

ференція "Дрозофіла в експериментальній генетиці і біології". - Київ, 2012. - С. 66-71.

15. Проценко А.В. Природные популяции *Drosophila melanogaster* Украины. Мониторинг мутационных процессов / А.В.Проценко, И.А. Козерецкая // Достижения и проблемы генетики, селекции та біотехнології : зб. наук. праць. - Київ : Логос, 2007. - Т.1. - С.288-292.

Резюме

Кунда-Пронь І.В., Козерецька І.А. Особливості мутаційних процесів у природних популяціях *Drosophila melanogaster* України.

Проаналізовано вихід спонтанних мутацій у п'яти поколіннях інбредного розведення самок із 11 природних популяцій *Drosophila melanogaster* України за період 2009-2011 років збору. У ході досліджень спостерігалось зростання частоти видимих мутацій та частки ізосамкових ліній з нащадками із спадковими відхиленнями з кожним роком практично у всіх досліджуваних популяціях, а також було виділено різні мутації забарвлення очей, пігментації тіла, форми та орієнтації крил відносно передньозадньої осі тіла.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*, спонтанні мутації.

Резюме

Кунда-Пронь И.В., Козерецкая И.А. Особенности мутационных процессов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины.

Проанализировано выход спонтанных мутаций в пяти поколениях инбредного разведения самок из 12 природных популяций *Drosophila melanogaster* Украины за период 2009-2011 годов сбора. В ходе исследований наблюдалось возрастание частоты видимых мутаций и доли изосамочьих линий с мутантными потомками, а также было выделено разнообразие мутации пигментации глаз, тела, по форме и ориентации крыл относительно переднезадней оси тела.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, спонтанные мутации.

Summary

Kunda-Pron' I.V., Kozeretska I.A. Features of mutational processes in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine.

We analyzed spontaneous mutation rates in five generations of inbreeding in females from 11 natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine collected during 2009-2011. We observed increasing frequencies of visible mutations and increasing proportion of isofemale strains manifesting heritable deviations throughout the period of study in practically all of the studied populations. We recorded various mutations in eye coloration, body pigmentation, and wing form and orientation relative to the anteroposterior body axis.

Key words: *Drosophila melanogaster*, spontaneous mutation.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М. Федченко

УДК 615.9.36-11

ВПЛИВ КИСЛОТНОСТІ, ТЕМПЕРАТУРИ І ВОЛОГОСТІ СЕРЕДОВИЩА НА ЗБЕРЕЖЕННЯ КЛІТИН СПЕРМИ

О.М. Марченко, Н.О. Карпезо, В.К. Рибальченко
Київський Національний університет ім.Тараса Шевченка

Вступ

При проведенні судово-медичної експертизи при злочинах із зґвалтуванням наявність сперми є єдиним речовим доказом біологічної природи, який свідчить про скоєння злочину. Спеціалісти судової експертизи виявляють сліди сперми на місці злочину за допомогою ультрафіолетового світла (орієнтовний метод виявлення сперми) незалежно від структури і кольору поверхні [1, 2, 3]. Зовнішні умови (вологість, температура, сонячне світло і т.п.) впливають на тривалість збереження клітин сперми, і як наслідок, до зниження вірогідності експертизи. Відомо, що в одному еякуляті здорового чоловіка міститься від 2-х до 4-х мл сперми [4], в яких нараховують 200-250 млн. сперматозоїдів [5]. Така кількість сперматозоїдів є основним показником якості сперми, тобто її здатності до запліднення [6]. Кількість і рухливість сперматозоїдів знижується з віком [7]. Сперма має власний, природний механізм, який забезпечує початковий захист сперматозоїдів від кислого градієнту піхви і ділянки шийки матки [8]. У зовнішньому середовищі під впливом температури, вологості та в залежності від значення рН предмету-носія відбувається поступова деградація сперматозоїдів і вони стають непридатними для цитологічного обліку та аналізу методами судово-медичної експертизи.

Метою роботи було вивчення рівня збереженості клітин сперми або неушкоджених головок сперматозоїдів при різних значеннях рН предмету-носія за умов різної температури, вологості і тривалості перебування у зовнішньому середовищі.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проводили на зразках сперми людини (30 осіб), нанесених на марлю, з якою проводили попередні маніпуляції:

1. на стерильну марлю наносили піпеткою розчин лимонної кислоти зі значенням рН 3,0;

2. на стерильну марлю наносили піпеткою напій "Coca-cola" - значення рН становило 4,0.

3. на стерильну марлю також наносили вагінальні виділення, значення рН становило 5,0.

Контролем були зразки, які містили лише сперму, значення рН якої становило 7,2.

Зразки сперми, нанесені на вище вказані речовини розміщували:

- в термостаті при +25°C та двох режимах вологості: 50 % та 75 %;

- в холодильнику за температури +10°C; вологості 60 %;

- в морозильній камері, за температури -15°C; вологості 11 %.

Протягом перших 3-х діб, та 1, 2, 3-х тижнів з матеріалу готували цитологічні препарати. Для цього вирізки із марлі поміщали в стерильні пробірки та заливали невеликим надлишком розчину 5% аміаку й залишали на 18 год. У холодильнику при +4°C. Після цього вирізки виймали із пробірок, а екстраговані клітини сперми центрифугували протягом 4 хв. при 1500 об/хв. Надосадову рідину видаляли, а з осаду клітин готували цитологічні мазки. Після повного висихання мазки фіксували метанолом протягом 10хв. і фарбували гематоксилином за Романовським. Висушені відбитки і мазки досліджували за допомогою світлового мікроскопу при збільшенні x400. Кількість клітин підраховували в 100 полях зору кожного препарату.

Статистичний облік даних проводили за допомогою критерію Ст'юдента та програмного забезпечення Origin 7.0.

Отримані результати та їх обговорення

У мазках, виготовлених із зразків сперми при рН 7,2 і температурі +25°C та вологості 50 % спостерігали велику кількість клітин після 1-ї доби впливу, а потім поступове значне зменшення їх кількості протягом 2-х тижнів. Надалі бактеріальне забруднення перешкоджало обліку клітин. Під впливом температури +25°C та вологості 75 %, відмічено достатню для ідентифікації, але значно меншу, ніж при вологості 50 %, кількість клітин протягом перших 3-х діб, потім відбувалася фраг-

ментація клітин внаслідок значного бактеріального забруднення. Під впливом температури +10°C та вологості 60% спостерігали найбільшу кількість сперматозоїдів протягом усього досліду. Під впливом температури -15°C та вологості 11 %, значну кількість клітин зберігалася протягом 3-х тижнів (табл. 1).

Таблиця 1

Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища у препаратах при рН 7,2 (контроль)

Тривалість впливу	Температура			
	+25°C		+10°C	-15°C
	Вологість			
	50 %	75%	60 %	11 %
1 доба	140000-160000	3780-4000	275000-300000	3500-5000
2 доба	13900-17000	1949-2010	277000-295000	4080-5000
3 доба	6500-6800	780-860	258000-260000	4000-4955
1 тиждень	378-400	Бактеріальне забруднення, фрагментація	80000-100000	700-1600
2 тиждень	40-60	Бактеріальне забруднення, фрагментація	38000-44980	700-1480
3 тиждень	Бактеріальне забруднення, фрагментація	Бактеріальне забруднення, фрагментація	35880-40100	664-1400

У мазках, виготовлених із зразків сперми, яка перебувала при рН 3,0 (лимонна кислота) під впливом температури +25°C та вологості 50 %, спостерігали велику кількість клітин після 1-3-ї доби впливу, та значне зменшення їх кількості після 1-3-го тижнів. При температурі +25°C та вологості 75 % відмічено достатню для ідентифікації кількість клітин після 1-3 діб, значне їх зменшення після 1-2-го тижнів і бактеріальне забруднення та фрагментацію клітин після 3-х тижнів впливу. Після впливу температури +10°C та вологості 60%, спостерігали досить значну кількість клітин після 1-2-ї доби, різке зниження їх кількості, починаючи з 3-ї доби і протягом 2-х тижнів. Після 3-х тижнів впливу відбувається фрагментація клітин. При температурі -15°C та вологості 11 % спостерігали досить значну кількість клітин після 1-ї доби, та суттєве зни-

ження їх кількості вже після 2-ї доби. Через 2 тижні впливу фрагментація клітин перешкоджала їх ідентифікації (табл. 2).

Таблиця 2

Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища в препаратах з рН 3,0 (лимонна кислота)

Тривалість впливу	Температура			
	+25°C		+10°C	-15°C
	Вологість			
	50 %	75 %	60 %	11 %
1 доба	500-1000	180-289	349-400	3092-3200
2 доба	689-800	192-220	280-300	380-500
3 доба	348-400	130-180	56-80	267-490
1 тиждень	30-40	40-90	50-79	40-50
2 тиждень	10-20	30-70	10-13	фрагментація
3 тиждень	12-20	фрагментація	фрагментація	фрагментація

У мазках, які при рН 4,0 (напій "Coca-cola") піддавались впливу температури +25°C та вологості 50 %, спостерігали велику кількість клітин після 1-ї доби, та поступове помірне зниження їх кількості протягом 3-х тижнів. Під впливом температури +25°C та вологості 75 % спостерігали велику кількість клітин після 1-ї доби, а потім протягом 3-х тижнів рівномірне поступове зниження їх кількості до наявності поодиноких клітин. При температурі +10°C та вологості 60 % протягом 3-х тижнів спостерігали достатню кількість клітин для ідентифікації. Під впливом температури -15°C та вологості 11 % протягом 3-х тижнів спостерігали достатню кількість клітин для ідентифікації, хоча і меншу, ніж при вологості 60 % (табл. 3).

Таблиця 3

Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища в препаратах при рН 4,0 (напій "Coca-cola")

Тривалість впливу	Температура			
	+25°C		+10°C	-15°C
	Вологість			
	50 %	75%	60 %	11 %
1 доба	3500-5000	6900-8000	2500-2980	1800-2500
2 доба	3500-5000	3800-4000	2700-2889	1000-1870
3 доба	830-1000	2000-3250	1381-1500	998-1670
1 тиждень	680-800	300-400	610-662	200-650
2 тиждень	480-650	70-100	578-580	169-580
3 тиждень	430-450	8-13	489-580	169-328

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

У мазках, які при рН 5,0 (вагинальні виділення) піддавались впливу температури +25°C та вологості 50 %, спостерігали помірну кількість клітин після 1-ї доби, подальше значне зниження їх кількості і фрагментацію клітин, починаючи з 2-го тижня впливу. При температурі +25°C та вологості 75 %, спостерігали велику кількість клітин через 1-2 доби, а надалі відбувається забруднення мікрофлорою, що не дає можливості ідентифікувати сперматозоїди вже після 3-ї доби. При температурі +10°C та вологості 60 % спостерігали достатню для ідентифікації кількість клітин після 1-3-х діб та суттєве зниження кількості придатних для обліку клітин після 3-х тижнів. При температурі -15°C та вологості 11 %, спостерігали достатню кількість клітин протягом усіх 3-х тижнів, але суттєве розмноження бактеріальної флори, починаючи з 3-ї доби впливу, ускладнює їх ідентифікацію. Після 3-х тижнів одночасно з нормально збереженими з'являються фрагментовані клітини (табл. 4).

Таблиця 4

Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища в препаратах при рН 5,0 (вагинальні виділення)

Тривалість впливу	Температура			
	+25°C		+10°C	-15°C
	Вологість			
	50 %	75%	60 %	11 %
1 доба	300-350	2300-2500	383-400	300-350
2 доба	198-300	1885-2000	300-400	259-310
3 доба	50-100	Забруднення мікрофлорою, фрагментація	100-180	157-200 Забруднення мікрофлорою
1 тиждень	18-30	Забруднення мікрофлорою, фрагментація	19-27	60-100 Забруднення мікрофлорою
2 тиждень	фрагментація	Забруднення мікрофлорою, фрагментація	15-22	63-83 Забруднення мікрофлорою
3 тиждень	фрагментація	Забруднення мікрофлорою, фрагментація	6-12	38-56 Забруднення мікрофлорою, фрагментація

Аналіз отриманих даних показав, що умови зовнішнього середовища істотно впливають на ступінь збереженості спер-

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики

матозоїдів. Найбільш сприятливим для зберігання клітин виявилось середовище з оптимальним значенням рН 7,2 сперми (контроль). Під впливом температури +10°C та вологості 60%, спостерігали найбільшу кількість сперматозоїдів протягом усього досліджу. Температура -15°C та вологість 11 % теж дозволяють зберегти значну кількість клітин протягом 3-х тижнів. Найменший термін збереження клітин (лише 3 доби) відмічено при температурі +25°C та вологості 75 %.

В експериментальних серіях кількість збережених сперматозоїдів на порядок менше, ніж у контролі. Найкращими для клітин були умови з рН 4,0 (напій Coca-cola), за яких протягом усього терміну дослідження можна було ідентифікувати сперматозоїди. При цьому найсприятливішою виявилась температура +25°C при вологості 75% протягом першої доби (надалі кількість збережених сперматозоїдів різко зменшується) і через 3 тижні у препаратах виявлено поодинокі клітини (кількість клітин зменшилась у 800-700 разів). При цій же температурі і вологості 50 % вже через добу кількість клітин менша, ніж при вологості 75 %, але далі з часом сперматозоїди зберігаються краще. Подібні зміни відбуваються при температурі +10°C і вологості 60 %. Найменша кількість збережених клітин при рН 4,0 через добу була при температурі -15°C і вологості 11 %. При всіх температурних режимах і вологості навіть через 3 тижні можна виявити придатні для ідентифікації сперматозоїди, хоча і в різній кількості.

При рН 3,0 (лимонна кислота) протягом доби найкраще зберігалися сперматозоїди при температурі -15°C і вологості 11 %. Вже через добу кількість їх зменшувалась майже у 10 разів, через тиждень - у 60 разів. А через 2 тижні відбувалась фрагментація клітин. Найгірше збереглися через добу сперматозоїди при температурі +25°C і вологості 75 %. Така ж їх кількість виявлена і через 2 доби, потім поступово зменшується, а через 3 тижні відбувається фрагментація клітин. Таким чином, при рН 3,0 (незважаючи на те, що початкова збереженість сперматозоїдів при температурі -15°C і вологості 11 % є досить високою), на кінцевих термінах дослідження фраг-

ментація клітин (крім температури +25°C і вологості 75 %) перешкоджає їх ідентифікації.

При рН 5,0 (вагинальні виділення) початкова збереженість клітин була найкращою при температурі +25°C і вологості 75% протягом перших двох діб, а далі відбувалося бактеріальне забруднення препаратів і фрагментація клітин. Не відбувалося забруднення препаратів і фрагментації сперматозоїдів лише при температурі +10°C і вологості 60 %, хоча кількість збережених клітин, особливо після тижня впливу, була мінімальною.

Висновки

1. В залежності від рН ступінь збереження сперматозоїдів відрізняється за різних умов температури і вологості. У контролі (рН 7,2) зберігається найбільша кількість сперматозоїдів, найкраще при температурі +10°C і вологості 60 %.

2. При рН 3,0 найбільш сприятливою для збереження клітин була температура +25°C і вологість 50 %.

3. При рН 4,0 за всіх режимів температури і вологості сперматозоїди зберігались протягом усього терміну досліджу.

4. При рН 5,0 збереження клітин було найгіршим і тільки при температурі +10°C та вологості 60 % спостерігали достатню для ідентифікації кількість клітин до кінця досліджу.

Література

1. Inmar K. *An Introduction to Forensic DNA Analysis* / K. Inmar // CRS Press.: Arlington, 2000. - 453 p.
2. Greenfeld L.A. *Sex offenses and offenders* / L.A. Greenfeld // *Forensic Sciens.* - № 32. - P. 99-121.
3. *Statistics and the evaluation of evidence for forensic scientists* / C.G.G. Aitken. - W.: New York, 1995. - 475 p.
4. Chakraborty R. *Sample size requirements for addressing the population genetics issues of forensic use of DNA typing* / R. Chakraborty // *Human Biol.* - № 64. - P. 141-159.
5. Lins A.M. *Development and population study of an eight-locus short tandem repeat multiplex system* / A.M. Lins // *Forensic Sciens.* - № 43. - P. 1-13.
6. Корниенко Д.И. *Подготовка биологического материала для молекулярно-генетических идентификационных исследо-*

ваний / Д.И. Корниенко, В.П. Вейко // Судебно-медицинская экспертиза. - Ростов: Ростиздат, 2001. - С. 31-40.

7. Перепечина И.О. Исследование ДНК в судебно-медицинской экспертизе вещественных доказательств: проблема индивидуализации / И.О. Перепечина // Судебно-медицинская экспертиза. - 2002. - С. 29-35.

8. Цыбин А.К. Клиническая значимость диагностического исследования с позиций доказательной медицины / А.К.Цыбин, А.А.Доценко // Здравоохранение Беларуси. - 2002. - № 8. - С. 52-55.

Резюме

Марченко О.М., Карпезо Н.О., Рыбальченко В.К. Влия кислотности, температуры и влажности среды на збереження клітин сперми.

Досліджено вплив кислотності, температури і вологості середовища на збереження клітин сперми. Показано, що найбільша кількість сперматозоїдів зберігається у природному середовищі (спермі) за умов їх перебування при різних температурах і вологості протягом перших 3-х діб, а наступні 3 тижні - при температурі +10°C і -15°C. В експериментальних серіях найбільш сприятливим для збереження сперматозоїдів протягом усіх 3-х тижнів було середовище з рН 4,0.

Ключові слова: сперматозоїди

Резюме

Марченко О.Н., Карпезо Н.А., Рыбальченко В.К. Влияние кислотности, температуры и влажности среды на сохранность клеток спермы.

Исследовано влияние кислотности, температуры и влажности среды на сохранность клеток спермы. Показано, что наибольшее количество сперматозоидов сохраняется в природной среде (сперме) в условиях их пребывания при разных температурах и влажности в течение первых 3-х дней, а в следующие 3 недели - при температуре +10°C и -15°C. В экспериментальных сериях наиболее благоприятной для сохранения сперматозоидов в течение всех 3-х недель была среда с рН 4,0.

Ключевые слова: сперматозоиды.

Summary

Marchenko O.M., Karpezo N.O., Rybalchenko V.K. The influence of acidity, temperature and humidity of environment on sperm cells preservation.

There were investigated the influence of acidity, temperature and humidity on sperm cells. It was shown, that natural environment (sperm) preserve the most quantity of sperm cells under different temperature and humidity during first 3 days, next 3 weeks - under the temperature +10°C and -15°C. In the experimental series the most favourable for sperm cells preservation was environment with pH 4.0.

Key words: sperm cells.

Рецензент: д.біол.н., проф.С.М.Смирнов

УДК 615.322:582:577.114

ЛІКАРСЬКІ РОСЛИНИ ТА СИРОВИНА, ЯКІ МІСТЯТЬ ФЛАВОНОЇДИ ТА ЇХ ГЛІКОЗИДИ

Б. П. Романюк, В. М. Фролов, Я. А. Соцька
ДЗ "Луганський державний медичний університет"

Флавоноїди (від лат. flavus - жовтий) - природні фенольні сполуки, похідні 2-фенілхромону. Поширені в рослинах у формі глікозидів та містяться в клітинному соці. Водорозчинні. В залежності від ступеня окислення піранового фрагменту поділяють на: катехіни, антоціани, халкони, флавонони, флаволи, флаванолі тощо. Флавоїдні пігменти відіграють роль фільтрів в рослинах, захищаючи їх тканини від шкідливої дії УФ-променів. Загальна реакція на флавоноїди - реакція відновлення атомарним воднем в кислому середовищі в присутності магнію (проба Шінода). Мають широкий спектр дії на організм - високу Р-вітамінну активність, діуретичну, гіпоазотемічну, гіпотензивну, гіпоглікемічну, естрогенну, жовчегінну та ін.

До флавоноїдів відносять: рутин, гіперозид (бобівник триликий), кверцетин, триглікозид кверцетину, арабінозид кверцетину, раноглікозид ізорамнетину (осутдник голой) тощо.

Широко розповсюджені похідні флавононів (група флавоїдних сполук): апігенін (ромашка лікарська, петрушка городня), лютеолін (наперстянка пурпурова), скутеларіїн (сколомниця крейдяна), трицин (перій повзучий).

Природними оксипохідними флавононів є кемпферол (болиголов плямистий, водяний перець, жостір проносний, касія вузьколиста, морква посівна, петрушка городня, кмін звичайний, кріп пахучий), флавонол (крушина ламка, сокирки польові, терен колючий), фізетин (сумах дубильний), кверцетин (абрикос звичайний, глід криваво-червоний, виноград справжній, вишня звичайна, спориш). Глікозидом кверцетину являється рутин, рампетин (плоди крушини ламкої), а ізоарампетину (сокирки польові). Відомі також морин (акація біла), міріцетин (мучниця звичайна), галантін (підсніжник Воронова).