюхової ямки¹⁰¹. В інших видів ці два процеси відбуваються послідовно. У такому випадку ми вважаємо, що зникнення епідермісу над нюхо-

50 мкм

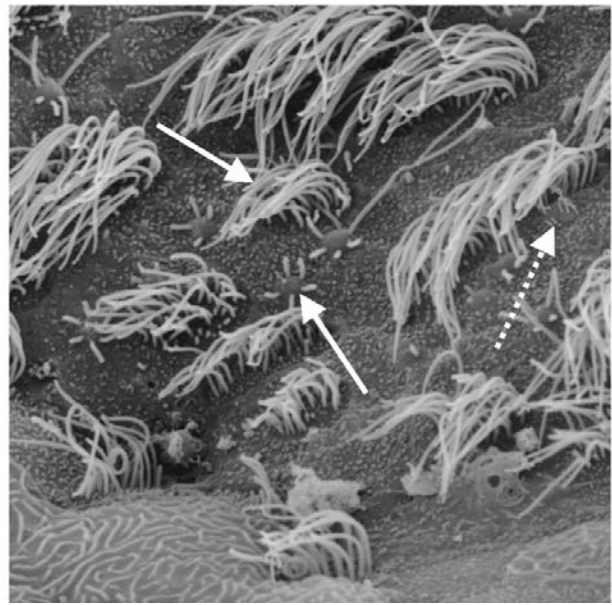


Рис. 2. Типи нюхових клітин (на прикладі *A. dolichopterus*). Скануюча електронна мікроскопія (оригінал): біла суцільна стрілка – війчасті сенсорні клітини; біла пунктирна лінія – мікрворсинчасті сенсорні клітини; біла штрихова стрілка – війчасті несенсорні клітини¹⁶²

вою плакотою є окремим етапом перед розвитком нюхової ямки, як зазначають А. Hansen та В. Zielinski^{39, 102}. Проте ми не згодні з Н. Пащенко та А. Касумяном, які вважають, що резорбція епідермісу та подальше прогинання епітелію – це два етапи розвитку нюхової порожнини^{21, 39, 102}. На нашу думку, неточним є також вживання Н. Пащенко, А. Касумяном¹¹¹ та R. Elston зі співавторами¹³⁵ терміна «нюхова ямка» за наявності плоскої поверхні нюхового епітелію, яка контактує із зовнішнім середовищем.

Можливо, деякі автори термін «нюхова ямка» використовують у разі виявлення диференційованих сенсорних клітин, проте ми розділяємо думку S. Appelbaum та співавторів¹¹⁶, М. Matsuoka¹⁰⁶, які виявляють перші диференційовані клітини на плоскій поверхні нюхової плакоти без констатування утворення нюхової ямки. На нашу думку, початок формування нюхової ямки – це прогинання нюхових клітин на поверхні плакоти. Така ж ситуація описана під час вивчення розвитку органа нюху в *Thunnus orientalis* (Scombridae) та *Phoxinus phoxinus* (Cyprinidae)^{81, 119}.

Перехід органа нюху зі стадії нюхової ямки у стадію нюхової камери відбувається за поглиблення нюхової ямки та звуження отвору над нюховою порожниною внаслідок утворення

носових виростів. В *Oncorhynchus clarkii* (Salmonidae), *Salmo gairdneri* (Salmonidae), *Polyprion oxygeneios* (Polyprionidae) під час морфогенезу органа нюху виокремлюють етап «нюхового жолоба»^{105, 129, 172}. Ми вважаємо, що жолоб є не окремим етапом розвитку нюхового органа, а лише перехідним періодом між етапами нюхової ямки та нюхової камери. Оскільки нюховий жолоб формується внаслідок видовження нюхової ямки в ростро-каудальному напрямі та більше ніяких структурних змін органа нюху не спостерігається, вважаємо недоцільним виділяти його в окремий етап. Крім того, більшість авторів не виділяють цей етап розвитку та відносять його до етапу розвитку нюхової ямки.

Висновки

У роботі уточнено термінологію, яку варто використовувати у процесі опису дефінітивного органа

нюху, та критерії для ідентифікації стадій його морфогенезу. Виділено окремі морфологічні критерії, на які необхідно звернути увагу під час опису дефінітивного органа нюху. Важливим у процесі опису дефінітивного органа нюху є поетапний опис його морфології: зовнішніх ніздрів, нюхової камери, нюхової розетки, нюхових ламел, нюхового епітелію. Такий підхід дасть змогу здійснити порівняльно-морфологічне дослідження нюхового аналізатора не лише для риб, а й в еволюційному ряді хребетних.

Перспективи подальших досліджень

Надалі плануємо працювати над узагальненням морфогенезу органа нюху та його морфології в уже досліджених видів за запропонованим нами алгоритмом. Такий підхід дасть змогу здійснити порівняльно-морфологічне дослідження нюхового аналізатора в еволюційному ряді хребетних.

Література

- (1) Kotrschal, K.; Van Staaden, M.; Huber, R. Fish Brains: Evolution and Anvironmental Relationships. *Rev. Fish Biol. Fish.* **1998**, 8 (4), 373–408.
- (2) Eastman, J.; Lannoo, M. Brain and Sense Organ Anatomy and Histology in Hemoglobinless Antarctic Icefishes (Perciformes: Notothenioidei: Channichthyidae). *J. Morphol.* **2004**, 260 (1), 117–140.
- (3) Дорошенко, М.; Коровина, А. Морфофизиологическое исследование органов обоняния бурого терпуга *Hexagrammos octogrammus* (Scorpaeniformes). *Научные труды Дальрыбвтуза.* **2013**, с. 3–6.
- (4) Клименков, И.; Пастухов, М.; Судаков, Н.; Шишлянников, С.; Косицын, Н. Адаптивные ультраструктурные особенности обонятельных рецепторных клеток у глубоководных рыб озера Байкал. *Сенсорные системы* **2013**, 27 (4), 350–363.
- (5) Webb, J.; Collin, S.; Kuciel, M.; Schulz-Mirbach, T.; Żuwala, K.; Denizot, J.-P.; Kirschbaum, F. Sensory Organs. *The histology of fishes* / ed. by F. Kirschbaum, K. Formicki. Boca Raton, FL: CRC Press, **2019**; pp. 267–338.
- (6) Kuciel, M.; Żuwala, K.; Rita, E. The Structural Organization in the Olfactory System of the Teleosts and Garfishes. *Phylogeny, Anatomy and Physiology of Ancient Fishes* / G. Zoccone, K. Dabrowski, M. Hedrick, J. Fernandes, J. Icardo. Boca Raton: CRC Press, **2015**; pp. 260–271.
- (7) Sarkar, S.; Acharya, A.; Jana, S.; De, S. Macro-Anatomical Variation of the Olfactory Apparatus in Some Indian Teleosts with Special Reference to Their Ecological Habitat. *Folia Morphol.* **2014**, 73 (2), 7.
- (8) Cox, J. Hydrodynamic Aspects of Fish Olfaction. *J. R. Soc. Interface* **2008**, 5 (23), 575–593. <https://doi.org/10.1098/rsif.2007.1281>.
- (9) Olivares, J.; Schmachtenberg, O. An Update on Anatomy and Function of the Teleost Olfactory System. *PeerJ*, **2019**, 7, e7808. <https://doi.org/10.7717/peerj.7808>.
- (10) Dymek, J.; Kuciel, M.; Żuwala, K. Structural Diversity of Olfactory Organs in Osteoglossiformes. *J. Zool.*, **2020**. <https://doi.org/10.1111/jzo.12854>.
- (11) Arvedlund, M.; Brolund, T.; Nielsen, L. Morphology and Cytology of the Olfactory Organs in Small Juvenile *Dascyllus Aruanus* and *Amphiprion Ocellaris* (Pisces: Pomacentridae). *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **2003**, 83 (6), 1321–1326.
- (12) Arvedlund, M.; Takemura, A. The Importance of Chemical Environmental Cues for Juvenile *Lethrinus Nebulosus* Forsskål (Lethrinidae, Teleostei) When Settling into Their First Benthic Habitat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **2006**, 338 (1), 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2006.07.001>.
- (13) Arvedlund, M.; Takemura, A. Scanning Electron Microscopy of the Peripheral Olfactory Organ in Small and Large Juvenile *Apogon Cyanosoma* (Apogonidae: Teleostei). *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **2005**, 85 (05), 1231–1234.
- (14) Fishelson, L.; Golani, D.; Galil, B.; Goren, M. Comparison of the Nasal Olfactory Organs of Various Species of Lizardfishes (Teleostei: Aulopiformes: Synodontidae) with Additional Remarks on the Brain. *Int. J. Zool.*, **2010**, 2010, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2010/807913>.
- (15) Goel, H. Functional Anatomy of the Olfactory Organ in the Fresh Water Teleost, *Heteropneustes Fossilis* (BL.). *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, **1978**, 55 (5), 289–299.

- (16) Kuciel, M.; Żuwala, K.; Rita, E. The Structural Organization in the Olfactory System of the Teleosts and Garfishes. *Phylogeny, Anatomy and Physiology of Ancient Fishes* / G. Zoccone, K. Dabrowski, M. Hedrick, J. Fernandes, J. Icardo. Boca Raton: CRC Press, **2015**; pp. 260–271.
- (17) Moran, D.; Rowley, J.; Aiken, G.; Jafek, B. Ultrastructural Neurobiology of the Olfactory Mucosa of the Brown Trout, *Salmo Trutta*. *Microsc. Res. Tech.*, **1992**, *23* (1), 28–48. <https://doi.org/10.1002/jemt.1070230104>.
- (18) Zeiske, E.; Kasumyan, A.; Bartsch, P.; Hansen, A. Early Development of the Olfactory Organ in Sturgeons of the Genus *Acipenser*: A Comparative and Electron Microscopic Study. *Anat. Embryol. (Berl.)*, **2003**, *206* (5), 357–372. <https://doi.org/10.1007/s00429-003-0309-6>.
- (19) Zeiske, E.; Theisen, B.; Breucker, H. The Olfactory Organ of the Hardhead Sea Catfish, *Arius Felis* (L.): Gross Morphology and Fine Structure. *Acta Zool.*, **1994**, *75* (2), 115–123.
- (20) Zeiske, E.; Theisen, B.; Breucker, H. Structure, Development, and Evolutionary Aspects of the Peripheral Olfactory System. *Fish Chemoreception* / T. Hara. London: Chapman & Hall, 1992; pp. 13–39.
- (21) Пащенко, Н.; Касумян, А. Морфо-функциональные особенности развития органа обоняния карповых рыб (Cypriniformes, Cyprinidae). I. Развитие морфологии и функции органа обоняния в онтогенезе белого амура *Stenopharyngodon idella*. *Вопросы ихтиологии*, **1986**, *26* (2), 303–317.
- (22) Yamamoto, Y.; Mori, M.; Amano, M.; Yamanome, T.; Saito, S.; Taniguchi, K.; Yamaromi, K.; Taniguchi, K. Morphogenesis of the Olfactory Pit in a Flatfish, Barfin Flounder (*Verasper Moseri*). *J. Vet. Med. Sci.*, **2004**, *66* (10), 1275–1278. <https://doi.org/10.1292/jvms.66.1275>.
- (23) Lim, L.-S.; Mukai, Y. Morphogenesis of Sense Organs and Behavioural Changes in Larvae of the Brown-Marbled Grouper *Epinephelus Fuscoguttatus* (Forsskal). *Mar. Freshw. Behav. Physiol.*, **2014**, *47* (5), 313–327. <https://doi.org/10.1080/10236244.2014.940689>.
- (24) Gao, L.; Duan, M.; Cheng, F.; Xie, S. Ontogenetic Development in the Morphology and Behavior of Loach (*Misgurnus Anguillicaudatus*) during Early Life Stages. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **2014**, *32* (5), 973–981. <https://doi.org/10.1007/s00343-014-3302-4>.
- (25) Tytiuk, O.; Yaryhin, O.; Stepanyuk, Y. New Type of Development of Olfactory Rosette of Bushymouth Catfish *Ancistrus Dolichopterus* (Teleostei: Loricariidae). *Journal of Morphology*, **2019**, *280*, 231. <https://doi.org/10.1002/jmor.21003>.
- (26) Dymek, J.; Rosenqwert, G.; Kuciel, M.; Lauriano, E.; Capillo, G.; Zacccone, G.; Żuwala, K. Micro- and Macro-Morphology of the Olfactory Organ of *Syngnathus Typhle* (Syngnathidae, Actinopterygii): Micro- and Macro-Morphology of the Olfactory Organ of *Syngnathus Typhle* (Syngnathidae, Actinopterygii). *Acta Zool.*, **2020**. <https://doi.org/10.1111/azo.12328>.
- (27) Zhang, X.-Y.; Huang, Z.-Q.; Ning, T.; Xiang, X.-H.; Li, C.-Q.; Chen, S.-Y.; Xiao, H. Microscopic and Submicroscopic Gradient Variation of Olfactory Systems among Six *Sinocyclocheilus* Species Living in Different Environments. *Zoolog. Sci.*, **2018**, *35* (5), 411–420. <https://doi.org/10.2108/zs170126>.
- (28) Tytiuk, O.; Stepanyuk, Y.; Yaryhin, O. The Influence of Fixatives on the Validity of Histological Preparations of Olfactory Organ in Teleostei. *Vestn. Zool.*, **2018**, *52* (6), 521–528. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2018-0053>.
- (29) Tytiuk, O.; Stepanyuk, Y. Macromorphology of Olfactory Organ of European Weatherfish *Misgurnus Fossilis*. *Zoolog Sci.*, **2017**, *2* (14), 106–109.
- (30) Camacho, S.; Ostos-Garrido, M.; Domezain, A.; Carmona, R. Study of the Olfactory Epithelium in the Developing Sturgeon. Characterization of the Crypt Cells. *Chem. Senses*, **2010**, *35* (2), 147–156. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp091>.
- (31) Cobcroft, J.; Pankhurst, P. Sensory Organ Development in Cultured Striped Trumpeter Larvae *Latris Lineata*: Implications for Feeding Behaviour. *Mar. Freshw. Res.*, **2003**, *54* (5), 669–682.
- (32) Geerinckx, T.; Adriaens, D. Ontogeny of the Suspensorial and Opercular Musculature in the Suckermouth Armoured Catfish *Ancistrus* Cf. *Triradiatus* (Loricariidae, Siluriformes). *Zoomorphology*, **2008**, *127* (2), 83–95. <https://doi.org/10.1007/s00435-007-0054-0>.
- (33) Kudo, H.; Shinto, M.; Sakurai, Y.; Kaeriyama, M. Morphometry of Olfactory Lamellae and Olfactory Receptor Neurons during the Life History of Chum Salmon (*Oncorhynchus Keta*). *Chem. Senses*, **2009**, *34* (7), 617–624. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp042>.
- (34) Титюк, О.; Степанюк, Я. Новый тип розвитку нюхової розетки в анциструса звичайного *Ancistrus Dolichopterus*. *Lesya Ukr. East. Eur. Natl. Univ. Sci. Bull. Ser. Biol. Sci.*, **2018**, *4* (377), 77–85. <https://doi.org/10.29038/2617-4723-2018-377-77-85>.
- (35) Hansen, A.; Zielinski, B. Diversity in the Olfactory Epithelium of Bony Fishes: Development, Lamellar Arrangement, Sensory Neuron Cell Types and Transduction Components. *J. Neurocytol.*, **2005**, *34* (3–5), 183–208.

- (36) Kasumyan, A. The Olfactory System in Fish: Structure, Function, and Role in Behavior. *J. Ichthyol.*, **2004**, *44* (2), 180–223.
- (37) Cox, J. Hydrodynamic Aspects of Fish Olfaction. *J. R. Soc. Interface*, **2008**, *5* (23), 575–593. <https://doi.org/10.1098/rsif.2007.1281>.
- (38) Kasumyan, A. The Olfactory System in Fish: Structure, Function, and Role in Behavior. *J. Ichthyol.*, **2004**, *44* (2), 180–223.
- (39) Hansen, A.; Zielinski, B. Diversity in the Olfactory Epithelium of Bony Fishes: Development, Lamellar Arrangement, Sensory Neuron Cell Types and Transduction Components. *J. Neurocytol.*, **2005**, *34* (3–5), 183–208.
- (40) Bateson, W. The Sense-Organs and Perceptions of Fishes; with Remarks on the Supply of Bait. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **1890**, *1* (3), 225–256.
- (41) Burne, R. The Anatomy of the Olfactory Organ of Teleostean Fishes. *Proc. Zool. Soc.*, 1909, *2*, 610–663.
- (42) Reinke, W. Zur Ontogenie Und Anatomie Des Geruchsorgans Der Knochenfische. *Z. Für Anat. Entwicklungsgeschichte*, **1936**, *106* (5), 600–624.
- (43) Teichmann, H. Vergleichende Untersuchungen an Der Nase Der Fische. *Zoomorphology*, **1954**, *43* (2), 171–212.
- (44) Bateson, W. The Sense-Organs and Perceptions of Fishes; with Remarks on the Supply of Bait. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **1890**, *1* (3), 225–256.
- (45) Liermann, K. Über Den Bau Des Geruchsorgans Der Teleostier. *Z. Für Anat. Entwicklungsgeschichte*, **1933**, *100* (1), 1–39.
- (46) Bertmar, G. The Vertebrate Nose, Remarks on Its Structural and Functional Adaptation and Evolution. *Evolution*, **1969**, *23* (1), 131. <https://doi.org/10.2307/2406489>.
- (47) Kleerekoper, H. *Olfaction in Fish*. Bloomington: Indiana University Press., **1969**.
- (48) Hara, T. Chemoreception. *Fish physiology*, **1971**, *5*, 79–120.
- (49) Hara, T. Olfaction in Fish. *Prog. Neurobiol.*, **1975**, *5*, 271–335.
- (50) Hara, T. Role of Olfaction in Fish Behaviour. *The behaviour of teleost fishes* / T. Pitcher. New York: Springer US, 1986; vol. 1, pp. 152–176.
- (51) Belanger, R.; Smith, C.; Corkum, L.; Zielinski, B. Morphology and Histochemistry of the Peripheral Olfactory Organ in the Round Goby, *Neogobius melanostomus* (Teleostei: Gobiidae). *J. Morphol.*, **2003**, *257* (1), 62–71. <https://doi.org/10.1002/jmor.10106>.
- (52) Diaz, J.; Prié-Granié, M.; Blasco, C.; Noëll, T.; Connes, R. Ultrastructural Study of the Olfactory Organ in Adult and Developing European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*. *Can. J. Zool.*, **2002**, *80* (9), 1610–1622. <https://doi.org/10.1139/z02-162>.
- (53) Kim, H.-T.; Park, J.-Y. The Anatomy and Histoarchitecture of the Olfactory Organ in the Korean Flat-Headed Goby *Luciogobius guttatus* (Pisces; Gobiidae). *Appl. Microsc.*, **2016**, *46* (1), 51–57. <https://doi.org/10.9729/AM.2016.46.1.51>.
- (54) Kuciel, M. The Mechanism of Olfactory Organ Ventilation in *Periophthalmus barbarus* (Gobiidae, Oxudercinae). *Zoomorphology*, **2013**, *132* (1), 81–85. <https://doi.org/10.1007/s00435-012-0167-y>.
- (55) Kuciel, M.; Żuwała, K.; Jakubowski, M. A New Type of Fish Olfactory Organ Structure in *Periophthalmus barbarus* (Oxudercinae): Olfactory Organs of *Periophthalmus barbarus*. *Acta Zool.*, **2011**, *92* (3), 276–280. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2010.00459.x>.
- (56) Yamamoto, M. Comparative Morphology of the Peripheral Olfactory Organ in Teleosts. *Chemoreception in Fishes* / T. Hara. Amsterdam: Elsevier, **1982**; pp. 39–59.
- (57) Caprio, J.; Raderman-Little, R. Scanning Electron Microscopy of the Channel Catfish Olfactory Lamellae. *Tissue Cell*, **1978**, *10* (1), 1–9.
- (58) Hansen, A.; Reutter, K. Chemosensory Systems in Fish: Structural, Functional and Ecological Aspects. *The senses of fish*. Dordrecht: Springer, 2004; pp. 55–89.
- (59) Kuciel, M. The Mechanism of Olfactory Organ Ventilation in *Periophthalmus barbarus* (Gobiidae, Oxudercinae). *Zoomorphology*, **2013**, *132* (1), 81–85. <https://doi.org/10.1007/s00435-012-0167-y>.
- (60) Zeiske, E.; Breucker, H.; Melinkat, R. Gross Morphology and Fine Structure of the Olfactory Organ of Rainbow Fish (Atheriniformes, Melanotaeniidae). *Acta Zool.*, **1979**, *60* (3), 173–186.
- (61) Kim, H.-T.; Park, J.-Y. The Anatomy and Histoarchitecture of the Olfactory Organ in the Korean Flat-Headed Goby *Luciogobius guttatus* (Pisces; Gobiidae). *Appl. Microsc.*, **2016**, *46* (1), 51–57. <https://doi.org/10.9729/AM.2016.46.1.51>.
- (62) Atta, K. Morphological, Anatomical and Histological Studies on the Olfactory Organs and Eyes of Teleost Fish: *Anguilla anguilla* in Relation to Its Feeding Habits. *J. Basic Appl. Zool.*, **2013**, *66* (3), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2013.10.002>.

- (63) Fishelson, L. Comparative Morphology and Cytology of the Olfactory Organs in Moray Eels with Remarks on Their Foraging Behavior. *Anat. Rec.*, **1995**, 243 (4), 403–412.
- (64) Holl, A.; Schulte, E.; Meinel, W. Funktionelle Morphologie des Geruchsorgans und Histologie der Kopfanhänge der Nasenmuräne *Rhinomuraena ambonensis* (Teleostei, Anguilliformes). *Helgoländer Wiss. Meeresunters.*, **1970**, 21 (1–2), 103–123. <https://doi.org/10.1007/BF01630519>.
- (65) Harvey, R. The Olfactory Epithelium in Plaice (*Pleuronectes Platessa*) and Sole (*Solea Solea*), Two Flatfishes with Contrasting Feeding Behaviour. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **1996**, 76 (01), 127–139.
- (66) Ma, A.; Wang, X. Functional Morphology of the Olfactory Organ of the Tongue Sole, *Cynoglossus Semilaevis*. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **2010**, 28(2), 209–217. <https://doi.org/10.1007/s00343-010-9006-5>.
- (67) Lazzari, M.; Bettini, S.; Ciani, F.; Franceschini, V. Light and Transmission Electron Microscopy Study of the Peripheral Olfactory Organ of the Guppy, *Poecilia Reticulata* (Teleostei, Poeciliidae). *Microsc. Res. Tech.*, **2007**, 70 (9), 782–789.
- (68) Solger, B. Notiz über die Nebenhöhle des Geruchsorgans von *Gasterosteus aculeatus* L. *Z Wiss Zool*, **1894**, 57, 186.
- (69) Theisen, B. Functional Morphology of the Olfactory Organ in *Spinachia Spinachia* (L.) (Teleostei, Gasterosteidae). *Acta Zool.*, **1982**, 63 (4), 247–254.
- (70) Adair, B.; Purser, G.; Patil, J. Peripheral Olfactory Structures and Maturity-Related Crypt Receptor Neuron Kinetics in the Olfactory Epithelium of Carp *Cyprinus Carpio* (L.): Implications for Carnal Vulnerability and Pest Management. *Mar. Freshw. Res.*, **2018**, 69 (10), 1604–1613. <https://doi.org/10.1071/MF17386>.
- (71) Bhute, Y.; Baile, V. Organization of the Olfactory System of the Indian Major Carp *Labeo Rohita* (Ham.): A Scanning and Transmission Electron Microscopy Study. *J. Evol. Biochem. Physiol.*, **2007**, 43 (3), 342–349. <https://doi.org/10.1134/S002209300703009X>.
- (72) Branson, B. The Olfactory Apparatus of *Hybopsis Gelida* (Girard) and *Hybopsis Aestivalis* (Girard) (Pisces: Cyprinidae). *J. Morphol.*, **1963**, 113 (2), 215–229.
- (73) Chakrabarti, P.; Ghosh, S. Histoarchitecture and Scanning Electron Microscopic Studies of the Olfactory Epithelium in the Exotic Fish *Puntius Javanicus* (Bleeker). *Arch. Pol. Fish.*, **2010**, 18 (3). <https://doi.org/10.2478/v10086-010-0019-7>.
- (74) Ghosh, S.; Chakrabarti, P. Histomorphological and Microanatomical Characteristics of the Olfactory Organ of Freshwater Carp, *Cirrhinus Reba* (Hamilton). *Arch. Pol. Fish.*, **2016**, 24 (4), 201–208. <https://doi.org/10.1515/aopf-2016-0017>.
- (75) Hansen, A.; Zeiske, E. The Peripheral Olfactory Organ of the Zebrafish, *Danio Rerio*: An Ultrastructural Study. *Chem Senses*, **1998**, 23, 39–48.
- (76) Kumari, K. Morphology and Morphometry of the Olfactory Rosette of a Teleostean Fish: *Catla Catla* (Ham.). *Our Nat.*, **2008**, 6 (1).
- (77) Mokhtar, D.; Abd-Elhafiez, H. Light- and Electron-Microscopic Studies of Olfactory Organ of Red-Tail Shark, *Epalzeorhynchus Bicolor* (Teleostei: Cyprinidae). *J. Microsc. Ultrastruct.*, **2014**, 2 (3), 182–195. <https://doi.org/10.1016/j.jmau.2014.05.003>.
- (78) Ojha, P.; Kapoor, A. Structure and Function of the Olfactory Apparatus in the Fresh-Water Carp, *Labeo Rohita* Ham. *Buch. J. Morphol.*, **1973**, 140 (1), 77–85.
- (79) Singh, N. Scanning Electron Microscopic Study of the Olfactory Epithelium of Four Coldwater Hillstream Teleosts from Garhwal Hills (India). *J. Biosci.*, **1994**, 19 (1), 91–102.
- (80) Waryani, B.; Zhao, Y.; Zhang, C.; Abbasi, A.; Ferrando, S.; Dai, R.; Soomro, A.; Baloch, W.; Abbas, G. Surface Architecture of the Olfactory Epithelium of Two Chinese Cave Loaches (Cypriniformes: Nemacheilidae: *Oreonectes*). *Ital. J. Zool.*, **2015**, 82 (2), 179–185. <https://doi.org/10.1080/11250003.2015.1018851>.
- (81) Пашенко, Н.; Касумян, А. Некоторые морфофункциональные особенности развития органа обоняния в онтогенезе голяна *Phoxinus phoxinus* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Зоологический журнал*, **1983**, 62 (3), 367–377.
- (82) Bertmar, G. Ecostructural Studies on Olfactory Organ in Young and Adult Sea Trout (Osteichthyes, Salmonidae). *Zoomorphology*, **1972**, 72 (4), 307–330.
- (83) Pfeiffer, W. The Morphology of the Olfactory Organ of the Pacific Salmon (*Oncorhynchus*). *Can. J. Zool.*, **1963**, 41 (7), 1233–1236.
- (84) Belanger, R.; Smith, C.; Corkum, L.; Zielinski, B. Morphology and Histochemistry of the Peripheral Olfactory Organ in the Round Goby, *Neogobius Melanostomus* (Teleostei: Gobiidae). *J. Morphol.*, **2003**, 257 (1), 62–71. <https://doi.org/10.1002/jmor.10106>.
- (85) Chakrabarti, P.; Ghosh, S. Histological and Ultrastructural Studies of the Olfactory Epithelium of Spotted Butter Fish *Scatophagus Argus* (Linnaeus). *Folia Morphol.*, **2010**, 69 (1), 24–29.

- (86) Diaz, J.; Prié-Granié, M.; Blasco, C.; Noëll, T.; Connes, R. Ultrastructural Study of the Olfactory Organ in Adult and Developing European Sea Bass, *Dicentrarchus Labrax*. *Can. J. Zool.*, **2002**, *80* (9), 1610–1622. <https://doi.org/10.1139/z02-162>.
- (87) Eastman, J.; Lannoo, M. Brain and Sense Organ Anatomy and Histology in Hemoglobinless Antarctic Icefishes (Perciformes: Notothenioidei: Channichthyidae). *J. Morphol.*, **2004**, *260* (1), 117–140.
- (88) Kuciel, M.; Żuwała, K.; Jakubowski, M. A New Type of Fish Olfactory Organ Structure in *Periophthalmus Barbarus* (Oxudercinae): Olfactory Organs of *Periophthalmus Barbarus*. *Acta Zool.*, **2011**, *92* (3), 276–280. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2010.00459.x>.
- (89) Pfeiffer, W. The Morphology of the Olfactory Organ of *Hoplopagrus Guentheri* Gill 1862. *Can. J. Zool.*, **1964**, *42* (2), 235–237.
- (90) Ralph, R.; Kawamura, G. Olfactory Organs of Two Pelagic Teleost Fish-Opah (*Lampris Guttatus*) and Dolphin Fish (*Coryphaena Hippurus*). *S. Pac. Study*, **2002**, *22* (2), 54.
- (91) Bandhyopadhyay, S.; Datta, N. Surface Ultrastructure of the Olfactory Rosette of an Air-Breathing Catfish, *Heteropneustes Fossilis* (Bloch). *J. Biosci.*, **1998**, *23* (5), 617–622.
- (92) Ghosh, S.; Chakrabarti, P. Cellular Architecture and Functional Aspects of the Olfactory Rosette of *Wallago Attu* (Bleeker). *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.*, **2009**, *9* (2).
- (93) Ghosh, S.; Chakrabarti, P. Morphological and Histochemical Studies on the Olfactory Rosette of Bagrid Catfish, *Rita Kuturnee* (Sykes, 1839). *Mesopot J Mar Sci.*, **2016**, *31* (1), 15–28.
- (94) Theisen, B.; Zeiske, E.; Silver, W.; Marui, T.; Caprio, J. Morphological and Physiological Studies on the Olfactory Organ of the Striped Eel Catfish, *Plotosus Lineatus*. *Mar. Biol.*, **1991**, *110* (1), 127–135.
- (95) Trajano, E. Comparative Study of the Brain and Olfactory Organ of the Troglolitic Catfish, *Pimelodella Kronei* (Ribeiro 1907), and Its Putative Ancestor, *P. Transitoria* (Ribeiro 1912) (Siluriformes Pimelodidae). *Trop. Zool.*, **1994**, *7* (1), 145–160. <https://doi.org/10.1080/03946975.1994.10539248>.
- (96) Eastman, J.; Lannoo, M. Anatomy and Histology of the Brain and Sense Organs of the Antarctic Eel Cod *Muraenolepis Microps* (Gadiformes; Muraenolepididae). *J. Morphol.*, **2001**, *250* (1), 34–50. <https://doi.org/10.1002/jmor.1057>.
- (97) Девицина, Г. Морфология органов обоняния тресковых (сем. Gadidae). *Вопросы ихтиологии*, **1972**, *12* (6), 1094–1103.
- (98) Malick, C.; Chatterjee, S.; Bhattacharya, S.; Suresh, V.; Kundu, R.; Saikia, S. Structural Organization of the Olfactory Organ in an Amphihaline Migratory Fish Hilsa, *Tenualosa Ilisha*. *Microsc. Res. Tech.*, **2018**, *81*, 1122–1131. <https://doi.org/10.1002/jemt.23095>.
- (99) Hoffmann, C. Zur Ontogenie der Knochenfische. *Arch. Für Mikrosk. Anat.*, **1883**, *23* (1), 45–108. <https://doi.org/10.1007/BF02952305>.
- (100) Breucker, H.; Zeiske, E.; Melinkat, R. Development of the Olfactory Organ in the Rainbow Fish *Nematocentris Macculochi* (Atheriniformes, Melanotaeniidae). *Cell Tissue Res.*, **1979**, *200*, 53–68.
- (101) Doldan, M.; Cid, P.; Mantilla, L.; de Miguel Villegas, E. Development of the Olfactory System in Turbot (*Psetta Maxima* L.). *J. Chem. Neuroanat.*, **2011**, *41* (3), 148–157.
- (102) Hansen, A.; Zeiske, E. Development of the Olfactory Organ in the Zebrafish, *Brachydanio Rerio*. *J. Comp. Neurol.*, **1993**, *333* (2), 289–300.
- (103) Hara, T.; Zielinski, B. Structural and Functional Development of the Olfactory Organ in Teleosts. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **1989**, *118* (2), 183–194. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1989\)118<0183:SAFDOT>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1989)118<0183:SAFDOT>2.3.CO;2).
- (104) Hu, Y.; Majoris, J.; Buston, P.; Webb, J. Potential Roles of Smell and Taste in the Orientation Behavior of Coral-Reef Fish Larvae: Insights from Morphology. *J. Fish Biol.*, **2018**, *2018*, 1–13. <https://doi.org/10.1111/jfb.13793>.
- (105) Jahn, L. Development of the Olfactory Apparatus of the Cutthroat Trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **1972**, *101* (2), 284–289. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1972\)101<284:DOTOAO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1972)101<284:DOTOAO>2.0.CO;2).
- (106) Matsuoka, M. Development of Sense Organs in the Japanese Sardine *Sardinops Melanostictus*. *Fish. Sci.*, **2001**, *67* (6), 1036–1045. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00359.x>.
- (107) Mukai, Y.; Tuzan, A.; Lim, L.; Wahid, N.; Sitti Raehanah, M.; Senoo, S. Development of Sensory Organs in Larvae of African Catfish *Clarias Gariepinus*. *J. Fish Biol.*, **2008**, *73* (7), 1648–1661. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02038.x>.
- (108) Werner, R.; Lannoo, M. Development of the Olfactory System of the White Sucker, *Catostomus Commersoni*, in Relation to Imprinting and Homing: A Comparison to the Salmonid Model. *Environ. Biol. Fishes*, **1994**, *40* (2), 125–140.
- (109) Zeiske, E.; Bartsch, P.; Hansen, A. Early Ontogeny of the Olfactory Organ in a Basal Actinopterygian Fish: *Polypterus*. *Brain. Behav. Evol.*, **2009**, *73* (4), 259–272. <https://doi.org/10.1159/000228162>.

- (110) Девицина, Г.; Кажлаев, А. Развитие хемосенсорных органов у сибирского осетра *Acipenser baeri* и севрюги *A. stellatus*. *Вопросы ихтиологии*, **1992**, 32 (5), 167–175.
- (111) Пашенко, Н.; Касумян, А. Исследование формирования органа обоняния в раннем онтогенезе пелагофильной карповой рыбы – белого толстолоба *Hypophthalmichthys molitrix*. *Материалы Всероссийской конференции с международным участием*. Борок, 2012; с. 287–291.
- (112) Theisen, B.; Breucker, H.; Zeiske, E.; Melinkat, R. Structure and Development of the Olfactory Organ in the Garfish *Belone Belone* (L.) (Teleostei, Atheriniformes). *Acta Zool.*, **1980**, 61 (3), 161–170.
- (113) Liermann, K. Über Den Bau Des Geruchsorgans Der Teleostier. *Z. Für Anat. Entwicklungsgeschichte*, **1933**, 100 (1), 1–39.
- (114) Девицина, Г. Развитие органов химической рецепции в онтогенезе обыкновенной щуки *Esox lucius*. *Вопросы ихтиологии*, **1998**, 38 (4), 537–547.
- (115) Пашенко, Н.; Касумян, А. Развитие органа обоняния в онтогенезе карповых рыб (Cyprinidae). *Вопросы ихтиологии*, **2017**, 57 (1), 96–111. <https://doi.org/10.7868/S0042875217010106>.
- (116) Appelbaum, S.; Adron, J.; George, S.; Mackie, A.; Pirie, B. On the Development of the Olfactory and the Gustatory Organs of the Dover Sole, *Solea Solea*, during Metamorphosis. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **1983**, 63 (01), 97–108.
- (117) Arvedlund, M.; Larsen, K.; Winsor, H. The Embryonic Development of the Olfactory System in Amphiprion *Melanopus* (Perciformes: Pomacentridae) Related to the Host Imprinting Hypothesis. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **2000**, 80 (06), 1103–1109.
- (118) Cobcroft, J.; Pankhurst, P. Sensory Organ Development in Cultured Striped Trumpeter Larvae *Latris Lineata*: Implications for Feeding Behaviour. *Mar. Freshw. Res.*, **2003**, 54 (5), 669–682.
- (119) Kawamura, G.; Masuma, S.; Tezuka, N.; Koiso, M.; Jinbo, T.; Namba, K. Morphogenesis of Sense Organs in the Bluefin Tuna *Thunnus Orientalis*. *The Big Fish Bang*. Bergen: Institute of Marine Research, 2003; pp. 123–135.
- (120) Pashchenko, N.; Kasumyan, A. Scanning Electron Microscopy of Development of the Olfactory Organ in Ontogeny of Grass Carp *Ctenopharyngodon Idella*. *J. Ichthyol.*, **2015**, 55 (6), 880–899. <https://doi.org/10.1134/S0032945215060132>.
- (121) Olsén, K. Development of the Olfactory Organ of the Arctic Charr, *Salvelinus Alpinus* (L.) (Teleostei, Salmonidae). *Can. J. Zool.*, **1993**, 71 (10), 1973–1984.
- (122) Hansen, A.; Zeiske, E. Development of the Olfactory Organ in the Zebrafish, *Brachydanio Rerio*. *J. Comp. Neurol.*, **1993**, 333 (2), 289–300.
- (123) Harvey, R. The Olfactory Epithelium in Plaice (*Pleuronectes Platessa*) and Sole (*Solea Solea*), Two Flatfishes with Contrasting Feeding Behaviour. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **1996**, 76 (01), 127–139.
- (124) Kawamura, G.; Masuma, S.; Tezuka, N.; Koiso, M.; Jinbo, T.; Namba, K. Morphogenesis of Sense Organs in the Bluefin Tuna *Thunnus Orientalis*. *The Big Fish Bang*. Bergen: Institute of Marine Research, 2003; pp. 123–135.
- (125) Девицина, Г.; Кажлаев, А. Развитие хемосенсорных органов у сибирского осетра *Acipenser baeri* и севрюги *A. stellatus*. *Вопросы ихтиологии*, **1992**, 32 (5), 167–175.
- (126) Matsuoka, M. Development of Sense Organs in the Japanese Sardine *Sardinops Melanostictus*. *Fish. Sci.*, **2001**, 67 (6), 1036–1045. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00359.x>.
- (127) Rahmani, A.; Khan, S. Development of the Secondary Lamellae in the Olfactory Epithelium of *Anahas Testudineus*. *Jpn. J. Ichthyol.*, **1981**, 28 (2), 177–180.
- (128) Kudo, H.; Shinto, M.; Sakurai, Y.; Kaeriyama, M. Morphometry of Olfactory Lamellae and Olfactory Receptor Neurons during the Life History of Chum Salmon (*Oncorhynchus Keta*). *Chem. Senses*, **2009**, 34 (7), 617–624. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp042>.
- (129) Zielinski, B.; Hara, T. Morphological and Physiological Development of Olfactory Receptor Cells in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*) Embryos. *J. Comp. Neurol.*, **1988**, 271 (2), 300–311.
- (130) Kawamura, G.; Washiyama, N. Ontogenetic Changes in Behavior and Sense Organ Morphogenesis in Largemouth Bass and *Tilapia Nilotica*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **1989**, 118 (2), 203–213. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1989\)118<0203:OCIBAS>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1989)118<0203:OCIBAS>2.3.CO;2).
- (131) Lim, L.-S.; Mukai, Y. Morphogenesis of Sense Organs and Behavioural Changes in Larvae of the Brown-Marbled Grouper *Epinephelus Fuscoguttatus* (Forsskål). *Mar. Freshw. Behav. Physiol.*, **2014**, 47 (5), 313–327. <https://doi.org/10.1080/10236244.2014.940689>.
- (132) Fiorentino, M.; D’Aniello, B.; Joss, J.; Polese, G.; Rastogi, R. Ontogenetic Organization of the FMRFamide Immunoreactivity in *Theraps Terminalis* of the Lungfish, *Neoceratodus Forsteri*. *J. Comp. Neurol.*, **2002**, 450 (2), 115–121. <https://doi.org/10.1002/cne.10309>.

- (133) Miyasaka, N.; Wanner, A.; Li, J.; Mack-Bucher, J.; Genoud, C.; Yoshihara, Y.; Friedrich, R. Functional Development of the Olfactory System in Zebrafish. *Mech. Dev.*, **2013**, *130* (6–8), 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.mod.2012.09.001>.
- (134) Kudo, H.; Ueda, H.; Yamauchi, K. Immunocytochemical Investigation of a Salmonid Olfactory System-Specific Protein in the Kokanee Salmon (*Oncorhynchus Nerka*). *Zoolog. Sci.*, **1996**, *13* (5), 647–653. <https://doi.org/10.2108/zsj.13.647>.
- (135) Elston, R.; Corazza, L.; Nickum, J. Morphology and Development of the Olfactory Organ in Larval Walleye, *Stizostedion Vitreum*. *Copeia*, **1981**, *4*, 890. <https://doi.org/10.2307/1444194>.
- (136) Ballard, W. Stages and Rates of Normal Development in the Holostean Fish, *Amia Calva*. *J. Exp. Zool. Part Ecol. Genet. Physiol.*, **1986**, *238* (3), 337–354.
- (137) Rahmani, A.; Khan, S. Development of the Secondary Lamellae in the Olfactory Epithelium of *Anahas Testudineus*. *Jpn. J. Ichthyol.*, **1981**, *28* (2), 177–180.
- (138) Padrós, F.; Villalta, M.; Gisbert, E.; Estévez, A. Morphological and Histological Study of Larval Development of the Senegal Sole *Solea Senegalensis*: An Integrative Study. *J. Fish Biol.*, **2011**, *79* (1), 3–32. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02942.x>.
- (139) Yamamoto, Y.; Mori, M.; Amano, M.; Yamanome, T.; Saito, S.; Taniguchi, K.; Yamaromi, K.; Taniguchi, K. Morphogenesis of the Olfactory Pit in a Flatfish, Barfin Flounder (*Verasper Moseri*). *J. Vet. Med. Sci.*, **2004**, *66* (10), 1275–1278. <https://doi.org/10.1292/jvms.66.1275>.
- (140) Arvedlund, M.; Larsen, K.; Winsor, H. The Embryonic Development of the Olfactory System in *Amphiprion Melanopus* (Perciformes: Pomacentridae) Related to the Host Imprinting Hypothesis. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **2000**, *80* (06), 1103–1109.
- (141) Arvedlund, M.; Munday, P.; Takemura, A. The Morphology and Ultrastructure of the Peripheral Olfactory Organ in Newly Metamorphosed Coral-Dwelling Gobies, *Paragobiodon Xanthosomus* Bleeker (Gobiidae, Teleostei). *Tissue Cell*, **2007**, *39* (5), 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2007.06.007>.
- (142) Pashchenko, N.; Kasumyan, A. Scanning Electron Microscopy of Development of the Olfactory Organ in Ontogeny of Grass Carp *Ctenopharyngodon Idella*. *J. Ichthyol.*, **2015**, *55* (6), 880–899. <https://doi.org/10.1134/S0032945215060132>.
- (143) Pashchenko, N.; Kasumyan, A. Development of the Olfactory Organ in the Ontogeny of Carps (Cyprinidae). *J. Ichthyol.*, **2017**, *57* (1), 136–151. <https://doi.org/10.1134/S0032945217010088>.
- (144) Zielinski, B.; Hara, T. Morphological and Physiological Development of Olfactory Receptor Cells in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*) Embryos. *J. Comp. Neurol.*, **1988**, *271* (2), 300–311.
- (145) Devitsina, L.; Radishcheva, O. Development of the Olfactory Organ during Early Ontogeny of Threespine Stickleback. *J. Ichthyol.*, **1989**, *29*, 42–48.
- (146) Chen, X.-Y.; Arratia, G. Olfactory Organ of Acipenseriformes and Comparison with Other Actinopterygians: Patterns of Diversity. *J. Morphol.*, **1994**, *222* (3), 241–267.
- (147) Breucker, H.; Zeiske, E.; Melinkat, R. Development of the Olfactory Organ in the Rainbow Fish *Nematocentris Macculochi* (Atheriniformes, Melanotaeniidae). *Cell Tissue Res.*, **1979**, *200*, 53–68.
- (148) Doldan, M.; Cid, P.; Mantilla, L.; de Miguel Villegas, E. Development of the Olfactory System in Turbot (*Psetta Maxima* L.). *J. Chem. Neuroanat.*, **2011**, *41* (3), 148–157.
- (149) Zeiske, E.; Kux, J.; Melinkat, R. Development of the Olfactory Organ of Oviparous and Viviparous Cyprinodonts (Teleostei). *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, **1976**, *14* (1), 34–40.
- (150) Ghosh, S.; Chakrabarti, P. Histological, Topographical and Ultrastructural Organization of Different Cells Lining the Olfactory Epithelium of Red Piranha, *Pygocentrus Nattereri* (Characiformes, Serrasalminidae). *Vestn. Zool.*, **2016**, *50* (5), 447–456. <https://doi.org/10.1515/vzoo-2016-0051>.
- (151) Casselbrant, A.; Helander, H. Effects of Fixation on Electrophysiology and Structure of Human Jejunal Villi. *Microsc. Res. Tech.*, **2018**.
- (152) Mulisch, M.; Welsch, U. *Romeis-Mikroskopische Technik*. Berlin: Springer-Verlag, **2015**.
- (153) Yaryhin, O.; Werneburg, I. Chondrification and Character Identification in the Skull Exemplified for the Basicranial Anatomy of Early Squamate Embryos: BASICRANIAL DEVELOPMENT IN LIZARDS. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.*, **2017**, *328* (5), 476–488. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22747>.
- (154) Bertmar, G. Evolution of Vomeronasal Organs in Vertebrates. *Evolution*, **1981**, *35* (2), 359–366.
- (155) Gao, L.; Duan, M.; Cheng, F.; Xie, S. Ontogenetic Development in the Morphology and Behavior of Loach (*Misgurnus Anguillicaudatus*) during Early Life Stages. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **2014**, *32* (5), 973–981. <https://doi.org/10.1007/s00343-014-3302-4>.
- (156) Zeiske, E.; Kux, J.; Melinkat, R. Development of the Olfactory Organ of Oviparous and Viviparous Cyprinodonts (Teleostei). *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, **1976**, *14* (1), 34–40.

- (157) Boonyoung, P.; Senarat, S.; Kettratad, J.; Yenchum, W.; Poolprasert, P.; Jiraungkoorskul, W. Microarchitectural Study of the Olfactory Organ of *Devario Regina* (Fowler, 1934) Using Pas Technique. *J. Bio-Sci.*, **2016**, *22*, 41. <https://doi.org/10.3329/jbs.v22i0.30007>.
- (158) Ferrando, S.; Amaroli, A.; Gallus, L.; Di Blasi, D.; Carlig, E.; Rottigni, M.; Vacchi, M.; Parker, S.; Ghigliotti, L. Olfaction in the Antarctic Toothfish *Dissostichus Mawsoni*: Clues from the Morphology and Histology of the Olfactory Rosette and Bulb. *Polar Biol.*, **2019**, *42* (6), 1081–1091. <https://doi.org/10.1007/s00300-019-02496-2>.
- (159) Samajdar, I.; Mandal, D. Histological Organization And Ultr-Structures Of The Apical Surface Of The Olfactory Epithelium Of A Carp, *Labeo Bata* (Hamilton). *Int. J. Pure Appl. Zool.*, **2016**, *4* (2), 134–141.
- (160) Zhang, X.-Y.; Huang, Z.-Q.; Ning, T.; Xiang, X.-H.; Li, C.-Q.; Chen, S.-Y.; Xiao, H. Microscopic and Submicroscopic Gradient Variation of Olfactory Systems among Six *Sinocyclocheilus* Species Living in Different Environments. *Zoolog. Sci.*, **2018**, *35* (5), 411–420. <https://doi.org/10.2108/zs170126>.
- (161) Wilson, J.; Westerman, R. The Fine Structure of the Olfactory Mucosa and Nerve in the Teleost *Carassius Carassius* L. *Z. Für Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, **1967**, *83* (2), 196–206. <https://doi.org/10.1007/BF00362401>.
- (162) Tytiuk, O.; Sapoznikov, O.; Tichý, F.; Kloučková, M.; Stepanyuk, Y. Morphogenesis of Olfactory Organ of Bushymouth Catfish *Ancistrus Dolichopterus* (Teleostei: Loricariidae) before Switching to Exogenous Feeding. *Zoolog. Sci.*, **2020**, *37* (1), 14–23. <https://doi.org/10.2108/zs190073>.
- (163) Bettini, S.; Milani, L.; Lazzari, M.; Maurizii, M.; Franceschini, V. Crypt Cell Markers in the Olfactory Organ of *Poecilia Reticulata*: Analysis and Comparison with the Fish Model *Danio Rerio*. *Brain Struct. Funct.*, **2017**, *222* (7), 3063–3074. <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1386-2>.
- (164) Roy, D.; Ghosh, D.; Mandal, D. Induction of Metallothionein in the Olfactory Epithelium of *Channa Punctatus* (Bloch) in Response to Cadmium Exposure: An Immunohistochemical Study. *Proc. Zool. Soc.*, **2012**, *65* (1), 40–44. <https://doi.org/10.1007/s12595-012-0027-2>.
- (165) Bettini, S.; Lazzari, M.; Franceschini, V. Quantitative Analysis of Crypt Cell Population during Postnatal Development of the Olfactory Organ of the Guppy, *Poecilia Reticulata* (Teleostei, Poeciliidae), from Birth to Sexual Maturity. *J. Exp. Biol.*, **2012**, *215* (15), 2711–2715. <https://doi.org/10.1242/jeb.069039>.
- (166) Bazaes, A.; Schmachtenberg, O. Odorant Tuning of Olfactory Crypt Cells from Juvenile and Adult Rainbow Trout. *J. Exp. Biol.*, **2012**, *215* (10), 1740–1748. <https://doi.org/10.1242/jeb.067264>.
- (167) Waryani, B.; Dai, R.; Zhao, Y.; Zhang, C.; Abbasi, A. Surface Ultrastructure of the Olfactory Epithelium of Loach Fish, *Triplophysa Dalaica* (Kessler, 1876) (Cypriniformes: Balitoridae: Nemacheilinae). *Ital. J. Zool.*, **2013**, *80* (2), 195–203. <https://doi.org/10.1080/11250003.2013.771711>.
- (168) Hansen, A.; Finger, T. Phyletic Distribution of Crypt-Type Olfactory Receptor Neurons in Fishes. *Brain. Behav. Evol.*, **2000**, *55* (2), 100–110.
- (169) Balmer, C.; LaMantia, A.-S. Noses and Neurons: Induction, Morphogenesis, and Neuronal Differentiation in the Peripheral Olfactory Pathway. *Dev. Dyn.*, **2005**, *234* (3), 464–481. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20582>.
- (170) Datta, N.; Bandyopadhyay, S. Ultrastructure of Cell Types of the Olfactory Epithelium in a Catfish, *Heteropneustes Fossilis* (Bloch). *J. Biosci.*, **1997**, *22* (2), 233–245.
- (171) Lara, M. Development of the Nasal Olfactory Organs in the Larvae, Settlement-Stages and Some Adults of 14 Species of Caribbean Reef Fishes (Labridae, Scaridae, Pomacentridae). *Mar. Biol.*, **2008**, *154* (1), 51–64. <https://doi.org/10.1007/s00227-007-0899-2>.
- (172) Anderson, S.; Salinas, I.; Walker, S.; Gublin, Y.; Pether, S.; Kohn, Y.; Symonds, J. Early Development of New Zealand Hapuku *Polyprion Oxygeneios* Eggs and Larvae. *J. Fish Biol.*, **2012**, *80* (3), 555–571. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.03191.x>.

РОЗДІЛ II. ДОСЛІДНИЦЬКІ СТАТТІ

UDC 616.5: 57.048

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2021-1-03>

Quantitative characteristics of mast cells in the course of wound healing in rats with chronic social stress

Makyeyeva L. V.^{1,2}, Aliyeva O. G.¹, Frolov O. K.²

ORCID: 0000-0002-3188-2638, 0000-0003-1287-674X

¹Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

²Zaporizhzhia National University, Ukraine

lyudmylamakyeyeva@gmail.com

Key words: *impaired wound healing, inflammatory stage, proliferative stage, remodeling stage, psycho-emotional stress.*

Activation of sympathoadrenal and hypothalamic-pituitary systems under the influence of stress, accompanied by the release of neuromediators and neuropeptides, activation of mast cells producing cytokines, chemokines, etc., leads to the launch of a cascade of pathological processes which indicates that stress can lead to a violation of skin reparation. However, little is known about morphofunctional changes of skin cells under the influence of chronic social stress. The aim of this work was to assess changes in the number of mast cells in the rat skin after the influence of chronic social stress.

The research was performed on 20 Wistar male rats aged 12-13 months, weighting 390 -430 g: 1st group – control (n = 10); modelled chronic social stress to the 2nd group (n = 10) by the 3-week social isolation and prolonged psycho-emotional impact. Stress was confirmed in an open field test. A skin flap sized 1*1 cm was excised on the back in the interscapular region on the day of wounding, and days 1, 3, 7, 14, 30 of wound healing. Mast cells were counted in wound surface area sections, selectively stained with toluidine blue. The wound healing process in the skin was characterized by a certain dynamic of mast cells' number, as key cellular regulators of inflammatory and regenerative processes. In intact skin of the experimental group revealed a ten times exaggeration of mast cells compared to the control. In the control group, the content of mast cells gradually increased over the next 2 weeks and decreased to the initial level on the 30th day. Initial high level of mast cells decreased by 86,8% in experimental rats already on day 1 with a gradual rise in the next 2 weeks and raised by 593% compared to control group at day 30 which is associated with migration of immune-dependent cells as a result of partial removal of the stress response.

Кількісна характеристика тучних клітин у процесі загоєння ран у щурів із хронічним соціальним стресом

Макєєва Л. В.^{1,2}, Алієва О. Г.¹, Фролов О. К.²

ORCID: 0000-0002-3188-2638, 0000-0003-1287-674X

¹ Запорізький державний медичний університет

² Запорізький національний університет

lyudmylamakueyeva@gmail.com

Ключові слова: порушення загоєння ран, стадія запалення, стадія проліферації, стадія ремоделювання, психо-емоційний стрес.

Активация симпатoadреналовой і гіпоталамо-гіпофізарної систем при стресі супроводжується вивільненням нейромедіаторів і нейропептидів, активацією тучних клітин, що продукують цитокіни, хемокіни та ін., призводить до запуску каскаду патологічних процесів, вказуючи, що стрес може призвести до порушення репарації шкіри. Однак у сучасних дослідженнях мало даних про морфофункціональні зміни клітин шкіри під впливом хронічного соціального стресу. Метою даної роботи була оцінка кількісних змін тучних клітин шкіри щурів після впливу хронічного соціального стресу.

Дослідження проводили на 20 щурах-самцях лінії Вістар вагою 390-430 г., віком 12-13 міс.: 1-а група – контроль (n=10); тваринам 2-ї групи (n=10) моделювали стрес 3-тижневою соціальною ізоляцією і тривалим психоемоційним впливом. Стрес підтверджено тестом на відкритому полі. Висікали шкірний клапоть розміром 1*1 см на спині в міжлопатковій ділянці в день нанесення рани і на 1, 3, 7, 14, 30 добу загоєння ран. Тучні клітини підраховували в зрізах взятих області ранової поверхні, селективно забарвлених толуїдиновим синім.

Процес загоєння ран у шкірі характеризувався відповідними особливостями динаміки кількості тучних клітин, як регуляторів запальних та регенераторних процесів. В інтактних зразках експериментальної групи кількість тучних клітин була більшою в 10 р., ніж в контролі. Загальновідомі нормальні показники вмісту кількості тучних клітин у контрольній групі поступово збільшувались у наступні 2 тижні та зменшувались до вихідного рівня на 30 день загоєння ран. Початковий рівень тучних клітин у 2й групі знизився на 86,8% вже на 1 день з поступовим підйомом у наступні 2 тижні, проте він не досягав рівня контролю з подальшим підйомом на 593% порівняно з 1ю групою на 30 день, що пов'язано з міграційними процесами імунозалежних клітин як результат часткового зняття стресової реакції.

Introduction

Skin is the largest organ of the body that performs various homeostatic functions (barrier, thermoregulatory, sensory, excretory, etc.), including immunological ones – it is an organ of primary immune defence that prevents penetration of bacteria, viruses and other exogenous damaging factors. It is one of the most commonly damaged organs¹.

Among the most common risk factors for the development of various diseases, including dermatological pathology, one of the first places belongs to chronic social stress². Long-term studies demonstrate that the activation of the sympathoadrenal and hypothalamic-pituitary systems under stress, accompanied by the release of neurotransmitters and

neuropeptides, activation of mast cells producing cytokines, chemokines, prostaglandins, and leukotrienes, growth factors leads to the launch of a cascade of pathological processes^{2, 3} indicating that stress can lead to impaired skin repair.

Wound healing is a cascade process that can be divided into three major phases: inflammation, proliferation and scar formation/remodeling⁴. The inflammatory phase begins at the time of initial damage and typically lasts a few days. This phase encompasses such critical elements: passive aggregation of platelets, the neutrophil influx, macrophage accumulation. Mast cells (MCs) or tissue basophils are innate immune cells abundant in the dermis, therefore MCs regulate acute wound inflammation and their activation is also

prominent early after injury⁵. MCs release many different pro-inflammatory mediators, causing hallmarks of inflammation like vasodilation, vascular permeability and activation/recruitment of circulating immune cells⁶.

One of the main physiological functions of mast cells is the control and regulation of the state of loose connective tissue (LCT), including stimulation of angiogenesis, activation of the proliferative and synthetic activity of fibroblasts⁷. This function is enhanced during the reparative regeneration of the connective tissue environment during the entire healing process.

Studies indicate that activated tissue basophils produce cytokines and growth factors that support the proliferation and migration of several cell types in the skin and promote the development of the proliferative phase of healing. It is also clear that mast cell degranulation promotes scarring by stimulation of fibroblasts⁸.

The aim of this work was to assess changes in the number of mast cells in the rat skin after the influence of chronic social stress.

Material and methods

The research was performed on 20 white male Wistar rats, aged 12-13 months, weighing 390 -430 g at the time of picking, and they were divided into 2 groups. The 1st group, control, comprised 10 rats. We modelled chronic social stress on animals of the 2nd group, which were more susceptible to stress based on the open-field test results, ($n = 10$) by the three-week social isolation and prolonged psychoemotional impact⁹. Stress was confirmed in an open field test, which was performed by all animals before and after modelling chronic social stress. The behaviour of the animals was observed in an open field sized 80 x 80 cm, lined into squares 10 x 10 cm for 5 minutes. The field was illuminated with bright light (100 W) at a 1 m distance from the field surface. Animals were placed in the centre of the field and the number of urinations and defecations, freezings, latent time (s) of the first run from the central square, the number of crossed central and peripheral squares, time (s) and the number of groomings (long and short) and standings up on hind legs were recorded during 5 minutes of the test. After each animal, the surface of the open field was thoroughly washed with water and dried^{9, 10}.

For morphological assessment of the skin, a skin flap on the back in the interscapular region about 1 cm*1 cm in size was excised on the day of wounding and on days 1, 3, 7, 14, 30 of wound healing. Days 1 and 3 correspond to the inflammatory phase of wound healing, days 7 and 14 – proliferative and day 30 – scar formation/remodelling. Samples were excised so that both the wound healing site and undamaged tissue were in them.

Manipulations with animals were performed in compliance with regulated norms and rules for the treatment of laboratory animals: principles of bioethics,

legislation and requirements following the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Scientific Purposes (Strasbourg, France, 1986), The Law of Ukraine “On protection of animals from cruel treatment”. All procedures performed were approved by the Bioethics Committee of Zaporizhzhia State Medical University.

Skin samples including the boundaries of the wound surface were fixed in 10% neutral formalin solution in a vessel with tinted glass, stored at room temperature for 3 days before histological experiments. Next, the skin was embedded into paraffin blocks according to standard histological methods, from which microtome serial sections with a thickness of 5 μ m were made. Serial sections were made using a Thermo Scientific HM 325 microtome and stained by acidified toluidine blue staining. Morphometric studies were performed directly on histological specimens using a Carl Zeiss Primo Star microscope. We prepared microphotographs by PrimoStar iLED microscope and an Axio CamERc5s camera (ZEISS, Germany), that were analyzed by the ZEISS ZEN 2011 microscopy program (calculation of the dermis area). The results were expressed as the number of mast cells per 0,01 mm².

Statistical analysis and presentation of experimental results were performed using IBM SPSS Statistics version 20 (IBM corp., Armonk, NY, USA). Normality of quantitative indicators' distribution was checked by Kolmogorov-Smirnov single-sample test. Mann-Whitney test for independent samples with normal distribution was used for the open-field data. P-values less than 0,05 ($p < 0,05$) were considered statistically significant¹¹. Each value is expressed as mean \pm SEM. One-way ANOVA was used to test for overall differences in the extent of days of the wound healing process; where appropriate, Tukey's multiple comparison¹² was used to test for specific differences between control and experimental groups. A difference considered statistically significant at $p < 0,05$.

Results

As follows from the data in the table, after modelling chronic social stress, the number of crossings of the open field in the centre decreased by 15,5% ($p < 0,001$), and on the periphery by 53,1% ($p < 0,001$); vertical mobility against the wall decreased by 40,2% ($p < 0,001$) quantitatively and by 38,9% ($p < 0,001$) over time and vertical mobility in the open space decreased by 68,7% ($p < 0,001$) quantitatively and 55,5% ($p < 0,001$) over time. There was a decrease in stereotypical acts of grooming – short by 68,3% ($p < 0,01$), long by 69,2% ($p < 0,01$). The number of defecations and urination increased by 10 times ($p < 0,001$) compared with the control, and the number of freezing increased by 80,5% ($p < 0,001$). Thus, we have identified increased anxiety in animals that have undergone chronic social stress.

Table 1 – Data of an open-field test after conduction of psycho-emotional stress

Group/ Indicator	Control	Experiment
Short grooming, sec	3,14 ± 0,34	1,98 ± 0,45**
Short grooming, pcs.	3,69 ± 0,24	1,17 ± 0,11**
Long grooming, sec	4,83 ± 0,80	3,28 ± 1,06**
Long grooming, pcs	1,07 ± 0,18	0,33 ± 0,09**
Latent period, sec	0,02 ± 0,02	0,54 ± 0,10**
Horizontal mobility, number of central squares	81,54 ± 2,66	68,90 ± 3,01***
Horizontal mobility, number of peripheral squares	58,17 ± 3,57	27,31 ± 2,12***
Vertical mobility against the wall, sec	26,46 ± 1,68	16,17 ± 1,11***
Vertical mobility against the wall, pcs	14,88 ± 0,80	8,90 ± 0,52***
Vertical mobility in open space, sec	16,51 ± 1,52	7,35 ± 1,71***
Vertical mobility in open space, pcs	10,41 ± 0,99	3,26 ± 0,79***
Number of urinations and defecations	0,14 ± 0,14	1,41 ± 0,14***
Number of freezings	0,43 ± 0,15	2,20 ± 0,57**

* – Differences compared to control group are significant at $P < 0,05$.

** – Differences compared to control group are significant at $P < 0,01$.

*** – Differences compared to control group are significant at $P < 0,001$.

On the day of the wounding in both groups, mast cells were evenly distributed in the dermis, predominantly surrounding blood vessels. In intact samples, the number of MCs was $0,95 \pm 0,03$ per $0,01 \text{ mm}^2$, which coincided with their physiological values, confirmed by other studies^{13, 14}, while in the experimental group it was $9,47 \pm 0,23$ per $0,01 \text{ mm}^2$ as a result of hormone-dependent inhibition of the proliferation of immunocompetent cells, in particular MCs, and their accumulation in immune-dependent organs (figure 1).

The process of wound healing in the skin was characterized by certain features of the number of mast cells' dynamics, as physiological regulators of loose connective tissue, inflammatory and regenerative processes during violation of homeostasis.

During the inflammatory phase (1st and 3rd day of wound healing), mast cells were noted in the tissues of both groups of animals in viable wound tissue. In the control group of animals on the 1st day of wound healing, the amount of MCs increased statistically significantly ($P \leq 0,001$) to $2,48 \pm 0,06$ per $0,01 \text{ mm}^2$ and tended to increase on the 3rd day of wound healing and amounted to $2,65 \pm 0,04$ per $0,01 \text{ mm}^2$. In the experimental group of animals on the 1st day

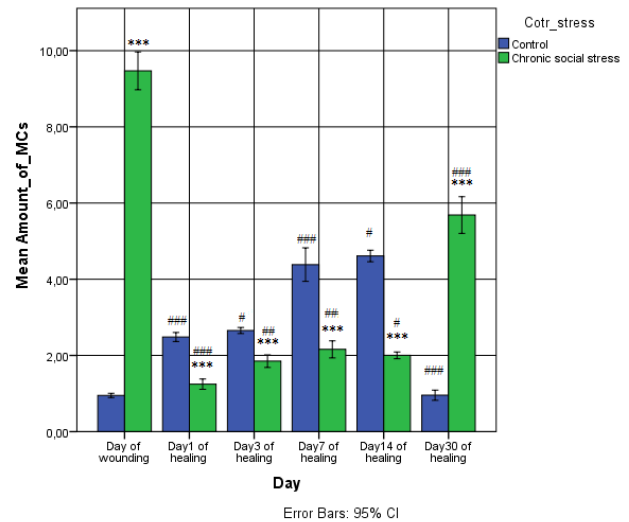


Fig 1. Time course of mast cells' infiltration in the dermis during skin wound healing in control rats and rats with chronic social stress. Results are expressed as the mean number of MCs per $0,01 \text{ mm}^2$ area, in the upper dermis for each time point after wounding in control and experimental groups.

*** – Differences compared to control group are significant at $P < 0,001$.

– Differences compared to previous day of wound healing are significant at $P < 0,05$.

– Differences compared to previous day of wound healing are significant at $P < 0,01$.

– Differences compared to previous day of wound healing are significant at $P < 0,001$.

of wound healing, the amount of MCs decreased sharply to $1,25 \pm 0,06$ per $0,01 \text{ mm}^2$, while it was $9,47 \pm 0,23$ per $0,01 \text{ mm}^2$ on the day of wounding and significantly differed from the control values ($P \leq 0,001$). On the third day in the experimental group, there was a pronounced trend towards an increase in the number of MCs ($1,85 \pm 0,08$ per $0,01 \text{ mm}^2$), but it still did not reach the control values. In both groups, there was a massive degranulation of mast cells which was observed in the dermis during the inflammatory stage of wound healing (Figure 2).

During the proliferative stage of wound healing (on the 7th and 14th day), mast cells were found in the fibrous areas of the wound in control and experimental animals. At this stage, on the 7th day of healing in control animals, the number of MCs increased significantly ($P \leq 0,001$) compared with that in the inflammatory stage of wound healing and was $4,38 \pm 0,20$ per $0,01 \text{ mm}^2$, practically remaining at the same level during day 14 ($4,61 \pm 0,07$ per $0,01 \text{ mm}^2$). In the group of experimental animals at this stage, a statistically significant ($P \leq 0,01$) slight increase in the number of MCs was observed, followed by a slight statistically significant ($P \leq 0,05$) decrease in

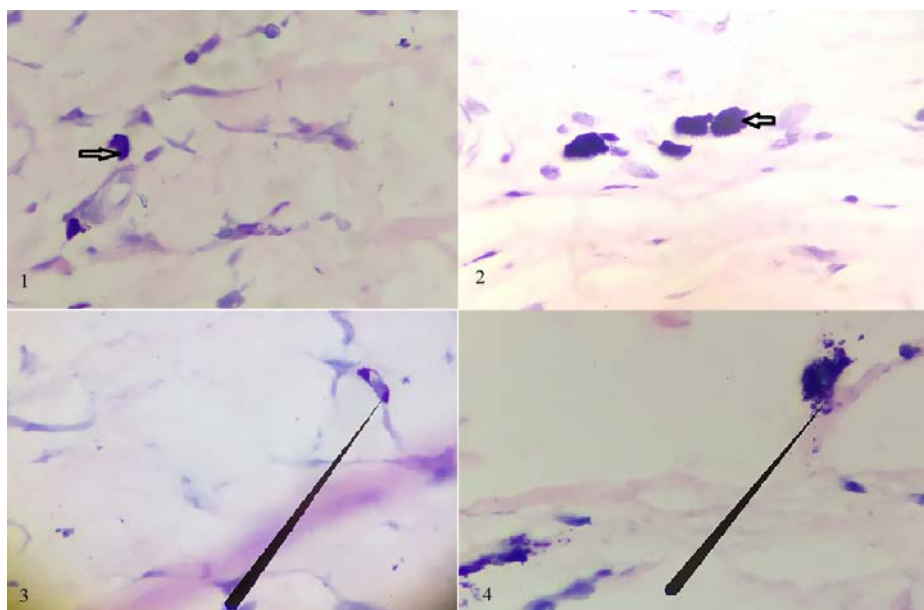


Fig. 2. Histological slides of rat skin stained by toluidine blue. 1, 3 – control animals at day of wounding and day 1 of wound healing respectively. 2, 4 – experimental animals with social chronic stress at the day of wounding and day 1 of wound healing respectively. Mast cells are pointed by arrows

the number of MCs ($2,16 \pm 0,3$ and $2,00 \pm 0,04$ by $0,01 \text{ mm}^2$ on the 7th and 14th day of wound healing, respectively).

The number of mast cells in the control group of animals in the remodelling stage on the 30th day was almost equal to that on the day of the wounding – $0,96 \pm 0,06$ per $0,01 \text{ mm}^2$, but in animals with modelled social chronic stress it increased by 592,7% ($p \leq 0,001$) ($5,68 \pm 0,22$ per $0,01 \text{ mm}^2$) in comparison with the control group on day 30, which is also associated with the migration processes of immune-dependent cells, as well as a result of the partial resolution of the stress response.

Discussion

The studied dynamics of the amount and physiological state of MCs in the skin coincides with modern literature data on their functional significance in controlling the structural and functional state of the skin as a polyfunctional organ and LCT in particular, a conductor of blood and lymphoid capillaries that provide homeostasis of the internal environment tissue^{7, 15, 16}. Mast cells are similar in origin and set of biologically active substances to basophils, but differ from the latter in that they do not recirculate in the blood in the mature state, but are located along the LCT of blood capillaries, therefore they are ubiquitous. Functionally, MCs belong to cells of innate immunity and, as evidenced by modern studies, they are polyfunctional, actively interacting with both factors of innate immunity and other cells of innate immunity (macrophages, DCs, neutrophils),

actively control the homeostatic state of the internal environment of the adjacent LCT, gradually releasing biologically active substances from granules: growth factors, vasoactive mediators, cytokines, enzymes¹⁵. These BAS components stimulate angiogenesis, capillary tone and permeability, control the cellular composition and structure of LCT, the main function of which is to nourish the cells of adjacent tissues.

In intact skin, mast cells were concentrated mainly in the area of blood vessels and evenly distributed in the dermis, in an amount that corresponds to data published by other researchers^{13, 14}.

A significant increase of MCs in the inflammatory stage of the wound healing process on the 1st and 3rd day confirms their role in initiating and maintaining this standard protective reaction of the organism. When the structure of tissues of the internal environment is disturbed by infectious and non-infectious agents, MCs' degranulation occurs simultaneously with the release of a large number of biologically active substances into the external space, including pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-8, IL-12, IL-18, IL-21, IL-23, TNF- α , etc.)^{6, 16}, which are either pre-formed and stored in granules or are synthesized de novo¹⁵ and inducing the stages of the inflammatory reaction and further reparative regeneration (remodulation). A local increase in the number of MCs during inflammation occurs due to the migration of their precursors from the bloodstream, since mature differentiated granulocytes, including MCs lose their ability to divide via mitosis. A normally occurring vascular-cellular reaction during

inflammation promotes the migration of humoral and cellular homeostasis factors into the wound area, which contributes to further optimal wound healing. The continuing even greater significant increase of the number of MCs in the stage of proliferation (7-14 days of wound healing), compared with the inflammatory stage in control animals, once again demonstratively indicates their active participation in this stage of wound healing.

The fact that the number of mast cells on the 30th day in the control group of animals returns to the number of cells on the day of wounding, reflects the completion of the main reparative and remodeling processes.

The described dynamics of the number of MCs during regenerative processes in a skin wound reflects the modern idea of the primary function of the immune system in the morphogenetic control of the histogenesis of all tissues according to the genotype of a given organism, and, consequently, its participation in the regulation of structural and humoral homeostasis during physiological and reparative regeneration¹⁷.

Thus, a significant increase in MC in control animals during the inflammatory stage indicates their participation as polyfunctional cells in the mobilizational integration of cellular and humoral factors of innate and adaptive immunity, and a further even greater increase in the number of MCs in control animals at the stage of active reparative tissue regeneration in the wound indicates even more of their participation at this stage.

Mast cells from a variety of receptors have leading ones, through which the cells of innate immunity, to which they belong, ensure the integration and activation of adaptive immunity cells (T and B-lymphocytes)¹⁸. Through a system of signalling pattern-recognizing receptors, the leading of which are Toll-like receptors, MCs provide the synthesis of costimulatory structures for T-lymphocytes and their humoral cytokine activation. Whereas it is indisputably known that the majority of newly formed T and B lymphocytes in the central organs of the immune system are moderately sensitized to cell autostructures and regulate the metabolic, proliferative and differentiation processes of tissue histogenesis during their physiological and reparative regenerations, i.e. morphogenetic reactions¹⁹. The latter fact is confirmed by our preliminary observations of increasing lymphocyte infiltration of the wound area, mainly at the stage of scar tissue formation.

The stress reaction dramatically changed the normal dynamics of MCs during the wound process and significantly affected the timing of its healing.

According to Selye's general ideas about stress, the dynamics of stress has stages of anxiety, resistance, and exhaustion. Its dynamics is under

the control of the hypothalamic-pituitary-adrenal system, of which cortisol plays the leading role in the dynamics of immune cells, the effect of which is well studied. Thus, it inhibits proliferative reactions of cells and induces apoptosis in immunological organs, and inhibits their migration in the tissues of the internal environment with deposition in the tissues of predominantly parenchymal organs, which ensures their active participation in the stage of stress resolution. In this regard, the amplitudes of the number of cells at the stages of the wound process reflect the dynamics of the stress response. Thus, a multiple increase of the number of MCs in the intact skin of experimental animals can be explained by their deposition as a result of inhibition of migration under the influence of corticosteroids, in particular cortisol. Whereas their sharp decrease in the stage of inflammation (1-3 days of the wound process) and a significant lag in growth compared to control animals indicate their active apoptosis and ongoing inhibition of migration under the action of corticosteroids. Due to the lagging of a new wave of migration of mast cell precursors in the stage of inflammation, it reduces its effectiveness in mobilizing cellular and humoral factors for reparative processes at the subsequent stages of skin wound healing (7, 14 days). Therefore, the process of wound healing is stretched in time. One of the phenomena of the resolving stage of emotional stress, in which the level of cortisol in the internal environment decreases, in this experiment is an amplitude surge in the number of MCs on the 30th day. It occurs due to a new wave of migration of MC precursors from the bone marrow and other organs of the immune system, where they were also deposited. It should be noted that their number has already returned to the normal control group at this time due to the absence of a stressful state of animals.

Thus, we revealed the dynamics of the number of mast cells and their participation in the resolution of the wound healing process in the norm and under the influence of chronic social stress. In the latter case, we noted contrasting amplitude differences in the amount of MCs at the stages of wound healing in rat skin, increasing time parameters for restoring the structure and function of the skin, which reduces its general functional and immunological properties, requiring further study and correction with immunomodulatory drugs.

Conclusions

The wound healing process in the skin is characterized by a certain dynamic in the number of mast cells, as key cellular regulators of inflammatory and regenerative processes. The content of mast cells increases during the first 2 weeks and decreases by the end of 1 month.

Emotional stress has changed the dynamics of the amount of MCs during skin regeneration: with values many times higher than the control ones in intact

samples, before skin injury and samples taken at the end of 1 month of healing, with significantly inferior amplitude to control samples in the remaining phases of the wound process, which is a consequence of prolongation of the inflammatory and reparative response during wound healing.

Modelling the activity of mast cells during inflammation and regeneration in conditions complicated by stress or other factors is a promising target for the pharmacological regulation of key components in the mechanisms of skin regeneration.

References

- (1) Mahdavian, D. B., van der Veer, W. M., van Egmond, M., Niessen, F. B., Beelen, R. H. Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology*. 2011. № 7. P. 753–762. doi: 10.1016/j.imbio.2011.01.001.
- (2) Watson, I. B., Brüne, M., Bradley, A. J. The evolution of the molecular response to stress and its relevance to trauma and stressor-related disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016. № 68. p. 134. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.05.010.
- (3) Gupta, M. A., Gupta, A. *Stress and Skin Disorders*. Springer. 2017. P. 103–251.
- (4) Guo, S., Di Pietro, L. A. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010. № 3. pp. 219–229. doi: 10.1177/0022034509359125.
- (5) Oskeritzian, C. A. Mast Cells and Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2012. № 1. P. 23–28. doi:10.1089/wound.2011.0357.
- (6) Trautmann, A., Toksoy, A., Engelhardt, E., Bröcker, E. B., Gillitzer, R. Mast cell involvement in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 in vivo. *J Pathol*. 2000. № 1. pp 100–106. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(200001)190:1<100.
- (7) Цибулькина В.Н., Цибулькин Н.А. Тучная клетка как полифункциональный элемент иммунной системы. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2017. № 2(49). С. 4–11.
- (8) Wulff, B. C., Wilgus, T. A. Mast cell activity in the healing wound: more than meets the eye? *Exp Dermatol*. 2013. № 8. pp 507–510. doi: 10.1111/exd.12169.
- (9) Мамылина Н.В., Павлова В.И. Физиологические аспекты поведенческой активности животных в условиях эмоционального стресса : монография. ЗАО «Цицеро» Челябинск. 2013. 298 с.
- (10) Немец В.В., Виноградова Е.П. Стресс и стратегии поведения *Национальный психологический журнал*. 2017. № 2(26). С. 59–72. doi: 10.11621/npj.2017.0207.
- (11) Dobler, D., Friedrich, S., Pauly, M. Nonparametric MANOVA in meaningful effects. *Annals of the Institute of Statistical Mathematics*. 2020. № 4. P. 997–1022.
- (12) Gurvich, V., Naumova, M. Logical contradictions in the One-way ANOVA and Tukey-Kramer multiple comparisons tests with more than two groups of observations. *Symmetry*. 2021. № 13. pp 1387 doi: 10.3390/sym13081387.
- (13) Арташян О.С., Юшков Б.Г., Мухлынина Е.А. Изучение функциональной активности тучных клеток при иммобилизационном стрессе. *Цитология*. 2006. № 8. С. 665–668.
- (14) Бобр О.А., Мяделец О.Д., Дубовский В.В. Динамика популяции тучных клеток в течении раневого процесса у крыс, подвергнутых гипобиотическим состояниям (голодание, гипотермия). *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2006. № 4. С. 1–10.
- (15) Theoharides T. C. The impact of psychological stress on mast cells. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2020. 125. P. 388–392.
- (16) Komi, D. E. A., Khomtchouk, K., Santa Maria P. L. A review of the contribution of mast cells in wound healing: involved molecular and cellular mechanisms. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2020. № 3. P. 298–312. doi: 10.1007/s12016-019-08729-w.
- (17) Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Влияние морфогенетической активности лимфоцитов на реактивность и резистентность организма. *Онтогенез*. 2018. № 49(1). С. 54–66.
- (18) Геворкян Н.М., Тишевская Н.В. Патогенез как проблема функциональной несостоятельности и дисбаланса в популяции Т-лимфоцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021. № 2. С. 109–119.
- (19) Зайчик А.М., Полетаев А.Б., Чурилов Л.П. Естественные аутоантитела, иммунологические теории и превентивная медицина. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина*. 2013. № 2. С. 3–16.

УДК 582.632.1:581.522.4(477.44)
DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2021-1-04>

Оцінка стану міського середовища за показниками флуктуючої асиметрії листків *Betula pendula* Roth. (на прикладі м. Могилів-Подільський)

Машталер О. В., Милка А. В., Мікуліч Л. О.

ORCID: 0000-0003-1896-824X

Донецький національний університет імені Василя Стуса

o.mashtaler@donnu.edu.ua

Ключові слова: флуктуюча асиметрія листків, *Betula pendula* Roth., моніторинг, біоіндикація.

У статті представлено результати досліджень показників флуктуючої асиметрії листків *Betula pendula* Roth. у м. Могилів-Подільський (Вінницька обл.) та оцінки стану міського середовища. Флуктуюча асиметрія є показником стабільності розвитку організмів в умовах урбанізованого середовища. Упродовж двох років досліджували зразки з десяти моніторингових точок за п'ятьма вибраними показниками. У результаті було встановлено відмінності за середніми показниками флуктуючої асиметрії в різних моніторингових точках м. Могилів-Подільський. З'ясовано, що найбільшого рівня антропопресінг сягає у трьох точках: Міжнародному пункті пропуску «Могилів-Подільський – Отач» (митниці), ринку та 119-му мікрорайоні. Показники в цих точках мають максимальні значення, що відповідає критичному стану середовища. Визначено, що більшість досліджених територій за показниками флуктуючої асиметрії фіксується в межах середнього рівня відхилення від норми. Також встановлено градацію за ступенем збільшення показників флуктуючої асиметрії серед досліджених моніторингових точок м. Могилів-Подільський: 5>6>10>2>4>1>3; 7; 8>9. Отримані дані свідчать про те, що для листків *Betula pendula* найчутливішим до впливу урбанізованого середовища є параметр 3 (відстань між основами першої та другої жилок другого порядку). Встановлено, що параметр 2 (довжина другої жилки другого порядку) є найбільш стійким до впливу чинників техногенного забруднення середовища. За результатами середнього значення флуктуючої асиметрії встановлено залежність параметрів листків від рівнів антропопресінгу довкілля. Найбільшого техногенного впливу *Betula pendula* зазнає біля промислових підприємств та вздовж вулиць з інтенсивним транспортним потоком. З'ясовано, що зі збільшенням відстані до джерела забруднення спостерігається зниження показника флуктуючої асиметрії.

Evaluating the urban environment by fluctuating asymmetry of leaves *Betula pendula* Roth. in Mohyliv-Podilskyi city

Mashtaler O. V., Mylka A. V., Mikulich L. O.

ORCID: 0000-0003-1896-824X

Vasyl Stus Donetsk National University

o.mashtaler@donnu.edu.ua

Key words: fluctuating asymmetry of leaves, *Betula pendula* Roth., monitoring, bioindication.

The article presents the results of studies of fluctuating asymmetry of leaves of *Betula pendula* Roth. in Mohyliv-Podilskyi city (Vinnytsia region) and assessments of the urban environmental conditions. Fluctuating asymmetry is an indicator of the stability of systemic plant development in an urban environment. The samples were obtained from ten monitoring sites during two years by five selected morphometric parameters. As a result, we established differences in the average indicators of fluctuating asymmetry in different monitoring points in Mohyliv-Podilskyi. It was found that the highest level of anthropopressing reaches three points, including the international checkpoint “Mohyliv-Podilskyi – Otach” (customs), the market and 119th microdistrict. Indicators at these points had a maximum values that correspond to the critical state of the environment. It is determined that the vast majority of the studied areas, in terms of fluctuating asymmetry is fixed within the average level of deviation from the norms. There is also a gradation according to the degree of increase of fluctuating asymmetry indicators among the studied monitoring points in Mohyliv-Podilskyi: 5>6>10>2>4>1>3; 7; 8>9. The data obtained indicate that parameter 3 (the distance between the bases of the first and second veins of the second order) is the most sensitive to the effects of urban environments for *Betula pendula* leaves. It is determined that parameter 2 (the length of the second vein of the second order) is the most resistant to the influence of pollution factors. According to the results of the fluctuating asymmetry's average value, the dependence of the leaf parameters on the levels of anthropopressing of the environment was established. Leaves of *Betula pendula* was mostly affected near industrial plants and along high-traffic streets. It was found that there is a decrease in the fluctuating asymmetry with increasing distance to the source of contamination.

Вступ

Здійснення якісної експрес-оцінки рівня забруднення компонентів довкілля є актуальним напрямом для суспільства. Це дає можливість отримати інформацію про реальний стан природних ресурсів, рівні забруднення вибраної території, вплив промислового комплексу на довкілля та заходи щодо покращення й стабілізації ситуації. Для вирішення цих питань необхідно систематично здійснювати моніторингові дослідження. Для оцінки стану середовища використовується низка методів, серед яких дедалі більшого значення надають біологічним. Серед біоіндикаційних об'єктів найбільш затребувані ті, що відрізняються частотою трапляння на вибраній території, порівняно швидкою реакцією на зміни середовища, необмеженими обсягами матеріалу для отримання репрезентативних вибірок і є перспективними для тривалого моніторингу. Зі

збільшенням стресу навколишнього середовища здатність протистояти порушенням розвитку та стійкість організмів до відновлення після таких порушень призводить до нестабільності чи помилок, які можна легко виміряти як відхилення від симетрії¹. Флуктуюча асиметрія (далі – ФА) – це показник стабільності розвитку організмів, які мають білатеральну будову досліджуваних структур, що базується на результатах розподілу різниці між лівою та правою сторонами³.

Серед покритонасінних рослин одним із таких універсальних біоіндикаторів є *Betula pendula* Roth., яка поширена по всій території України та листки якої можна використовувати для біоіндикації стану довкілля, досліджуючи показники флуктуючої асиметрії. Використання листків для біоіндикаційних досліджень зумовлене тим, що це один із найбільш екологічно пластичних поліфункціональних вегетативних органів рослин. Згідно з результатами багатьох дослідників^{4-7, 10-12},

саме *Betula pendula* представляє інтерес у біоіндикації для оцінки екологічного стресу на рівні не тільки фенотипової оцінки ФА листків, а й генотипової мінливості.

Мета роботи – в умовах урбанізованого середовища здійснити оцінку стану довкілля за показником флуктуючої асиметрії листків *Betula pendula*.

Матеріали та методи

Матеріалом досліджень слугували листки *Betula pendula*, відібрані після зупинки росту листя (кінець серпня – початок вересня). Кожна вибірка складалася з 20 листових пластинок у трикратній повторюваності.

Для збору матеріалу вибирали дерева приблизно одного віку, листки без наявних ушкоджень збирали на висоті 2 м від поверхні землі. Камеральну обробку результатів проводили на базі кафедри ботаніки та екології Донецького національного університету імені Василя Стуса.

З кожного листка знімали показники з лівої та правої сторони за п'ятьма параметрами (див. рис. 1):

- 1) ширина половини листової пластинки;
- 2) довжина другої жилки другого порядку від основи листка;
- 3) відстань між основами 1 і 2 жилок другого порядку;
- 4) відстань між кінцями 1 і 2 жилок другого порядку;
- 5) кут між основною жилкою (першого порядку) і другою від основи жилкою другого порядку.

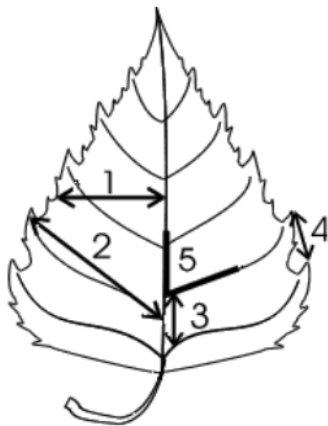


Рис. 1. Морфометричні параметри листової пластинки *Betula pendula* для визначення показника ФА

У процесі аналізу комплексу морфологічних ознак використовували інтегральний показник за методикою В.М. Захарова⁵. Стабільність розвитку та його відхилення від норми на основі показника ФА визначали за п'ятибальною шкалою (див. табл. 1), де кожному балу відповідає певне значення.

Таблиця 1 – Стабільність розвитку та значення показника асиметрії (X)

Бал	Опис стану та розвитку середовища	Значення показника асиметрії «X»
1	Умовна норма	до 0,040
2	Початкові (незначні) відхилення від норми	0,040–0,044
3	Середній рівень відхилення від норми	0,045–0,049
4	Істотні (значні) відхилення від норми	0,050–0,054
5	Критичний стан	більше 0,054

Отримані результати оброблено статистичними методами^{8, 9} та за допомогою прикладної програми Excel; рівень вірогідності 0,95% ($P < 0,05$).

Результати

Місто Могилів-Подільський – це місто обласного значення Вінницької області, що розташоване на південному заході області за 119 км від обласного центру, м. Вінниці, та за 344 км від м. Києва у глибокій і вузькій долині Дністра при впадінні його лівих протоків (річок Дерло та Немія), пролягає вздовж берегової лінії на 14 км. Середня висота над рівнем моря – 80 м. Територія – 21,63 км². Особливістю Могилева-Подільського є те, що місто прикордонне. Залізниця та важливі шосейні шляхи із системою мостів через Дністер (їх три) роблять місто важливим посередником в економічних зв'язках України з Молдовою, Румунією, Болгарією та іншими країнами. Використовуються також можливості річки Дністер як водного шляху. Проживає в місті приблизно 31 тис. населення^{13, 14}. На сьогодні в місті функціонують ПРАТ «Могилів-Подільський машинобудівний завод», ПАТ «Могилів-Подільський консервний завод», підприємства легкої та харчової промисловості.

Упродовж 2019–2020 рр. досліджували листки *Betula pendula* за показником флуктуючої асиметрії з десяти моніторингових точок м. Могилів-Подільський (Вінницька обл.), що відображено на рисунку 2.

Вибрані моніторингові точки мають таку характеристику:

1. Могилів-Подільська окружна лікарня інтенсивного лікування: територія розташована в затишному місті, відстань до дороги – приблизно 500 м. Автомобільне навантаження є нижчим за середній рівень.

2. Могилів-Подільський машинобудівний завод: територія заводу (що функціонує неповною мірою) розташована поблизу дороги з надмірним транспортним навантаженням.

3. Могилів-Подільський залізничний вокзал: інтенсивний рух залізничного транспорту, поруч

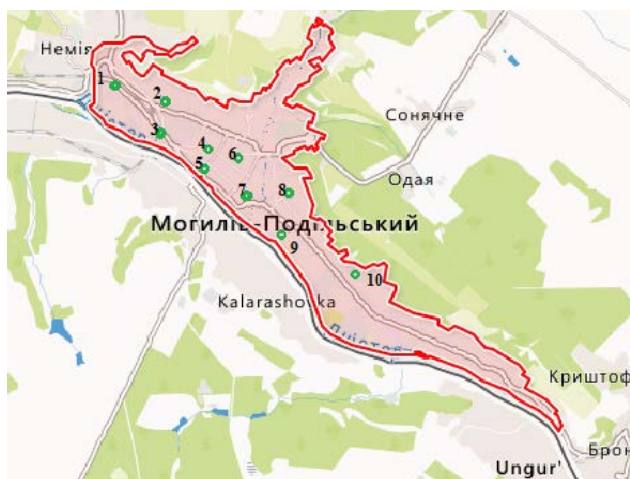


Рис. 2. Карта-схема м. Могилів-Подільський із моніторинговими точками: 1 – Могилів-Подільська окружна лікарня інтенсивного лікування; 2 – Могилів-Подільський машинобудівний завод; 3 – Могилів-Подільський залізничний вокзал; 4 – Кіровський район, житловий мікрорайон; 5 – Міжнародний пункт пропуску «Могилів-Подільський – Отач»; 6 – ринок; 7 – Центральний район; 8 – міський стадіон «Олімп»; 9 – район «Калантирь», вулиця Дачна; 10 – 119-й мікрорайон

автомобільна дорога, якою вантажний транспорт прямує до митниці.

4. Кіровський район: спальний житловий мікрорайон, двір поблизу житлових будинків; поряд проходить дорога до цього двору. Автомобільне навантаження є нижчим за середній рівень.

5. Міжнародний пункт пропуску «Могилів-Подільський – Отач» (митниця): надмірне транспортне навантаження; поблизу протікає річка Дністер.

6. Ринок: розташований уздовж центральної дороги міста; надмірне транспортне навантаження.

7. Центральний район: спальний житловий мікрорайон, двір поблизу житлових будинків.

Автомобільне навантаження є нижчим за середній рівень.

8. Міський стадіон «Олімп»: автомобільне навантаження середнього рівня.

9. Район «Калантирь», вулиця Дачна: дачний район міста; максимальна віддаленість від дороги. Автомобільне навантаження мінімального рівня. Поблизу протікає річка Дністер.

10. 119-й мікрорайон: спальний житловий мікрорайон, двір поблизу житлових будинків. Автомобільне навантаження є нижчим за середній рівень. Неподалік розташоване ПАТ «Могилів-Подільський консервний завод».

Дослідження морфометричних параметрів листків *Betula pendula* та визначення показників ФА впродовж двох років (2019–2020 рр.) не виявило значних коливань ФА (див. табл. 2). Значення коефіцієнта варіації (CV) для всіх моніторингових точок упродовж періоду дослідження виявилися в межах слабкої варіації – не більше 10%⁹.

У ході проведення досліджень було встановлено загальний усереднений показник ФА морфологічних параметрів листової пластинки *Betula pendula* (див. рис. 3).

Виявлені відмінності за середніми показниками ФА, що є сукупним відображенням порушення стабільності розвитку листків вибраного виду в різних моніторингових точках м. Могилів-Подільський.

Максимальний показник ФА *Betula pendula* відмічений у точках 5 (пункт пропуску «Могилів-Подільський – Отач»), 6 (ринок) та 10 (119-й мікрорайон), що відповідають критичному стану та мають максимальний бал. На основі обчислення середнього значення ФА встановлена залежність порушення рівня симетрії від забруднення: чим більший рівень навантаження на довкілля, тим більші показники ФА. Найбільшого техногенного впливу *Betula pendula* зазнає, на нашу думку, завдяки великій інтенсивності транспортного потоку. Точка 2 (Могилів-Подільський машинобудівний завод) має коефіцієнт ФА 0,051. Таке значення характеризує досліджену територію як ту, що має істотні відхи-

Таблиця 2 – Показники та варіабельність ФА в моніторингових точках м. Могилів-Подільський

Район (моніторингова точка)	2019		2020		Середнє за 2 роки	
	M±m	CV, %	M±m	CV, %	M±m	CV, %
Лікарня	0,043±0,005	0,45	0,049±0,003	0,55	0,046±0,005	0,50
Машинобудівний завод	0,052±0,004	0,60	0,050±0,004	0,50	0,051±0,006	0,55
Залізничний вокзал	0,050±0,005	0,55	0,040±0,005	0,65	0,045±0,006	0,60
Кіровський район	0,047±0,006	0,68	0,051±0,005	0,73	0,049±0,007	0,71
Митниця	0,074±0,007	0,45	0,070±0,006	0,49	0,072±0,007	0,47
Ринок	0,071±0,019	0,67	0,065±0,013	0,71	0,068±0,015	0,69
Центральний район	0,043±0,003	0,52	0,047±0,005	0,50	0,045±0,005	0,51
Стадіон «Олімп»	0,044±0,005	0,66	0,046±0,004	0,68	0,045±0,006	0,67
Калантирь	0,043±0,006	0,80	0,039±0,005	0,75	0,041±0,007	0,78
119-й мікрорайон	0,061±0,006	0,63	0,055±0,007	0,58	0,058±0,007	0,60

лення від норми. На цій ділянці рослини зазнають значного впливу негативних факторів¹⁴.

У моніторингових точках 1, 3, 4, 7, 8 коефіцієнт ФА коливається в межах 0,045–0,049 та фіксується в межах середнього рівня відхилення від норми (див. табл. 3).

Мінімальні показники асиметрії (0,041) спостерігаються в районі Калантирь, вул. Дачна. Це пов'язано з тим, що зазначена ділянка має один із найменших транспортних потоків, найбільш віддалена від центральної траси. Переважає рекреаційне навантаження, яке не має суттєвого впливу на показники ФА. За результатами досліджень саме ця територія належить до моніторингової точки, що має незначні відхилення від норми.

Згідно з результатами замірів та статистичної обробки величини асиметрії ФА за 5 параметрами листкової пластинки *Betula pendula* найбільш стійкою виявилася ознака Y2 – довжина другої жилки другого порядку від основи листка (0,0267), що свідчить про стійкість до факторів навколишнього середовища (див. рис. 4).

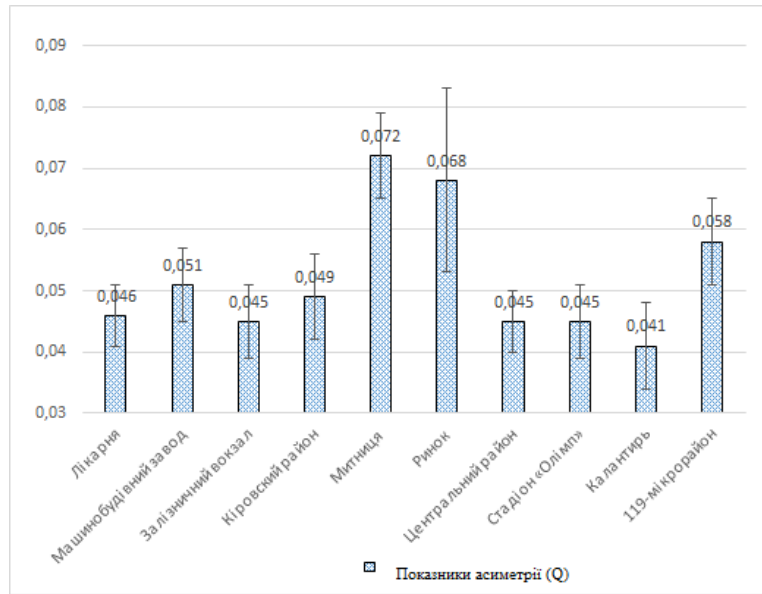


Рис. 3. Середні значення показників флюктуючої асиметрії листків *Betula pendula* в моніторингових точках м. Могилів-Подільський

За параметром Y3 (відстань між основами першої та другої жилки другого порядку) розбіжність між показниками лівої та правої сторони листка виявилася максимальною (0,1812).

Таблиця 3 – Характеристика моніторингових точок м. Могилів-Подільський за інтегральним показником флюктуючої асиметрії популяцій *Betula pendula*

Район (моніторингова точка)	Показники асиметрії (Q)	Бал	Характеристика стану середовища
1. Лікарня	0,046	3	Середній рівень відхилення від норми
2. Машинобудівний завод	0,051	4	Істотні відхилення від норми
3. Залізничний вокзал	0,045	3	Середній рівень відхилення від норми
4. Кіровський район	0,049	3	Середній рівень відхилення від норми
5. Митниця	0,072	5	Критичний стан
6. Ринок	0,068	5	Критичний стан
7. Центральний район	0,045	3	Середній рівень відхилення від норми
8. Стадіон «Олімп»	0,045	3	Середній рівень відхилення від норми
9. Калантирь	0,041	2	Початкові (незначні) відхилення від норми
10. 119-й мікрорайон	0,058	5	Критичний стан

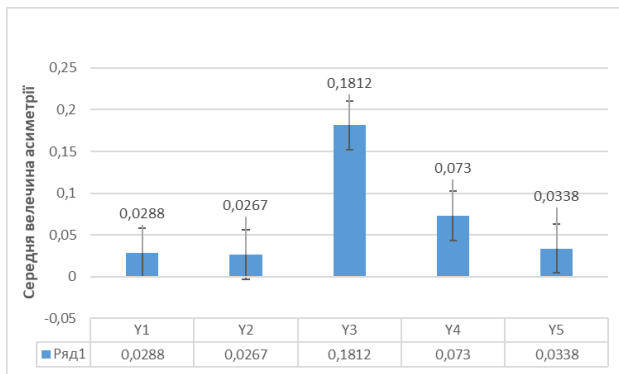


Рис. 4. Величини асиметрії ФА за 5 параметрами листкової пластинки *Betula pendula*

Обговорення

Ідеальні умови розвитку⁵ регламентують насамперед стабільність розвитку особин, наближеного до ідеального стану. У реальних умовах стабільність розвитку чітко реагує на умови довкілля. Одним із таких показників вибрано ФА, за результатами зміни якої можна фіксувати наявні відхилення у стані довкілля². Отже, за результатами дослідження ФА в листків *Betula pendula* можна не лише зробити відповідну оцінку якості середовища для кожної вибраної моніторингової точки, а й надати характеристику розвитку як окремих особин *Betula pendula*, так і її популяції⁵.

За результатами досліджень багатьох учених^{2-7, 10-12} підтверджено, що на стабільність розвитку *Betula pendula* впливають не тільки антропогенні чинники (результати функціонування промислового комплексу, інтенсивний автотранспорт), а й біотичні фактори, наприклад: видова та міжвидова конкуренція, наявність захворювань, паразитів. Абіотичні фактори також мають неабиякий вплив на розвиток *Betula pendula*. Наприклад, надмірні температури повітря, посуха, інтенсивні інсоляції можуть бути причиною порушення анатомо-морфологічної будови листків, функціонування асиміляційного апарату, зниження чи підвищення кількості пігментів¹⁰⁻¹².

За результатами наших досліджень показники ФА листків *Betula pendula* доцільно використовувати для надання оцінки стану міського середовища. Ця методика не потребує значних матеріальних вкладень і спеціальної інструментальної бази, є доступною для більшості територій, оскільки вибраний для дослідження вид є поширеним у міських екосистемах.

Висновки

Згідно з отриманими експериментальними даними показники ФА *Betula pendula* зростають у місцях високого антропогенного навантаження. Ми з'ясували, що серед вибраних моніторингових точок м. Могилів-Подільський найбільшого рівня антропопресінг сягає у трьох точках: Міжнародному пункті пропуску «Могилів-Подільський – Отач» (митниці), ринку та 119-му мікрорайоні. Більшість досліджених територій за показниками ФА належить до таких, що мають середній рівень відхилення від норми.

Найбільш чутливим до впливу урботехногенного середовища пластинки *Betula pendula* є показник 3 параметра (відстань між основами першої та другої жилки другого порядку), середнє значення якого становить 0,181.

Нами визначено, що параметр 2 (довжина другої жилки другого порядку) є найбільш стійким до впливу чинників техногенного забруднення середовища, асиметрія не перевищує 0,026.

На основі обчислення середнього значення флюктууючої асиметрії встановлено залежність порушення рівня симетрії внаслідок забруднення довкілля. Найбільшого техногенного впливу *Betula pendula* зазнає в місцях поблизу промислових підприємств та вздовж вулиць з інтенсивним транспортним потоком (межі коливання від 0,058 до 0,072). У результаті встановлена така градація серед досліджених моніторингових точок м. Могилів-Подільський за ступенем збільшення показників ФА: 5>6>10>2>4>1>3; 7; 8>9. Отже, можна підтвердити гіпотезу, що зі збільшенням відстані від джерела забруднення спостерігається зниження показника флюктууючої асиметрії.

Література

- (1) Graham, J.H.; Raz, S.; Hel-Or, H.; Nevo, E. Fluctuating asymmetry: methods, theory and applications. *Symmetry*. **2010**, 2 (2), 466–540. <https://doi.org/10.3390/sym2020466>.
- (2) Palmer, A.R.; Strobeck, C. Fluctuating asymmetry analyses revisited. *Developmental Instability: Causes and Consequences*. New York, USA: Oxford University Press, **2003**, 279–319.
- (3) Mendes, G.; Boaventura, M.G.; Cornelissen, T. Fluctuating Asymmetry as a Bioindicator of Environmental Stress Caused by Pollution in a Pioneer Plant Species. *Environmental Entomology*. **2018**, 47 (6), 1479–1484. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy147>.
- (4) Бессонова, В.П. Методи біоіндикації в оцінці екологічного стану довкілля. Запоріжжя: ЗДУ, **2001**. 196 с.
- (5) Baranov, S.G. Morphometric Analyses of (Hidden) Directional Asymmetry in Leaf Blades. *Emerging Science Journal*. **2018**, 2 (4), 170–180. <http://dx.doi.org/10.28991/esj-2018-01141>.
- (6) Захаров; В.М.; Баранов; А.С.; Борисов; В.И.; Валецкий; А.В.; Кряжева; Н.Г.; Чистякова; Е.К.; Чубинишвили; А.Т. Здоровье среды: методика оценки. Москва: Центр экологической политики России, **2000**. 68 с.
- (7) Скляренко, А.В. Оцінювання впливу промислових умов на величину флюктууючої асиметрії листової пластинки *Betula pendula* Запоріжжя. *Науковий вісник НЛТУ України*. **2019**, 29 (6), 54–57. <https://doi.org/10.15421/40290611>.
- (8) Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Москва: Альянс, **2011**. 352 с.

- (9) Лакин, Г.Ф. Биометрия. Москва: Высшая школа, 1990. 351 с.
- (10) Freeman, D.C., Graham, J.H., Emlen, J.M. Developmental stability in plants: symmetries, stress and epigenesis. *Genetica*, 89, 1993, 97–119. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02424508>.
- (11) Юсипіва, Т.І. Зміни анатомічних характеристик стебла однорічного пагона *Betula pendula* Roth. за дії антропогенного навантаження. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2016, 72, 125–133.
- (12) Петрушкевич, Ю.М. Вплив промислових умов на величину флуктуючої асиметрії листової пластинки *Betula pendula*. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Біологія*. 2018, 1 (72), 82–89.
- (13) Панасюк, Т.В.; Фоменко, Т.А.; Щербакова, І.Л. Могилів-Подільський. *Енциклопедія сучасної України* (електронна версія): вебсайт / гол. редкол.: І.М. Дзюба, А.І. Жуковський, М.Г. Железняк та ін.; НАН України, НТШ. Київ: Інститут енциклопедичних досліджень НАН України, 2019. URL: https://esu.com.ua/search_articles.php?id=69552 (дата звернення: 11.10.2021).
- (14) Екологічний паспорт Вінницької області за 2019 рік. Додаток до Порядку взаємодії Міністерства екології та природних ресурсів України з обласними, Київською і Севастопольською міськими державними адміністраціями з питань охорони навколишнього природного середовища (пункт 1 розділу III). URL: <http://www.vin.gov.ua/dep-apr/stan-dovkillia/239-ekolohichni-pasporty/29108-ekolohichni-pasport-oblasti-za-2019> (дата звернення: 09.10.2021).

Можливості морфологічної ідентифікації та технологічні особливості гістохімічного методу виявлення грибів у практиці гістолога¹

Мельник О. О., Ліскіна І. В., Мельник О. Л.

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського

Національної академії медичних наук України»

oleksynskaya@ifp.kiev.ua; olday87@gmail.com

Ключові слова: *грибкова інфекція, морфологічна діагностика, метод Гоморі – Грокота, технологія.*

В останні роки набуло значної актуальності вивчення опортуністичних мікозів, які є частими ускладненнями багатьох захворювань, що належать до компетенції лікарів різного фаху. Неспецифічність клінічних проявів інфекції вимагає застосування у клінічній практиці широкого спектру діагностичних досліджень, зокрема й морфологічного. У науковій літературі замало публікацій, які присвячені поясненню технологічних особливостей гістохімічних методів для морфологічного дослідження грибів у тканинах макроорганізму, а саме особливостей, недоліків і нюансів окремих етапів виконання спеціального забарвлення, а також адекватній інтерпретації мікроскопічних знахідок, які можуть спостерігатися в забарвленій тканині.

У статті наведені загальні дані щодо будови грибів і можливостей їх морфологічного виявлення та ідентифікації. Представлено власний досвід застосування найбільш поширеного спеціального гістологічного методу Гоморі – Грокота для морфологічної ідентифікації грибкової інфекції. Детально описані особливості технологічного процесу та наведено власні напрацювання щодо його оптимізації, які не впливають на якість спеціального забарвлення гістологічних зрізів або навіть покращують її. Описано методологічні підходи до гістологічного аналізу отриманих зразків тканини людини та можливості й обмеження гістологічної діагностики різних грибкових інфекцій. Зазначені деталі гістологічної картини, які варто розцінювати як артефіціальні зміни забарвлення тканини. Продемонстровано власні випадки застосування методу Гоморі – Грокота у клінічній практиці, які дали змогу об'єктивно встановити саме грибкову природу патологічних змін уражених органів грудної порожнини. Окреслено перспективи подальшого вдосконалення гістологічної діагностики грибкових інфекцій людини. Зокрема, пропонується паралельне застосування декількох спеціальних методів забарвлення зразків тканини для розширення можливостей виявлення структур гриба в разі їх наявності.

¹ Дослідження виконано в межах науково-дослідницької роботи «Розробити алгоритм гістологічної діагностики патології легень у хворих на ВІЛ-інфекцію» (номер державної реєстрації 0118U007361). Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані із цим рукописом, на момент публікації немає та не передбачається.

Possibilities of morphological identification and technological features of histochemical method of fungi detection in histologist's practice

Melnik O. A., Liskina I. V., Melnik A. L.

State organization "National Institute of Phthiology and Pulmonology named after F. H. Yanovskyi National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

oleksynskaya@ifp.kiev.ua; olday87@gmail.com

Key words: medicinal leech, fertility, epididymis, sperm, ejaculate.

In recent years opportunistic mycoses, which are frequent complications of many diseases have become immensely relevant, and it's within the competence of physicians of various specialties. Nonspecific clinical manifestation of infection requires the use of a wide range of diagnostic studies, including morphological in clinical practice. There are not enough publications that explain the technological features of histochemical methods for morphological study of fungi in the tissues of the macroorganism, namely feature, shortcomings and nuances of separate stages in the performance of special staining; adequate interpretation of microscopic findings present in the stained tissue.

The article presents general data on the structure of fungi and the possibility of their morphological detection and identification. Our own experience of using the most common special histological Gomori – Grocott's method for morphological identification of fungal infection is presented. The peculiarities of the technological process are described in detail and our own developments on its optimization are noted, which do not affect or even improve the quality of special staining of histological sections. Methodological approaches of histological analysis of the received samples of human tissue, possibilities and limitations of histological diagnosis of various fungal infections are defined. Besides, the details of the histological picture, which should be regarded as artificial changes in tissue color, are mentioned. Our own cases of application of Gomori – Grocott's method in clinical practice have been demonstrated, which made it possible to objectively establish the fungal nature of pathological changes in the affected organs of the thoracic cavity. Prospects of further improvement in histological diagnostics of human fungal infections are outlined, in particular it is suggested to use several special methods of staining tissue samples simultaneously to expand the possibilities of detecting fungal structures in cases if their presence.

Вступ

Грибкові інфекції (мікози) – одна з найбільш гострих проблем сучасної медицини. Зусилля багатьох спеціалістів спрямовуються на розроблення та впровадження заходів і засобів боротьби з ними. В усьому світі вагомому значення надають розробленню нових протигрибкових препаратів і схем лікування.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, кожен п'ятий житель Землі інфікований грибами, а кожен десятий має клінічні прояви інфекції. Питання про збудників мікозів ускладнюється також тим, що низка захворювань, які клінічно дуже подібні до грибкових, насправді спричиняються інфекційними агентами інших таксономічних груп.

Гриби – це еукаріотичні хемоорганотрофні мікроорганізми з вираженою клітинною стінкою

(оболонкою) товщиною близько 0,2 мкм та цитоплазми з мембранними структурами^{1,2}.

Клітинна оболонка визначає природну стійкість форми гриба, оскільки є щільною пружною полімерною структурою, що виконує опорно-механічну функцію, захищає клітини від впливу зовнішніх факторів, має вибіркочувальну проникність для речовин різної хімічної природи. Клітинна стінка у грибів на 80–90% складається з полісахаридів (манани, глюкози, целюлози), азотовмісних (хітин) і безазотистих сполук. У клітинній стінці також містяться білки, ліпіди, поліфосфати, нуклеїнові кислоти. Зовнішні шари оболонки часто містять пігменти, які надають клітинам різного забарвлення².

Воротами грибкової інфекції в людини найчастіше бувають шкірні покриви та органи дихання^{3–10}.

У діагностиці мікозів застосовуються мікроскопічні (зокрема, гістологічні), мікро-

біологічні (культуральні), імунологічні, серологічні, експериментальні, молекулярно-генетичні та інші методи дослідження.

Дотепер застосування мікробіологічного культурального методу для виявлення конкретних патогенів залишається найбільш ефективним, хоча грибові організми можуть рости тижнями, якщо взагалі виростуть. Відповідно, досить часто грибові інфекції діагностуються за допомогою звичайного патогістологічного дослідження зразків тканини, яке займає від 24 до 48 годин за максимального пришвидшеного процесу.

Найпоширенішим під час патогістологічного дослідження є виявлення структур гриба у зрізах тканин за традиційного гістологічного забарвлення (гематоксилін-еозин). У лабораторній практиці, якщо виникає підозра на грибову інфекцію, проте мікроорганізми або не ідентифікуються, або погано візуалізуються за традиційного забарвлення ураженої тканини, часто використовують додаткові специфічні барвники^{6,11,12}, зокрема найбільш поширені метамін срібла за Гоморі (Methenamine silver plating kit acc. to Gomori та Modified Grocott's methenamine silver stain, далі – GMS) та/або періодична кислота Шиффа (PAS staining kit та Alcian blue-PAS staining, далі – PAS), які застосовуються для того, щоб виключити грибову інфекцію або, навпаки, визначити її наявність і рід гриба за морфологічними характеристиками¹³. Є й інші гістологічні методи забарвлення грибів¹⁴. Фарбування за цими методиками забезпечує більший і кращий контраст, виокремлюючи клітинну стінку гриба, однак потрібно пам'ятати, що під час використання цих методів часто має місце також помилкова ідентифікація, можна отримати несправжньо позитивні та несправжньо негативні результати.

Патогістологічне дослідження корисне для диференціації грибової колонізації та інфекції шляхом ідентифікації процесу проникнення чи запалення у тканині, проте встановлення роду та виду гриба є досить обмеженим¹⁵.

У науковій літературі замало публікацій, які присвячені аналізу технологічних особливостей вищезгаданих методів для гістохімічного виявлення грибів у тканинах макроорганізму, а саме особливостей, недоліків і нюансів окремих етапів у виконанні спеціального забарвлення. До того ж не досить уваги приділяється власне ретельному аналізу тканинних зрізів, забарвлених із метою виявлення структур гриба.

Метою роботи є оптимізація методу Гоморі – Грокота та висвітлення особливостей аналізу гістологічних препаратів за морфологічної ідентифікації структур гриба в різних тканинах людини.

Матеріали та методи досліджень

У роботі застосовано промисловий набір реактивів для методу Гоморі – Грокота виробництва

Thermo Fisher Scientific (США). Перевагою набору є те, що всі його компоненти мають точні концентрації, що підтверджено сертифікатом якості, і досить тривалий термін використання – 1–2 роки. Набір містить детальну покрокову інструкцію виробника щодо проведення забарвлення тканини з парафінових блоків.

У роботі використовувалися парафінові блоки, які отримували з використанням гістоцентру Shandon Histocentre 3 фірми Thermo Scientific (Англія) та парафіну Paraffin Type 6 фірми Thermo Scientific. Парафін такого типу є універсальним для проводки зразків та забезпечує максимальне просякання досліджуваної тканини для отримання тонких якісних її зрізів.

Гістологічні зрізи тканини, яка має досліджуватися, отримували з парафінових блоків із застосуванням точного ротаційного мікротома Shandon Finesse 325 фірми Thermo Scientific (Англія).

У процесі проведення забарвлення застосовували термостати виробництва Чехії Incucell 111 з температурами 37°C та 58°C.

З огляду на фтизіопульмонологічну спеціалізацію нашої установи тканини людини, які досліджували на можливу наявність грибової інфекції, включали переважно легеневу тканину, лімфатичні вузли та інколи біопсії шкіри. Легеневу тканину отримували під час оперативних втручань різного обсягу, лімфатичні вузли – під час ексцизійної біопсії за різних периферичних локалізацій.

Оскільки в роботі об'єктом дослідження слугував біопсійний та/або операційний матеріал хворих із захворюваннями органів грудної порожнини, то документи «Інформація для учасника досліджень», «Інформована згода пацієнта на медичне втручання», «Інформована добровільна згода пацієнта на проведення діагностики, лікування та на проведення операції та знеболення», «Форма інформованої згоди пацієнта на участь у наукових дослідженнях відповідно до протоколу» додатково не застосовувалися відповідно до протоколу № 1/2016 висновку комітету з медичної етики. Зазначені документи оформлювалися у стаціонарі лікуючими лікарями в історії хвороби.

Модифікація методу та обговорення результатів

Представляємо опис технологічного процесу методики «Modified Grocott's methenamine silver stain», яка поширена в усьому світі для ідентифікації грибових структур із низкою власних раціоналізаторських процедур. Поетапно представляємо її особливості та нюанси, з якими можуть стикатися на практиці лаборанти й лікарі-патологи та які були з'ясовані на нашому власному досвіді.

Будь-яке забарвлення тканини для гістологічного дослідження включає три основні етапи (технології): підготовчий, власне фарбування та завершальний етап.

Згідно з наданим виробником протоколом процедури забарвлення найбільш придатними для виявлення грибів за GMS є зрізи тканини товщиною 4–6 мкм, у практичній діяльності ми виготовляємо зрізи тканини товщиною 5 мкм, якої цілком досить для чіткого виявлення грибів у зрізах тканини за їх наявності.

Підготовчий етап складається з двох процедур: депарафінування та регідратації тканинного зрізу. Перед тим як розпочати підготовчий етап, препарати (скельця зі зрізами) поміщають у термостат із температурою 37°C приблизно на 60 хвилин, щоб покращити процес власне депарафінації. Оскільки більшість барвників не проникають у зрізи, просякнуті парафіном, і є водо- чи спирто-розчинними речовинами, парафін перед фарбуванням препаратів має бути видалений. Згідно з рекомендаціями посібників із гістологічної техніки депарафінацію необхідно проводити у двох ємностях із розчинником (ксилол або толуол) упродовж 3–5 хвилин, цього часу повинно вистачити для розчинення та видалення парафіну, що міститься у зрізі тканини^{15,16}. Однак, як свідчить наш досвід, процес депарафінації бажано проводити більше часу, тому гістологічні препарати поміщають в одну ємність із розчинником приблизно на 50 хвилин. Цього терміну досить, щоб повністю видалити весь парафін із тканини, що сприяє надалі якісному її фарбуванню основними барвниками. Далі препарати підсушують фільтрувальним папером, після чого вони підлягають регідратації у спирті (96%) упродовж 5 хвилин та розміщуються в ємності з дистильованою водою на 5 хвилин.

Як було зазначено, останнім часом для виявлення патогенних грибів у гістологічних препаратах ми використовуємо готовий промисловий набір реактивів для методу Гоморі – Грокота.

Процедура власне фарбування починається з перенесення скелець у ємність із розчином ортоїодної кислоти, при цьому відбувається окиснення полісахаридів до альдегідів. Зазвичай ця процедура триває 5 хвилин, проте якщо є підозра на гістоплазмоз, який необхідно продемонструвати в ураженій тканині, то скельця зі зрізами в розчині ортоїодної кислоти необхідно помістити в термостат із температурою 56–60°C на одну годину (гриби у процесі мікроскопії в цей період набувають чорного забарвлення). Після чого скельця ретельно промивають у 5–6 змінних ємностях дистильованої води. Така особливість технології запропонована виробником промислового набору реактивів для забарвлення GMS. Також варто зауважити, що розчин ортоїодної кислоти потрібно зберігати в холодильнику за температури 2–8°C та періодично повністю міняти; з нашого досвіду можна стверджувати, що однієї робочої порції реактиву вистачає в середньому на

обробку 40–50 скелець, оскільки у процесі його використання втрачається здатність до окиснення полісахаридів.

Наступним кроком є фарбування скелець розчином метаміну срібла, завдяки чому відбувається заміщення в альдегідній групі йонів H^+ йонами Ag^+ , унаслідок чого з'являється золотисто-коричневе забарвлення, яке й дає змогу візуалізувати структури грибів.

Розчин метаміну срібла завжди готується безпосередньо (*in vitro*) перед тим, як скельця поміщають у ємність із цим розчином. Згідно з прописом для цього необхідно змішати такі реактиви, як метаміну борат (1 капсула з порошком), дистильована вода (50 мл), розчин нітрату срібла (1 мл). Проте зазвичай проводиться фарбування не більше 5–8 зрізів тканини, тому такий об'єм розчину завеликий. Через це для раціонального використання дороговартісних реактивів вирішено готувати у 5 разів менший об'єм розчину, для чого капсулу з порошком метаміну борату розважують на 5 порцій, які зберігаються в епендорфах у звичайному холодильнику та цілком підходять для подальшого використання. Наш досвід свідчить про те, що в разі ретельного проведення цих дій не спотворюються кінцеві результати забарвлення структури зрізу тканини.

Негайно після приготування розчину метаміну срібла в нього занурюють скельця зі зрізами тканини та переносять у водяну баню або мікрохвильову піч із температурою 56–60°C згідно з прописом методики. У наших умовах проводиться розміщення скелець зі зрізами в чашки Петрі, які попередньо, за 30 хвилин, для нагрівання поміщають у термостат із температурою 56–60°C (на дно чашки кладуть фільтрувальний папір та наливають зовсім трохи дистильованої води для створення «ефекту бані», а також підкладають скляні палички, щоб скельця не контактували з водою безпосередньо) на 50 хвилин. У прописі методики зазначено, що після 30 хвилин перебування скелець у термостаті інтенсивність їх фарбування потрібно перевіряти мікроскопічно (чи набули гриби забарвлення від темно-коричневого до чорного), помістивши скельця у стакан із дистильованою водою (вода має бути гарячою, тобто тієї ж температури, що й скельця), який паралельно також ставлять у термостат разом із чашками Петрі. Після мікроскопічної перевірки скельця повертають назад до робочого розчину в термостат і продовжують контролювати кожні 5 хвилин, доки не з'явиться золотисто-коричневий колір і мікроорганізми будуть чітко визначатися. Наш досвід застосування цієї методики дав змогу дійти висновку, що 50 хвилин досить для того, щоб гриби, якщо вони наявні у зрізах тканини, проявилися у процесі фарбування. Після

цього скельця зі зрізами ретельно промивають у дистильованій воді 3–5 разів.

Далі скельця поміщають у ємність із розчином хлориду золота на 30 секунд, де, власне, і відбувається заміщення йонів Ag^+ йонами Au^+ у низці гістологічних структур тканини, через що загальне забарвлення тканини змінюється із золотисто-коричневого на блідо-сіре. Розчин хлориду золота також потрібно зберігати в холодильнику за температури 2–8°C та періодично змінювати (як свідчить наш досвід, через 40–50 скелець у середньому), оскільки у процесі реакцій обміну йони Au^+ з розчину хлориду золота із часом повністю заміщаються йонами Ag^+ . Після цього скельця поміщають у дистильовану воду на 1 хвилину.

Наступний крок – перенесення скелець у розчин тіосульфату натрію на 1 хвилину, який видаляє невідновлене срібло з тканини, утворюючи комплексну сполуку. Цей розчин також необхідно зберігати в холодильнику за температури 2–8°C та періодично повністю замінювати, у середньому через 40–50 скелець, оскільки під дією світла ця сіль частково розкладається. Далі скельця поміщають у дистильовану воду на 1 хвилину.

Останнім кроком є фарбування скелець у розчині барвника «Fast Green» упродовж 30 секунд, що зумовлює появу світло-зеленого фонового забарвлення тканини, яке посилює контрастність препарату та тим самим ще більше визначає позитивне фарбування мікроорганізмів. Зберігати цей розчин також необхідно в холодильнику за температури 2–8°C, проте повністю змінювати його потрібно дуже рідко, оскільки розчин «Fast Green» можна періодично фільтрувати (через 40–50 скелець) і використовувати знову. Після цього скельця ретельно промивають у дистильованій воді.

Завершальний етап включає в себе дегідратацію пофарбованих зрізів у 96% спиртах двічі по 2 хвилини та їх просвітлення в розчиннику (толуол або ксилол) двічі по 2 хвилини. Після цього скельця готові для нанесення фіксуючого бальзаму на зріз тканини та покриття зверху покривним скельцем. Гістологічні бальзами мають консервуючі властивості, що забезпечує можливість тривалого зберігання (не менше декількох років) забарвлених скелець без втрати специфічних кольорів зрізу тканини. Після цього бажано поміщати препарати під наважку (вона поміщається прямо на покривне скельце) на пів години або більше з метою видалення можливих наявних мікропухирців повітря з бальзаму.

Препарат готовий до мікроскопічного дослідження, тобто для гістологічної діагностики патологічного процесу, який представлено у зрізі тканини.

Завдяки особливостям будови клітинної оболонки гриба, яка містить «аргент-афінні структури» («argent-affine structures»), що здатні відновлюватися йонами срібла, які містяться у відповідній солі аргентуму, та утворювати металічне срібло, можна візуально досліджувати й ідентифікувати основні види патогенних грибів.

Подальший етап роботи є аналітичним і включає власне мікроскопічне дослідження забарвленого зрізу ураженої тканини з метою встановлення наявності чи відсутності грибкової інфекції. Як власний досвід, так і опубліковані дані, на жаль, нечисленних джерел літератури^{17,18} свідчать про можливі труднощі інтерпретації мікроскопічної картини навіть у досвідчених лікарів-патологів. Питання правильного розуміння гістологічної картини можуть бути пов'язані як з артефактами у процесі отримання матеріалу для морфологічного дослідження та наступних технологічних процесах (фіксації матеріалу, проводки та заливки шматочків у гістологічні блоки тощо), так і з індивідуальними анатомічними й фізіологічними особливостями організму людини, будовою окремих органів і систем та можливою наявністю прихованого перебігу недиагностованих патологічних процесів.

Наприклад, можна зазначити, що низка тканин та органів (шкіра, легені, судини, нервова тканина) у нормі виявляють виразну аргірофілію. Зокрема, у шкірі та легеневій паренхімі, які частіше бувають об'єктами нашого дослідження, у складі сполучнотканинного каркасу та в судинній сітці наявна дуже значна кількість еластичних волокон. Останні є типовими гістологічними структурами, спорідненими зі сріблом, та за умови відповідної обробки можуть набувати забарвлення, подібного до структур гриба.

Такі обставини для більш правильного й реалістичного виявлення мікроміцетів вимагають спостерігати та ідентифікувати останні в ділянках тканини з некрозом-некробіозом, тобто з максимальною відсутністю збережених тканинних структур. Встановлено, що досить часто фонового забарвлення набуває також вміст ядер клітин тканини, яка досліджується. Знов-таки, саме в ділянках тканини, які піддалися руйнуванню, такі артефакти практично відсутні або представлені мінімально. У деяких випадках досить складно диференціювати забарвлені фрагменти клітин ураженої тканини (клітинний детрит та спори грибів).

Отже, щоб отримати правильний патологістологічний висновок щодо патологічного процесу, варто намагатися досліджувати ділянки зрізу тканини з деструкцією у вигляді некрозу-некробіозу та саме в них виявляти структури грибів. Про такий підхід опосередковано свід-

чать і численні мікрофотографії у відповідних за тематикою наукових статтях^{13,14,19}.

Загалом наш досвід застосування вищеписаного методу Гоморі – Грокота з метою виявлення грибкових структур у різних тканинах людини становить дослідження 215 випадків із підозрою на грибкову інфекцію за останні 3 роки.

Окремі приклади з нашої практики застосування методу для ідентифікації грибкової інфекції з мікрофотографіями гістологічних препаратів наведено на рис. 1 та 2. Виявлені структури грибів мали принципове значення для встановлення патологогістологічного висновку та, відповідно, клінічного діагнозу захворювання.

На рис. 1 представлено ділянку некробіозу легеневої паренхіми, у якій виявляються численні дрібні округлі та овальні структури гриба, забарвлені в чорний колір, за морфологією, найбільш імовірно, – гістоплазми (чорні стрілки). Також у тканині наявні структури збережених фрагментів еластичного каркасу судин та інтерстицію легеневої паренхіми (ближче до краю рисунку, окрім верху), які набули коричнево-чорного забарвлення. Результат застосування модифікованого варіанта методу Гоморі – Грокота на виявлення гістоплазми підтвердив попередній висновок щодо роду гриба.

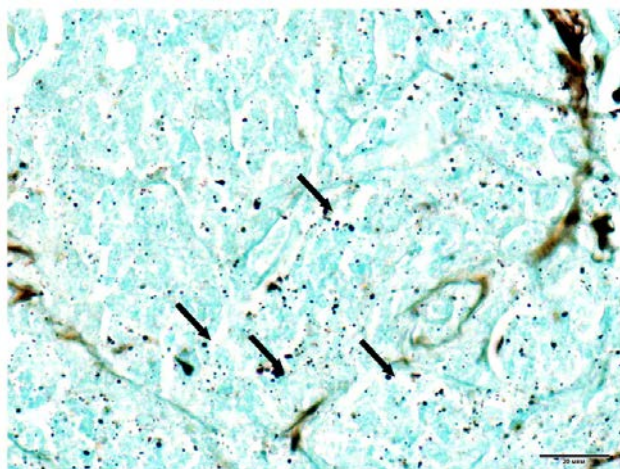


Рис. 1. Грибкове ураження легень дріжджоподібними грибами. Забарвлення за Гоморі – Грокотом. Збільшення x400

На рис. 2 в центральній частині визначається велика ділянка некротизованої легеневої тканини, у якій присутня помірна кількість досить крупних сферул мікроміцету (окремі структури гриба вказані темними стрілками). Така морфологія гриба є типовою для кокцидіомікозу (діагноз було підтверджено мікробіологічним дослідженням). Також спостерігаються частково забарвлені залишкові структури еластичних волокон (білі стрілки).

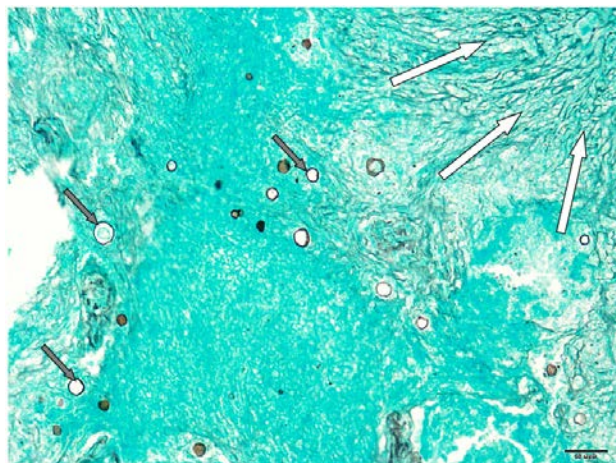


Рис. 2. Кокцидіомікоз легень. Забарвлення за Гоморі – Грокотом. Збільшення x400

Патогенні для людини мікроскопічні гриби належать до зигоміцетів, аскоміцетів, дейтеро-міцетів.

У разі виявлення структур грибів під час гістологічного дослідження в ураженій тканині насамперед можна визначити групову належність грибів: гіфові (міцелярні) або дріжджоподібні (кокові). Серед міцелярних грибів з огляду на особливості морфології мікроміцетів та за наявності певного практичного досвіду можна досить точно диференціювати аспергіли з мукором (за товщиною та розгалуженням гіфів). Досить рідко в царині фтизіатрії та пульмонології трапляються актиноміцети (за таксономічною класифікацією вони належать до бактерій), проте вони також мають своєрідну морфологію та забарвлюються у процесі застосування методу Гоморі – Грокота, що дає змогу визначити їх у тканині під час гістологічного дослідження.

До поширених грибкових інфекцій людини відносять кандиди та гістоплазму. Досить непросто за гістологічним дослідженням диференціювати саме кандиди та гістоплазмоз, навіть за умови спеціального забарвлення. Їхні розміри й форма часто близькі до ядер клітин ураженої тканини, часточок пилу, обривків волокнистих структур тканини, що може спричинити помилки діагностики. За імунодефіцитних станів у вражених тканинах можна виявити структури аспергіл, криптококи, пневмоцисти тощо.

У таблиці 1, яка представлена в роботі J. Guarner¹⁴, узагальнені сучасні різні барвники та альтернативні методи фарбування грибів у тканинах. Ми процитуємо її у спрощеному вигляді. Зрозуміло, що жоден із представлених методів не є досконалим, практично жодний із них не здатний забарвлювати всі без винятку види грибів. Зокрема, використання GMS може призвести до поганого фарбування під час фрагментації або

некрозу грибкових елементів¹⁴. Ще одним обмеженням є те, що забарвлення за GMS близьке до природного кольору цвілі, а тому ускладнює ідентифікацію гіалінових організмів із мертвих рослин та не дає можливості в деяких випадках правильно інтерпретувати результати фарбування²⁰. Під час використання PAS структурні елементи фонові тканини також можуть забарвлюватися одночасно з клітинною стінкою гриба^{8,14}.

Поширеність грибкових інфекцій, їх видова різноманітність, здатність до вкрай поліморфних варіантів уражень людини як щодо органів та систем організму, так і за ступенем важкості клінічної картини зумовлюють постійну увагу медичної спільноти до цієї проблеми. Неспецифічність клінічних

проявів інфекції вимагає застосування у клінічній практиці широкого спектру діагностичних досліджень, зокрема морфологічного. Представлений власний досвід гістологічної ідентифікації грибів в уражених тканинах може слугувати прикладом успішного застосування методу Гоморі – Грокота для потреб практичної медицини.

Висновки

1. Представлено власний досвід застосування найбільш поширеного спеціального гістологічного методу Гоморі – Грокота для морфологічної ідентифікації грибкової інфекції. Відмічено особливості технологічного процесу, зокрема: а) оптимальна товщина зрізів тканини для чіткого вияв-

Таблиця 1 – Барвники та альтернативні методи фарбування грибів у тканинах (цитуються за J. Guarner¹⁴)

Барвники (методи фарбування)	Особливості результату застосування	Результати фарбування
1. Гематоксилін та еозин (ГЕ)	Барвники дають змогу ідентифікувати запальну реакцію макроорганізму, а саме багатоядерні гігантські клітини, некротичний матеріал, крововиливи та феномен Splendore-Höerpli. Із цими барвниками можна виявити більшість грибів, особливо ядра дріжджоподібних грибів або якщо грибок природно пігментований (проте елементи грибів може бути важко відрізнити від фонового фарбування)	Усі гриби демонструють рожеву цитоплазму, сині ядра та безбарвні оболонки
2. Барвник срібла (метамін срібла Грокота та Гоморі (GMS))	Стінка гриба виділяється за рахунок витіснення альдегідної групи сріблом	Стінка гриба забарвлюється в чорний або темно-коричневий колір для всіх грибів, фонові тканини зазвичай має зелений колір, слизова оболонка може фарбуватися дуже слабо
3. Періодична кислота Шиффа (PAS)	Виявляє глікоген у тканинах, оскільки стінки грибів містять велику кількість глікогену	Клітинна стінка грибів набуває забарвлення від рожевого до червоно-пурпурового залежно від використаного контрастного барвника, ядра можуть бути синіми
4. Метод Грідлі	Фарбує стінки більшості грибів	Клітинна стінка грибів набуває пурпурово-червоного кольору, фон зазвичай має жовтий колір
5. Барвник муцину (муцикармін Майєра або Саутгейта, альціановий синій)	Виявляє мукополісахариди, зокрема в капсулі різних організмів, а також фарбує слиз у клітинах макроорганізму	Фарбує капсули криптококів, які набувають червоного чи синього кольору
6. Барвник меланіну (Фонтана-Массон)	Забарвлює меланін, який присутній у деяких грибів; також фарбує меланін, який присутній у тканинах людини, наприклад епідермісі шкіри	Криптококи та група дематіасових* грибів набувають забарвлення від чорного до темно-коричневого
7. Бактеріальний барвник (фарбування тканин по Граму або кислотостійкі барвники)	Деякі гриби забарвлюються бактеріальним барвником, крім того, деякі нитчасті бактерії (актиноміцети та нокардії) необхідно диференціювати від грибів	Кандиди набувають пурпурного / синього (грампозитивні) забарвлення по Граму; бластоміцети та гістоплазма можуть бути кислотостійкими (набувають червоного забарвлення)

Примітка: * – дематіасові гриби (“*dematiaceous or phaeoid moulds*”) – це гетерогенна група організмів, що включає в себе гіфоміцети, целоміцети та аскоміцети. Спільною ознакою цих грибів є наявність темної пігментації, що зумовлена наявністю в їхній клітинній стінці дегідроксинафталін меланіну^{9,21}

лення структур гриба становить 5 мкм; б) процес депарафінізації рекомендовано проводити більше часу, приблизно 50 хвилин; в) оптимальна заміна робочих розчинів реактивів, які використовуються для однієї партії забарвлення, у середньому після обробки 40–50 скелець; г) додатковий розподіл готового реактиву, який надається у вигляді порошку, з метою його раціонального використання.

2. Завдяки технологічним особливостям набору реактивів виробництва Thermo Fisher Scientific (США), що застосовується, є можливість ідентифікувати гриби *Histoplasma* spp.

3. Окреслено можливості діагностики на гістологічному рівні різних грибкових інфекцій за власним досвідом, можливі артефакти методу, що

проілюстровано мікрофотографіями забарвлених структур грибів.

Перспективними питаннями в цьому напрямі морфологічної діагностики можна вважати застосування низки методик для виявлення грибкової інфекції та їх раціональне поєднання, що дасть змогу більш точно визначати грибкову інфекцію на рівні роду гриба та сприятиме більш адекватному вибору терапії. Однак варто пам'ятати, що найбільш точним методом встановлення виду грибкової інфекції залишається мікробіологічне культуральне дослідження, тому за можливості необхідно проводити паралельні морфологічні та мікробіологічні дослідження ураженої тканини.

Література

- (1) Мінухін, В.В.; Замазій, Т.М.; Коваленко, Н.І. (ред.). Патогенні гриби. Методичні вказівки з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою» для студентів-бакалаврів II–IV курсу за спеціальністю «Лабораторна діагностика». Харків: ХНМУ; 2016. 76 с.
- (2) Чорна, Т.М. Мікробіологія. Ірпінь: УДФСУ; 2020. 412 с.
- (3) Максимова, П.Е.; Купша, Е.И. Гистология микозов, обусловленных дерматофитами. *Международный студенческий научный вестник*. 2018; 6: 1–6.
- (4) Самсонова, М.В.; Черняев, А.Л.; Лебедин, Ю.С.; Михайличенко, К.Ю.; Поливанова, А.Э. Мукомикоз легких. *Пульмонология*. 2018; 28(2): 243–247. DOI: <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-2-243-247>.
- (5) Резніченко, Н.Ю.; Алдошина, А.О. Оптимізація лікування мікозів шкіри з використанням антимікотичу зовнішньої дії. *Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология*. 2018; 1-4: 161–165.
- (6) Шкарин, В.В.; Саперкин, Н.В. Эпидемиология оппортунистических микозов. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2017; 3: 21–31.
- (7) Adamczyk, K.; Garnarczyk, A.A.; Antonczak, P.P. The microbiome of the skin. *Dermatol Rev*. 2018; 105: 285–297. DOI: <https://doi.org/10.5114/dr.2018.75584>.
- (8) Anthony, P.P. A guide to the histological identification of fungi in tissues. *J. Clin. Path.* 1973; 26: 828–831.
- (9) Santos, A.L.S., Palmeira, V.F., Rozental, S., Kneipp, L.F., Nimrichter, L., Alviano, D.S. et al. Biology and pathogenesis of *Fonsecaea pedrosoi*, the major etiologic agent of chromoblastomycosis. *FEMS Microbiol Rev*. 2007; 31: 570–591. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00077.x>.
- (10) Li, Z., Lu, G., Meng, G. Pathogenic fungal infection in the lung. *Frontiers in Immunology*. 2019; 10: 1–20. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01524>.
- (11) Константинова, А.М. Криптококкоз при ВИЧ-инфекции. *Вестник Санкт-Петербургского университета*. 2010; 11(3): 37–44.
- (12) Чарушина, И.П. Оппортунистические инвазивные микозы у ВИЧ-инфицированных пациентов. *Пермский медицинский журнал*. 2015; XXXII(1): 71–77.
- (13) Heaton, S.M.; Weintrob, A.C.; Downing, K.; Keenan, B.; Aggarwal, D.; Shaikh, F. et al. Histopathological techniques for the diagnosis of combat-related invasive fungal wound infections. *BMC Clinical Pathology*. 2016; 16(11): 1–9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12907-016-0033-9>.
- (14) Guarner, J.; Brandt, M.E. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clinical microbiology reviews*. 2011; 24(2): 247–280. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00053-10>.
- (15) Волкова, О.В.; Елецкий, Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. Москва: Медицина; 1971. 272 с.
- (16) Коржевский, Д.Э.; Гиляров, А.В. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит; 2010. 95 с.
- (17) Войно-Ясенецкий, М.В.; Жаботинский, Ю.М. Источники ошибок при морфологических исследованиях. Ленинград: Медицина; 1970. 319 с.
- (18) Фирстова, О.И.; Бадяева, Е.Е. Основные источники ошибок при морфологических исследованиях. *Избранные вопросы судебно-медицинской экспертизы*. 2008; 9: 117–120.

- (19) Sangoi, A.R.; Rogers, W.M.; Longacre, T.A.; Montoya, J.G.; Baron, E.J.; Banaei, N. Challenges and pitfalls of morphologic identification of fungal infections in histologic and cytologic specimens. *Am J Clin Pathol.* 2009; 131: 364–375. DOI: <https://doi.org/10.1309/AJCP99000ZSNISCZ>.
- (20) Hofman, V.; Castillo, L.; Betis, F.; Guevara, N.; Gari-Toussaint, M.; Hofman, P. Usefulness of frozen section in rhinocerebral mucormycosis diagnosis and management. *Pathology.* 2003; 35(3): 212–216. DOI: <https://doi.org/10.1080/0031302031000123173>.
- (21) Anaissie, E.J.; Pfaller, M.A.; McGinnis, M.R. (eds.). *Clinical Mycology.* Edinburgh, Scotland: Elsevier Inc; 2009: 329–354.

УДК 581.6+631.871+631.873.3+582.52/.59
DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2021-1-06>

Вплив екстрактів чорноморських водоростей-макрофітів на показники проростків м'якої пшениці

Собітняк М. Т., Ткаченко Ф. П.

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
aleskyerova@gmail.com

Ключові слова: екстракти водоростей *Ulva compressa*, *Polysiphonia sanguinea*, *Pylaiella littoralis*, проростки *Triticum aestivum*, довжина пагона, сумарна довжина коренів, сумарна кількість коренів, сира маса, суха маса, вміст пігментів.

Останнім часом у багатьох країнах світу віддається перевага використанню регуляторів росту, отриманих із біологічних об'єктів, оскільки вони краще засвоюються рослинами та в екологічному плані більш прийнятні. У результаті досліджень учених низки країн доведена можливість використання як джерел стимуляторів росту біомаси морських водоростей. Однак в Україні це питання залишається маловивченим. З огляду на наявні дані літератури встановлено, що прибережжя Чорного моря містить значні запаси та широке біологічне різноманіття морських рослинних ресурсів, до складу яких входить значний спектр біологічно активних речовин. У роботі з'ясовується вплив екстрактів із чорноморських водоростей-макрофітів із відділів *Ochrophyta* (*Phaeophyceae*), *Rhodophyta* та *Chlorophyta* на біометричні показники та вміст пігментів у проростках пшениці в лабораторних умовах. Матеріалом для дослідження слугувало насіння озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. сорту «Асканійська», яке пророщувалося в екстрактах морських макроводоростей. Екстракти готували зі свіжозібраної рослинної маси таких видів водоростей, як *Pylaiella littoralis* Kjellm., *Polysiphonia sanguinea* (C. Agardh) Zanard. та *Ulva compressa* L. Водорості були відібрані у квітні в Одеській затоці Чорного моря з поверхонь твердих субстратів на глибині 0,5 м. Приготування екстрактів та експеримент проводився на основі попередньо апробованих методів. Пророщування впродовж тижня мали значний рістстимулюючий вплив. На 7-й день довжина пагона збільшилася на 12–19%, тоді як загальна довжина кореневої системи (без корневих волосків) зросла на 27–43% порівняно з контролем. Встановлено стимулюючий ефект отриманих екстрактів на фотосинтетичний апарат проростків через значне збільшення кількісного вмісту хлорофілу *a* (на 19–42%), хлорофілу *b* (на 25–32%) і каротиноїдів (на 25–45%). Зазначено, що макроводорості Чорного моря є джерелом ростових речовин на етапі проростання насіння та мають перспективи застосування як підкормка та біостимулятори росту рослин.

Influence of Black Sea algae-macrophyte extracts on soft wheat seedling parameters

Sobitnyak M. T., Tkachenko F. P.

Odessa I. I. Mechnikov National University

aleskyerova@gmail.com

Key words: *extracts of algae Ulva compressa, Polysiphonia sanguinea, Pylaiella littoralis, seedlings of Triticum aestivum, length of shoots, total length of roots, number of roots, raw mass, dry mass, pigment content.*

Recently, many countries around the world prefer to use growth regulators derived from biological objects, as they are better absorbed by plants and more environmentally friendly. As a result of research by scientists in several countries, the possibility of using seaweed biomass growth stimulants as sources has been proven. However, in Ukraine this issue remains quite unexplored. Based on the existing literature, it is established that the Black Sea coast contains significant reserves and a wide biological diversity of marine plant resources, which include a significant range of biologically active substances. The paper examines the effect of extracts of Black Sea algae-macrophytes from the departments of *Ochrophyta (Phaeophyceae)*, *Rhodophyta* and *Chlorophyta* on biometric, physiological parameters and pigment content in wheat seedlings in the laboratory. The material for the study was the seeds of winter soft wheat *Triticum aestivum* L. variety "Askaniyskaya", which germinated in extracts of marine macroalgae. Extracts were prepared from freshly harvested plant mass of the following species of algae: *Pylaiella littoralis* Kjellm., *Polysiphonia sanguinea* (C. Agardh) Zanard. and *Ulva compressa* L. Algae were selected in April in the Odessa Bay of the Black Sea from the surfaces of solid substrates at a depth of 0,5 m. Preparation of extracts and the experimental scheme was carried out on the basis of previously tested methods. Germination during the week had a significant growth-promoting effect. On day 7, the length of the shoots increased by 12–19%, while the total length of the root system (without root system) by 27–43% compared with the control. The stimulating effect of the obtained extracts on the photosynthetic apparatus of seedlings due to a significant increase in the quantitative content of chlorophyll *a* (by 19–42%), chlorophyll *b* (by 25–32%) and carotenoids (by 25–45%) was noted. It is shown that macroalgae of the Black Sea serve as a source of growth substances at the stage of seed germination and have prospects for use as fertilizers and biostimulators of plant growth.

Вступ

В останні десятиріччя в багатьох країнах світу стає дедалі популярнішим органічне землеробство, у якому не використовуються штучні хімічні добрива й пестициди. Це дало поштовх до застосування морських водоростей як добрив у сталому розвитку сільського господарства¹. Тому для сільськогосподарського виробництва значний інтерес становлять добрива, отримані безпосередньо з водоростей, або інші органічні добрива, виготовлені на їх основі. Ці продукти є абсолютно натуральними, значно покращують структуру ґрунту та сприяють росту й розвитку рослин. Зазвичай водорості як добрива використовують у сирому вигляді, закладаючи у ґрунт цілі або посічені слані, а також у вигляді перегною, золи й витяжок для кореневих і позакореневих підживлень.

Нині зусилля дослідників зосереджені на створенні з біомаси водоростей високоцінних рідких

добрив, суспензій та екстрактів, що матимуть комерційне значення^{2,3}. Біологічно активні сполуки можуть бути вилучені з біомаси водоростей декількома методами (механічними, термічними, фізичними, хімічними та ферментативними) з використанням звичайної екстракції та гідролізу поглиначів⁴. У процесі виробництва екстрактів морських водоростей шляхом хімічного лізису додаються кислотні або лужні речовини (соляна чи сірчана кислоти або гідроксид натрію), щоб гідролізувати біомасу до складових молекул, які потім можуть засвоюватися рослинами⁵.

Нові біоактивні речовини, екстраговані з морських водоростей, використовуються у вирощуванні польових і садових культур як біодобрива, стимулятори та регулятори росту, для підвищення врожайності рослин і поліпшення їхньої якості. При цьому зменшується негативний вплив на навколишнє середовище⁶. Численними дослі-

дженнями підтверджується, що екстракти морських водоростей підвищують схожість насіння, стимулюють ріст рослин і збільшують вміст фотосинтетичних пігментів, а також підвищують стійкість до стресу^{7,8}.

Проте, незважаючи на те, що проводиться значна кількість досліджень у цій галузі, а морські водорості та продукти їх переробки дедалі частіше використовуються в сільському господарстві, механізми їх фізіологічної дії на рослини з'ясовані не до кінця. Крім того, важливо розробити прості методи *in vitro* для попереднього скринінгу сполук як біостимуляторів із подальшим випробовуванням на рослинній моделі. Дослідники припускають, що механізми, які призводять до стимулюючого впливу екстрактів водоростей, полягають у синергічній дії багатьох речовин, що входять у різних концентраціях до їх складу⁹. Основними стимуляторами росту рослин у складі екстрактів морських водоростей вважають ауксини, цитокініни, гібереліни, бетаїни, поліаміни, а також рослинні гормони. Крім того, вони містять мікроелементи, вітаміни, амінокислоти, антибіотики, які також покращують ріст рослин¹⁰.

З огляду на наявні дані можна зробити висновок, що використання дози 1–2 кг водоростевого концентрату на гектар може підвищити врожайність і його якість. У дослідях на овочевих, квіткових та плодкових культурах було показано, що водоростеві екстракти прискорювали метаболізм рослин і підвищували рівень поглинання ними поживних речовин. У літературі наведено чимало прикладів посилення водоростевими екстрактами толерантності рослин до змін навколишнього середовища та деяких шкідників (попелиць, кліщів), збільшення поглинання поживних речовин із ґрунту, покращення водного режиму та стимулювання антиоксидантних властивостей. Наявність регуляторів росту в екстрактах водоростей сприяє проростанню, вкоріненню та цвітінню рослин, позитивно впливає на утворення рослинних ферментів, необхідних для синтезу білка, регуляцію клітинних процесів, підтримку енергетичного обміну та створює сприятливі умови для запилення рослин комахами¹⁰.

Таким чином, екстракти морських водоростей є екологічно чистими й безпечними для здоров'я людей та можуть слугувати «містком» між врожайми й добривами, економічно збалансовуючи ринок сільськогосподарської продукції.

Українське узбережжя північно-західної частини Чорного моря багате морськими рослинними ресурсами як за обсягами їх запасів, так і за біологічним різноманіттям. Загалом флористичний склад макрофітів цього регіону містить 61,2% видів від їх загального числа, відомого для Чорного моря. Частка зелених водоростей у цьому

порівнянні становить 68,8%, червоних – 55,6%, бурих – 57,1%, жовто-зелених – 66,7%¹¹.

Особливий інтерес становлять штормові викиди водоростей як цінної сировини для виробництва екологічно чистих добрив. Вони містять велику кількість калію та азоту, незначну кількість фосфатів, а також багаті на мікроелементи, містять гормони й регулятори росту рослин¹¹.

На території України використання цих ресурсів ще не набуло значного поширення, хоча для цього є достатня сировинна база. Необхідно дослідити придатність чорноморських макроводоростей як біодобрива та стимуляторів росту рослин.

Мета дослідження – визначити біометричні показники та вміст пігментів у проростках м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) за пророщування в екстрактах чорноморських водоростей-макрофітів.

Матеріали та методи

Вплив екстрактів на біометричні показники та вміст пігментів у проростках пшениці досліджували в лабораторних умовах. Досліди проводили на кафедрі ботаніки Одеського національного університету імені І.І. Мечникова у 2018 р.

Матеріалом для дослідження слугувало насіння озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. сорту «Асканійська», яке пророщували в екстрактах морських макроводоростей у чашках Петрі за температури 24°C в умовах помірного природного освітлення впродовж 7 діб. Екстракти готували зі свіжо зібраної рослинної маси таких видів водоростей, як *Pylaiella littoralis* (Ochrophyta, Phaeophyceae), *Polysiphonia sanguinea* (Rhodophyta) та *Ulva compressa* (Chlorophyta). Водорості були відібрані у квітні в Одеській затоці Чорного моря з поверхонь твердих субстратів на глибині до 0,5 м. Підготовку екстрактів та схему досліду здійснювали на основі попередньо апробованих методик^{12, 13, 14, 15}. Для отримання екстрактів наважку (5 г) свіжі слані водоростей розтирали у фарфоровій ступці з додаванням невеликої кількості кварцового піску. До гомогенату доливали дистильовану воду у співвідношенні 1:20. Отриману суспензію фільтрували через паперовий фільтр. Об'єм екстракту, який доливали в чашки Петрі, становив 10 мл, кількість зернівок – по 20 шт. у кожній чашці. Дно чашок було вистелене двома шарами фільтрувального паперу. Дослід включав такі варіанти: а) контроль – насіння пророщували на папері, змоченому дистильованою водою; б) дослід – насіння пророщували на папері, змоченому екстрактом відповідного виду водоростей. Повторність дослідів – п'ятикратна.

Довжину пагона кожного окремого проростка вимірювали лінійкою, після чого розраховували середню величину. Таким самим чином вимірювали довжини бічних коренів та визначали їх сумарну довжину для кожного проростка.

Сиру масу проростків визначали ваговим методом на електронних вагах ТВЕ-2,1-0,01. Зважували всі проростки з однієї повторності та вираховували середню величину.

Суху біомасу проростків визначали шляхом попереднього висушування в алюмінієвих бюксах, поміщених у сушильну шафу за температури $(100 \pm 2)^\circ\text{C}$ впродовж 6 год. Масу абсолютно сухої органічної речовини розраховували у відсотках щодо сирові.

Вміст пігментів у проростках визначали шляхом їх попереднього екстрагування 96% спиртом. Для визначення концентрації пігментів використовували спектрофотометр СФ-26. Екстинкцію визначали за відповідних довжин хвиль згідно із загальноприйнятим спектрофотометричним методом¹⁶.

Результати досліджень були оброблені за допомогою методів варіаційної статистики¹⁷. Для обробки статистичних даних використовували пакет програм MS Office 2007.

Результати

Пророщування насіння пшениці в екстрактах зі свіжозібраної маси чорноморських водоростей упродовж тижня позитивно впливало на подальший ріст проростків. На 7-й день довжина пагона збільшилася на 12–15%, тоді як загальна довжина коренів (без кореневих волосків) – на 21–30% порівняно з контролем ($P \leq 0,05$) (див. табл. 1).

Інтегральним показником, що відображає інтенсивність фізіологічних процесів у клітинах проростків пшениці, є їх біомаса. Процеси зростання, що відображають загальні функціональні та метаболічні зміни в рослинах, найбільш тісно корелюють із ходом накопичення ними біомаси та маси сухої речовини. У проведеному дослідженні обробка екстрактами не привела до достовірної різниці між контролем і варіантами досліду за накопиченням сирові маси та вмісту сухої речовини в них (див. табл. 1).

Кількісний і якісний вміст фотосинтетичних пігментів є показником рівня перебігу основних біохімічних процесів рослинного організму, зокрема фотосинтезу²⁰. Встановлено також стимулюючий вплив отриманих екстрактів на фотосинтетичний апарат проростків завдяки достовірному підвищенню кількісного вмісту хлорофілів та каротиноїдів (див. табл. 2).

Зокрема, вміст хлорофілу *a* в дослідних зразках збільшувався на 30%, 23% та 16% відповідно порівняно з контролем. Для хлорофілу *b* достовірна різниця виявлена лише між варіантом з екстрактом бурої водорості *Pylaiella littoralis* та контролем (25%). Вміст каротиноїдів у проростках пшениці за дії екстрактів чорноморських макроводоростей порівняно з контролем збільшувався на 31%, 19% та 10% відповідно.

Таблиця 1 – Вплив екстрактів чорноморських водоростей-макрофітів на біометричні та фізіологічні показники проростків м'якої пшениці

Біометричні показники	Варіанти			
	Контроль	Екстракти		
		<i>Ulva compressa</i>	<i>Polysiphonia sanguinea</i>	<i>Pylaiella littoralis</i>
Довжина пагона, мм	9,6±0,3	10,8±0,4*	11,2±0,6*	11,4±0,5*
Сумарна довжина коренів, мм	29,6±1,9	37,6±1,6*	41,0±1,2*	42,3±2,2*
Кількість коренів, од./проросток	3,7±0,3	4,2±0,2	4,5±0,4	4,4±0,5
Сира маса, г/проросток	1,6±0,3	1,3±0,1	1,6±0,1	1,6±0,2
Суха маса, % від сирові маси	12,6±0,4	12,0±2,8	11,0±3,7	10,8±4,8

* – дані статистично значущі за t-критерієм Стьюдента ($P \leq 0,05$)

Таблиця 2 – Вплив екстрактів чорноморських водоростей-макрофітів на вміст пігментів у проростках м'якої пшениці

Вміст пігментів, мг/г сирові маси	Варіанти			
	Контроль	Екстракти		
		<i>Ulva compressa</i>	<i>Polysiphonia sanguinea</i>	<i>Pylaiella littoralis</i>
Хлорофіл <i>a</i> ,	0,384±0,007	0,549±0,029*	0,500±0,020*	0,457±0,018*
Хлорофіл <i>b</i>	0,091±0,009	0,110±0,007	0,113±0,009	0,120±0,006*
Каротиноїди	0,227±0,010	0,330±0,025*	0,309±0,015*	0,285±0,020*

* – різниця достовірна за $P \leq 0,05$

Обговорення

Збільшення параметрів росту м'якої пшениці може бути зумовлене наявністю у водоростевих екстрактів рiстстимулюючих речовин. Зокрема, гормони росту відіграють вагомую роль у збільшенні розмірів клітин та їх поділі, доповнюючи дію один одного. Наприклад, цитокиніни ефективні у формуванні пагонів, а ауксини – у розвитку коренів. Інші тісно споріднені сполуки, такі як полісахариди, також можуть бути стимуляторами росту рослин¹. Крім того, прискорення зростання проростків пшениці може бути зумовлене й наявністю в морських водоростях макро- та мікроелементів¹⁰.

Важливими складниками характеристики, що визначають особливості росту та розвитку проростків, є довжина пагона, кількість і сумарна довжина коренів. За умови обробки насіння пшениці препаратом спостерігається стимулююча дія на ростові процеси в ранньому онтогенезі, про що свідчить достовірна різниця між дослідним варіантом та контролем за цими показниками.

Отримані результати співпадають із попередніми повідомленнями, зробленими нами та іншими авторами, щодо стимулюючого впливу екстрактів отриманих із деяких видів зелених (*Ulva intestinalis*, *Cladophora vagabunda*), бурих (*Cystosiera barbata*, *Punctaria latifolia*, *Scytosiphon lomentaria*) і червоних (*Ceramium rubrum*, *Polysiphonia denudata*, *Porphyra leucosticta*) водоростей Чорного моря^{12, 13, 14, 15}.

Пророщування насіння пшениці м'якої в екстрактах чорноморських водоростей-макрофітів не впливало на кількість коренів, накопичення сирі та сухої маси у проростках. Збільшення довжини пагона та кореневої системи, яке відбувається на цьому тлі, безперечно дає змогу рослині отримати необхідні речовини з екстрактів за звичайного розвитку. У попередньому дослідженні впливу витяжки з водорості *Cystosiera barbata* на проростання насіння пшениці схожий результат пояснюється тим, що збільшення сирі маси відбувалося не через підвищення обводнювання тканин, а завдяки інтенсифікації процесів анаболізму¹⁵.

Фотосинтезу пшениці як найважливішої сільськогосподарської культури приділяється значна увага.

Вміст пігментів фотосинтезу в їх асимілюючих органах є одним з основних показників потенційного розвитку рослин та має певне практичне значення. Він певною мірою визначає потенційну фотохімічну активність листя пшениці та продуктивність її посівів, необхідність додаткового застосування добрив тощо¹⁸.

У дослідженні встановлено, що у варіантах із водоростевими екстрактами вміст фотосинтетичних пігментів у проростках м'якої пшениці був значно вищим, ніж у контрольному варіанті.

Згідно з даними, наведеними в науковій літературі, такі особливості реакції пігментної системи пояснюються наявністю у складі водоростевих екстрактів значної кількості цитокинінів, ауксинів і бетаїнів, які підвищують концентрацію хлорофілу в листі, збільшують кількість і розмір хлоропластів та покращують розвиток гран^{19, 20}.

Висновки

Проведене дослідження підтверджує, що широкий спектр діючих речовин, які містяться в екстрактах чорноморських макроводоростей, збільшує основні показники ростових процесів проростків пшениці: довжину коренів і пагона, вміст хлорофілів та каротиноїдів. Таким чином, встановлено, що використання витяжки з водоростей *Ulva compressa*, *Polysiphonia sanguinea* та *Pyraliella littoralis* у концентрації 5% як біостимулятора зумовлює посилення розвитку пагона та кореневої системи, збільшення вмісту пігментів фотосинтезу. Отримані дані передбачають перспективи для подальших досліджень, зокрема, щодо визначення біологічно активних сполук, які входять до складу водоростей-макрофітів Чорного моря, та випробування водоростевих екстрактів у польових умовах на різних сільськогосподарських культурах. Підтвердженням ефективності цього прийому буде визначення біометричних, фізіологічних, біохімічних та агробіологічних показників упродовж онтогенезу рослин за дії отриманих екстрактів та оцінки цього впливу. Такі дослідження мають певне практичне значення, оскільки надалі можуть слугувати допоміжним матеріалом у процесі розроблення нової концепції використання сучасних біопрепаратів в агрокліматичних умовах півдня України.

Література

- (1) Craigie, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture *Journal of Applied Phycology*, **2011**, 23, pp. 371–393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>.
- (2) Шевченко, В.Н. (Федеральное государственное унитарное предприятие «Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»). Способ производства удобрения из морских водорослей. Патент России RU 2272799 С1, Февраль 8, 2004.
- (3) Van Iersel, S.; Flammini, A. Algae-based biofuels: applications and co-products. *FAO Environment and natural resources management working paper*, **2010**, 44, p. 23.
- (4) Michalak, I.; Chojnacka, K. Algal extracts: Technology and advances. *English Life Science*, **2014**, 14, pp. 581–591. <https://doi.org/10.1002/elsc.201400139>.

- (5) Michalak, I.; Tuhy, L.; Chojnacka, K. Seaweed extract by microwave assisted extraction as plant growth biostimulant. *Open Chemistry*, **2015**, 13, pp. 1183–1195. <https://doi.org/10.1515/chem-2015-0132>.
- (6) Houssien, A.A.; Ismail, A.A.; Sabra, F.S. Bioactive substances extracted from seaweeds as biocontrol agents, effects and identification. *Journal Agriculture Resource Kafer El-Sheikh University*, **2011**, 37, pp. 460–473.
- (7) Battacharyya, D.; Babbohari, M.Z.; Rathor, P.; Prithiviraj B. et al. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture *Science Horticulture*, **2015**, 196, pp. 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>.
- (8) Mansori, M.M.; Chernane, H.; Latique, S.; Benaliat, A.; Hsissou, D.; Kaoua El. Effect of seaweed extract (*Ulva rigida*) on the water deficit tolerance of *Salvia officinalis* L. *Journal Applied Phycology*, **2016**, 28, pp. 1363–1370. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0671-9>.
- (9) Panda, D.; Pramanik, K.; Nayak, B.R. Use of seaweed extracts as plant growth regulators for sustainable agriculture. *International Journal Bioresource Stress Management*, **2012**, 3, pp. 404–411.
- (10) Khan, W.; Rayirath, U.P.; Subramanian, S. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *Plant Growth Regulators*, **2009**, 28, pp. 386–399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>.
- (11) Ткаченко, Ф.П. *Морські водорості-макрофіти України (північно-західна частина Чорного моря)*. Одеса: Астропринт, 2011, с. 89–93.
- (12) Ткаченко, Ф.П. Влияние водных экстрактов из морских водорослей на начальные этапы развития твердой пшеницы. *Регуляция роста, развития и продуктивности растений: тезисы докладов IV Международной научной конференции, Минск, Беларусь, 26–28 октября 2005 г.* Минск: Колорград, **2005**, с. 231.
- (13) Ткаченко, Ф.П.; Топтиков, В.А. Экстракты водорослей как стимуляторы начальных этапов развития растения ячменя. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія»*, **2008**, 7 (814), с. 199–204.
- (14) Ткаченко, Ф.П.; Ружицька, О.М. Вплив екстрактів водоростей на інтенсивність проростання і початковий ріст насіння пшениці. *Наукові записки Тернопільського педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія «Біологія»*, **2008**, 4 (38), с. 35–39.
- (15) Мусатенко, Л.І.; Кабузенко, С.М.; Володькін, С.А.; Омельченко, О.В. Вплив витяжки з водоростей *Cystosiera barbata* на адаптацію рослин пшениці до сольовому стресу. *Екосистеми, їх оптимізація та охорона*, **2009**, 20, с. 100–104.
- (16) Коробко, В.В.; Касаткин, М.Ю. Большой практикум по физиологии растений. Саратов: СГУ, 2017, с. 50–54.
- (17) Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований), 5-е изд., доп. и перераб. Москва: Агропромиздат, 1985, с. 193–196.
- (18) Anantharaj, M.; Venkatesalu, V. Effect of seaweed liquid fertilizer on *Vigna catajung*. *Seaweed Res. Utiln.*, **2001**, 23, pp. 33–39.
- (19) Gireesh, R.; Haridevi, C.K.; Salikutty, J. Effect of *Ulva lactuca* extraction growth and proximate composition of *Vigna unguiculata* (L.). *Walp. J. Res. Biol.*, **2011**, 8, pp. 624–630.
- (20) Castellanos-Barriga, L.G.; Santacruz-Ruvalcaba, F.; Hernández-Carmona, G. et al. Effect of seaweed liquid extracts from *Ulva lactuca* on seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Applied Phycology*, **2017**, 29, pp. 2479–2488. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1082-x>.

РОЗДІЛ III. КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

УДК 581.4:582.901

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2021-1-07>

Морфологічна будова квітки *Nonea pulla*

Бойка О. А.

Запорізький національний університет

olena.boika.ua@gmail.com

Key words: *Nonea pulla*, flower morphology, stamen, pestle, petal.

The study of floristic biodiversity of the regions of Ukraine is always relevant and valuable. The species composition of vegetation worries people for many reasons. Plant resources are an integral part of the country's national wealth. Widespread use of plants in various sectors of the economy requires careful study of the vegetation potential of each region. Particular attention is drawn to the species that people use for more than one purpose. Such plants include members of the family Boraginaceae. Plants of this family are widely used as ornamental and medicinal plants. One such plant is *Nonea pulla* L. valuable is a perennial herbaceous plant up to 40 cm tall. The whole plant is covered with pubescence. Stems in *Nonea pulla* are erect, have furrows. They are branched and densely covered with stiff hairs. The leaves are few. They are elongated-lanceolate in shape and reach up to 6 cm in length. The lower leaf blades have petioles, but by the time of flowering, they often begin to dry out. The upper leaves are sessile. The flowering *Nonea pulla* begins in late May-early June and lasts until early September. The flowers are collected in a curl (corymbose-like) that drooping. The flower has a complex perianth and consists of sepals and petals. The color varies from brown to purple-brown. The petals are almost twice as long as the sepals. Androecium consists of 5 stamens. The gynoecium is represented by one pistil with two receptacles. The fruit of this plant is a follicle that does not reveal an asymmetrical shape, wrinkled. Inside is an elongated grey seed. *Nonea pulla* is an aboriginal species for the Zaporizhzhia region and grows in open spaces. These plants are drought-resistant, light-loving and prefer low-carbonate and carbonate soils.

Дослідження флористичного різноманіття регіонів України завжди є актуальним та доречним. Видовий склад рослинності важливий для людства через багато причин. Рослинні ресурси є невід'ємною складовою частиною національного багатства країни. Широке застосування рослин у найрізноманітніших галузях народного господарства вимагає ретельного вивчення потенціалу рослинності кожного регіону. Особливу увагу привертають види, що їх людина використовує з більш ніж однією метою.

До таких рослин належать й представники родини шорстколисті *Boraginaceae*. Рослини цієї родини широко застосовуються у якості декоративних та лікарських рослин. Однією з таких рослин є куряча сліпота звичайна (*Nonea pulla* (L.) DC) [1].

Вперше в умовах південного Сходу України було проведено детальне дослідження будови квітки та

рослин цього виду з ретельним та докладним описом квіток для встановлення особливостей будови, а також для виявлення, чи немає в генеративній частини популяції Запорізького регіону змін через мутації, викликані станом навколишнього середовища. Генеративна сфера рослин – одна з найперших, що може сигналізувати про зміни через вплив мутагенних факторів навколишнього середовища. Дослідження морфологічної будови рослини, та особливо будови квітки, проводилось загально-прийнятими описовими методиками, що їх застосовують у ботаніці. Детальне дослідження будови квітки та її складових частин було проведено з використанням USB-2.0 мікроскопу. Досліджувались рослини, які було відібрано у м. Запоріжжі (о. Хортиця) та Запорізької області (Вільнянський район, околиці с. Криничне). Дослідження було проведено в травні-червні 2020 року.

Було проведено вимірювання живих рослин, які зростали в степових рослинних угрупованнях (зовнішній морфологічний вигляд, висота рослин). Для детального вивчення будови квітки з окремих вивчених екземплярів відбиралась частина суцвіть, щоб уникнути повного видалення рослин з природних умов існування. Відібрані зразки аналізувались у лабораторних умовах, де проводились вимірювання та було зроблено фото.

Куряча сліпота звичайна – це багаторічна трав'яниста рослина до 40 см висотою. Вся рослина вкрита опушенням. Стебла у курячої сліпоти звичайної прямостоячі, мають борозни. Вони галузяться та щільно вкриті жорсткими волосками. Листки нечисленні. Вони видовжено-ланцетні за формою та досягають 6 см у довжину. Нижні листкові пластинки мають черешок, проте до моменту квітнення вони найчастіше вже починають всихати. Верхні листки сидячі (рис. 1).



Рис. 1. Загальний вигляд рослини

У досліджуваних популяціях курячої сліпоти звичайної на території о. Хортиця середня висота рослин склала $34,8 \pm 0,3$ см. В популяції біля с. Криничне – $35,7 \pm 0,6$ см. Статистично достовірної різниці між популяціями за ознакою висота рослин не було зафіксовано. Це може свідчити про те, що вся територія Запорізької області є ідентичною за умовами, які критично важливими для розвитку рослин цього виду. А тому в цілому ми можемо розглядати рослини як єдину велику популяцію у межах міста Запоріжжя та його околиць. Більш віддалені території та такі, що набли-

жені до узбережжя Азовського моря, потребують додаткових досліджень з метою порівняти наявні дрібні популяції з даними, отриманими у м. Запоріжжя та околицях.

Квітнення курячої сліпоти починається в кінці травня – на початку червня та триває до початку вересня. Квіти зібрані в завиток (щито-вологетоподібний), який поникає (рис. 2).



Рис. 2. Суцвіття курячої сліпоти звичайної

Квітка має подвійну оцвітину, яка складається з чашолистків та пелюсток. Забарвлення коливається від бурого до фіолетово-бурого.



Рис. 3. Внутрішня будова квітки курячої сліпоти звичайної: А – андроцей; Б – гінецей

Пелюстки майже вдвічі довші від чашолистків. Чашечка представлена п'ятьма чашолистками що зростаються. Чашолистки сильно опушені білими ворсинками. Віночок складається з п'яти зрелих пелюсток. Андроцей становить 5 тичинок, які приростають до пелюсток. Тичинки короткі з одним пиляком, що розкривається вздовж. Пилок дрібний білого кольору. Гінецей представлено однією маточкою з двома приймочками (рис. 3).

Плід цієї рослини – листянка асиметричної форми, яка не розкривається, зморшкувата. Всередині розташоване видовжене насіння сірого кольору.

Куряча сліпота звичайна є аборигенним видом для Запорізького регіону та зростає на відкритій місцевості. Ці рослини є посухостійкими, світлолюбними та віддають перевагу малокарбонатним та карбонатним ґрунтам. Куряча сліпота звичайна є лікарською рослиною. Всі частини рослини містять флаваноїди, алкалоїди, кумарини, дубильні речо-

вини. Відвари мають антибактеріальну, антикоагулятивну, знеболювальну дію. Проте її заборонено використовувати у лікуванні дітей та підлітків, а також вагітним жінкам та під час лактації [2].

Таким чином, ми бачимо, що структура квітки курячої сліпоти звичайної, так само як

і її морфологічний вигляд, відповідають типовому вигляду представника родини Шорстколисті (*Boraginaceae*), що свідчить про відсутність негативного впливу потенційних мутагенних факторів середовища на генеративну сферу рослин цього виду.

Література

- (1) Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. Определитель высших растений Украины. Киев : Наукова думка, 1987. С. 273.
- (2) Лавренова Г.В., Лавренов В.К. Энциклопедия лекарственных растений. Том 1. Донецк : Донеччина, 1997. 590 с.

ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ У ЗБІРНИКУ НАУКОВИХ ПРАЦЬ «ACTA BIOLOGICA UKRAINICA»

ТИПИ СТАТЕЙ

- дослідницька стаття
- оглядова стаття
- коротке повідомлення

РЕКОМЕНДАЦІ 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 в 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, передає структуру статті, доповнює назву, якомога стисла, завершена, без аббревіатур, літературних посилань та ілюстраційних матеріалів. Обсяг української та англійської анотацій – 1800-2000 знаків (з пробілами) 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, показує місце дослідження в контексті відомого. Визначає важливість проблеми, новизну дослідження, наукову «прогалину», яку закриває представлене дослідження. У вступі слід визначити мету або робочі гіпотези (не більше трьох гіпотез на одну статтю). Вступ слід розпочати із загальної проблеми та перейти до вузької теми представленої в роботі. В останньому параграфі коротко описати що саме представлено в роботі, але не повторювати анотацію.

Матеріал 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 в яких виконано аналіз. Цей розділ має складатись з двох підрозділів, перший з яких описує зібраний матеріал або проведений експеримент, тоді як другий – методи аналізу. Перед вибором статистичної процедури аналізу даних рекомендовано перевіряти вибірки на підпорядкованість їх закону нормального 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 представляють лише опис та аналіз власних матеріалів, не змішані 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). Допускається 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 данні 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. Вони не містять текстових повторень, викладених у попередніх розділах роботи. Наприкінці цього розділу слід визначити перспективи подальших досліджень.

Подяки (за бажанням). Автор може висловити подяку допоміжному персоналу, студентам, своїм колега, всім тим, хто допомагав при зборі польових або експериментальних даних, надавав корисні поради, тощо, але не приймав активної участі у підготовці рукопису. У цьому розділі також надається інформація про джерела підтримки проведеного дослідження.

Внесок авторів (за бажанням). Надається опис внеску кожного співавтора у статтю.

Оглядова стаття

Оглядова стаття повинна мати обсяг основного тексту від 11 до 60 тисяч знаків з пробілами (анотація, список використаних джерел, таблиці та підписи до рисунків не враховуються). Бібліографічний список не має перевищувати 100 джерел. Рукопис має містити такі структурні елементи: **вступ** з окресленням проблеми та описом останніх подій/досліджень, що визначає актуальність та **мету** наведеного огляду; стислі **інформативно пов'язані між собою розділи** із заголовками, що мають представляти осмислений автором(ами) синтез літератури та власних ідей; критичний аналіз опублікованих раніше 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 1800-2000 знаків кожна.

Коротке повідомлення

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

Коротке повідомлення неструктуроване 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 1800-2000 знаків, структурована та відповідає змісту повідомлення. Ключові слова - англійською мовою, кількістю 5-6 слів або словосполучень. Ілюстраційний матеріал у кількості не більше трьох елементів (таблиць, рисунків, текстових боксів). Бібліографічний список 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 даних, що наводяться, правильність цитування та посилань на літературні джерела. Бібліографічні посилання наводяться мовою оригіналу.

ОФОРМЛЕННЯ РУКОПISУ

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 у наступних рядках, по центру:

- ПІБ автора(ів);
- установа;
- адреса установи (поштовий індекс, вулиця, місто, країна,);
- електронна адреса автора;
- анотації 1800 знаків;
- ключові слова (*курсивом*).

Після анотацій з ключовими словами з абзацу викладається основний текст статті

Якщо стаття подається **українською мовою**, першою розміщується україномовна анотація з ключовими словами.

човими словами. Другою анотацією є англomовна анотація, 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 англomовна 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 розмір букв основного тексту статті більш 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 невеличкі 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.

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

Літературні джерела послідовно нумеруються арабськими цифрами в порядку появи в тексті статті і зазначаються верхнім регістром, вказуючи порядковий номер джерела (наприклад «...за загально-прийнятими методиками³⁻⁵...» або «...за Івановим⁶...»). 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 вашу увагу, що у відповідності до ACS стилю бібліографічні посилання мають наводитись із зазначенням DOI. При оформленні бібліографії рекомендовано використовувати **бібліографічні менеджери**, такі як Mendeley (<https://www.mendeley.com>), EndNote, тощо.

Рукописи та супровідні документи приймає редакційна колегія в електронному вигляді (електронна пошта: editor@biology.journalsofznu.zp.ua)

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 файлу повинна містити транслітероване прізвище першого автора: (приклад назви файлу: Ivanov_manuscript.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 із статтею.

3) Лист на ім'я головного редактора (приклад назви файлу: Ivanov_letter.doc, docx) з такою інформацією: – **відомості про автора** відповідального за кореспонденцію, що містить таку інформацію: прізвище,

ім'я, по батькові (повністю); місце роботи або навчання; електронна адреса для листування; номер мобільного телефону;

– **декларацію автора** про таке:

– він є автором (співавтором) рукопису;

– прізвища всіх співавторів наведені в рукописі, і жодна особа, яка не є співавтором, до них не віднесена;

– усі співавтори ознайомилися з остаточним варіантом наукової роботи та дали свою згоду на її публікацію;

– 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 телефону) які мають бути з іншої установи ніж 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 закордонних виданнях, включених до Web of Science Core Collection та/або Scopus. З метою уникнення конфлікту інтересів автори, за бажанням, можуть надавати **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 вище переліку.

Адреса та контактні дані:

Редакція журналу «Acta Biologica Ukrainica»,

вул. Жуковського, 66, корп. III, ауд. 308, Запоріжжя, Україна, 69600

Телефон: +38 066 53 57 687

Електронна пошта: editor@biology.journalsofznu.zp.ua

Офіційний сайт: www.journalsofznu.zp.ua/index.php/biology

Науковий журнал

Acta Biologica Ukrainica

№ 1, 2021

Комп'ютерна верстка – Н.С. Кузнєцова
Коректура – В.В. Ізак

Підписано до друку: 27.09.2021.
Формат 60x84/8. Гарнітура Times New Roman.
Папір офсет. Цифровий друк. Ум. друк. арк. 8,14.
Замов. № 0422/133. Наклад 100 прим.

Видавництво і друкарня – Видавничий дім «Гельветика»
69063, Україна, м. Запоріжжя, вул. Олександрівська, 84, оф. 414
Телефони: +38 (048) 709 38 69, +38 (095) 934 48 28, +38 (097) 723 06 08
E-mail: mailbox@helvetica.com.ua
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
ДК № 6424 від 04.10.2018 р.