
ЕКОЛОГІЧНА ЗООЛОГІЯ

УДК 577.156+598.1+612.015

В. Я. Гассо, О. Ю. Клименко, Е. В. Сухаренко, В. С. Недзвецкий

ОЦЕНКА НЕГАТИВНОГО ЭФФЕКТА ЗАГРЯЗНЕНИЯ БИОГЕОЦЕНОЗОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО ЦИТОСКЕЛЕТНОГО БЕЛКА ПРЫТКОЙ ЯЩЕРИЦЫ

Днепропетровский национальный университет им. О. Гончара

Изучено содержание и полипептидный состав глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) цитоскелетной, мембранной и растворимой фракции в астроцитах мозга прыткой ящерицы из трех биогеоценозов различного уровня промышленного загрязнения. Отмечено повышение содержания деградированных полипептидных фрагментов ГФКБ в условиях загрязнения, что свидетельствует о значительных метаболических нарушениях в нервных клетках. Молекулярные характеристики цитоскелета глиальных клеток ящериц можно использовать в качестве надежного биомаркера неблагоприятного воздействия промышленного загрязнения.

Ключевые слова: глиальный фибриллярный кислый белок, прыткая ящерица, биомаркер, загрязнение среды.

В. Я. Гассо, О. Ю. Клименко, О. В. Сухаренко, В. С. Недзвецкий

Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара

ОЦІНКА НЕГАТИВНОГО ЕФЕКТУ ЗАБРУДНЕННЯ БІОГЕОЦЕНОЗІВ З ВИКОРИСТАННЯМ НЕЙРОСПЕЦИФІЧНОГО ЦИТОСКЕЛЕТНОГО БІЛКА ПРУДКОЇ ЯЩІРКИ

Вивчено вміст і поліпептидний склад гліального фібрилярного кислого білку (ГФКБ) цитоскелетної, мембранної й розчинної фракції в астроцитах мозку прудкої ящірки із трьох біогеоценозів з різним рівнем промислового забруднення. Відзначене підвищення вмісту деградованих поліпептидних фрагментів ГФКБ в умовах забруднення, що свідчить про значні метаболічні порушення у нервових клітинах. Молекулярні характеристики цитоскелету гліальних клітин ящірок можна використовувати у якості надійного біомаркера несприятливого впливу промислового забруднення.

Ключові слова: гліальний фібрилярний кислий білок, прудка ящірка, біомаркер, забруднення середовища.

V. Y. Gasso, O. Y. Klymenko, H. V. Sukharenko, V. S. Nedzvetsky

O. Gonchar Dnipropetrovsk National University

ASSESSMENT OF NEGATIVE EFFECT OF THE BIOGEOCOENOSES POLLUTION WITH THE USE OF NEUROSPECIFIC CYTOSKELETAL PROTEIN OF THE SAND LIZARD

Content and polypeptide composition of the glial fibrillary acidic protein (GFAP) has been studied in cytoskeleton, membrane and soluble fractions of the sand lizard's brain astrocytes from three ecosystems of different pollution levels. The metabolic disorders in nervous cells came out as increased content of degraded polypeptide fragments of GFAP under the influence of environmental pollution. Molecular parameters of the glia cells' cytoskeleton in lizards is a valid biomarker of adverse effects of industrial pollution.

Key words: glial fibrillary acidic protein, sand lizard, biomarker, environmental pollution.

За последние десятилетия загрязнение окружающей среды приняло глобальный характер. В результате реакция биосистем на действие экотоксикантов может наблюдаться на значительных территориях, а не только в заведомо сильнозагрязненных промышленных зонах. Первичные реакции на поступление в организм токсичных соединений, по-видимому, должны происходить на молекулярном уровне, отражаясь впоследствии на более высоких уровнях организации живого, вплоть до изменений в структурах популяций, численности видовом, видовом составе структуре сообществ и других характеристик надвидовых биосистем.

В основе большинства этих и других нарушений лежат биохимические процессы и молекулярные взаимодействия, которые пока недостаточно изучены, так же как и механизмы их возможного влияния на состояние популяций и сообществ, вплоть до структурно-функциональной организации биогеоценоза.

Современные программы биологического мониторинга расширяют использование различных биомаркеров для оценки качественных и количественных параметров состояния окружающей среды. В биоиндикации широко используются морфологические и анатомические (гистологические) показатели, которые могут быть полезными для оценки последствий антропогенного воздействия на живые организмы, а значит и на окружающую среду. Показатели, характеризующие состояние популяций и сообществ, более информативно ценны с точки зрения оценки состояния биоценозов в целом и составления прогностических моделей динамики их состояния и, в перспективе, выживания. Тем не менее, во многих случаях для наиболее раннего выявления негативных воздействий наиболее эффективными являются биохимические и молекулярные маркеры, так как они могут служить биомаркерами нарушений, происходящих на самых ранних стадиях интоксикационного процесса, вызываемого еще подпороговыми действующими концентрациями экотоксикантов (Биотест, 1993).

Состояние окружающей среды большей части территории Украины, а особенно промышленных регионов, включая и степное Приднпровье, характеризуется высоким уровнем химического загрязнения. Так, например, в промышленно развитой Днепропетровской области только в 2010 году в атмосферный воздух было выброшено 1140,478 тыс. тонн загрязняющих веществ. В водоемы области за этот же период было сброшено 402,3 тыс. тонн загрязняющих веществ (Экологічний паспорт, 2011). Одними из наиболее опасных факторов риска в регионах с высокой концентрацией металлургических и химических предприятий являются соединения тяжелых металлов и персистентные органические загрязнители различной природы. Повышение концентрации этих экотоксикантов может приводить к необратимым нарушениям в клетках и тканях живых организмов, а в последующем и к деградиационным процессам в сообществах.

Чрезвычайно чувствительными к действию достаточно широкого спектра токсикантов различной природы являются нейроны и глиальные клетки. В этом случае говорят о явлении нейротоксичности. Практически любая интоксикация в той или иной степени сопровождается нарушениями функций нервной системы. Таким образом, центральная нервная система представляет собой потенциальную мишень для действия экотоксикантов (Куценко, 2004).

Астроциты нейроглии поддерживают жизнеспособность нейронов. И, в отличие от последних, они способны к активному делению при различных нарушениях и повреждениях нервной системы. Особое значение в формировании цитоскелета астроцитов и обеспечении специфической морфологии клеток нервной ткани имеют промежуточные филаменты (Ультроструктура, 1972). Промежуточные филаменты астроцитов построены из глиального фибриллярного кислого (ГФКБ). Показано, что экспрессия этого специфического белка астроглии модулируется различными по своей природе стрессовыми факторами, а потому регистрируемые изменения его количественных и качественных характеристик могут служить маркерами таких стрессовых воздействий (Недзвецкий, 2001; Недзвецкий, 2005). Принимая во внимание, тот факт, что большинство тканеспецифических белков являются необходимыми для стабильного протекания жизненных процессов, именно эти белки часто оказываются чувствительными к воздействию экотоксикантов, что определяет соответствующие проявления интоксикации организмов.

С учетом все возрастающего уровня загрязнения окружающей среды, изучение и выбор молекулярных маркеров, которые адекватно и достоверно отображают функциональное состояние клеток, а опосредованно и организма в целом, остается актуальным.

Цель настоящей работы – валидация прогностического значения состояния цитоскелета астроцитов и уровня экспрессии молекулярного маркера промежуточных филаментов – глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) – в мозге прыткой ящерицы (*Lacerta agilis* Linnaeus, 1758 (Reptilia, Squamata)) в условиях комплексного промышленного загрязнения Приднепровского региона.

Актуальность работы подчеркивается тем, что анализ полипептидного состава цитоскелета астроцитов прыткой ящерицы в условиях промышленного загрязнения и для Приднепровского региона выполнен впервые.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на половозрелых особях прыткой ящерицы. В качестве контрольного участка были выбраны биотопы Присамарского международного биосферного стационара им. А. Л. Бельгарда (Самарский лес, Новомосковский р-н Днепропетровской обл.), удаленные от промышленных центров. Биогеоценозы экологического профиля стационара могут считаться условно чистыми и фоновыми для степного Приднепровья.

В качестве загрязненного района была выбрана зона промышленного загрязнения, подверженная выбросам химических (Приднепровский химический завод, Химобъединение «Азот») и металлургического (Днепродзержинский металлургический комбинат) предприятий г. Днепродзержинска в районе устья р. Коноплянка на полуострове Гречаный. Кроме того, нами проводились исследования в деструктивных экосистемах Западного Донбасса, нарушенных горношахтными разработками, но подвергшихся спланированной лесной рекультивации для восстановления нарушенных земель.

Животные были отобраны в соответствии с общепринятыми методиками сбора (Булахов, 2007). Для получения биологического материала использовали метод, принятый для работы с мелкими животными, – декапитацию (Тухомугов, 2008).

После декапитации извлекали головной мозг, гомогенизировали ткань на холоду в 10-кратном объеме 50 мМ трис-буфера pH 7,8, содержащего 2 мМ этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), 1 мМ 2-меркаптоэтанол, 0,1 мМ фенол-метилсульфонилфторид (PMSF) и 5 мМ соевый ингибитор трипсина. Гомогенат центрифугировали в рефрижераторной центрифуге 50 мин., при 60 000 g, полученный супернатант (S1) после центрифугирования содержал растворимые белки.

Для экстракции цитоскелетных белков к полученному осадку добавляли 4-кратный объем трис-буфера, содержащего дополнительно 4 М мочевины. Для экстракции мембранных белков полученный осадок ресуспендировали в 4-кратном объеме с тем же буфером, который дополнительно содержал Тритон X-100. Затем повторно центрифугировали 60 мин., при 60 000 g (Baydas et al, 2003; Kalman, 2001).

Белки обеих фракций разделяли методом электрофореза в градиенте полиакриламидного геля (7–18 %) с 0,1 % додецилсульфата натрия (Laemmli, 1970). Определение полипептидного состава глиальных филаментов проводили с помощью иммуноблоттинга с использованием поликлональной моноспецифической антисыворотки в разведении 1:1500, как описано ранее (Недзвецкий, 2011). Определение относительной интенсивности плотности окраски полипептидных зон проводили с помощью компьютерной обработки сканированных результатов иммуноблоттинга. Сканированные результаты иммуноблоттинга обрабатывали с помощью компьютерной программы AlphaImager 2200. Количественный анализ ГФКБ проводили путем сравнения интенсивностей окрашивания соответствующих полипептидных зон между экспериментальными и контрольными пробами, отнесенных к количеству общего белка во фракциях. Содержание общего белка определяли по методу Лоури в модификации Миллера (Miller, 1959).

Обработку полученных данных проводили методами математической статистики для малых выборок (Кокунин, 1975). Относительное содержание ГФКБ выражали в виде средней величины плюс(минус) стандартная ошибка средней, достоверные отличия между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента ($P < 0,05$) после проверки гипотез о нормальности распределения и различия между генеральными дисперсиями.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как было показано ранее (Гассо, 2010) в мозге рептилий, обитающих в условиях промышленного загрязнения (г. Днепродзержинск, г. Павлоград), выявлено статистически достоверное более высокое содержание ГФКБ по сравнению с ящерицами, отловленными на контрольных участках (Присамарский биосферный стационар).

Результаты сравнительного анализа содержания ГФКБ в различных по физико-химическим свойствам белковых фракциях показали общую закономерность возрастания всех субъединиц – растворимых в буфере с низкой ионной силой, экстрагируемых хаотропным агентом (мочевинной) и неионным детергентом (Тритоном X-100). Наиболее значительное увеличение содержания ГФКБ выявлено в группе животных обитающих в зоне промышленного загрязнения (г. Днепродзержинск) в сравнении с животными из Присамарского международного биосферного стационара им. А. Л. Бельгарда. Достоверные отличия были отмечены также и для животных зоны лесной рекультивации шахтных отвалов (г. Павлоград).

Результаты относительного содержания растворимой формы ГФКБ представлены на рис. 1. Известно, что растворимые субъединицы ГФКБ представляют лишь незначительную часть тотального содержания этого белка в астроцитах, поскольку после синтеза полипептидных цепей в эндоплазматическом ретикулуме эти белки очень быстро включаются в нерастворимые филаментные структуры. Увеличение растворимой формы может быть следствием как интенсивной экспрессии белка промежуточных филаментов, так и высвобождения отдельных субъединиц из филаментных структур. В ходе астроглиального реактивного ответа происходит активная реорганизация цитоскелета и, вероятно, реализуются оба эти пути.

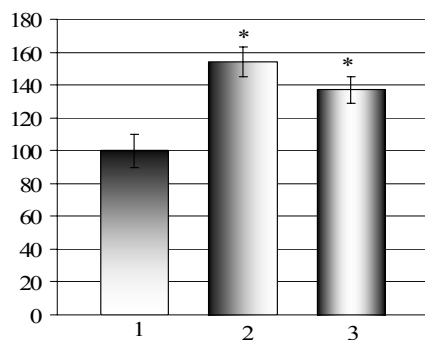


Рис. 1. Относительное содержание ГФКБ в растворимой фракции белков мозга прыткой ящерицы (%):

- 1 – Присамарский международный биосферный стационар им. А. Л. Бельгарда – контроль;
- 2 – зона промышленного загрязнения (г. Днепродзержинск);
- 3 – участок лесной рекультивации шахтных отвалов (г. Павлоград)

Содержание растворимой, цитоскелетной и мембранной форм ГФКБ регулируется дифференциально и отражает цитоскелетные перестройки в процессах дифференциации и пролиферации астроцитов.

Содержание ГФКБ во фракциях экстрагированных мочевиной и Тритоном X100 также было достоверно выше в мозге животных из загрязненных регионов по сравнению с группой, взятой из условно чистого района (рис. 2, 3).

Значительное возрастание экспрессии ГФКБ является характерной чертой реактивного ответа астроглии на самые различные по природе факторы. Выявленное повышение содержания белка глиальных промежуточных филаментов в мозге ящериц указывает на развитие астроглиоза – реактивного ответа глии, включающего ряд сложных изменений в морфологии и функциях астроцитов. Нарушение метаболического баланса в астроцитах отражается на метаболической активности нейронов и может вести к нарушениям их функций и функций ЦНС в целом. Астроциты участвуют в формировании глиальной оболочки и замещают погибшие в результате метаболических нарушений нейроны.

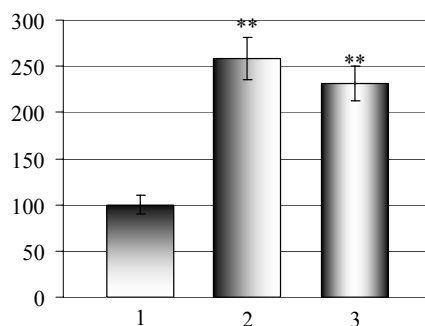


Рис. 2. Относительное содержание ГФКБ в цитоскелетной фракции белков мозга прыткой ящерицы из биотопов с различной техногенной нагрузкой (%):

- 1 – Присамарский международный биосферный стационар им. А. Л. Бельгарда – контроль;
- 2 – зона промышленного загрязнения (г. Днепродзержинск);
- 3 – участок лесной рекультивации шахтных отвалов (г. Павлоград)

Широкое распространение прыткой ящерицы, высокая численность этих пресмыкающихся во многих биогеоценозах делает этот биологический вид удобным объектом для экотоксикологических исследований. В настоящее время прыткая ящерица уже является одним из модельных биологических видов по программе МАВ. В силу достаточно широкого распространения и доступности прыткой ящерицы перспективно использование этого вида для изучения реакций организмов на негативные воздействия в биогеоценозах с целью индикации таких воздействий.

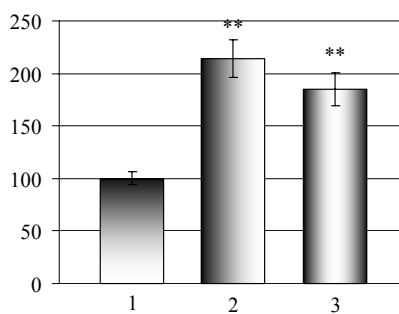


Рис. 3. Относительное содержание ГФКБ в мембранной фракции белков мозга прыткой ящерицы из биотопов с различной техногенной нагрузкой (%):

- 1 – Присамарский международный биосферный стационар им. А. Л. Бельгарда – контроль;
- 2 – зона промышленного загрязнения (г. Днепродзержинск);
- 3 – участок лесной рекультивации шахтных отвалов (г. Павлоград)

В мозге животных из загрязненных районов отмечено также существенное возрастание количества деградированных полипептидных фрагментов, которые образуются в результате протеолитического расщепления цитоскелетных структур. Повышение содержания таких фрагментов свидетельствует об активации цитоскелетных перестроек и морфологических изменениях. В отличие от «классического» астроглиоза, подобный процесс сопровождается снижением содержания ГФКБ во фракции нерастворимых цитоскелетных белков, что и было отмечено у рептилий, отловленных на загрязненном участке.

Наиболее значительные изменения в содержании деградированных полипептидных фрагментов ГФКБ выявлены в цитоскелетных фракциях, т.е. для наиболее стабильной и устойчивой формы данного белка (рис. 4–5). Учитывая тот факт, что цитоскелетная (нерастворимая) фракция по содержанию значительно превосходит мембранную фракцию ГФКБ, полученные данные свидетельствуют, что промышленное загрязнение индуцирует значительные нарушения в достаточно устойчивых цитоскелетных структурах астроцитов мозга пресмыкающихся.

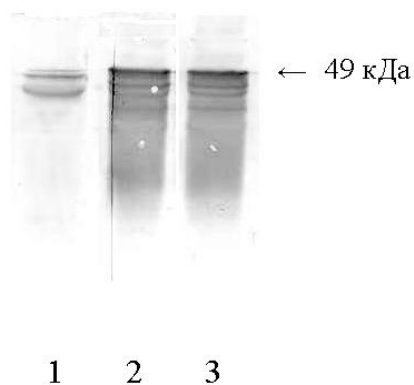


Рис. 4. Иммуноблоттинг цитоскелетных фракций белков головного мозга прыткой ящерицы из биотопов с различной техногенной нагрузкой:
 1 – Присамарский международный биосферный стационар им. О. Л. Бельгарда – контроль;
 2 – участок лесной рекультивации шахтных отвалов Западного Донбасса;
 3 – зона комплексного промышленного загрязнения, г. Днепродзержинск.

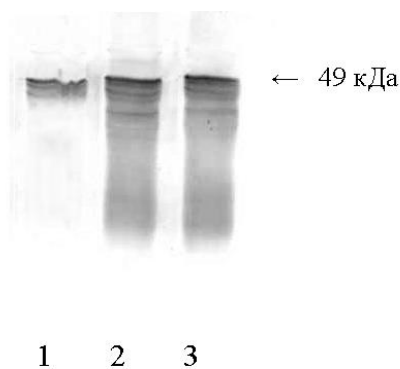


Рис. 5. Иммуноблоттинг мембранных фракций белков головного мозга прыткой ящерицы из биотопов с различной техногенной нагрузкой:
 1 – Присамарский международный биосферный стационар им. О. Л. Бельгарда – контроль;
 2 – участок лесной рекультивации шахтных отвалов Западного Донбасса;
 3 – зона комплексного промышленного загрязнения, г. Днепродзержинск.

Полученные результаты показали значительные достоверные различия в содержании ГФКБ в мозге животных из фонового и загрязненного местообитания. Различия были выявлены для всех белковых фракций – растворимой, цитоскелетной и мембранной. Увеличение количества белка глиальных промежуточных филаментов во фракции, экстрагированной мочевиной, свидетельствует о более интенсивном синтезе ГФКБ и фибрилlogenезе. Подобная активация характерна для индуцированного астроглиоза. Индукция астроглиального реактивного ответа, вероятнее всего, вызвана комплексом неблагоприятных факторов в промышленно загрязненных биотопах (Днепродзержинск, Павлоград). Во фракции белков, экстрагированных тритоном X-100, также выявлены достоверные различия содержания ГФКБ в мозге ящериц, взятых из условно чистого и загрязненных биотопов.

Следует отметить, что наиболее значительные отличия состава полипептидных фрагментов и содержания ГФКБ обнаружены в цитоскелетной и мембранной фракциях мозга животных, обитающих в загрязненных биотопах (Днепродзержинск) по сравнению с фоновыми биотопами Присамарского международного биосферного стационара (контроль).

Предполагают, что субъединицы цитоскелетных белков, которые экстрагируются детергентами, ассоциированы с мембранными структурами и выполняют не только опорную функцию цитоскелета, но, возможно, отвечают за взаимодействие цитоскелетных структур с мембранными белками.

В то же время по сравнению с мозгом животных из контрольных биотопов соотношение ГФКБ мембранной и цитоскелетной фракции существенно ниже для мозга ящериц из загрязненных биотопов.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что комплексы неблагоприятных факторов в техногенных регионах могут индуцировать сходные, общие механизмы клеточного и молекулярного ответов на экотоксическое воздействие.

Глиальные клетки обнаружены в нервной ткани самых различных биологических видов (Nedzvetskii, 2006). У рептилий мозг имеет достаточно сложную макроскопическую структуру, некоторые отделы имеют отличную от других тетрапод морфологию. В то же время мозг пресмыкающихся имеет высокоспециализированную глиальную архитектуру. Астроциты мозга рептилий сходны по морфологии, биохимическим и физиологическим свойствам с астроцитами мозга млекопитающих (Kalman, 2001).

Сравнительный анализ ГФКБ-позитивных клеток в мозге различных видов показал их присутствие в большинстве отделов мозга рыб и млекопитающих (Baydas, 2003; Kalman, 2001; Тухомугов, 2008; Недзвецкий, 2001). Представительство и локализация астроцитов имеют классоспецифические особенности, однако цитоскелетный белок ГФКБ в этих клетках высоко консервативен по структуре и выполняемым функциям (Тухомугов, 2008, Nedzvetskii, 2006).

Так же как и у других биологических видов, у рептилий нейроглия играет жизненно важную роль в поддержании и обеспечении функционирования нейронов. Особенно важны клетки нейроглии для поддержания гомеостаза в мозге, репарации повреждений, защиты нейронов от различных воздействий. Неблагоприятные воздействия различной природы индуцируют характерный клеточный ответ глиии – астроглиоз. Астроглиоз, т.е. реактивация астроцитов, всегда сопровождается активацией фибрилlogenеза и синтеза ГФКБ. Чрезмерно интенсивный фибрилlogenез является главным показателем реактивного ответа астроцитов на нейрональные повреждения. Перестройка промежуточных филаментов астроглии может быть необходимым условием для адекватного функционирования глиальных клеток при воздействии повреждающих факторов.

Астроциты экспрессируют широкий набор рецепторов, что объясняет их чрезвычайно высокую чувствительность и реактивность на обширный спектр различных факторов (Sofroniew, 2010).

Выявленное нами достоверное повышение экспрессии белка глиальных промежуточных филаментов свидетельствует об индуцированном астроглиозе, т.е. функциональном ответе нейроглии на неблагоприятное воздействие.

Характерное увеличение количества деградированных полипептидных фрагментов ГФКБ является признаком цитоскелетных перестроек, нарушения состояния цитоскелета, морфологии и функционирования клеток нервной ткани. Таким образом, состояние глиального цитоскелета может быть показателем токсического воздействия широкого круга промышленных загрязнителей.

Результаты исследования состояния цитоскелета нейроглии в мозге рептилий из промышленно загрязненного и условно чистого (контрольного) участков указывают на то, что подобные специфические молекулярные повреждения могут быть одним из основных механизмов реализации токсичных эффектов загрязнителей. Выявленная положительная корреляция показателей астроглиоза в мозге рептилий из экосистем с различным уровнем загрязнения указывает на то, что эти нарушения состояния цитоскелета могут рассматриваться в качестве валидного биомаркера системных патологических изменений.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что промышленные загрязнители вызывают развитие астроглиоза. Цитоскелетные перестройки в глиальных клетках характерно отражают неблагоприятное влияние антропогенных факторов внешней среды на пресмыкающихся, в частности на особи прыткой ящерицы. Полученные данные позволяют рассматривать состояние цитоскелета глиальных клеток в качестве надежного и достоверного маркера неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды.

Выявленные изменения в экспрессии ГФКБ свидетельствует о значительных метаболических нарушениях в нервной системе прыткой ящерицы, которые индуцированы действием стрессорных факторов.

В последнее время серьезное внимание уделяется возможному использованию структурных молекулярных компонентов в качестве индикаторов функционального состояния различных типов клеток. Среди наиболее перспективных биомаркеров рассматриваются гистоспецифические цитоскелетные белки нервной ткани. Во-первых, эти белки выполняют специфические, жизненно необходимые функции нервной системы. Во-вторых, белки нейронов необычайно чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов.

Актуальной задачей при оценке воздействия промышленного загрязнения является изучение соответствующих эффектов у живых организмов, использование их в качестве биоиндикаторов.

Не вызывает сомнения, что изучение биохимических и физиологических показателей для биологической оценки влияния загрязнения на сообщества и экосистемы показали перспективность применения молекулярных биомаркеров. Принципиально важным является выявление нарушений уже на молекулярном уровне, до их последующей реализации на более высоких уровнях организации, когда неблагоприятные изменения могут приобретать необратимый характер. Мониторинг с использованием таких биомаркеров предоставит возможность, выявлять на ранних стадиях последствия интоксикационных процессов и прогнозировать развитие патогенетических процессов в популяции и сообществе. Глиальный фибриллярный кислый белок у ящериц может быть таким информативным биомаркером для оценки негативных эффектов загрязнения биогеоценозов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Биотест** интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов / В. М. Захаров, Д. М. Кларк. – М., 1993. – С. 67.
- Булахов В. Л.** Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Земноводні і плазуни / В. Л. Булахов, В. Я. Гассо, О. Є. Пахомов. – Д. : Вид-во ДНУ. 2007. – 420 с.
- Виноградова Р. П.** Физико-химические методы в биохимии / Р. П. Виноградова, Б. А. Цудзевич, С. Н. Храпунов. – К. : Вища шк., 1983. – 286 с.
- Гассо В. Я.** Состояние цитоскелетных молекулярных компонентов мозга прыткой ящерицы как биомаркер нарушений, индуцированных промышленным загрязнением / Гас-

со В. Я., Клименко Е. Ю., Недзвецкий В. С. // *Екологія та ноосферологія*. – 2010. – Т. 21, № 1-2. – С. 98-104.

Екологічний паспорт Дніпропетровської області. – Д., 2011. – 136 с.

Кокунин В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // *Укр. биохим. журн.* – 1975. – № 6. – С. 776-791.

Куценко С. А. Основы токсикологии / С. А. Куценко. – СПб., 2004. – 720 с.

Ленинджер А. Основы биохимии (в 3-х т.) / А. Ленинджер. – М.: Мир, 1985. – Т. 2. – С. 371.

Недзвецкий В. С. Вплив іонізуючого випромінювання і хлориду алюмінію на білок проміжних філаментів глії головного мозку щурів / В. С. Недзвецкий, П. О. Неруш, А. О. Тихомиров та ін. // *Нейрофізіологія*. – 2001 (33). – № 1. – С. 33-38.

Недзвецкий В. С. Возможности использования молекулярных компонентов с целью сохранения биологического разнообразия в условиях действия неблагоприятных факторов / В. С. Недзвецкий, А. А. Тихомиров, С. В. Кириченко, Ж. А. Корякина, М. В. Липка // *Екологія та ноосферологія*. – 2005. – Т. 16, № 3-4. – С. 215-221.

Недзвецкий В. С. Биологическая и социальная значимость использования молекулярных компонентов с целью определения метаболических нарушений, вызванных ионами алюминия / В. С. Недзвецкий, Е. В. Сухаренко, О. П. Неруш // *Ученые записки РГСУ*. – 2011, № 4. – С. 192-196.

Ультроструктура нервной системы / А. Питерс, С. Палей, Г. Уэбстер / Под ред. проф. Г. Д. Смирнова. – М.: Мир, 1972. – 175 с.

Baydas G. Melatonin protects the central nervous of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis / G. Baydas, R. J. Reiter, V. S. Nedzvetskii // *Toxicology Letters*, 2003. – V. 137. – P.169-174.

Kalman M. Immunohistochemical investigation of actin-anchoring proteins vinculin, talin and paxillin in rat brain following lesion: a moderate reaction, confined to the astroglia of brain tracts / M. Kalman, A. Szabo // *Exp Brain Res*, 2001. 139. – P. 426-434.

Laemmli O. H. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*, 1970. – V. 227, № 1. – P. 243-246.

Miller G. L. Protein determination for large numbers of samples // *Anal. Chem.*, 1959, – V. 31, № 5, – P. 964-966.

Nedzvetskii V. S. Effects of vitamin E against aluminum neurotoxicity in rats / V. S. Nedzvetskii, M. Tuzcu, A. Yasar, A. A. Tikhomirov, G. Baydas // *Biochemistry (Moscow)*. – 2006. – V. 71, № 3. – P. 239-244.

Sofroniew M., Vinters H.V. Astrocytes: biology and pathology // *Acta Neuropathology*, 2010. – V. 119. – P. 7-35.

Tykhomyrov A. A. Nanostructures of hydrated C60 fullerene (C60HyFn) protect rat brain against alcohol impact and attenuate behavioral impairments of alcoholized animals / A. A. Tykhomyrov, V. S. Nedzvetsky, V. K. Klochkov, G. V. Andrievsky // *Toxicology*. – 2008. – V. 246, № 2-3. – P. 158-165.

Надійшла до редколегії 05.04.12