

С.М. МАНДЗИНЕЦЬ,
О.Р. КУЛАЧКОВСЬКИЙ, М.В. БУРА
Львівський національний університет ім. Івана Франка
E-mail: manisvit@gmail.com

ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КЛІТИН ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА УМОВ ВПЛИВУ АВЕРМЕКТИНУ



Досліджено ультраструктурну організацію клітин зародків *Misgurnus fossilis* L. на стадіях першого та десятого поділів бластомерів за присутності в середовищі інкубації макроциклічного лактону класу авермектинів – авермектину В (0,01; 0,1 та 1 мг/мл). Встановлено, що дія препарату призводить до ультраструктурних змін клітинних органел: гіпертрофії гранулярної та агранулярної ендоплазматичної сітки, дезорганізації мітохондрій та плазматичної мембрани зародків. Дія авермектину зумовлює дозозалежні деструктивні зміни органел, що є наслідком порушення метаболічних та регуляційних процесів, викликаних інгібуючим впливом авермектину на процеси активного транспорту іонів Na^+ , K^+ та Ca^{2+} . Отримані результати свідчать про те, що для авермектину характерна висока ембріотоксичність.

© С.М. МАНДЗИНЕЦЬ, О.Р. КУЛАЧКОВСЬКИЙ, М.В. БУРА,
2011

Вступ. Авермектини – група споріднених за будовою сполук макролідної природи, природним продуцентом яких є мікроорганізм *Streptomyces avermitilis*, що продукує комплекс з восьми індивідуальних авермектинів [1]. Висока антипаразитарна активність [1, 2] авермектинів викликала значну наукову та практичну зацікавленість дослідників й спеціалістів у галузях тваринництва і рослинництва. Виявлено, що найбільш виражена активність характерна для авермектину B_1 [1], тому на його основі були створені комерційні сільськогосподарські антипаразитарні препарати: абамектин, що складається з 80 % авермектину B_{1a} та 20 % авермектину B_{1b} , й івермектин – дигідроване похідне авермектину B_1 [3, 4]. Багато робіт спрямовано на виявлення механізмів антипаразитичного ефекту згаданих сполук для безхребетних і токсичної дії авермектинів для теплокровних, а також екологічних аспектів їхнього застосування у сільському господарстві. Як вважають деякі дослідники [3, 4], авермектини групи А мають цитотоксичні властивості, що не є характерними для авермектинів групи В. Незважаючи на великі здобутки у вивченні дії авермектинів групи В, дані стосовно їхньої клітинної дії майже відсутні. Вплив препаратів на клітини тварин-господарів, які не є мішенями дії ліків, не менш важливий для оцінки придатності та подальшого використання цих препаратів.

Відомо, що авермектини відзначаються високою ліпофільністю [5] завдяки наявності макроциклічного лактонового кільця (рис. 1), що полегшує їхнє проникнення у клітину і, в свою чергу, визначає спектр клітинних мішеней, зв'язування з якими змінює ряд метаболічних процесів, що веде до загибелі клітин. Передостанній включає також ферменти активного транспорту іонів. У роботі Більмана [6] показано здатність івермектину інгібувати активність Ca^{2+} -АТФази саркоплазматичної сітки м'язів кроля, а також активність Ca^{2+} -АТФази мікросомної фракції мозку. У роботі Шу [7] показано здатність івермектину пригнічувати ферментативну активність Na^+ , K^+ -АТФази у нематод *Onchocerca volvulus*. Встановлено, що у зародкових клітинах авермектин інгібує активність Na^+ , K^+ -АТФази мембран бластомерів [8], а також виявлено пригнічення сумарної Ca^{2+} -АТФазної активності у перші години розвитку бластомерів зародків [9]. Показано,

що дія авермектинів веде до зменшення амплітуди та збільшення періоду коливань трансмембранного потенціалу (ТМП), загальної деполаризації мембрани бластомерів [10].

Оскільки зародки в період раннього ембріонального розвитку є адекватною тест-системою для дослідження рівня токсичності речовин та механізмів реалізації токсичного впливу, доцільно дослідити морфологічні варіації внутрішньоклітинних структур та органел за наявності у середовищі інкубації авермектину В₁.

Мета роботи — дослідження ультраструктурних змін бластомерів в'юна *Misgurnus fossilis* L. за умов впливу авермектину В₁ протягом раннього онтогенезу.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) у період від запліднення (перша година розвитку) до стадії десятого поділу бластомерів (шоста година розвитку). Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимуляції. Сім'яники отримували шляхом декапітації та розтину черевної порожнини самців. Ікру запліднювали в чашках Петрі суспензією сперміїв за Нейфахом [11]. Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали та інкубували у фізіологічному розчині Гольтфрета (рН 7,4, t = 20–22 °С) за присутності авермектину в концентрації 0,01; 0,1 та 1 мкг/мл. Розчиняли 10 мг препаратів у 10 мл суміші пропіленгліколь : вода (7:3, v : v) з наступним розведенням до потрібної концентрації. Контрольні зародки інкубували в розчині Гольтфрета.

Зародки в'юна на зазначених стадіях розвитку фіксували 1 год у 1,5%-ному розчині глютарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (рН 7,2, t = 4 °С). Зразки промивали в какодилатному буфері та додатково фіксували 1 год у 2%-ному розчині чотириокису осмію в тому ж буфері (t = 4 °С). Потім відмивали від фіксаторів, обезводнювали спочатку в зростаючих концентраціях етилового спирту, а потім в двох змінах окису пропілену і поміщали в апоксидну смолу епон-812 [12]. Зрізи готували на ультрамікроскопі УМТП-6 алмазним ножом, контрастували 15 хв 2%-ним розчином ураніл-ацетату і додатково цитратом свинцю за Рей-

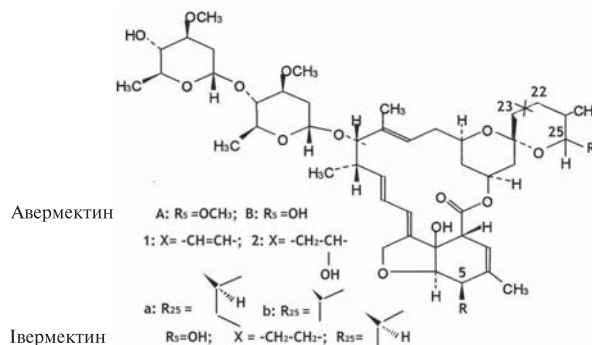


Рис. 1. Структурні особливості авермектинів на прикладі авермектину та івермектину [5]

нольдсом [13]. Зрізи переглядали і фотографували на електронному трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100.

Результати досліджень та їх обговорення. Ультраструктура зародків на першій годині розвитку при дії авермектину. Ультраструктурна організація зародкових клітин в'юна, що були інкубовані протягом першої години розвитку (стадія 2 бластомерів) у середовищі з додаванням авермектину (0,01; 0,1 та 1 мкг/мл), характеризувалася зміною електронної щільності гіалоплазми та дезорганізованими органелами у порівнянні з контролем (рис. 2, з та 4, з) [14].

За наявності у середовищі інкубації авермектину в концентрації 0,01 мкг/мл спостерігали найменш виражені зміни ультраструктури усіх органел бластомерів (рис. 2) порівняно з контролем [14]. Плазматична мембрана (ПМ) бластомерів залишалась суцільною, однак набувала значних інвагінацій, у ділянках яких спостерігалось розпушення (рис. 2, в). Шар цитоплазми, що безпосередньо прилягав до мембрани бластомерів, майже не містив клітинних органел (рис. 2, в) на відміну від зародків у контролі (рис. 2, з) [14] і характеризувався високою електронною щільністю.

За наявності у середовищі інкубації зародків 0,01 мкг/мл авермектину в глибоких шарах цитоплазми виявлено середніх розмірів неправильної округлої форми мітохондрії. Більшість мітохондрій перебували у стані набряку, а їхній матрикс заповнений речовиною низької електронної щільності на відміну від зародків, що розвивались у нормальних умовах (рис. 4, з). Слід зазначити, що кристи таких міто-

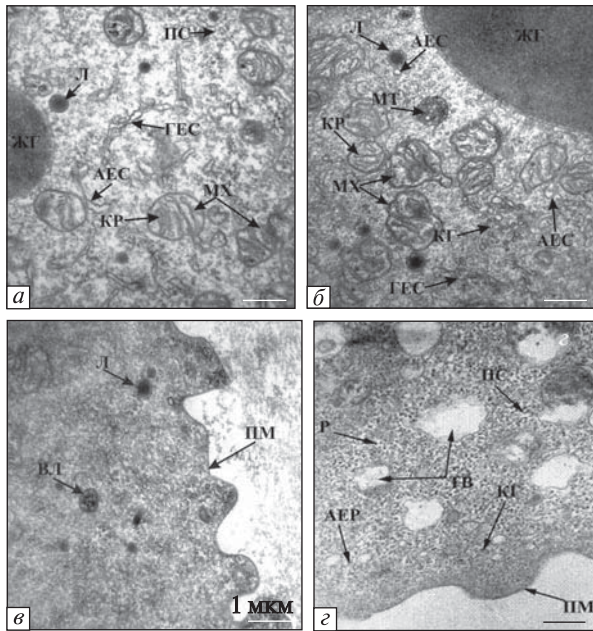


Рис. 2. Ультраструктура зародків в'юна на першій годині розвитку за умов впливу 0,01 мкг/мл авермектину (*a–в*): АЕС – агранулярна ендоплазматична сітка (АЕР – агранулярний ендоплазматичний ретикулум); ГЕС – гранулярна ЕС; ЖГ – жовткові гранули; КГ – комплекс Гольджі; КР – кристи мітохондрій; Л – лізосоми; МХ – мітохондрії; МТ – мультивезикулярні тільця; ПМ – плазматична мембрана; ПС – полісоми; ТВ – травні вакуолі; Р – рибосоми; *г* – ультраструктура зародків у нормальних умовах

хондрій зруйновані, однак при цьому цілісність органел не порушена (рис. 2, *a, б*).

Встановлено, що вже на першу годину розвитку спостерігалось розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) і дезорганізація їхніх мембран, втрата ними рибосом (рис. 2, *a, б*). В міру наближення до поверхні бластомерів у цитоплазмі знаходяться гіпертрофовані канали ГЕС (рис. 2, *a, б*). Зустрічались також невеликі первинні та вторинні лізосоми (рис. 2, *a–в*). Мультивезикулярні тільця (МТ) у глибоких шарах цитоплазми характеризувались значними розмірами і були оточені суцільною мембраною, на поверхні якої видно утворення у вигляді сот (рис. 2, *б*). У випадку дії авермектину в концентрації 0,01 мкг/мл жовткові гранули (ЖГ) не зазнавали значних змін, плазматична мембрана, яка їх оточувала, зберігала цілісність (рис. 2, *a, б*).

Дозозалежність ультраструктурних змін бластомерів зародків виявили вже на першій годині розвитку. Поверхня бластомерів зародків за наявності авермектину в концентрації 0,1 мкг/мл характеризувалася інвагінаціями (рис. 3). Водночас спостерігали злипання сусідніх ділянок ПМ бластомерів (рис. 3, *з*), а також зменшення проміжку між ними. На певних ділянках ПМ зафіксовано її розриви (рис. 3, *з*). Примембранний шар характеризувався високою електронною щільністю, з відсутніми у ньому органелами. При дії авермектину у зазначеній концентрації ПМ частково втратила свою хвилястість і перебувала в натягнутому стані, що свідчить про набряк клітини (рис. 3, *з*). Цитоплазма бластомерів характеризувалася неомогенною щільною гіалоплазмою, в якій зустрічались значно гіпертрофовані канали агранулярної ендоплазматичної сітки (АЕС) та ГЕС, заповнені речовиною низької електронної щільності, проте в глибоких шарах цитоплазми зафіксовано значне руйнування мембран ГЕС (рис. 3, *a–в*). У цитоплазмі зустрічались мітохондрії з конденсованим вмістом, з нечіткими кристами (рис. 3, *a*), однак більшість мітохондрій перебували у стані набряку неправильної форми, кристи яких були зруйнованими (рис. 3, *a–в*). У глибоких шарах цитоплазми знаходились значних розмірів ЖГ, мембрани в них переважно розпушені, зазначено відшарування мембрани від жовтка (рис. 3, *a–в*). Спостерігали збільшення кількості первинних лізосом та появу їхніх вторинних форм, наявність значних травних вакуоль, що свідчило про початковий стан лізису клітин (рис. 3, *a–в*). МТ набували значних розмірів, збільшувалась їхня кількість у порівнянні з попередньою концентрацією авермектину (рис. 3, *в*).

При подальшому збільшенні концентрації препарату до 1 мкг/мл у середовищі інкубації зародків відзначено більш виражені руйнівні явища, які свідчили про загибель зародків уже на першу годину розвитку (рис. 4). Вакуоляризація клітин набувала більш вираженого характеру. Вміст таких вакуоль мав низьку електронну щільність, що свідчило про активний процес лізису. Спостерігалось також відшарування мембран від ЖГ та їхня розпушеність, втрата чіткості, що ймовірно свідчило про розрідження та зміни структури мембран під дією

авермектинів у високих концентраціях (рис. 4). Зафіксовано початковий некроз, який виражався через збільшення електронної щільності гіалоплазми за рахунок коагуляції білків та руйнування мембранних структур (рис. 4, а, в) у порівнянні з контролем (рис. 2, з). В інших ділянках бластомерів спостерігали уже сформований вакуолізований клітинний вміст (рис. 4, а, з).

Дія авермектину завдяки його мембранотропності призводить до дестабілізації всіх клітинних мембран. Вченими показано, що взаємодія мембрани, івермектину та Ca^{2+} -АТФази підтверджена у дослідженнях з додаванням фосфатидилхоліну, який знімав вплив препарату [6]. Зокрема, отримані ультраструктурні зміни зародкових клітин в'юна можна пояснити взаємодією авермектину, мембран ЖГ та самої ПМ бластомера, а це у свою чергу веде до руйнувань клітинних органел та лізису клітин (рис. 4). Очевидно молекули авермектину завдяки своїй високій ліпофільності здатні переходити у ЖГ, зумовлюючи повільну деструкцію ПМ бластомерів (рис. 4).

Ультраструктура бластомерів зародків на шосту годину розвитку при дії авермектину. Тривале інкубування зародків в'юна впродовж 6 год за наявності у середовищі авермектину в діапазоні концентрацій 0,01÷1 мкг/мл зумовлювало ряд змін в ультраструктурній організації у порівнянні з контролем (рис. 5, з).

Цитоплазма бластомерів, що інкубувалися у середовищі з додаванням авермектину в низькій концентрації (0,01 мкг/мл), характеризувалась гіалоплазмою з високою електронною щільністю та органелами, які перебували в стані набряку, що свідчить про дезорганізацію клітинного скелету (рис. 5, а-в), тоді як гіалоплазма бластомерів зародків в'юна на шостій годині розвитку за нормальних умов мала низьку електронну щільність. Міжбластомерні простори є великими та заповнені речовиною дрібнозернистої консистенції (рис. 5, з) [14].

При дії авермектину поверхня бластомерів переважно була суцільною, і в певних ділянках зберігалися слабо виражені інвагінації та випинання мембрани, а також зустрічались ділянки з розривами та втратою чіткості мембрани (рис. 5, б, в). Міжклітинний простір був відсутній або малий і заповнений речовиною

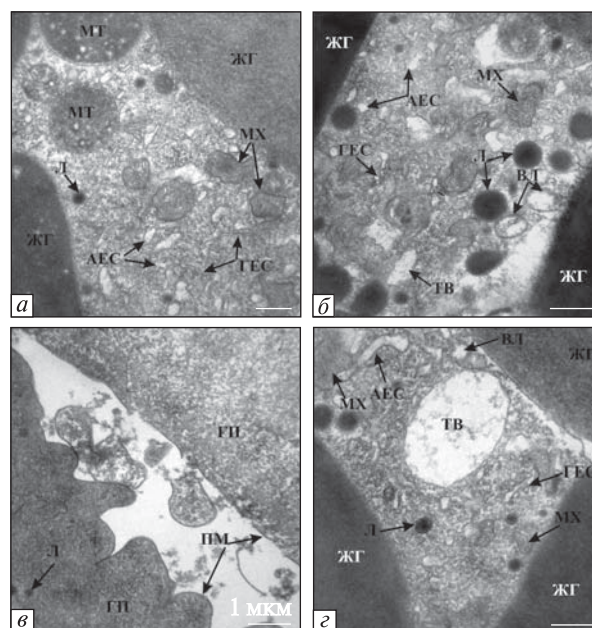


Рис. 3. Ультраструктура зародків в'юна на першій годині розвитку за умов впливу 0,1 мкг/мл авермектину (а-з): ГП – гіалоплазма; інші позначення, як на рис. 2

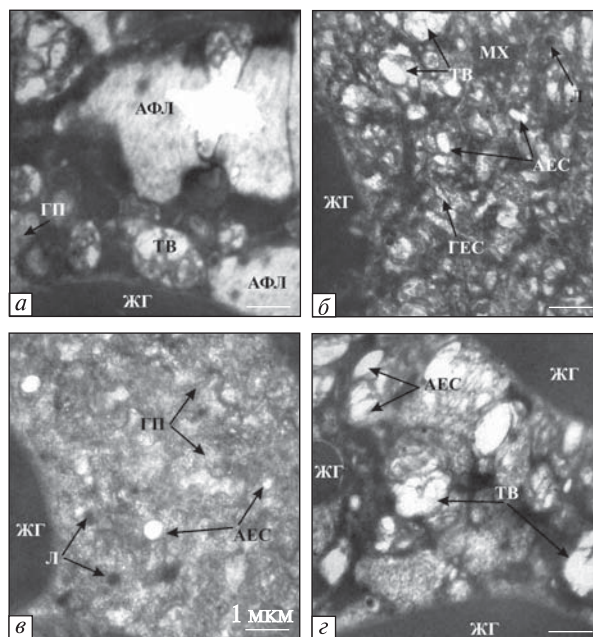


Рис. 4. Ультраструктура зародків в'юна на першій годині розвитку за умов впливу 1 мкг/мл авермектину (а-з); АФЛ – аутофаголізосома; інші позначення, як на рис. 2

високої електронної щільності на відміну від контролю (рис. 5, з) [14]. Як в глибоких (рис. 5, а), так і в кортикальних шарах (рис. 5, б, в)

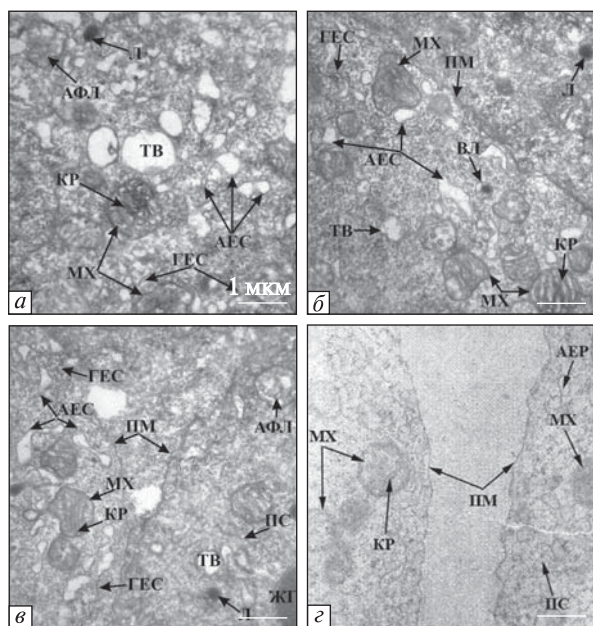


Рис. 5. Ультраструктура зародків в'юна на шостій годині розвитку за умов впливу 0,01 мкг/мл авермектину (а–б); в – ультраструктура зародків у нормальних умовах на шосту годину розвитку, [14]; інші позначення, як на рис. 2

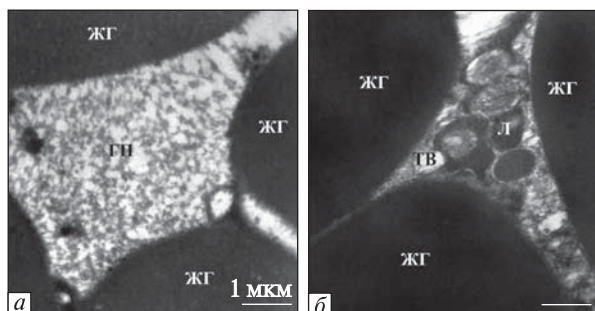


Рис. 6. Ультраструктура зародків в'юна на шостій годині розвитку за умов впливу 0,1 (а) та 1 мкг/мл (б) авермектину. Позначення, як на рис. 2

цитоплазми знаходилися мітохондрії, що перебували в стані набряку. Більша частина таких мітохондрій мала непошкоджені зовнішні мітохондріальні мембрани, кристи ж їхні були дезорганізованими. Зруйновані мітохондрії перетворювались у скупчення ліпопротеїнових мас, що оточені мембраною (рис. 5, а–в). У деяких ділянках цитоплазми зустрічались мітохондрії з добре розвинутими кристами та чіткою зовнішньою мембраною (рис. 5, б, в).

За інкубування зародків у середовищі з авермектином між мітохондріями спостерігали канали АЕС та ГЕС (рис. 5), які нерівномірно розміщувались і зустрічались як у кортикальних, так і примембранних шарах. Канали АЕС були гіпертрофованими. Поруч з каналами АЕС серед полів дезорганізованих полісом, які не мали чітких контурів, знаходилися поодинокі первинні, вторинні лізосоми та аутофаголізосоми (рис. 5). Відзначено також наявність великих травних вакуолей.

Збільшення концентрації авермектину в середовищі до 0,1 та 1 мкг/мл призводило до дегенеративних незворотних змін ультраструктури бластомерів з ознаками вираженої вакуоляризації клітини та руйнування мембран клітинних органел (рис. 6, а, б). Слід зазначити, що при дії авермектину у високій концентрації (1 мкг/мл) в більшості випадків спостерігали значне руйнування клітинного вмісту та розпушення внутрішніх мембран. У зародків, що розвивались за нормальних умов, ПМ характеризувалась наявністю випинань та інвагінацій (рис. 5, в) [14]. Така характеристика ПМ узгоджується з отриманими даними при дослідженні цитодиференціації клітин протягом ранніх поділів бластомерів також на стадіях бластули та гастрული *Fundulus heteroclitus* [15]. Отже наявність у середовищі інкубації авермектинів на шосту годину розвитку бластомерів призводила до значних ультраструктурних змін клітин з вираженими ознаками вакуоляризованого некрозу, ступінь вираженості якого залежала від концентрації препаратів. Незворотні зміни органел на стадії 10 поділу бластомерів, які є наслідком порушення перебігу метаболічних процесів, врешті решт вели до загибелі зародків.

Подібні зміни ультраструктури, такі як пошкодження та набряк органел, вакуоляризація органел, розпушення та пошкодження плазматичних та мітохондріальних мембран, спостерігали при дії івермектину на тестикулярні клітини у кліща *Argas (Parsicargas) persicus* [16]. Сучасні дослідження клітинної смерті, представлені у роботі Ксіао та ін. [17], показали, що інгібування Na^+ , K^+ -АТФази оубаїном у нервових клітинах призводить до збільшення іонів Na^+ та Ca^{2+} та одночасного зменшення іонів K^+ у клітині з наступним збільшенням іонів K^+ у позаклітинному середовищі. Це ін-

дуке процеси, що характерні для загибелі клітини за механізмом апоптозу. Крім цього, збільшення концентрації оубаїну запускає процеси механізму некротичного типу клітинної смерті. Дослідження авермектинів показали, що аверсектин С — це препарат на основі восьми природних авермектинів, який містить компоненти авермектинів групи А та В і має різний вплив на клітини лімфолейкозу Р-388. Авермектини групи В не викликають апоптозу згаданих клітин, тоді як для авермектинів групи А характерний апоптотичний механізм загибелі дослідних клітин [18]. Беручи до уваги дані по гено- та цитотоксичності івермектину [19] і підтвердження розвитку некрозу різних тканин при застосуванні івермектину [20–22], а також враховуючи здатність авермектину В інгібувати Na^+ , K^+ -АТФазу та сумарну Ca^{2+} -АТФазу активність бластомерів зародків в'юна у перші години розвитку, вважаємо, що загибель бластомерів здійснюється в основному за механізмом некрозу.

Отже набряк та повна вакуоляризація зародкових клітин, що являє собою пізній результат некротичного типу смерті клітини, ймовірно є наслідком порушення входження Na^+ , K^+ та молекул води в цитоплазму, виходом іонів Ca^{2+} та блокуванням його транспорту у клітинні депо бластомерів [6, 8, 9, 23]. Перелічені зміни зумовлені дозозалежною інгібуючою дією авермектину В на активність систем активного транспорту іонів Na^+ , K^+ та Ca^{2+} . Це може бути пусковим механізмом процесів, що викликають цитотоксичні ефекти у клітинах, які швидко діляться у період дроблення.

S.M. Mandzynets,
O.R. Kulachkovsky, M.V. Bura

IVERMECTIN EFFECTS ON ULTRASTRUCTURE CHARACTERISTICS OF THE LOACH EMBRYOS

The ultrastructure of embryo cells of the loach (*Misgurnus fossilis* L.) at the stage of the first and the tenth divisions of blastomers in control and under the conditions of avermectin (0,01, 0,1 and 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) impact was investigated. Effect of avermectin resulted in significant ultrastructural changes of embryo cells such as hypertrophy of channels of the smooth and rough endoplasmic reticulum, disorganization of mitochondria and cytoplasm membrane destructions of the embryos. Avermectin led to disruption of Na^+ , K^+ and Ca^{2+} active transport resulted in destructive changes in metabolic and regulation processes and embryo

death. Such results show the high embryotoxicity of avermectin.

S.M. Mandzynets,
O.R. Kulachkovsky, M.V. Bura

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОК ЗАРОДЫШЕЙ В'ЮНА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ АВЕРМЕКТИНА

Приведены результаты исследований ультраструктуры зародышей в'юна на стадиях первого и десятого делений бластомеров при воздействии 16-членного макроциклического лактона авермектина В₂ (0,01; 0,1 и 1 мкг/мл). Действие авермектина ведет к изменениям ультраструктуры клеточных органоидов: гипертрофии гранулярной и агранулярной эндоплазматической сети, дезорганизации митохондрий и плазматической мембраны зародышей. Действие авермектина вызывает дозозависимые деструктивные изменения оргanelл вследствие нарушения метаболических и регуляторных процессов, вызванных ингибиторным влиянием авермектина на процессы активного транспорта ионов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} . Полученные результаты свидетельствуют о характерной для авермектина высокой эмбриотоксичности.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Burg R.W., Miller B.M., Baker E.E. et al. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 1979. — **15**, № 3. — P. 361–367.
- Ostlind S.C., Long R. Insecticidal activity of the antiparasitic avermectins // *Vet. Rec.* — 1979. — **105**, № 8. — P. 168.
- Campbell W.C. Ivermectin and Abamectin. — New York : Springer-Verlag, 1989. — 363 p.
- Рославцева С.А. Новая группа инсектоакарицидов и нематоцидов // *Агрохимия.* — 1987. — **7**. — С. 130–134.
- Fisher M.H. Recent advances in avermectin research // *Pure. and Appl. Chem.* — 1990. — **62**, № 7. — P. 1231–1240.
- Bilmen J.G., Wootton L.L., Michelangeli F. The inhibition of the sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase by macrocyclic lactones and cyclosporin A // *Biochem. J.* — 2002. — **366**, № 1. — P. 255–263.
- Shu E.N., Okonkwo P.O., Batey W.O., Onyeanusi J. Ivermectin: concentration-dependent effects on adenosine triphosphatases in adult worms of *Onchocerca volvulus* // *Acta Tropica.* — 2000. — **74**, № 1. — P. 7–11.
- Мандзынець С.М., Целевич М.В., Санагурський Д.І. Аналіз впливу двох макроциклічних лактонів на активність Na^+ , K^+ -залежної, Mg^{2+} -активованої АТФази зародків в'юна // *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія.* — 2008. — № 3. — С. 19–24.
- Мандзынець С.М., Целевич М.В., Санагурський Д.І. Влияние авермектинов на суммарную Ca^{2+} -АТФазу

- ную активність мембран зродьшай в'юна *Misgurnus fossilis* L. // Биология – наука XXI века : Сб. тезисов XII Междунар. Пуштинской школы-конференции молодых ученых. – Пушино, Россия, 2008. – С. 178–179.
10. Мандзинець С.М., Целевич М.В., Санагурський Д.І. Зміни динаміки трансмембранного потенціалу зародків в'юна упродовж раннього ембріогенезу за умов впливу івермектину // Біологія: від молекули до біосфери : Матеріали III Міжнар. конф. мол. учених. – Харків, 2008. – С. 75–76.
 11. Нейфах А.А. Молекулярная биология процессов развития. – М.: Наука, 1977. – 311 с.
 12. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М.: Мир, 1975. – 325 с.
 13. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol. – 1963. – 17. – P. 208–212.
 14. Целевич М.В., Кулачковський О.Р., Санагурський Д.І. Особливості ультраструктурних змін зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. за умов впливу борозину // Цитология и генетика. – 2004. – 38, № 6. – С. 23–27.
 15. Lentz T.L., Trinkaus J.P. A fine structural study of cytodifferentiation during cleavage, blastula and gastrula stages of *Fundulus heteroclitus* // J. Cell Biol. – 1967. – 32, № 1. – P. 121–138.
 16. Montasser A.A., Gadelhak G.G., Tariq S. Impact of ivermectin on the ultrastructure of the testis of *Argas (Persicargas) persicus* (Ixodoidea: Argasidae) // Exp. and Appl. Acarol. – 2005. – 36, № 1/2. – P. 119–129.
 17. Xiao A.Y., Wei L., Xia Sh., Rothman S., Ping Yu Sh. Ionic mechanism of ouabain-induced concurrent apoptosis and necrosis in individual cultured cortical neurons // J. Neurosci. – 2002. – 22, № 4. – P. 1350–1362.
 18. Мосин В.А., Кругляк Е.Б., Стерлина Т.С., Корытов Ю.Н., Шапошникова В.В., Кублик Л.Н., Левитман М.Х., Викторов А.В., Дриняев В.А. Действие авермектинов на клетки лимфолейкоза Р-388 in vitro // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – № 6. – С. 6–20.
 19. Molinari G., Soloneski S., Reigosa M.A., Larramendy M.L. In vitro genotoxic and cytotoxic effects of ivermectin and its formulation ivomec on Chinese hamster ovary (CHO_{K1}) cells // J. Hazard. Mater. – 2009. – 165, № 1/3. – P. 1074–1082.
 20. DeMarco J.H., Heard D.J., Fleming G.J., Lock B.A., Scase T.J. Ivermectin toxicosis after topical administration in dog-faced fruit bats (*Cynopterus brachyotis*) // J. Zoo and Wildlife Med. – 2002. – 33, № 2. – P. 147–150.
 21. Roberts R.J., Johnson K.A., Casten M.T. Control of *Salmincola californiensis* (Copepoda : Lernaeapodidae) in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) : a clinical and histopathological study // J. Fish Dis. – 2004. – 27, № 2. – P. 3–9.
 22. Viktorov A.V., Yurkiv V.A. Effect of ivermectin on function of liver macrophages // Bull. Exp. Biol. and Med. – 2003. – 136, № 6. – P. 569–571.
 23. Ahern G.P., Junankar P.R., Pace S.M., Curtis S., Mould J.A., Dulhunty A.F. Effects of ivermectin and miconazole on ryanodine receptors and the Ca²⁺-ATPase in sarcoplasmic reticulum of rabbit and rat skeletal muscle // J. Physiol. – 1999. – 514, № 2. – P. 313–326.

Надійшла 29.10.10