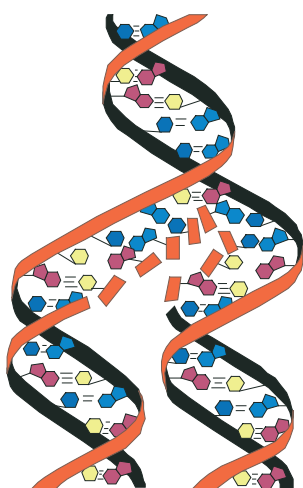


Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
Інститут фармакології та токсикології НАМН України

МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University
Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine*

MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

3(80) TOM 21
2019
(ДОДАТОК)

- ❖ *Молекулярні механізми розвитку патології*
- ❖ *Біохімія у діагностиці та лікуванні*
- ❖ *Біохімія серцево-судинних хвороб*
- ❖ *Біохімічна гепатологія та нефрологія*
- ❖ *Біохімія ендокринних хвороб*
- ❖ *Патохімія спадкових хвороб*
- ❖ *Патохімія екстремальних станів*
- ❖ *Біохімія в хірургічній клініці*
- ❖ *Нейрохімія та патохімія головного мозку*
- ❖ *Імунохімія*
- ❖ *Біохімія радіаційних уражень*
- ❖ *Біохімічні аспекти моделювання патологічних процесів*
- ❖ *Ксенобіохімія*
- ❖ *Методи біохімічних досліджень*
- ❖ *Історія біохімії*
- ❖ *Проблеми і досвід викладання біологічної та медичної хімії*
- ❖ *Інформація, хроніка, ювілеї*

- ❖ *Molecular Mechanisms of Pathology Development*
- ❖ *Biochemistry in Diagnostics and Treatment*
- ❖ *Biochemistry of Cardiovascular Diseases*
- ❖ *Biochemical Hepatology and Nephrology*
- ❖ *Biochemistry of Endocrinopathy*
- ❖ *Pathochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Pathochemistry of Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Pathochemistry of Cerebrum*
- ❖ *Immunochemistry*
- ❖ *Biochemistry of Radiation Injuries*
- ❖ *Biochemical Aspects of Simulation of Pathologic Processes*
- ❖ *Xenobiochemistry*
- ❖ *Methods of Biochemical Investigations*
- ❖ *History of Biochemistry*
- ❖ *Problems and Experience of Biological and Medical Chemistry Teaching*
- ❖ *Information, Chronicle, Jubilees*

МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 2410-681X

Виходить щоквартально
Published 4 times per year

Заснований у січні 2011 р.
Founded in January 2011

Свідоцтво про державну
реєстрацію: серія KB № 17435-6185P
від 18.11.2010 р.

Certificate of state registration:
series KB № 17435-6185P from 18.11.2010

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

Журнал включено до Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів кандидата і доктора медичних та біологічних наук згідно з наказом МОН України від 13.07.2015 р. № 747 і фармацевтичних наук відповідно до наказу МОН України від 21.12.2015 р. № 1328.

Журнал включено до Міжнародної наукометричної бази даних Index Copernicus.

Рекомендовано до видання вченою радою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № 13 від 24 вересня 2019 р.).

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:
Журнал "Медична та клінічна хімія"
Видавництво "Укрмедкнига"
Майдан Волі, 1
46001, м. Тернопіль
УКРАЇНА

EDITORIAL OFFICE ADDRESS:
Journal "Medical and Clinical Chemistry"
Publishing House "Ukrmedknyga"
Maidan Voli, 1
46001, Ternopil
UKRAINE

Tel.: (0352) 43-49-56
(0352) 52-80-09
Fax: (0352) 52-41-83
<http://www.tdmu.edu.ua>
e-mail: journaldmy@gmail.com

За зміст рекламних матеріалів відповідальність несе рекламодавець. При передруці або відтворенні повністю чи частково матеріалів журналу "Медична та клінічна хімія" посилання на журнал обов'язкове.

© Науковий журнал "Медична та клінічна хімія", 2019
© Scientific Journal "Medical and Clinical Chemistry", 2019

МАТЕРІАЛИ XII УКРАЇНСЬКОГО БІОХІМІЧНОГО КОНГРЕСУ

**м. Тернопіль,
30 вересня – 4 жовтня 2019 р.**



НАШІ ПАРТНЕРИ І СПОНСОРИ:

Національна академія наук України (НАН України)

Міністерство освіти і науки України (МОН)

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (ІБХ)

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України (ТНМУ)

Федерація європейських біохімічних товариств (FEBS)

Асоціація з регіональної кооперації зі здоров'я, науки та технологій
(RESCOOP HST)

ТОВ «Науково-виробнича компанія «ЕКОФАРМ»

ТОВ «АЛТ Україна ЛТД» – передові лабораторні технології

ТОВ «АЛСІ Україна ЛТД» – обладнання сучасних лабораторій

ТОВ «ЛАБ-сервіс» – лабораторне обладнання, реактиви та інше

ПрАТ «ІНДАР» – компанія з виробництва інсулінів

Корпорація «АРТЕРІУМ» – Українська фармацевтична компанія

Центр інновацій «Сходи в МАЙБУТНЄ» – громадська організація

ТОВ «МедЛабГарант – ІФ» – тест-системи, медичне і лабораторне обладнання

ТОВ «Вектор БЕСТ Україна» – комплексне забезпечення лабораторій

ТОВ «БІОЛАБТЕХ ЛТД» – обладнання для сучасних лабораторій

ТОВ «Глобал Біомаркетинг Груп» – лабораторне обладнання, послуги

ТОВ «СФЕРА СІМ» – хімічні реактиви

«ПРОСТО ПРИЛАД» – торгова марка

ТзОВ «Міра» – центр забезпечення лабораторій

ТОВ «Пивоварня «Опілля»

ПрАТ «Тернопільський молокозавод»

ХЕМА – провідна біотехнологічна компанія



BioLabTech



ANCIENT WISDOMS OF CHINESE MEDICINE MEET WITH MODERN MEDICINE

ANLONG XU, Ph.D. and Professor in Molecular Biology

BEIJING UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE, PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA

Traditional Chinese medicine (TCM) originated in ancient China and has evolved over thousands of years. TCM practitioners use herbal medicines and various mind and body practices, such as acupuncture, Qigong and tai chi, to treat or prevent health problems. TCM emphasizes regulating the integrity of the human body and its interrelationship with natural environments. TCM understands that everything is composed of two complementary energies; one energy is Yin and the other is Yang. Ideally, Yin and Yang should always remain in harmony, not just in balance. TCM focus on gaining a holistic understanding of systems, and on

applying that wisdom in a top-down manner in the search for knowledge, information, and data that may increase the understanding of the web of life. Western biomedical sciences, in a bottom-up approach, focus on molecules organized into cells, with further consolidation into tissues, organs, and, ultimately, a whole organism. Upon mutual understand and knowledge sharing, It is expected that integrated Chinese and western medicine approaches will be a new paradigm for the medicine and provide better medical services to benefit the people around the world.

TRANSPOSON MOLECULAR DOMESTICATION AND THE EVOLUTION OF THE RAG RECOMBINASE

ANLONG XU, Ph.D. and Professor in Molecular Immunology

BEIJING UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE. PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA

V(D)J recombination, which produces the diverse repertoire of antibodies and T cell receptors, was a pivotal event in the evolution of the adaptive immune system of jawed vertebrates. When this recombination originated in the evolution and how this mechanism has evolved from basal chordate to jawed vertebrates are two critical questions in immunology and evolution biology. Our group first demonstrated the presence of ProtoRAGs as the form of transposon (a DNA sequence that can change its position in a genome) in basal chordate amphioxus and revealed their functional features which are reminiscent of RAG1/2 in human. We further suggested that domestication of a transposon has given rise to the RAG1–RAG2 recombinase (RAG) and V(D)J recombination in the evolution of the adaptive immune system. The evolutionary adaptations that transformed the

ancestral RAG transposase into a RAG recombinase with appropriately regulated DNA cleavage and transposition activities are not understood. Here, beginning with cryo-electron microscopy structures of the amphioxus ProtoRAG transposase (an evolutionary relative of RAG), we identify amino acid residues and domains the acquisition or loss of which underpins the propensity of RAG for coupled cleavage, its preference for asymmetric DNA substrates and its inability to perform transposition in cells. In particular, we identify two adaptations specific to jawed-vertebrates—arginine 848 in RAG1 and an acidic region in RAG2—that together suppress RAG-mediated transposition more than 1,000-fold. Our findings reveal a two-tiered mechanism for the suppression of RAG-mediated transposition, illuminate the evolution of V(D)J recombination and provide insight into the principles that govern the molecular domestication of transposons.

НАНОМАТЕРІАЛИ В БІОСЕНСОРИЦІ

ДЗЯДЕВИЧ С.В., СОЛДАТКІН О.О., СОЛДАТКІН О.П.
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ, КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: dzyad@yahoo.com

На сьогодні дуже перспективним напрямом в розвитку біосенсорних технологій є використання нових наноматеріалів при їх створенні. Завдяки своїм унікальним фізичним та хімічним властивостям вони можуть бути використані для контролювання покращення основних робочих характеристик біосенсорів.

Досліджено можливості модифікації фізичних перетворювачів наноматеріалами з метою покращення їхніх характеристик (чутливість до продуктів біохімічних реакцій в процесі перетворення біохімічного сигналу в електричний, зменшення робочого потенціалу, покращення селективності перетворювача та ін.).

Одним із перспективних матеріалів для модифікації біосенсорів є цеоліти. Вони є низькотоксичними, хімічно, механічно та термічно стабільними, а також стійкими до мікробної деградації. Під час штучного синтезу можна контролювати ряд характеристик цеолітів: змінювати відношення Si/Al, змінюючи при цьому заряд та ступінь гідрофобності матеріалу; кількість та розмір пор; вбудовувати атоми металів всередину кристалічної решітки, де вони утримуються координаційними зв'язками.

Показано можливість використання цеолітів як адсорбентів різних ензимів при виготовленні біосенсорів на основі трьох різних типів перетворювачів: кондуктометричного, амперометричного та потенціометричного. Зокрема, силікаліт (варіант цеоліту) був успішно використаний як ефективний адсорбент для уреазі. Показано, що при застосу-

ванні нового методу іммобілізації на основі адсорбції ензимів на цеолітах можна було покращити такі параметри біосенсорів як чутливість до субстрату, швидкість аналізу, відтворюваність, операційну стабільність, лінійний діапазон роботи тощо. Слід підкреслити також переваги самого методу адсорбції ензимів на цеолітах при виготовленні біосенсорів – простоту і швидкість приготування, гарну відтворюваність процедури виготовлення біосенсорів, а також, відсутність необхідності використання токсичних сполук. Усі перераховані переваги є особливо важливими для процесу стандартизації біосенсорів та при подальшому їх масовому виробництві. Крім того, вдалося провести іммобілізацію ензимів на електроди, виготовлені зі сталі, що раніше було неможливо зробити. Також була значно кращою адгезія до електродів, виготовлених із нікелю.

Досліджено можливості інтеграції біологічно активного матеріалу з наноструктурованими матеріалами (цеоліти, наночастки вуглецеві та на основі благородних металів, нанорозмірні додаткові шари та ін.) та поверхнями фізичних перетворювачів, вивчено робочі характеристики створених біосенсорів (чутливість, селективність, динамічний діапазон, залежність сигналів від рН, буферної ємності, температури, операційна стабільність та стабільність при довгостроковому зберіганні тощо), запропоновано підходи для поліпшення основних характеристик розроблюваних біосенсорів із використанням сучасних нанотехнологій.

NUCLEA AND METABOLIC REPROGRAMMING OF TUMOR CELLS ASSOCIATED WITH CANCER PROGRESSION: THE ROLE OF ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85

DROBOT L.B.
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCE OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: drobot@biochem.kie.ua

Oncological diseases are characterized by one of the highest mortality rates worldwide, due to metastasis as the main cause of treatment failure. At the regulatory level, the development of an aggressive tumor phenotype is closely linked to the transformation of non-invasive tumor cells into stem-like (Cancer Stem Cells, CSCs), increased therapeutic resistance and metastatic potential. Existing therapeutic strategies

for malignant neoplasms include a combination of approaches, such as surgery, chemotherapy, radiotherapy, "targeted" therapy that are largely aimed at the primary tumor, but are ineffective against the metastases caused by CSCs. Nowadays, it is becoming widely accepted that the reversible epithelial-mesenchymal transition (EMT), including the version of EMT, mesenchymal-amoeboid transition (MAT), is

the driving force of tumor metastasis. The ability of tumor cells to reciprocal metabolic and nuclear reprogramming/transdifferentiation during the reciprocal EMT-MAT/AMT-MET process, which does not require additional genetic changes, is now commonly known as epithelial-mesenchymal plasticity (EMP). Molecular strategies that orchestrate the EMP include context-dependent dynamic changes in the extracellular environment, subsequent modulation of the metabolism and receptor-dependent signaling networks, which in turn provide for precise regulation of epigenetic events, changes in gene expression profiles and miRNAs, translational and posttranslational modifications, morphology, and cell behavior.

The tight control of epigenetic modifications is particularly critical for stem cells that are capable of both self-reproduction and the generation of differentiated progenies. It turned out that changes in DNA methylation profiles are one of the main mechanisms for initiating carcinogenesis, which are greatly enhanced in the context of specific changes in the intracellular metabolism. The main regulators of cellular

metabolism are metabolic enzymes. Up today, it has been established that metabolic enzymes in cancer cells reveal both catalytic and transcriptional activities. They not only stimulate and maintain metabolic characteristics but can also activate stem-like properties of tumor cells both at the transcription level and at the level of intracellular signaling networks integration. This means that these molecules can be used simultaneously as markers for detecting CSCs and as potential targets for the development of specific drugs for cancer treatment. In particular, such regulators include enzymes that control aerobic glycolysis, bioactive lipids and corresponding enzymes that catalyze their formation, enzymes that modulate the state of the extracellular matrix, enzymes associated with metabolic adaptation of CSCs.

Data that demonstrate the key role of adaptor protein Ruk/CIN85 in the control of EMP and metabolic reprogramming in carcinogenesis will be presented.

Acknowledgments. This work was partially supported by SCOPES grant № IZ73ZO from Swiss National Science Foundation.

CHAPERONE/USHER ASSEMBLED FIMBRIAL ADHESINS: ROLE IN ANTI-IMMUNE RESPONSE OF BACTERIAL PATHOGENS AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE

ZAV'YALOV V.P.

DEPARTMENT OF CHEMISTRY, UNIVERSITY OF TURKU, TURKU, FINLAND;

e-mail: vlazav@utu.fi

This report summarizes the current knowledge on the structure and function of the polyadhesive organelles assembled on the surface of Gram-negative pathogens with the classical chaperone/usher machinery. Recently, in addition to the previously discovered family of the FGL (having a long F1-G1 loop) chaperone-assembled polyadhesins, the FGS (having a short F1-G1 loop) chaperone-assembled polyadhesins were found. The FGL and FGS polyadhesins are encoded exclusively by the gene clusters of the γ 3- and κ -monophyletic groups, respectively, while the γ 1-, γ 2-, γ 4-, and π -fimbrial clades exclusively encode monoadhesins. The notable property of polyadhesins is that all subunits possess two independent binding sites specific to different host cell receptors. Polyadhesive binding possesses an advantage over monoadhesive binding because it would result in formation of more powerful and tight contact between the pathogen and the host cell and it may lead to a massive aggregation of the receptors. This subsequently would trigger subversive signals directed to mislead functions of host cells, in particular, the cells of immune system.

The Gram-negative bacterium *Acinetobacter baumannii*, also known as "Iraqibacter" due to its emergence in US military treatment facilities in Iraq, has quickly become one of the most troublesome

pathogens for healthcare institutions globally and currently tops the priority pathogens list for development of new antibiotics. The outstanding survival properties and antibiotic resistance of *A. baumannii* are strongly associated with its ability to form biofilms. Biofilm formation is mediated by monoadhesive Csu pili, assembled via the "archaic" chaperone-usher pathway. The X-ray structure of the CsuC-CsuE chaperone-adhesin preassembly complex reveals the basis for bacterial attachment to abiotic surfaces. CsuE exposes three hydrophobic finger-like loops at the tip of the pilus. Decreasing the hydrophobicity of these abolishes bacterial attachment, suggesting that archaic pili use tip-fingers to detect and bind to hydrophobic cavities in substrates. Antitip antibody completely blocks biofilm formation, presenting a means to prevent the spread of the pathogen. The use of hydrophilic materials instead of hydrophobic plastics in medical devices may represent another simple and cheap solution to reduce pathogen spread. Phylogenetic analysis suggests that the tip-fingers binding mechanism is shared by all archaic pili carrying two-domain adhesins. The use of flexible fingers instead of classical receptor-binding cavities is presumably more advantageous for attachment to structurally variable substrates, such as abiotic surfaces.

ДИФТЕРІЙНИЙ ТОКСИН ЯК УНІКАЛЬНА МОЛЕКУЛЯРНА МАШИНА

КОЛИБО Д.В., МАНОЙЛОВ К.Ю., ЖУКОВА Д.А., КАТАШИНСЬКА Д.О.,
ЛАБИНЦЕВ А.Ю., ШАТУРСЬКИЙ О.Я., РОМАНЮК С.І., КОМІСАРЕНКО С.В.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: kolibo@biochem.kiev.ua

Дифтерійний токсин (ДТ) продукується вірулентними штамами *Corynebacterium diphtheriae* і є відповідальним за прояв патогенних властивостей цих бактерій. Увага дослідників до механізму дії ДТ пов'язана, передусім, з можливістю використання фрагментів цього протеїну при створенні гібридних молекулярних конструкцій різного призначення, зокрема, імунотоксинів. Відомо, що за токсичну дію ДТ відповідає його каталітичний фрагмент А, а за транспортну функцію – зв'язувальний фрагмент В, який взаємодіє з клітинним рецептором ргоНВ-EGF, що призводить до інтерналізації комплексу токсин-рецептор та транспортування каталітичного фрагменту А в цитозоль. Проте детальний механізм функціонування цієї молекулярної машини залишається нез'ясованим.

Нами показано, що рекомбінантний фрагмент В ДТ сповільнює “дозрівання” ендосом після інтерналізації, ймовірно, внаслідок формування іонних каналів в мембрані ендосом. На штучних біліпідних мембранах встановлено геометрію каналу, який формується завдяки трансмембранному домену молекули ДТ. Запропоновано модель, згідно з якою потік протонів через канал трансмембранного домену може бути “рушійною силою” для транспортування фрагмента А в цитозоль. В умовах *in vitro* продемонстровано цитотоксичний вплив окремих фрагментів молекули ДТ на клітини, що походять від різних пухлинних ліній, а також можливість використання фрагментів ДТ як засобів транспортування лікарських речовин в клітини.

ІВАН ГОРБАЧЕВСЬКИЙ – ВИДАТНИЙ ВЧЕНИЙ, ГРОМАДСЬКИЙ І ПОЛІТИЧНИЙ ДІЯЧ

КОРДА М.М.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ
e-mail: korda@tdmu.edu.ua

Іван Якович Горбачевський – сподвижник європейської і української науки, видатний громадський і політичний діяч, діяльність якого охоплює останні 20 років XIX та перші 40 років XX століття.

За рішенням ЮНЕСКО на честь 150-річного ювілею 2004 рік був визнаний як рік Івана Горбачевського. Про світовий авторитет і популярність І. Горбачевського говорять ті чисельні наукові та урядові титули, звання та нагороди, яких він був удостоєний: доктор медицини, професор, декан медичного факультету Карлового університету у Празі, згодом – його ректор, член Санітарної ради Чеського королівства, член Найвищої ради здоров'я Австро-Угорщини у Відні, перший міністр здоров'я Австро-Угорщини, засновник і директор інституту лікарської хімії в Празі, ректор Українського вільного університету в Празі, професор хімії Подебрадської господарської академії, дійсний і почесний член багатьох наукових товариств в Європі, дійсний член Української академії наук. Його обирали почесним президентом міжнародних наукових конгресів і з'їздів, йому доручали найскладніші завдання в медицині, охороні здоров'я,

організації освіти. І скрізь він приймав неординарні рішення, знаходив геніальні шляхи виходу із складних ситуацій.

Йому вдячні австрійці, бо він приніс честь і славу Віденському університетові, австрійській культурі, науці і освіті, а чехи вважають його своїм ученим, оскільки Карловому університету у Празі він віддав 37 років життя, тут він проводив дослідження з гігієни, загальної хімії, епідеміології, судової медицини, токсикології, створив наукову школу біохіміків, заснував інститут лікарської хімії, написав і видрукував чеською мовою перший підручник з лікарської хімії в 4-х томах, виростив велику когорту лікарів і науковців.

Уродженець галицького села Іван Горбачевський за межами України прожив 67 років, але з Україною був тісно пов'язаний, постійно підтримував з нею зв'язки, жив її турботами, чимало зусиль докладав у боротьбі за її волю, збагачував українську науку і культуру. Ще під час навчання у Віденському університеті Іван Горбачевський очолює студентське об'єднання “Січ”, створює українську бібліотеку, видає “Історію України” Маркевича.

Пізніше він зорганізовує і проводить українські наукові з'їзди в Празі, видає українською мовою перший підручник з органічної хімії, опрацьовує наукову хімічну термінологію українською мовою, підготував численний загін лікарів і науковців з біохімії для України, бореться за відкриття Українського університету у Львові, відкриває і очолює музей Визвольної боротьби України, зорганізовує фонд допомоги Карпатській незалежній Україні. В Празі заснував і був головою управи товариства "Музей визвольної боротьби України", учасником наради Української парламентської репрезентації у Відні, яка ухвалила проголосити Західно-Українську Народну Республіку у 1918 р. Іван Горбачев-

ський був членом Наукового товариства ім. Т. Шевченка у Львові, почесним президентом Українського лікарського товариства, одним із засновників і постійним професором Українського Вільного університету у Празі, а 1923–1924 та 1931–1934 рр. – ректором цього університету.

Ім'я професора Івана Горбачевського є символом та взірцем справжнього науковця, патріота, який все своє життя віддав науці та служінню рідному народові. На життєвому та творчому шляху Горбачевського будуть вчитися сучасні й прийдешні покоління українців відданості своїй батьківщині, її народові, незалежно від того, де б вони не перебували.

ЦИКЛІЧНІ ОЛІГОМЕРИ ФЕНОЛІВ ЯК МОДУЛЯТОРИ АКТИВНОСТІ ЕНЕРГОЗАЛЕЖНИХ КАТІОН-ТРАНСПОРТУВАЛЬНИХ СИСТЕМ ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВОЇ КЛІТИНИ

КОСТЕРІН С.О.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В.ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: kinet@biochem.kiev.ua

Під час пленарної доповіді будуть продемонстровані вибрані результати трансдисциплінарного ("БІОХІМІЯ" + "СУПРАМОЛЕКУЛЯРНА ХІМІЯ") вивчення співробітниками відділу біохімії м'язів ІБХ та хімії фосфоранів ІОХ НАН України молекулярних та мембранних механізмів АТФ-залежної регуляції концентрації іонів Са в гладеньком'язових клітинах (ГМК) та модуляції її циклічними олігомерами фенолів – каліксаренами.

ГМК являє собою відкриту нерівноважну рецепторну Са²⁺-залежну тензоелектрохімічну ізотермічну систему. Для неї, стосовно внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу, притаманні, зокрема, такі властивості: кооперативність, нелінійність, неадитивність, синергістичність, наявність мережі позитивних і негативних зворотних зв'язків, а також явище "градієнту спорідненості" до іонів Са у випадку мембранозв'язаних енергозалежних Са²⁺-транспортувальних систем. З фундаментальної точки зору перспективним є комплексне трансдисциплінарне вивчення властивостей ГМК, з'ясування іонних, молекулярних і мембранних механізмів регуляції концентрації Са²⁺ в них. АТФ-гідролазні системи (як Са²⁺-транспортувальні мембранозв'язані, так і скоротливих протеїнів) задіяні у контролі унікального загальнобіологічного феномену – спряження збудження та скорочення. Тому нагальним є пошук низькомолекулярних оборотних ефекторів (інгібіторів, активаторів) – селективних та достатньо афінних ($K_{eff} = 10^6 - 10^5$

М) регуляторів мембранозв'язаних Са²⁺-транспортувальних АТФ-гідролаз та АТФ-гідролази скоротливих протеїнів.

У доповіді планується зробити акцент на наступних питаннях (на прикладі міометрії): 1. ТР-гідролази ГМК – ключові ензими, які контролюють спряження збудження та скорочення; 2. Калікс[4]арени та спрямована ними модуляція активності АТФ-гідролазних систем та кальцієвого гомеостазу в міоцитах. Мова буде йти, зокрема, за ефекторний вплив вибраних калікс [4]аренів (С-90, С-956, С-97, С-99, С-107, халконвмісні каліксарени) на Mg²⁺, АТФ-залежні кальцієві помпи плазматичної мембрани (тапсигаргіннечутлива) та саркоплазматичного ретикулума (тапсигаргінчутлива), Mg²⁺, АТФ-залежну натрієву помпу плазматичної мембрани, Са²⁺-уніпортер та Са²⁺-Н⁺-обмінник мітохондрій, АТФ-гідролазу субфрагменту-1 міозину, а також на аніонну проникність бішару (на прикладі штучної пласкої фосфоліпідної мембрани).

При проведенні дослідів використовували наступні методи: - препаративної та аналітичної біохімії, біохімічної мембранології, ензимології, ізотопної техніки (⁴⁵Са²⁺), фотон-кореляційної спектроскопії, спектрофотометрії, спектрофлуориметрії, протокової цитофлуориметрії, світлової, електронної та конфокальної мікроскопії, комп'ютерного докінг-моделювання та молекулярної динаміки, хімічної та біохімічної кінетики, математичного моделювання та статистичного аналізу (ІБХ НАНУ);

– органічного синтезу, ЯМР, інфрачервоної спектроскопії, ОФВЕРХ та молекулярного моделювання (ІОХ НАНУ).

Доповідач висловлює свою вдячність за творчу наукову співпрацю співробітникам відділу біохімії м'язів ІБХ НАНУ, а також академіку НАНУ проф. В.І.Кальченку та його колегам (ІОХ НАНУ).

СТАРІННЯ МОЗКУ ТА ЙОГО СПОВІЛЬНЕННЯ: ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯМ ТА АКТИВНИМИ ФОРМАМИ КИСНЮ

ЛУЩАК В.І.

ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА,
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК;
e-mail: lushchak@pu.if.ua

Мозок людини, який становить біля 2% маси тіла, використовує до 25% кисню і 20% глюкози, що загалом споживається організмом. За певних умов мозок також активно використовує кетоніві тіла як джерело енергії. Переважна більшість високоенергетичних сполук у цьому органі утворюється в мітохондріях шляхом окисного фосфорилування. Все це у поєднанні з високим вмістом поліненасичених жирних кислот створює специфічні проблеми, пов'язані з підтримкою редокс-гомеостазу мозку. Відомо, що з віком баланс між генерацією активних форм кисню (АФК) та їх елімінацією зсувається у бік першого. Питання яким чином за таких обставин мозок може функціонувати до глибокої старості залишається відкритим.

В наших роботах на мишах ми підтвердили, що при старінні організму рівень продуктів взаємодії АФК з поліненасиченими ліпідами у мозку зростає, але водночас рівень продуктів взаємодії АФК з протеїнами залишається незмінний, тоді як активності антиоксидантних ензимів поводять себе по-різному. Разом із даними літератури наші результати свідчать про те, що під час старіння організму відбувається інтенсифікація оксидативного стресу. Було відомо, що при старінні дещо зменшується споживання глюкози мозком, а також відбувається перерозподіл потоків катаболізму

глюкози від гліколізу до пентозофосфатного шляху. Проте, молекулярні механізми залишалися невиясненими. Нами показано, що причиною цього може бути зниження активності ключових гліколітичних ензимів, зокрема фосфофруктокінази, з одночасним підвищенням активності ключового ензиму пентозофосфатного шляху глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. НАДФН, який, переважно, генерується при функціонуванні пентозофосфатного шляху, зокрема використовується антиоксидантною системою для нейтралізації АФК, а також активних карбонільних сполук.

Таким чином, нам вдалось встановити молекулярний механізм адаптивної відповіді мозку, який протидіє інтенсифікації оксидативного та карбонільного стресів при старінні мозку. На додаток нами було показано, що обмеження калорійності їжі може частково сповільнювати пов'язані з віком біохімічні зміни. Перспективи наступних досліджень полягають у встановленні регуляторних шляхів, які залучені в описані нами процеси, з метою направленою керування процесом старіння мозку і попередження пов'язаних із віком патологій, зокрема таких як хвороби Альцгеймера та Паркінсона.

Ця робота була підтримана грантами від Фонду Volkswagen (Німеччина) та Міністерства освіти і науки України.

ІНТЕГРАЛЬНІ МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ МЕТАБОЛІЗМУ

МІНЧЕНКО О.Г.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: ominchenko@yahoo.com

Пізнання інтегральних молекулярних механізмів регуляції метаболізму і підтримання гомеостазу є надзвичайно важливим не лише для розуміння механізмів життєдіяльності організмів, їх дина-

мічної адаптації до різноманітних впливів, а й для виявлення шляхів розвитку патологічних станів, спільного і відмінного у функціонуванні геному за різних патологій та ідентифікація молекулярних

основ порушення інтегральних механізмів регуляції життєвих процесів. Добре відомо, що найважливішим інтегральним регулятором практично всіх процесів життєдіяльності організмів є біологічний годинник, який контролює добові ритми і представляє собою досить складну і високоточну систему контролю метаболічних та фізіологічних процесів у різних організмів шляхом функціонального репрограмування геному. Порушення функції біологічного годинника призводить до дерегуляції циклічного характеру протікання різних метаболічних процесів в організмі та розвитку патологічних станів, у тому числі й до виникнення злоякісних пухлин, а тому пізнання молекулярних основ цих порушень є надзвичайно важливим як для профілактики та терапії різноманітних захворювань, так і для розуміння інтегральних механізмів регуляції метаболізму в цілому.

Не менш важливим компонентом інтегральних механізмів регуляції практично всіх процесів життєдіяльності і підтримання гомеостазу є стрес ендоплазматичного ретикулума, а тому він відіграє ключову роль у розвитку не лише метаболічних, а й онкологічних захворювань, причому досить не простими шляхами, включаючи репрограмування геному на виживання або смерть клітин. І в цих процесах задіяні всі компоненти клітини від плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулума до ядра, мітохондрій та інших субклітинних

структур. Важливо відмітити, що саме стрес ендоплазматичного ретикулума значною мірою забезпечує виживання пухлинних клітин і їх резистентність до дії хімічних сполук, що використовуються як терапевтичні агенти.

У зв'язку з цим, дослідження молекулярно-генетичних основ злоякісної трансформації клітин мають ґрунтуватися на глибоких знаннях про функціональну роль окремих ключових генів в інтегральних механізмах регуляції процесів життєдіяльності і підтримання гомеостазу, причому не лише тих генів, що кодують структурні та регуляторні протеїни, а й транскриптів, що не кодують протеїни, і кількість яких як у нормальних, так і пухлинних клітинах в десятки разів більша за кількість мРНК, які кодують протеїни. Саме некодуючі макроРНК і мікроРНК, а також циркулярні РНК є надзвичайно важливими регуляторами різноманітних процесів у клітинах, у тому числі й злоякісного росту. Нами отримані унікальні дані стосовно молекулярних основ взаємодії ключових регуляторних факторів у реалізації інтегральних механізмів регуляції метаболізму.

Таким чином, детальне вивчення інтегральних механізмів регуляції метаболізму і підтримання гомеостазу на молекулярно-генетичному рівні в нормі та за патологічних станів є надзвичайно важливим як для розуміння патогенезу різноманітних захворювань, так і їх профілактики та лікування.

РОЛЬ БІОЛОГІЧНИХ І ЕКОЛОГІЧНИХ НАУК В РЕАЛІЗАЦІЇ МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ІННОВАЦІЙНОЇ ПРОГРАМИ “СТАЛИЙ РОЗВИТОК ПРИРОДИ І СУСПІЛЬСТВА ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ В УКРАЇНІ”

МЕЛЬНИЧУК Д.О.

**– Герой України, академік і радник Президій НАН і НААН України,
д.б.н., Голова оргкомітету по підготовці Програми**

В доповіді систематизовані світові матеріали щодо ролі біологічних, екологічних, правових і ряду інших наук у формуванні нової ідеології розвитку Природи, суспільства і природокористування на нинішньому етапі і в майбутньому в контексті пропозицій і рішень Генеральних Асамблей і конференцій ООН (1972, 1992, 2012, 2015 рр.).

Узагальнено також стан виконання відповідних рішень і постанов директивних органів України в питаннях запровадження в Україні Систем Сталого (збалансованого) розвитку та Системи міжнародної стандартизації і сертифікації продукції і довкілля, запровадження Системи менеджменту якості і безпечності у різноманітних видах діяльності і взаємовідносин тощо. Визначені основні

наслідки не виконання екологічних, біологічних і правових нормативів запровадження Систем Сталого розвитку Природи, Суспільства і природокористування в Україні. Пропонуються шляхи прискорення вирішення (покращення) стану зазначених проблем та вказується на необхідність запровадження в практичну діяльність наукових навчальних станів та виробничих компаній новітніх аналітичних і інформаційних методів контролю за якістю і безпечністю продовольчої та іншої продукції, а також: води, ґрунтів, повітря тощо; підготовки відповідних фахівців; створення республіканського інформаційно-консультативного Центру та Центрів техніко-технологічного сервісу і просвітницької діяльності за нормативами Сталого розвитку.

“SMART” NANOMEDICINES: DESIGN AND BIOACTIVITY

STOIKA R.

INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, LVIV;
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

Introduction and aims. The non-addressed action and rapid development of drug resistance are two major shortcomings of anticancer chemotherapies. The negative side effects in the organism caused by poor biocompatibility and low water solubility of many drugs are also blocking the effectiveness of chemotherapy. Here we addressed a development and advantages of drug delivery by “smart” nanoscale platforms. Special attention is paid to the ability of such nano-conjugates to circumvent multidrug resistance in the malignant cells.

Methods. A design of nanocomposites for the biomedical application starts from selecting their core size (<100 nm) and nature (organic) that are important for clearance and bio-degradability, correspondingly. Next step in the design is coating the particles or micelles with a synthetic or natural polymer in order to improve the biocompatibility of drug delivery system. To provide a possibility of further attachment to the particles of specific functional elements (drugs, antibodies, small biomolecules, fluorescent or luminescent dyes for labeling, others), the activation of specific chemical groups on the particles' shell is carried out. At a final stage of the design, the bio-functionalization with the above mentioned elements is conducted for: a) providing the bio-activity (drug, anti-sense oligonucleotides against mRNA for HER-2 or EGF-R); b) crossing the barriers of the endothelial system, such as blood-brain-barrier (BBB) or blood-testis-barrier (BTB) with the help of monoclonal antibodies against transferrin receptor; c) addressed action through a recognition of the pathological cells (specific antibody, specific peptide, cytokine (TNF), folic acid); d) blocking the uptake of the unwished particles by the macrophages (via decoration of the particles by the polyeth-

ylene glycol); e) proper trafficking of the up-taken nanocomposites within the targeted cells (via controlling drug release at pH present in the endosomes); f) bio-imaging (if necessary for monitoring drug action and release (clearance) in the organism).

Results. A described strategy was used for synthesis of 3 types of drug delivery systems: 1) team of Dr. O. Zaichenko at Lviv National Polytechnic University got the polymeric oligo-electrolyte poly(VEP-GMA)-graft-PEG; 2) team of Prof. Y. Prylutsky at Taras Shevchenko Kyiv National University got the Fullerene C60; 3) team of prof. R. Luxenhofer at the University of Würzburg in Germany got the Poly(2-oxazoline)s. Human tumor cells of different tissue origin and with various mechanisms of drug resistance (overexpression of Pgp, MRP1, BCRP proteins) were treated. Traditional anticancer drugs (doxorubicin and cisplatin) or experimental drug the Landomycin A were applied. It was shown that immobilization of anticancer drug by the developed nanocarriers enhanced its cytotoxic (pro-apoptotic) action. Such enhancement also included circumvention of the multidrug resistance barriers. Besides, immobilization of highly toxic anticancer drug probably prevented its direct interaction with cells of normal tissues and organs, since the negative side effects of drug action, namely cardio-, hepato-, and nephro-toxicities were decreased significantly.

Acknowledgements: R. Panchuk, N. Finiuk, Yu. Senkiv, N. Boiko, N. Skorokhyd, N. Kashchak, Yu. Kozak, O. Klyuchivska (Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine); N. Mitina, A. Ryabtseva, O. Zaichenko (National University “Lviv Polytechnica”); L. Kobylinska, R. Lesyk (Danylo Halytsky Lviv National Medical University); Yu. Prylutsky (Taras Shevchenko Kyiv).

KEY ROLE OF AMINOACYL-TRNA SYNTHETASES IN BIOLOGY AND MEDICINE

TUKALO M.A.

INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: mtukalo1@gmail.com

Aminoacyl-tRNA synthetases (aaRSs) are ancient proteins present in all living organisms whose origin intermingles with that of life. They maintain fidelity during protein synthesis by attaching amino acids to their cognate tRNAs. However, the affinity difference is not enough for the aaRSs to discriminate strictly

between similar amino acids. To overcome this problem, several aaRSs have developed the ability to hydrolyse the mischarged tRNA in an extra editing domain. In this work we have studied molecular mechanisms of editing by synthetases from two different classes: *Thermus thermophilus* leucyl-tRNA

synthetase (LeuRSTT) from class I and *Enterococcus faecalis* prolyl-tRNA synthetase (ProRSEF) from class II. To understand the mechanisms of editing reaction for enzymes with absolutely different architecture of editing domains, we have used a number of approaches, including molecular modeling, molecular dynamics simulations, quantum mechanical (QM) calculations, site-directed mutagenesis of the enzyme and tRNA modifications. Our intensive alanine scanning mutagenesis of LeuRSTT and ProRSEF editing sites has failed to identify catalytic residues for hydrolysis within the active site. On the other hand, modification of tRNA^{Pro} at the 2'-OH of A76 and tRNA^{Leu} at the 3'-OH of A76 by replacing them each with a proton, revealed an essential function for these groups in hydrolysis. On the basis of obtained experimental results and our QM calculations we suggest a new tRNA-dependent mechanism of post-transfer editing by LeuRSTT and ProRSEF. The most important element of that mechanism is the formation of intramolecular hydrogen bond between the 2'-OH or 3'-OH of A76 and carbonyl group of the substrate, which strongly facilitate the hydrolysis reaction.

On the other hand, the key role of aminoacyl-tRNA synthetases in protein synthesis and other essential cellular activities has distinguished this family as an ideal antibiotic target. We are using the differences between human and mycobacterial leucyl-tRNA synthetase (LeuRSMT) and methionyl-tRNA synthetase (MetRSMT) for the development of the inhibitors as potential drugs against *Mycobacterium tuberculosis*. The search strategy for antibacterial compounds is

based on the combination of X-ray structural analysis of the target protein, computer modelling of the interaction of low-molecular ligands with the target protein and synthetic procedures of combinatorial chemistry. At the first step, to discover LeuRSMT inhibitors we have performed molecular docking of the compound library containing about 100,000 organic compounds into enzyme active site. 270 best-scored compounds were taken for aminoacylation assay. *In vitro* observations revealed that four derivatives of N-Benzylidene-N'-thiazol-2-yl-hydrazine exhibited inhibitory activity towards LeuRSMT with IC₅₀ values in the range from 2 to 20 μM. Then, 26 derivatives of this chemical class have been synthesized and evaluated *in vitro* and *in vivo*. One of these compounds was active toward isoniazid-resistant, rifampicin-resistant and ofloxacin-resistant strains of *M. tuberculosis*. It was revealed that this derivative demonstrated good ADME properties *in vitro* and can be valuable candidate for further preclinical studies. The aim of the next step of our work was the development of compounds inhibiting simultaneously mycobacterial LeuRSMT and MetRSMT, which allow reduce or forestall resistance emergence in *M. tuberculosis*. We performed molecular docking of a library of novel N-benzylidene-N'-thiazol-2-yl-hydrazine derivatives into active sites of LeuRSMT and MetRSMT and a panel of the best ranking compounds was evaluated for enzymatic potency. Several hit compounds were found as dual inhibitors as demonstrated by IC₅₀ values for LeuRSMT and MetRSMT and their activity against *M. tuberculosis* H37Rv cells was confirmed by *in vitro* bioassays.

КоА-ЛЮВАННЯ ПРОТЕЇНІВ: НОВА ФУНКЦІЯ КоА ЯК АНТИОКСИДАНТА ТА НОВИЙ МЕХАНІЗМ РЕГУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ В КЛІТИНІ

ФІЛОНЕНКО В.В.¹, ГУТ І.Т.²

¹ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²УНІВЕРСИТЕТСЬКИЙ КОЛЕДЖ ЛОНДОНА, ВЕЛИКА БРИТАНІЯ

e-mail: filonenko@ibbg.org.ua

КоА-лювання протеїну є новою неканонічною функцією Коензиму А, що полягає в ковалентній модифікації залишків цистеїну як відповідь клітини на окисний стрес. Це відкриття стало можливим лише завдяки розробці унікальних дослідницьких засобів у вигляді КоА-специфічних моноклональних антитіл і методологій маспектрального визначення цього типу модифікації, що в свою чергу дозволило встановити, що КоА-лювання є широко розповсюдженою і зворотною післятрансляційною модифікацією протеїну. Встановлено, що за фізіологічних умов росту клітини КоА-лювання протеїнів відбувається на низькому рівні, натомість індукується у відповідь на окисдаивний стрес. КоАлю-

вання змінює молекулярну масу протеїну, його заряд та ензиматичну активність і захищає протеїнову молекулу від незворотного переокислення сульфгїдрильних груп. Крім того, встановлено, що КоА-лювання відбувається і за умови метаболічного стресу, що свідчить на користь його нової функції в регуляції активності ензимів. Таким чином, за нормальних умов клітинного росту КоА головним чином функціонує як для утворення метаболічно активних тіоефірів, так і залучений до регуляції активності ензимів при цьому він має і властивості низькомолекулярного антиоксиданта для захисту цистеїнів від незворотного переокислення і подальшої деградації протеїнів.

РЕМОДЕЛЮВАННЯ МЕХАНІЗМІВ ВХОДУ КАЛЬЦІЮ ПРИ РАКУ ПРОСТАТИ

ШУБА Я.М., СКРИМА Р., ПРЕВАРСЬКА Н.

ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

ЛІЛЬСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ВІЛЬНЕВ-Д'АСК, ФРАНЦІЯ;

e-mail: yshuba@biph.kiev.ua

Рак передміхурової залози (РПЗ) є другим по розповсюдженості типом злоякісного новоутворення серед чоловіків після раку легенів. Оскільки ріст РПЗ обумовлений чоловічими статевими гормонами (андрогенами), зниження рівня цих гормонів залишається чи не основним способом терапії допоки клітини РПЗ зберігають до них чутливість. Набуття андроген-резистентності клітин РПЗ супроводжується зростанням їхньої стійкості до апоптозу, тобто ракові клітини продовжують проліферувати, але при цьому їх загибель істотно зменшується. Іони Ca^{2+} є універсальними посередниками у внутрішньоклітинному сигналюванні, здатними регулювати серед інших доленосні для клітини процеси проліферації та апоптозу. Однак як змінюється кальцієве сигналювання при розвитку РПЗ, зокрема якого ремоделювання зазнають шляхи трансмембранного входу зовнішньоклітинного Ca^{2+} залишається невідомим. У наших дослідженнях на нативних зразках тканин РПЗ людини, та клітинних лініях, що моделюють андроген-чутливу (LNCaP) і андрогеннечутливу (PC-3) стадії РПЗ людини, із застосуванням методів клітинної і молекулярної біології, електрофізіології, флуоресцентної кальційметрії, показано, що про-апоптотичне квазістаціонарне зростання цитозольної концентрації Ca^{2+}

у клітинах РПЗ підтримується так званим депо-керованим входом кальцію (ДКВК). Депо-керовані кальцієві (ДКК) канали плазматичної мембрани, що відповідають за цей вхід, представляють собою гомомультимерну збірку каналотворюючих білків (субодиниць) родини Orai – Orai1. У той же час, вхід Ca^{2+} , який здатен стимулювати проліферацію клітин РПЗ у відповідь на збільшення концентрації відомого внутрішньоклітинного ліпідного посередника – арахідонової кислоти (АК), забезпечується так званими арахідонат-регульованими кальцієвими (АРК) каналами, що представляють собою гетеромультимерну збірку Orai1/Orai3 субодиниць. При РПЗ експресія мРНК Orai3 збільшується. Це супроводжується зростанням резистентності до апоптозу клітин РПЗ, посиленням їх базальної та АК-стимульованої проліферації і активацією Ca^{2+} -залежного транскрипційного фактора NFAT. Отримані дані свідчать, що протеїн Orai3 є онкогенним при РПЗ. Його надекспресія приводить до дисбалансу між ДКВК і АК-залежним входом Ca^{2+} внаслідок переважного утворення гетеромультимерних, про-проліферативних Orai1/Orai3-заснованих АРК-каналів за рахунок зменшення кількості гомомультимерних, про-апоптотичних ДКК-каналів.

Симпозіум 1.
СТРУКТУРА, ФУНКЦІЇ ТА ВЛАСТИВОСТІ
БІОЛОГІЧНИХ МАКРОМОЛЕКУЛ
І НАДМОЛЕКУЛЯРНИХ КОМПЛЕКСІВ

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ МІКРО- ТА НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ
НА СТРУКТУРУ ПРОТЕЇНОВИХ ГОРМОНІВ ЛЮДИНИ

АНДРУСИШИНА І.М., ГРОМОВОЙ Т.Ю.

ДУ "ІНСТИТУТ МЕДИЦИНИ ПРАЦІ ІМЕНІ Ю.І. КУНДІЄВА НАМН УКРАЇНИ", КИЇВ;

ДУ "ІНСТИТУТ ХІМІЇ ПОВЕРХНІ ІМ. О.О. ЧУЙКА НАН УКРАЇНИ", КИЇВ,

e-mail: andrusyshyna.in@gmail.com

Одним із відомих механізмів токсичної дії металів на організм є їх взаємодія з протеїнами, що призводить до денатурації та порушення функції останніх. На сьогодні відомо, що наночастинки металів володіють іншими фізико-хімічними властивостями ніж їх мікро- та макроаналоги. Отже, можна припустити, що вони можуть бути більш біологічно активними, у тому числі, і у взаємодії з протеїнами. Детальна інформація про взаємодію протеїнів з наночастинками металів важлива для розуміння біологічних процесів, що протікають на молекулярному рівні.

Метою дослідження була порівняльна оцінка взаємодії протеїнових гормонів з мікро- та наночастинками металів в умовах *in vitro*.

У дослідженні були використані дисперсні порошки отримані фізичними методами: металевого срібла та алюмінію – методом електронно-променевого випаровування і осадження парової фази та наноакваелати хрому та мангану – методом ерозійно вибухового диспергування. Була вивчена взаємодія мікро- (МЧ) та наночастинок (НЧ) металів з альбуміном, імуноглобуліном G, тироксином, тиреотропним гормоном (ТТГ), інсуліном та С-пептидом.

Методом лазерно-кореляційної спектроскопії вивчено розміри МК та НЧ сполук металів. Розміри МЧ металів були більшими ніж 700 нм, а НЧ металів становили 3–70 нм та мали форму близьку до сферичної. Менші розміри НЧ металів були характерні для розчинів з інсуліном або С-пептидом, а великі – для розчинів НЧ металів з тиреотропним гормоном (ТТГ).

Концентрацію металів у досліджуваних розчинах МК та НЧ металів визначали методом оптико-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою та становила 20–50 моль/л.

Методом мас-спектрометрії MALDI-TOF виявлено, що взаємодія МК та НЧ металів з гормонами супроводжувалась змінами їх молекулярних мас. Спостерігалось істотне пригнічення інтенсивності одно- і двозарядних піків досліджуваних гормонів в разі інкубації зі сполуками срібла, мангану та хрому. Крім того, встановлено, що НЧ срібла і алюмінію в модельних розчинах досліджуваних протеїнів перебували в формі оксидів металів, а НЧ Хрому і мангану – у формі їх гідратів. Виявлено, що після інкубації НЧ Ag_2O відбувається збільшення молекулярної маси протеїну на декілька атомів металу та пригнічення інтенсивності короткого ланцюга димеру молекули. Відбувалось зростання відношення інтенсивності піка молекули інсуліну до його димеру за умов впливу МК нітратів алюмінію, мангану та хрому. В той же час НЧ Al_2O_3 не впливали так на молекулу інсуліну, але відмічалось зростання відношення інтенсивностей піка димерів за умов дії НЧ Ag_2O , НЧ $Mn-Ctr$ та, особливо, НЧ $Cr-Ctr$. При співвідношенні відносних інтенсивностей піків більше 1 зростає ступінь димеризації протеїну.

Ефект руйнування протеїну був вищий за умов зростання концентрації металу у розчині. Враховуючи високу нестабільність молекул тироксину та С-ІРІ в дослідженнях не виявлено будь-яких змін їх структури за умов впливу сполук срібла та мангану як у формі МЧ, так і у НЧ.

Таким чином, вивчено можливість прямої взаємодії пептидних гормонів із НЧ металів, яка вела до зміни їх молекулярних мас за рахунок приєднання окремих атомів НЧ металів. Ця взаємодія обумовлювала конформаційні зміни гормонів. Використані спектральні методи дозволяють не тільки оцінити ефекти взаємодії НЧ з протеїнами, а й передбачити характер такої взаємодії.

РЕОРГАНІЗАЦІЯ ПЕТЕЛЬНИХ ДОМЕНІВ ДНК У КЛІТИНАХ ГЛІОБЛАСТОМИ ЗА РІЗНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ

АФАНАСЬЄВА К.С.¹, ЧОПЕЙ М.І.¹, ОЛЕФІРЕНКО В.В.¹, АНОПРІЄНКО О.В.², СКРИПКІНА І.Я.²

¹КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: aphon@ukr.net

Петельні домени ДНК є одним із ключових компонентів організації хроматину в інтерфазному ядрі. Їх утворення чи реорганізація напряму пов'язані з різноманітними функціональними процесами, які там відбуваються (наприклад, регуляція транскрипції, репарація та реплікація ДНК). У свою чергу, перебіг даних процесів визначає нормальне функціонування клітин, чи появу патологічних станів, особливо при злоякісній трансформації клітин. Саме тому дослідження петельної організації хроматину є вкрай важливим для розуміння механізмів регуляції транскрипції та їх ролі при патологічній трансформації.

Клітинні лінії мультиформної гліобластоми є цікавим об'єктом для таких досліджень, оскільки даний тип пухлин головного мозку є одним із найбільш непередбачуваних та агресивних, а механізми їх виникнення досить погано досліджені.

Для дослідження організації петельних доменів ДНК ми використовували метод гель-електрофорезу ДНК ізольованих клітин (кометний електрофорез), який дозволяє оцінити ряд параметрів петельної організації, зокрема, частку різних типів петель ДНК щодо їх просторового розміщення у ядрі, розміри петельних доменів та їх лінійну щільність у геномі. Для наших експериментів ми використовували клітинні лінії T98G та U251 (лінії гліобластоми людини), що мають різну транскрип-

ційну активність та ступінь злоякісної трансформації.

Було показано, що частка ДНК в складі поверхневих петельних доменів у клітинах лінії T98G, заарештованих на стадії G1 клітинного циклу з відносно низьким рівнем транскрипційної активності, становила, ~7%, а частка ДНК в складі внутрішніх петель була ~5%. При активації транскрипції у даному типі клітин спостерігали зростання частки ДНК у складі внутрішніх петельних доменів, тоді як частка поверхневих петель ДНК істотно не змінювалася. При цьому було виявлено майже двократне збільшення розмірів внутрішніх петель ДНК (від 150 тис. пар нуклеотидів до 300 тис. пар нуклеотидів) на фоні загального зниження щільності петельних доменів ДНК.

У клітинах лінії U251, що характеризуються більш високим рівнем злоякісності, під час електрофорезу спостерігали міграцію лише поверхневих петель ДНК, а внутрішні петлі ДНК взагалі не здатні до міграції через, ймовірно, занадто великі розміри (більше 300 тис. пар нуклеотидів).

Таким чином, було встановлено, що в результаті активації транскрипції у злоякісно трансформованих клітинах спостерігається зростання частки ДНК у складі внутрішніх петельних доменів та їх контурних розмірів. При цьому вищий ступінь злоякісної трансформації характеризується зростанням кількості великих за розміром петель ДНК.

ЗВ'ЯЗОК МІЖ КОНЦЕНТРАЦІЄЮ ІОНІЗОВАНОГО Са І ФУНКЦІОНУВАННЯМ МІТОХОНДРІЙ

БАБІЧ Л.Г.¹, ШЛИКОВ С.Г.¹, МАНЬКО В.В.², КОСТЕРІН С.О.¹

¹ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;

e-mail: babich@biochem.kiev.ua

Концентрація Ca^{2+} у мітохондріях міометрія є ключовим регуляторним фактором як у функціонуванні цих органел, так і клітини в цілому. Вважається, що високий рівень іонізованого Са у матриксі мітохондрій є однією з ознак патологічного стану клітини. Проте, чи завжди це так.

Мета цього дослідження – показати взаємозв'язок між концентрацією іонізованого Са ($[\text{Ca}^{2+}]_m$) у матриксі мітохондрій та функціональною активністю цих органел.

$[\text{Ca}^{2+}]_m$ визначали за допомогою спектрофлуориметра РТІ та флуоресцентного барвника Fluo-4, АМ. Загальну акумуляцію Ca^{2+} у мітохондріях визначали за допомогою ізотопного методу з використанням $^{45}\text{Ca}^{2+}$. Загальний рівень накопичення $^{45}\text{Ca}^{2+}$ у матриксі мітохондрій є показником функціональної активності цих органел. Встановлено, що інкубація мітохондрій міометрія у середовищі, до складу якого входить 3 мМ Mg^{2+} , призводить до низького рівня $[\text{Ca}^{2+}]_m$. Подальше

додавання 100 мкМ Ca^{2+} супроводжувалось збільшенням концентрації іонізованого Са у 8 разів, проте, за таких умов, реєструється низький рівень загальної акумуляції цього катіона. Нормована флуоресценція Ca^{2+} -чутливого зонда Fluo-4 у відповідь на додавання Ca^{2+} була понад 2,5 умовних одиниць. У той же час, $[\text{Ca}^{2+}]_m$ була значно вище за інкубації мітохондрій у присутності 3 мМ АТФ та 3 мМ Mg^{2+} . Подальше додавання 100 мкМ Ca^{2+} супроводжувалось збільшенням концентрації іонізованого Са лише у 2,4 раза, проте реєструється високий рівень загальної акумуляції цього катіона. За присутності 3 мМ АТФ та 3 мМ Mg^{2+} нормована флуоресценція Ca^{2+} -чутливого зонда Fluo-4 у відповідь на додавання Ca^{2+} була меншою за 1,3 умовні одиниці. У мітохондріях печінки найвищу швидкість по-

глинання кисню реєстрували у присутності сукцинату ніж пірувату або α -кетоглутарату. Зауважимо, що за присутності сукцинату нормована флуоресценція Ca^{2+} -чутливого зонда Fluo-4 у мітохондріях печінки у відповідь на додавання Ca^{2+} була меншою за 1,3 умовні одиниці.

Зроблено висновок про те, що, на моделі ізольованих мітохондрій, низький рівень іонізованого Са у матриці корелює з низькою функціональною активністю і, навпаки, високий рівень $[\text{Ca}^{2+}]_m$ корелює з високою функціональною активністю. Робиться припущення, що зміни нормованої флуоресценції Ca^{2+} -чутливого зонда у відповідь на додавання Ca^{2+} можна використовувати у якості тесту на функціональну активність мітохондрій: менше значення нормованої флуоресценції – більше функціональна активність.

EVALUATION OF RELAXATION FREQUENCY OF HEMOGLOBIN IN AQUEOUS SOLUTION AT CANCER DISEASES

BATYUK L.V.¹, BEREST V.P.²

¹KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

²V. N. KARAZIN KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: liliya-batyuk@ukr.net

Currently, there is not enough investigated of the mechanisms of the systemic effect of a tumor on the body. It is known that the process of carcinogenesis entails a change, first of all, of the biochemical parameters of the blood. These changes can be measured by the method of dielectrometry in the dispersion of water molecules and applied for investigating aqueous solutions of hemoglobin.

The dependences of the dielectric relaxation frequency of an aqueous solution of hemoglobin of healthy donors and patients for breast cancer at temperatures of 20 °C and 25 °C are investigated. Human blood samples were collected from 20 female patients and 10 donors at age 47 years. All patients were distributed as follows: T2N1M0 (second stage of the disease without signs of distant metastases). The complex dielectric constant of aqueous hemoglobin solution was measured at frequency $f=9.2$ GHz. A microwave technique allowing settings for real part (dielectric permittivity) and imaginary part of the complex permittivity with an accuracy of 0.05 % and 0.5 % was used. The hemoglobin was prepared by washing erythrocytes several times with 0.9 % NaCl solution, hemolyzing with distilled water, and removing the ghosts by centrifuging for 1 h at 16000 rpm, pH 6.8. Since the obtained data showed a non-parametric nature of the distribution, the Wilcoxon criterion was used to estimate the significant difference in the results

of dielectric values from hemoglobin solution of patients with breast cancer, and Fisher's exact method was used for the data analysis with $P<0.05$.

Assuming the hemoglobin's medium has the same dielectric properties as free water, we are using the generally cited values for the hemoglobin concentration inside erythrocytes and calculate a theoretical value of the dielectric permittivity. The analysis of experimental data shows that temperature dependence of the relaxation frequency is exponential; activation energy in the temperature range between 20 and 25 °C is equal to 5.1 kcal/mole for donors and 6.2 kcal/mole for patients with breast cancer. The degree of hydrogen bonding in the water-hemoglobin system is increased by hydrophobic interactions of the solute with water molecules. As known as the dielectric relaxation mechanism for hemoglobin can generally be attributed largely to molecular dipole rotation under the influence of the applied electric field. This polarization mechanism corresponds to the Debye model which considers protein molecules in aqueous solutions as rotating rigid spheroids/ellipsoids. The model allows for the evaluation of the relaxation time which is related to the structural, thermodynamic and orientational properties of the rotating molecules in solution. The theory of dipolar molecules (Debye and Onsager-Kirkwood) gives the formulas for the relation between the observed dielectric parameters and magnitudes

such as dipole moment, size, and shape of the molecule. All our measurements are in close agreement with the formula. The results are discussed in terms of the structure and function interrelationship

of hemoglobin and water solution. We found that the relaxation time of hemoglobin solution for patients with breast tumors decreasing compared with donors and dependence from the temperature.

THE NEW MODEL OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE HUMAN TRANSLATION ELONGATION COMPLEX eEF1B

BONDARCHUK T.V.¹, SHALAK V.F.¹, FATALSKA A.², LOZHKO D.M.¹, SZCZEPANOWSKI R.H.³, DADLEZ M.², NEGRUTSKII B.S.¹, EL'SKAYA A.V.¹

¹INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, POLAND ACADEMY OF SCIENCES, WARSAW, POLAND;

³INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY, WARSAW, POLAND;
e-mail: t.v.trosiuk@gmail.com

Ribosomal protein synthesis is one of the key stages of gene expression. It includes three phases: initiation, elongation and termination. After completing the initiation phase, the 80S ribosome begins the polypeptide chain synthesis with the assistance of elongation factors (eEF). In higher eukaryotes, two individual proteins eEF1A and eEF2, and one protein complex, eEF1B, participate in the elongation process. eEF1A in a GTP-dependent manner delivers aminoacylated- tRNA to the A-site of the ribosome, the eEF1B complex insures the GDP/GTP exchange on eEF1A, and eEF2 accelerates ribosomal translocation. The eEF1B complex includes three different proteins, two of them, eEF1Ba and eEF1Bb, are catalytic, while eEF1Bg is a structural component. Currently, the spatial organization of the eEF1B complex is not known. Thus, the **aim** of our work was to study the quaternary organization of the eEF1B complex reconstructed from individual recombinant proteins.

Recombinant eEF1Ba and eEF1Bb were expressed in *E. coli* and purified to homogeneity. These subunits were characterized by analytical gel filtration and analytical ultracentrifugation. To get an insight into conformational dynamics of full-length eEF1Ba, eEF1Bb and eEF1Bg in solution, the method of hydrogen-deuterium exchange coupled with mass spectrometry (HDX-MS) was used. The structural models for eEF1Ba and eEF1Bg were built by using I-TASEER. The structural model for full-length eEF1Bb was created using Small Angle X-ray Scattering

(SAXS) data and computational modeling. The binary eEF1Bag and eEF1Bbg, and ternary eEF1Babg complexes were reconstituted from the isolated subunits and analyzed by different methods in order to determine their molecular masses and subunits stoichiometry. The protein contacts in the complexes were established using site-directed mutagenesis and HDX-MS.

As a result, we showed that all eEF1B subunits belong to the family of intrinsically disordered proteins. All of them are non-globular proteins with a moderately elongated shape having at least two folded domains linked by relatively long disordered regions. eEF1Ba exists as a monomer in solution, eEF1Bb is a stable trimer and eEF1Bg is prone to concentration-dependent self-association. Native gel electrophoresis technique shows that all eEF1B subunits present in the complex in equimolar ratio. Using HDX-MS, we mapped the interaction sites between subunits in eEF1B and revealed their conformational changes during complex formation. Based on the obtained data, we proposed the model of the eEF1B spatial organization.

In conclusion, we suggest that the eEF1B complex may serve in a cell as a huge guanine- nucleotide exchange hub, containing six catalytic domains of eEF1Ba and eEF1Bb. The main role of such a hub is to provide an efficient supply of the GTP-bound form of eEF1A for the actively translating ribosomes.

ДИНАМІКА ПОЛІМЕРИЗАЦІЇ АКТИНОВИХ ФІЛАМЕНТІВ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ЗА ВВЕДЕННЯ АГМАТИНУ

БРОДЯК І.В., БІЛА І.І., СИБІРНА Н.О.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;
e-mail: iryana_brodyak@yahoo.com

Зниження хемотаксису, фагоцитарної активності, дисфункція адгезивної, агрегаційної і міграційної здатності лейкоцитів корелює з рівнем гіперглікемії периферичної крові. Для з'ясування молекулярних механізмів порушення міграційної здатності і функціональної активності лейкоцитів у разі цукрового діабету (ЦД) важливе значення має вивчення процесів полімеризації-деполімеризації актину. В свою чергу, функціональний стан лейкоцитів узалежнений від комплексної взаємодії між протеїнами мембрани, цитоскелетом і мережею внутрішньоклітинного сигналювання. На поверхні лейкоцитів мембранні протеїни, зокрема, адгезивні молекули і рецептори, є глікокон'югатами, які через мембранні структури і сигнальні протеїни взаємодіють із протеїнами цитоскелету. Тому застосування лектинів, які високоспецифічно зв'язують вуглеводні детермінанти гліканів, дає можливість схарактеризувати зміни динаміки полімеризації-деполімеризації актинових філаментів клітин. Лектини діють як стимулювальні чинники, внаслідок чого у активованих лейкоцитах із наявних мономерів G-актину швидко полімеризуються актинові філаменти.

Метою роботи було дослідити вплив агматину на перерозподіл фракцій актину, які представлені актиновими філаментами цитоскелету, короткими актиновими філаментами і мономерами актину, у лейкоцитах щурів зі стрептозотин-індукованим ЦД після інкубації цих клітин із лектином зародків пшениці (WGA). Лектин WGA взаємодіє із залишками сіалових кислот, які наявні в термінальних позиціях N-зв'язаних глікопротеїнів, а також із залишками сіалових кислот і N-ацетил- β ,D-глюкозаміну в складі O-гліканів глікопротеїнів і гліколіпідів. Інкуючи лейкоцити з лектином WGA впродовж тридцяти секунд, однієї та трьох хвилин, ми моделювали в умовах *in vitro* стан активації лейкоцитів, у який вони переходять під час адгезії до ендотелію

судин у процесі міграції в судендотеліальні тканини. Лейкоцити лізували в Тритоні X-100 і піддавали центрифугуванню, у результаті якого було отримано актинові філаменти цитоскелету, короткі актинові філаменти скелету плазматичної мембрани і мономери актину, які розділяли в SDS-ПААГ, після чого проводили імуноблот аналіз із використанням анти-актинових антитіл.

Встановлено, що у лейкоцитах тварин із ЦД відбувається зниження загального рівня актину, але достовірно підвищується вміст полімеризованого актину (F-актин) та відбувається перерозподіл актину між різними цитозольними фракціями: зменшується кількість актинових філаментів цитоскелету, але зростає вміст коротких актинових філаментів. Інтенсифікування процесу полімеризації актину в лейкоцитах вказує на їхній преактивований стан і зміну структурно-функціональних властивостей цих клітин у разі ЦД. Введення агматину, одним із біологічних ефектів якого є здатність впливати на метаболізм глюкози за умов її підвищеної концентрації, тваринам із ЦД сприяло підвищенню як загального вмісту актину, так і рівня полімеризованого актину. Динаміка формування відповіді лейкоцитів на стимулювальний вплив лектину WGA характеризувалася інтенсивною полімеризацією актину у фракції філаментів цитоскелету вже на 0,5 хв впливу лектину, дуже стрімким процесом деполімеризації на 1 хв після дії лектину та поверненням показників до рівня у вихідному стані у разі дії лектину впродовж 3 хв. Отже, у лейкоцитах тварин із ЦД на фоні введення агматину трансдукція WGA-індукованого сигналу через глікокон'югати мембран і динаміка перерозподілу вмісту актину вказують на те, що даний поліамін сприяє відновленню вмісту полімеризованого актину і підтриманню функціональної відповіді лейкоцитів на активаційні сигнали.

INHIBITION OF PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASES BY SULFONYLCALIX[4]ARENE DERIVATIVES

BULDENKO V.M.¹, TRUSH V.V.¹, KOBZAR O.L.¹, DRAPAILO A.B.²,
VYSHNEVSKY S.G.², KALCHENKO V.I.², VOVK A.I.¹

¹V.P. KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: vovk@bpci.kiev.ua

Phosphatase superfamily is a large group of hydrolytic enzymes, which catalyze the cleavage of phosphoester bonds of natural compounds and proteins in living organisms. Abnormalities in their functioning are often associated with a number of diseases including cancer, obesity and diabetes. In this respect, they are regarded as therapeutically important targets for inhibitors. Previously, we showed that calix[4]arene can be a good platform for designing inhibitors of some phosphatases. We assumed that sulfonylcalix[4]arene due to the presence of SO₂-bridged groups may possess better inhibitory activity in comparison to classical calix[4]arenes and can be used as a new scaffold for designing phosphatase inhibitors.

Thus, the effect of the unsubstituted sulfonylcalix[4]arene on the activity of some protein tyrosine phosphatases *in vitro* was estimated. Among them, the sulfonylcalix[4]arene was found to be a selective inhibitor of MEG2 with selectivity over PTP1B and TC-PTP (Buldenko V. M. et al., 2017). Then, using a panel of PTPs, the inhibitory activities of some nonionogenic derivatives of sulfonylcalix[4]arene were shown and compared with those for the charged ones. According to the obtained results, sulfonylcalix[4]arene phosphonic acid demonstrated almost identical effects with no selectivity towards all PTPs. Replacement of

the phosphonic acid groups with the tert-butyl substituents resulted in a decrease of the inhibitory effect of the inhibitor. The modification of sulfonylcalix[4]arene with trifluoroacetamide substituents provided the inhibition of PTP1B with micromolar IC₅₀ value and up to 28-fold selectivity over the other PTPs (Buldenko V. M. et al., 2018). Promising results were obtained with the phosphinic acid derivatives of calix[4]arenes. Tetrakis[(hydroxyphenylphosphinoyl)methyl]tetrahydroxycalix[4]arene was shown to possess micromolar activity against PTP1B, where thiacalix[4]arene derivative was approximately 7-fold more active, displaying approximately 10–18-fold selectivity towards PTP1B. Further thiacalix[4]arene scaffold replacement with the sulfonylcalix[4]arene one led to 5-fold increase in potency but with decrease in selectivity against PTP1B (Buldenko V. M. et al., 2019).

Using kinetic studies *in vitro* and computer modeling, the apparent inhibition constants and binding modes of the inhibitors at the active site of the enzymes have been calculated and analyzed. The ability of sulfonylcalix[4]arenes to form complexes with human serum albumin was also demonstrated and compared to those for calix[4]arene and thiacalix[4]arene derivatives. By inhibiting the pseudo-enzymatic reactions of albumin, the binding sites of calix[4]arenes on the surface of HSA were confirmed.

INFLUENCE OF *PANTOEA AGGLOMERANS* LIPOPOLYSACCHARIDES ON THE ACTIVITY OF *BACILLUS* PROTEASES

BULYHINA T.V.

D.K. ZABOLOTNY INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND VIROLOGY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: tati20@ukr.net

The heterogeneous structure of lipopolysaccharides (LPS), represented by lipid A, oligosaccharide core and O-specific polysaccharide (OPS), induces a variety of functional and biological activities of the macromolecule. In addition to the well-known activities, in recent years extremely small quantity data have appeared on the effect of LPS on the activity of certain enzymes, in particular, bacterial proteases. These data are mainly devoted to studying the effect of LPS on

omptin proteins of the gram-negative bacteria outer membrane. Its include OmpT and OmpP of *Escherichia coli*, SopA of *Shigella flexneri*, PgtE of *Salmonella enterica* and Pla of *Yersinia pestis*. Thus, Kramer R.A. et al. for the first time found that lipopolysaccharide is required for the activation of the OmpT integral protease of the outer membrane of *E. coli*. The authors showed that the binding of LPS with a protein leads to its conformational changes, which are

necessary to obtain the active form of the protease. These findings indicate that the interaction with LPS is functionally critical for omptins. The study of LPS action on proteases testifies possibility of its use as activators or inhibitors of enzymatic activity. The aim of this work was to investigate the influence of LPS and its structural regions of a number of *Pantoea agglomerans* strains on fibrinolytic, collagenase and elastase activity of *Bacillus* proteases.

The LPS was isolated by the phenol-water procedure followed by removal of nucleic acids by precipitation with aqueous 50 % trichloroacetic acid and ultracentrifugation at 105,000 g (4 h, 3 times). The LPS was cleaved by hydrolysis with aqueous 2 % acetic acid for (100 °C 2 h), a lipid precipitated was separated by centrifugation, washed sequentially with 2 % acetic acid and water, and freeze-dried. OPS was isolated from the supernatant by gel-permeation chromatography on Sephadex G-50 Superfine and freeze-dried. Elastase activity was determined colorimetrically by measuring the change in the color intensity of the solution during enzymatic hydrolysis of elastin-congo red. To establish the collagenase activity, the optical density of the solution was measured after the reaction of the collagen cleavage products with the ninhydrin reagent. Fibrinolytic activity was identified after the formation of fibrin cleavage products.

The results obtained showed that the most active were LPS of *P. agglomerans* two strains: 8674 and P324. LPS of *P. agglomerans* 8674 increased: the

fibrinolytic activity of *B. thuringiensis* IMB B-7324 peptidase 1 by about 4 times, the elastolytic activity of *B. thuringiensis* IMV B-7465 peptidase 1 by 2 times, and the collagenase activity of *B. thuringiensis* IMV B-7324 peptidase 2 by 1.5 times. While *P. agglomerans* P324 LPS increased the fibrinolytic activity of *B. thuringiensis* IMV B-7324 peptidase 1 and 3 times *Bacillus* sp. P3 peptidase 2.

It was shown that the OPS and lipid A played a significant role in the hydrolysis of fibrin by *Bacillus* proteases but did not affect the activity of protease 2 *B. thuringiensis* IMV B-7465 and protease 1 *B. thuringiensis* IMV B-7324. It can be assumed that in the activation of these enzymes by *P. agglomerans* P324 LPS an important role is played by the carbohydrate part of the molecule, namely OPS. Along with this, lipid A also increased the activity of the same proteases, but to a lesser extent (only twice). Hydrolysis of elastin was increased by core-oligosaccharide and lipid A. This could be caused by the availability of LPS structural components to interact with the elastin binding center. Hydrolysis of collagen in the presence of isolated fractions was accompanied by inhibition of activity compared to the native LPS. The obtained results give us a possibility to assume that significant activation of these enzymes by native LPS is a consequence of the joint action of the three LPS fractions. On the basis of the obtained results, further research will be aimed at finding out some mechanisms of LPS action on the *Bacillus* protease activity.

СТРУКТУРА, ФУНКЦІЯ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *ENTEROBACTERIACEAE*

ВАРБАНЕЦЬ Л.Д., БУЛИГІНА Т.В.

ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д. К. ЗАБОЛОТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: varbanets_imv@ukr.net

Незважаючи на те, що ліпополісахариди (ЛПС) були відкриті більш ніж 100 років тому, вони і на сьогодні представляють собою надзвичайно загадкову макромолекулу, структура і біологічна активність якої широко досліджується вченими різних спеціальностей. Вони, як ніякі інші біополімери клітини, є поліфункціональними: виконують загальнобіологічну захисну функцію, беруть участь в адгезії клітин, виявляють мітогенну, протипухлинну дію, є маркерами при ідентифікації штамів бактерій, ЛПС проявляють антигенну активність і є компонентами біологічного впізнавання, носіями специфічної інформації, яка визначає взаємовідносини бактерій як з макро-, так і з мікроорганізмами. Одним із механізмів, який визначає такі різноманітні властивості, є гетерогенність як самої молекули ЛПС, що включає полісахаридну та ліпідну частини, так і наявність в бактеріальній клітині

декількох ЛПС, які відрізняються складом, структурою і функціями. Основними проблемами у вирішенні питання вивчення ЛПС є структурні дослідження як полісахаридної, так і ліпідної частини молекули, а також зниження їх токсичності з метою подальшого застосування як стимуляторів імунної системи макроорганізму. На з'ясування цих питань і були спрямовані дослідження ЛПС представників ще дуже маловивченого виду *Enterobacteriaceae* – *Pantoea agglomerans*. М'якою кислотною деградацією ЛПС було одержано високомолекулярну фракцію О-специфічного полісахариду (ОПС) і ліпиду А. Аналіз ліпідів *P. agglomerans* П1а та *P. agglomerans* П324 виявив жирні кислоти з довжиною ланцюга від 12 до 18 атомів вуглецю, включаючи 3-ОН-С14:0 кислоту як переважаючий компонент (53,1 % та 38,96 %, відповідно). Крім насичених кислот, також були виявлені С_{16:1} і цис- та

транс-ізомери C_{18:1} мононенасичених кислот. Структура ліпідів А, встановлена за допомогою негативно-іонного режиму ESI-MS, свідчить про її гетерогенність: вона представлена як гекса-, так і тетраацильними типами. Якщо в ліпіді А *P. agglomerans* П1а домінуючим є тетраацильний тип, то у *P. agglomerans* П324 – гексаацильний. Вуглеводна частина ліпиду А представлена дифосфорильованим дисахаридом глюкозаміна, в С4' якого відсутні замісники, зокрема 4-аміно-4-дезоксид-арабіноза, наявність якої визначає резистентність бактерій до таких полікатіонних антибіотиків, як поліміксин В. Дослідження методами ¹H та ¹³C ЯМР спектроскопії виявили, що ОПС *P. agglomerans* П1а є лінійним трисахаридом, який включає залишок манози та два залишки фукози і має наступну структуру: →3)-α-D-Манp-(1→4)-β-D-Фусп-(1→4)-α-D-Фусп-(1→. Структура ОПС іншого штаму *P. agglomerans* П324 представлена лінійним дисахаридом, який включає залишок рамнози і залишок глюкози: →3)-α-L-Rhap-(1→4)-α-D-Glcp-(1→. Згідно до International Carbohydrate Structure Database ці структури описані

нами вперше. Оскільки структури ОПС є молекулярною основою серотипування штамів, були досліджені серологічні взаємодії між антисироватками до *P. agglomerans* П1а та П324 і ЛПС із 14 раніше досліджених штамів. Обидва ЛПС проявляли активність в гомологічній системі. Що стосується крос-реактивності, то антисироватка до ЛПС *P. agglomerans* П1а взаємодіє тільки з ЛПС *P. agglomerans* 9649. Ці дані свідчать про те, що ці штами містять загальні антигенні детермінанти в ОПС їхніх ЛПС і відносяться до однієї серогрупи. Антисироватка до ЛПС *P. agglomerans* П324 не проявляла крос-реактивності. Таким чином, показана імунохімічна гетерогенність виду *P. agglomerans*. Високі рівні токсичності і пірогенності, на відміну від раніше вивчених штамів, виявив ЛПС *P. agglomerans* П324. Розроблено хімічні методи детоксикації ЛПС *P. agglomerans*. Специфічні структурні особливості ЛПС в подальшому можуть бути використані в хемотаксономії представників такого гетерогенного виду як *P. agglomerans*, а також в створенні внутрішньовидових серологічних класифікаційних схем.

NANO-SIZE PROTEIN AGGREGATES AS A MACRO PROBLEM OF PROTEOMICS

VOROSHYLOVA N.M., VEREVKA S.V.

STATE INSTITUTION "O.S. KOLOMIYCHENKO INSTITUTE OF OTOLARYNGOLOGY, UKRAINIAN NAMS", KYIV;
e-mail: verevka.biochen@gmail.com

The formation and the maintenance of the native structure of protein molecules are an essential condition for the manifestation of their functional activity. This goal is served by a variety of systems that ensure the proper folding of the polypeptide chain and correct or remove damaged proteins. A significant and extremely hard alternative for this is the complex of processes caused by the ability of destabilized proteins to aggregate. It's established that aggregation processes have a pronounced regular character that leads to the formation of stable structures, which are able to affect significantly on the flow of various physiological processes. The most beneficial energetically, and therefore most effectively realizable, is the spontaneous formation of beta-structured fibrils, which are formed both in vivo and in vitro. The most famous example of this kind of process are the multiple examples of the development of amyloidosis, the most severe and irreversible complications of a wide variety of diseases. The irreversible nature of the formation of beta aggregates and their possibility of exposure to the surrounding tissues characterizes them as complications that exceed the initial disease in severity. The regularities of formation of beta-structured proteins are most pronounced in the case of the formation of

a pathological iso-form of the prion proteins, that are the product of membrane folding and that can effectively disrupt the functioning of the chaperone system of the cells of the central nervous system. Thus, a positive feedback is formed between the individual stages of the protein processing disorders, that may be started without of the initial infectious dose. The consequences of the spontaneous formation of high-structured aggregates in living organisms are hard, but not less dangerous are their effects in protein preparations.

The object of attention of our laboratory is the regularities of the formation of beta-structured protein deposits at the disturbance of protein metabolism processes in abnormal tissue. The results obtained suggest that the formation of beta-structured protein deposits is not limited by amyloidosis, but are much more widespread process that accompanies the pathological processes caused by impaired protein processing. Thus, the presence of beta-aggregated proteins inclusions in the tissues of malignant and benign neoplasms, nasal polyps and keloid scars is shown. For the first time, the presence of such inclusions in fibrous tissue at Peyronie's disease is shown.

It should be emphasized that the formation of beta-structured fibrils is guaranteed to pass through the stage of formation of nano-scale aggregates, which in solution are some kind of nano-fluids. The study of this aggregative state, as well as methods for its preparation, is the subject of many research papers. Our results prove for the formation of such aggregates at preeclampsia. The similar structure is represented by Bence-Jones protein. The same regularities accompany the self-damage of protein preparations, leading to the formation of nano-scale beta-aggregated impurities. Due to the limitations of Abbe, such aggregates are invisible but due to the rigid fixing of the denatured structure they are immunogenic. There is a reasonable opinion that exactly the aggregated

inclusions cause the immune complications at the insulin preparations usage. Even more, such aggregates may be the most reasonable cause of the development of local amyloidosis. The list of such complications can be extended to infinity since the considered mechanisms cover the whole variety of protein preparations. There are no differences, are these preparations of native or transgenic origin. Is there a great benefit from obtaining highly active and super-purified protein, if the patterns of changes in its structure during production and storage guarantee the formation of an immunogenic impurity? That's why the understanding of the regularities of formation of beta-aggregates, as well as the improvement of methods for their identification, are of considerable value for biotechnology and medicine.

THE INTEGRATED CELLULAR RESPONSE IN FRESHWATER ANIMALS EXPOSED TO SYNTHETIC METAL-CONTAINING NANOMATERIALS

GNATYSHYNA L.L.^{1,2}, STOIKA R.S.³, SOKOLOVA I.M.⁴,
ZAICHENKO O.S.⁵, FALFUSHYNSKA H.I.¹, STOLIAR O.B.¹

¹TERNOPIL VOLODYMYR HNATIUK NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

²I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

³INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE OF UKRAINE, LVIV;

⁴MARINE BIOLOGY, INSTITUTE OF BIOLOGICAL SCIENCES, UNIVERSITY OF ROSTOCK,
ROSTOCK, GERMANY;

⁵NATIONAL UNIVERSITY "LVIV POLYTECHNICS", UKRAINE;
e-mail: gnatyshynall@tdmu.edu.ua

Engineered nanoparticles (NPs) are a growing environmental concern due to the high production volumes and release into the environment, yet their adverse effects and underlying mechanisms in living organisms are not yet well understood. Bivalve mollusks such as mussels are the main filter-feeders of surface water exposed to suspended nanoparticles. Therefore, mussels are excellent model species for the study of the biological effects of synthetic metal-containing nanomaterials. In a series of experiments, we investigated the effects of cobalt-, zinc-, and titanium-containing nanoparticles on freshwater bivalves and the potential modulation of these effects by common co-occurring environmental stressors. Male specimens of *Anodonta cygnea* or *Unio tumidus* were exposed for 14 days to metal-containing nanoparticles, corresponding concentrations of metal ions and/or with combined effect of environmental stressors, such as: Co-containing nanoscaled polymeric complex (Co-NP, 833 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), Co^{2+} (Co, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CoCl_2), a polymeric vinyl pyrrolidone (NVP), 5-(*tert*butylperoxy)-5-methyl-1-hexene-3-yne (VEP) and dimethyl aminoethyl methacrylate (DMAEM) (PS, 783 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), TiO_2 NP (1.25 μM), TiCl_4 (Ti, 1.25 μM), Zn^{2+} (3.1 μM), ZnO NP (3.1 μM) at 18 °C, and ZnO NPs at 25 °C

(ZnO + t_0). The assays included the measurement of metal content (Cu, Zn, Cd, Co), total (MT-SH) and metalated (MT-Me) metallothionein levels, reduced and oxidized glutathione (GSH and GSSG) concentrations. The oxidative stress indices (superoxide dismutase (SOD) activity, the rates of oxyradical (ROS) formation, lipid peroxidation (LPO) levels, and lipofuscin accumulation) were examined. The indices of metabolic disorders including lactate/pyruvate ratio and autophagic activity of cathepsin D, lysosomal membrane destabilization and cytotoxic markers (DNA instability and caspase-3 activity) were also determined.

The mollusks of Co-exposed groups showed induction of MTs shown by elevated MT-SH level. Moreover, Co^{2+} exposure led to the increased Zn, Cd and Co binding to MT (MT-Me), induced apoptosis and lysosomal membrane destabilization. The responses to Zn-containing exposures were different depending on the form of Zn and additional stressors. Particularly, hyperthermia distorted the effect of ZnO NP. It was reflected by the activities of caspase-3 and lysosomal cathepsin D. At 18 °C, exposures to ZnO NP led to a prominent up-regulation of MT-SH levels (by ~30%) and signs of oxidative stress (elevated SOD

activity and ROS production). The characteristic feature of the cellular response to ZnO NP exposure indicated the interaction of the nanoparticles with the lysosomal compartment of the cell (stimulation of the lysosomal cathepsin D activity) and differed from the cellular signature of exposure to ionic Zn^{2+} (that involved oxidative injury and up-regulation of caspase-3 mediated apoptosis). The common feature of responses to all Ti-containing exposures was an increase of the metalated MTs despite the lack of an increase in the total level of MT-SH. A positive correlation between MT-Me and all indices of redox balance (the lactate and GSH levels and the lactate/pyruvate and

GSH/GSSG ratios) was shown indicating the predominantly reduced state of MT in the Ti-containing exposures. Notably, TiO_2 NP acted as antioxidants, whereas Ti^{4+} caused oxidative stress.

Overall, our data indicate the particle-specific effect of NPs (revealed as the lysosomal disruption and activation of apoptosis) and an increase in MT levels in response to different metal-containing exposures attesting to the partial bioavailability of metals from the NPs in the bivalves.

This work has been supported by the National Academy of Science of Ukraine and Ministry of Education and Science of Ukraine (Project #34-10; M/4-2013; M/70-2017, 132B).

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ, ГЕОМЕТРИЧНИХ ТА ГІДРОФІЛЬНО-ГІДРОФОБНИХ ХАРАКТЕРИСТИК МОЛЕКУЛ КРІОПРОТЕКТОРІВ НА ЇХНЮ ЗДАТНІСТЬ ДО ПРОНИКНЕННЯ КРІЗЬ ПЛАЗМАТИЧНІ МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ

ГОРДІЄНКО О.І.

ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ;

e-mail: olga.gordiyenko.ipcic@gmail.com

Здатність кріопротектора проникати крізь клітинну мембрану є однією з важливих характеристик, що впливає на оптимальний режим кріоконсервування. Мета роботи – визначення проникності мембран еритроцитів людини до неелектролітів низки діолів із можливістю порівняння геометричних та фізико-хімічних властивостей молекул в гомологічних рядах та серед структурних ізомерів і з'ясування впливу цих властивостей на їхню проникність крізь біологічні мембрани. Для дослідження було обрано низку полярних неелектролітів: етандіол (етиленгліколь), два структурні ізомери пропандіолу (1,2-пропандіол та 1,3-пропандіол), чотири структурні ізомери бутандіолу (1,2-, 1,3-, 2,3- та 1,4-бутандіол) і гліцерин (пропантріол). Такий вибір речовин надав можливість оцінити вплив додавання тих чи інших груп в структурі молекул, а також розмірів молекул на їхню здатність до проникнення. Для визначення шляхів проникнення молекул крізь еритроцитарні мембрани також досліджено вплив інкубації еритроцитів із блокатором протеїнових каналів рСМБС на коефіцієнти проникності для перелічених речовин. Були отримані температурні залежності проникнення окремих кріопротекторів в діапазоні 37...0 °С та розраховані значення енергії активації цього процесу. Коефіцієнти проникності мембран еритроцитів визначали шляхом суміщення експериментальної кривої гемолізу еритроцитів у водному розчині досліджуваного кріопротектора, отриманої методом малокутового розсіювання, з теоретичною кривою розрахованою за алгоритмом, створеним

на підставі розробленої фізико-математичної моделі гіпотонічного гемолізу у водному розчині проникаючої речовини.

Дослідження показали, що проникнення молекул досліджених речовин здійснюється обома відомими шляхами: протеїновими гідрофільними каналами сталого розміру, які блокуються сульфгідрильним реагентом, та крізь ліпідну фазу. Важливим чинником, що впливає на проникнення ліпідним шляхом є ступінь гідрофобності молекул, який кількісно характеризується коефіцієнтом їх розподілу між гідрофільною та гідрофобною фазами. Коефіцієнт кореляції між коефіцієнтами проникності мембран нативних еритроцитів та коефіцієнтами розподілу є дуже високим і становить 0,927. Інкубація ж еритроцитів з рСМБС приводить до ще більшої кореляції між цими величинами, яка набуває значення 0,996. Проникність крізь протеїнові гідрофільні канали характеризується критичною залежністю від діаметра молекул. При перевищенні цим параметром величини 4 Å коефіцієнт проникності суттєво зменшується для більш гідрофільних молекул. Для більш гідрофобних речовин, наприклад бутандіолів, зменшення проникності протеїновими каналами проявляється в зменшенні відсотку блокування проникності, хоча загальна проникність зростає за рахунок збільшення проникності крізь ліпідний бішар.

Однією з важливих характеристик транспортних процесів, які відіграють важливу роль в процесах масообміну при кріоконсервуванні, є їх залежність від температури. Значення енергії активації

процесу проникнення є також характеристикою, що свідчить про шляхи проникнення молекул крізь плазматичну мембрану клітин. Вивчення температурних залежностей проникності мембран еритроцитів для кріопротекторів 1,2-пропандіол і гліцерин показало існування зламів ареніусових залежностей за температур 12...8 °С зі збільшенням енергії

активації проникнення цих речовин в зоні субньюлових температур. Для 1,2-пропандіолу енергія активації збільшується до 100 кДж/моль у порівнянні з такою в діапазоні температур вище 12 °С – біля 80 кДж/моль. Для винятково гідروفільного гліцерину енергія активації в зоні температур менших 8 °С виявилась ще більшою – до 160 кДж/моль.

ОСОБЛИВОСТІ ВІДПОВІДІ МОЛЕКУЛЯРНИХ СТРЕСОРНИХ СИСТЕМ ГЕПАТОЦИТІВ КОРОПА НА ВПЛИВ СИНТЕТИЧНИХ АНАЛОГІВ ЦИЛІНДРОСПЕРМОПСИНУ

ГОРИН О.І., ФЕДУРОК О.О., ХОМА В.В., КАСЯНЧУК Н.М., ЖИМСКИ П., ФАЛЬФУШИНСЬКА Г.І.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА, УКРАЇНА;
e-mail: falfushynska@tntpu.edu.ua

Циліндропермопсин – алкалоїд, що продукується низкою ціанобактерій, містить функціональний гуанідиновий фрагмент та гідроксиметилурацил і може викликати появу ознак цито-, імуні- та генотоксичності як *in vitro*, так й *in vivo* у широкого кола організмів. Вважають, що циліндропермопсиніндукована токсичність може залежати від стеричного розташування та/або присутності функціональних груп, зокрема урацилу, гуанідину та гідроксилу у молекулі алкалоїду. Однак, теоретичне підґрунтя цієї гіпотези є недостатнім. Відтак, метою нашої роботи було дослідити вплив на гепатоцити коропа синтетичних аналогів циліндропермопсину, залежно від їх будови та молекулярної формули. У гепатоцитах *Cyprinus carpio* визначали маркери оксидативного стресу (каталазна активність, концентрація глутатіону, інтенсивність утворення активних форм кисню, перекисне окислення ліпідів та протеїнів), фрагментації ДНК та апоптозу (каспаза-3) після інкубації ізольованих клітин протягом 24 год у присутності 0,1% та 1% розчинів синтезованих аналогів циліндропермопсину, а саме: 1 – містить гідроксил, але не містить гуанідину; 2 – містить гуанідин, але не містить гідроксилу; 3 – не містить гідроксилу та гуанідину; 4 – містить гідроксил та гуанідин.

Інкубація гепатоцитів коропа у присутності всіх досліджуваних аналогів циліндропермопсину викликала узгоджене збільшення у клітинах вмісту стресорних протеїнів металотіонеїнів, активних

форм кисню та продуктів окисної деструкції ліпідів і протеїнів, а також зменшення глутатіону. Це вказує на те, що всі сполуки можуть проникати через клітинну мембрану і присутність гідроксильної та/або гуанідинової групи не є визначальною для цього процесу у гепатоцитах. Найбільш істотне збільшення рівня ТБК-активних продуктів та карбонільних похідних протеїнів, як одних із кінцевих продуктів окисного ушкодження, спостерігалось після експозиції гепатоцитів у присутності синтетичних аналогів, які структурно найбільш подібні на природний циліндропермопсин (містять гуанідинову і гідроксильну групи). Всі апробовані сполуки викликали збільшення фрагментації ДНК у схожому діапазоні, і лише аналоги із гідроксильною та гуанідиною групами (аналогічно до природної структури) викликали підвищення активності каспази-3, як ключового ензиму апоптозу та ознаки нейротоксичності за збільшенням активності холінерастери. Варіабельність показників була більш істотною за дії 1% розчину синтезованих аналогів циліндропермопсину.

Відтак, можна стверджувати, що токсичність циліндропермопсину є результатом стеричної та функціональної взаємодії гідроксильної та гуанідинової груп та може бути опосередкована метаболітами альтиотоксину.

Робота виконана за підтримки молодіжного проекту МОН МВ-1.

РОЛЬ СТРУКТУРНИХ ПЕРЕТВОРЕНЬ В D-РЕГІОНАХ ФІБРИНУ ПІД ЧАС ПОЛІМЕРИЗАЦІЇ В АКТИВАЦІЇ ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМИ

ГРИНЕНКО Т.В., ЯЦЕНКО Т.А.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

e-mail: grinenko@biochem.kiev.ua

Першим і необхідним етапом руйнування фібринових згустків фібринолітичною системою є взаємодія плазміногену (Pg) і його активатора (t-PA – тканинний активатор плазміногену) зі специфічними сайтами, що експонуються в молекулі фібрин(оген)у під час полімеризації. Утворення плазміну на поверхні фібрину обмежує дію ензиму в межах фібринового згустку і захищає його від інгібування альфа-2-антиплазміном. Сайти зв'язування Pg і t-PA розташовані в периферійних D-регіонах молекули фібрин(оген)у на ділянках α 148-160 та γ 312-324, відповідно. Їх експонування має місце при взаємодії молекул фібрину за участі центрів полімеризації "A"- α та "B"- β . В безпосередній близькості від центрів "a" і "b" знаходяться Ca^{2+} -зв'язувальні центри γ 1 та β 2, відповідно. Під час "B"- β взаємодії центр β 2 руйнується, що призводить до відходження β -модуля від центральної вісі молекули та експонування плазміногензв'язувального сайту. γ 1-центр перебудовується під час "A"- α взаємодії і стабілізує цей зв'язок. Наразі не з'ясовано, яку роль відіграють іони кальцію в процесі активації Pg t-PA на поверхні фібрину. Інша структурна перебудова в D-регіонах фібрин(оген)у відбувається в процесі формування прототібрилу. За участі фХІІІа між C-кінцевими ділянками γ -ланцюгів двох сусідніх молекул утворюється ковалентний зв'язок, внаслідок чого високорухливі γ -модулі стабілізуються.

Метою роботи було визначити роль Ca^{2+} -зв'язувальних центрів D-регіонів фібрин(оген)у та ковалентної стабілізації γ -модулів у регуляції швидкості активації Pg t-PA.

Кінетику реакції активації досліджували за допомогою S2251. В якості стимуляторів використовували фрагменти: DDE-комплекс та DD, одержані з ковалентно стабілізованого фібрину,

D – з нестабілізованого фібрину, D_{Ca} та D_{EDTA} – фібриногену.

Показано, що стимулюючий ефект DDE-комплексу подібний та такого desAB-фібрину і є низьким для DD-фрагмента фібрину, що підтверджує необхідність взаємодій по центрах полімеризації для ініціації утворення плазміну. В той же час ізольований DD-фрагмент набуває здатності зв'язувати Pg та t-PA з утворенням плазміну після видалення іонів кальцію EGTA. Процес є зворотнім, швидкість активації дозозалежно зменшується зі збільшенням концентрації кальцію.

Важливу роль ковалентної прошивки двох сусідніх молекул в одній нитці прототібрилу в експонуванні сайтів взаємодії протеїнів фібринолітичної системи визначено за кінетичними параметрами реакції активації в присутності DD-фрагмента фібрину та D-фрагмента непрошитого фібрину за молярного співвідношення стимулятора до плазміногену 1:1 та 2:1, відповідно. DD-фрагмент, який структурно відрізняється від D-фрагмента лише наявністю ковалентного зв'язку, виявився вдвічі більш ефективним стимулятором утворення плазміну.

Модулювання активаційної здатності D-фрагментів фібриногену підтверджує важливу роль перетворень в β - і γ -модулях. D_{Ca} не проявляє ефекторних властивостей, але частково їх набуває після хелатування іонів кальцію. D_{EDTA} , у якого відсутній γ -модуль, проявляє ефекторні властивості, але частково втрачає їх після інкубації з кальцієм.

Отже, в процесі полімеризації фібрину під час утворення "B-b" і "A-a" контактів та ковалентної прошивки по γ -ланцюгах суміжних молекул фібрину структурні перебудови в β - та γ -модулях, залежні від іонів кальцію та ковалентного зв'язку, ведуть до експонування сайтів зв'язування Pg і t-PA та ініціації фібринолітичного процесу.

CALIX[4]ARENE-BASED ANTITHROMBOTIC MEDICATION: FROM *IN SILICO* TO *IN VIVO* STUDY

DIDKIVSKYI V.A.¹, CHERNYSHENKO V.O.¹, PYROGOVA L.V.¹, KALCHENKO V.I.², CHERENOK S.O.²,
DOSENKO V.E.³, PASHEVIN D.O.³, NIKOLAENKO T.V.⁴, HARMANCHUK L.V.⁴

¹PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²V.P. KUCHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

³BOHOMOLETS INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

⁴ESC "INSTITUTE OF BIOLOGY AND MEDICINE", TARAS SHEVCHENKO NATIONAL
UNIVERSITY OF KYIV;

e-mail: bio.cherv@gmail.com

Calix[4]arene C-145 is a macrocyclic compound with an intramolecular lipophilic cavity formed by aromatic fragments and the Sodium-binded phosphates on the tail of a molecule. Computer modeling demonstrated that the hydrophobic cavity of C-145 directly binds to the A-knob polymerization site (GPRP) of fibrin, thus preventing the formation of polymeric fibrin – the core of thrombus. Such complexation was demonstrated directly by HPLC. That the C-145 was selected as the molecular platform for the creation of antithrombotic fibrin-specific drug.

In vitro studies demonstrated that C-145 specifically inhibited the first stage of fibrin polymerization, the formation of protofibrils ($IC_{50}=2,5 \cdot 10^{-6}$ respectively). Further research *in vitro* did not reveal any influence of these calix[4]arenes on platelets and red blood cells, as well as on Factor X activation, prothrombin, and protein C.

The LD_{50} was determined for C-145 and allowed us to consider it as non-toxic compound ($LD_{50}=780$ mg/kg) and begin the *in vivo* studies on rabbits. C-145 was administrated intravenously in the dose of 7.5 mg/kg of rabbit weight. 4 hours after the injection, the thrombin time and activated partial thromboplastin time were prolonged 2 and 1,5 times, respectively. Such prolongation was observed after 24 hours as well. However, the total fibrinogen and prothrombin levels did not change. Parameters of fibrinolytic system (PAI-1, clot lysis half-time) and anticoagulant system (protein C) remained unchanged.

Intravenous administration of C-145 also did not affect endothelial cells that was confirmed by determining the level of tPA, which is the marker of endothelial activation. However, the study of C-145 effects on endothelial cells culture allowed us to conclude anti-apoptotic and proliferation-stimulating effects of C-145 that could be promising during revascularization of tissues after ischemia.

Experiments on rats allowed us to select the effective dosage for *per os* administration of C-145 to rats (12 mg/kg). The administration of this dose led to the prolongation of blood clotting time in APTT test thrice and diminishing of platelet aggregation after 6 hours. This dose was selected as effective for antithrombotic action. Two-month study of daily administration of C145 was performed, no side effects of C-145 on rats were observed.

Finally, we can conclude that calix[4]arene is a selective inhibitor of fibrin polymerisation that can be successfully used *in vivo* during pathologies of haemostasis as an antithrombotic agent that can effectively prevent intravascular coagulation independently of blood coagulation cascade acting targeted to fibrin polymerization.

The research was a part of Project N64 "Study of calix[4]arenes as haemostatic, antifibrinolytic and antithrombotic agents". according to targeted complex program of NAS of Ukraine for fundamental research "Fundamental issues of new nanomaterials and nanotechnologies creation".

EFFECTS OF STRESS FACTORS AND NATURAL ANTIOXIDANTS ON THE FORMATION PROTHROMBINASE COMPLEX

DIACHENKO L.M., STEPCHENKO L.M.

DNIPRO STATE AGRARIAN AND ECONOMIC UNIVERSITY, DNIPRO, UKRAINE;

e-mail: linadyach@ukr.net

Combined stress complicates the work for the natural mechanisms of body protection and, as a result, we can track the appearance of oxidative stress,

hypoxia and changes in homeostasis, including indicators that characterize the formation of the prothrombinase complex. It is a promising area for

today to search substances which can reduce the negative impact of hypoxia and oxidative stress, and thus increase the nonspecific adaptive capacity of the body.

Therefore, the purpose of this study is the effect of feed additives humic nature at the time of formation of the prothrombinase complex in rats against the background of combined stress.

The animals were divided into four groups of 6 animals each: 1 group of intact animals (control); 2–4 – experimental groups. Rats were kept in 2 groups under standard conditions, and for purity of the experiment, additional purified water was given; 3 – rats, which were added in addition to the diet, aqueous solution of natural antioxidant of the feed additive humic nature Humilid (TU U 15.7-00493675004 2009) in the amount of 5 mg/kg body weight, 4 – animals received in addition to diet, aqueous solution of the feed additive Eco Impulse Animal (TU U 10.9-00493675-008 2016) at a rate of 2.5 mg/kg body weight. Water, feed additives were administered individually, orally for animals of all experimental groups for 18 days. Stress was simulated for 2nd, 3rd, 4th groups of rats. The model was based on the water-immobilization stress in combination with the model of emotional stress, due to which the effect of combined stress was achieved. In citrate plasma of rats were determined: prothrombin time (PTT), activated partial thromboplastin time (APTT). Prothrombin ratio (PR) and prothrombin index (PTI) were calculated by the method. Results were statistically analyzed using one-factor dispersion analysis ANOVA. For all statistical calculations, the significance was considered as the value of $P < 0.05$.

After simulating combined stress in animals of group 2, the value of APTT is significantly increased by 3 times ($P < 0.001$) compared with the results in rats in group 1. At that time, animals in the 3rd group who received the feed additive Humilid, after the simulation of combined stress, APTT was significantly shorter, compared with values in animals in group 2 by 60 %

($P < 0.01$), but significantly increased by 17 % ($P < 0.01$), respectively, in comparison with the values in the control animals. In animals of group 4, which received the feed additive Eco-Impulse Animal, APTT was significantly shorter by 55 % ($P < 0.01$), respectively, compared with values in animals in group 2 and prolonged by 32 % ($P < 0.001$) compared with values group 1. Prothrombin time (PTT) and prothrombin ratio (PR) in animals of group 2 significantly increased by 23 % ($P < 0.001$) compared to values in rats in group 1. In animals of the 4th group, which received the feed additive Eco-Impulse Animal, the PTT and PR values increased by 66 % ($P < 0.01$), compared with values in animals in group 1. In animals of the 3rd group, the values of PTT and PR were within the reference values and did not differ significantly from the control ones. The prothrombin index (PTI) in the rats of the 2nd group significantly decreased by 19 % ($P < 0.001$), compared with values in rats in group 1. In rats of the 4th group PTI significantly decreased by 39 % ($P < 0.001$) compared with the values in the control animals. This indicator in animals of the 3rd group, which in additive to the diet added to the feed additive Humilid before the stressful period, did not significantly differ from the control group values.

Modeling of combined stress in rats causes a violation of the flow of external and internal mechanisms of formation of the prothrombinase complex.

The use of the feed additive Humilid contributes to maintaining the values within the reference values, which indicate the value of APTT, PTT, PR, PTI, which can be considered as preventive protection against the influence of stress factors.

In rats receiving the feed additive Eco-Impulse Animal, the effect on the study lines was not unambiguous, namely, the APTT was close to the control values, but among other studied parameters, this trend was not detected. This may depend on the method of obtaining a feed additive and deposits of raw materials. Therefore, the use of this feed additive requires further research.

КВАНТОВО-ХІМІЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ВЗАЄМОДІЇ ІНГІБІТОРА ТЕЛОМЕРАЗИ ТЕЛОМЕСТАТИНУ З КВАДРУПЛЕКСНОЮ ДНК

ІЛЬЧЕНКО М.М., ДУБЕЙ І.Я.

ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: m.m.ilchenko@imb.org.ua

Природний макроциклічний поліоксазол теломестатин є найефективнішим інгібітором теломерази з високою протипухлинною активністю. В літературі підкреслюється його здатність селективно та з високою афінністю зв'язуватися з G-квадруплексами (G4) – 4-ланцюговими структурами, що

утворюються при фолдингу певних гуанін-багатих послідовностей теломерної ДНК. Як відомо, специфічні G4-ліганди діють як непрямі інгібітори теломерази й за рахунок цього виявляють протипухлинну дію. В той же час, незважаючи на численні експериментальні роботи, присвячені дослідженню

взаємодій теломестатину з квадруплексами, дані щодо будови міжмолекулярних комплексів залишаються суперечливими.

У цій роботі вперше неемпіричними методами квантової хімії проведено моделювання зв'язування молекули теломестатину із G4-структурою ДНК. Для цього було вибрано 22-членний квадруплекс паралельного типу Tel22, що є фрагментом теломерної ДНК людини (код кристалографічної структури в Protein Data Bank: 1KF1). Модель включала в себе два іони K⁺, що стабілізують квадруплексну структуру й розташовані між трьома площинами, утвореними гуаніновими квартетами. Молекули води, що містяться в 1KF1, не враховувалися в даному теоретичному дослідженні. Вибрана система містила 717 атомів і мала загальний заряд -19.

Всі квантово-хімічні розрахунки виконано методом функціоналу густини (DFT) в базисі 6-31G(d). У розрахунках використовували функціонал WB97XD, що включає схему врахування дисперсійних взаємодій Гріммі D2. Вплив водного середовища враховували в рамках моделі поляризованого континууму CPCM. Проводилась повна оптимізація геометричного положення всіх атомів досліджуваних систем.

У результаті оптимізації геометрії було отримано структуру квадруплекса Tel22, яка мало відрізняється від стартової геометрії 1KF1; так, збереглися особливості будови стопки гуанінових квартетів у центрі квадруплекса й розташування катіонів K⁺ між ними. Незначні зміни відбулися в будові петель квадруплекса та їхньому відносному розташуванні. Це дозволило зробити висновок про коректність вибраної нами моделі квадруплекса.

Після додавання до цієї системи молекули теломестатину проводилась повна оптимізація всього утвореного комплексу. Отримано структури й енергетичні параметри ряду комплексів,

Міжмолекулярні комплекси G4–теломестатин утворювались у результаті розташування ліганда над термінальним гуаніновим квартетом, утвореним залишками G4, G10, G16 та G22, або ж ліганд розміщувався в борозенках, розташованих між петлями, до складу одної з яких входить залишок тиміну T6, а іншої – T12. Розглядалися структури, де ліганд знаходиться в безпосередній близькості до відповідної петлі і має можливість взаємодіяти з T6 або T12. Крім цього, досліджувалась можливість утворення комплексу, в якому теломестатин знаходиться біля малої петлі квадруплекса і безпосередньо взаємодіє з гуаніном G1.

Розраховані методом DFT енергії взаємодії квадруплекс–ліганд для ідентифікованих комплексів знаходяться в інтервалі від -3.98 до -41.20 ккал/моль. Найвища енергія взаємодії відповідає способу зв'язування, де теломестатин розташовується над термінальним гуаніновим квартетом G4–G10–G16–G22 (взаємодія стекінгового типу). Борозенкове зв'язування молекули теломестатину та взаємодія ліганда з петлями квадруплекса енергетично значно менш вигідні.

У літературі дотепер були відсутні дані щодо розрахунків методом DFT молекулярних структур і комплексів настільки великого розміру. Ми вважаємо перспективними дослідження деталей механізмів біологічної дії інших інгібіторів теломерази на основі G4-лігандів квантово-хімічними методами, що можуть стати і основою для хімічної оптимізації їхніх структур.

THE COMPOSITION OF PROTEINS IN BLOOD SERUM OF RATS BY INFLUENCE OF HEAVY METALS

KALININ I.V.

NATIONAL PEDAGOGICAL DRAGOMANOV UNIVERSITY, KYIV, UKRAINE;

e-mail: kalininihor@gmail.com

The effect of heavy metals on a living organism is a powerful stress factor that exists in the environment. The blood unites all the tissues and organs of the whole organism, an important component of which are proteins. The amount of proteins in the blood and their qualitative diversity reflects the state of various metabolic processes, protein metabolism, in particular, the immune status, other protective and adaptive abilities of the body.

Electrophoretic studies of blood proteins in electrophoretic systems with high resolution (in particular, in PAAG) are becoming relevant and

promising. For this, it is necessary to establish the nature and physiological role of various protein components of blood. It is also important to ascertain the different variants of protein spectra characteristic of the normal state of the body.

The study was conducted on white male rats of the same age, weighing 180–200 g, kept under standard conditions of vivarium, with free access to food and water. Five groups of animals were studied: the first was intact (control), the second was orally administered with a solution of copper sulfate at a dose of 3 mg/kg, which is 1/10 of LD₅₀, and the third

with a solution of zinc sulfate administered orally to rats which is 1/20 of LD₅₀, the fourth – cadmium sulfate solution was orally administered to animals at a dose of 1.5 mg/kg, which is 1/30 of LD₅₀, the fifth – lead solution of nitrate at 1.7 mg/kg was orally administered to animals, which is 1/50 of LD₅₀. Intoxication was carried out for 14 days. The work was carried out in accordance with the Council of Europe's Convention on the Protection of Animals, which are used for scientific purposes.

The fractional composition of serum proteins in rats was performed by DS-Na-PAG electrophoresis on a 14 % polyacrylamide gel (0.75 M tris pH 8.9; SDS 0.2 %, TEMED, PSA) according to Laemmli (1970). The protein concentration was determined using biuret reagent. Samples were prepared in a buffer containing 0.5 M tris pH 7.2; 2 % SDS and β-mercaptoethanol. Electrophoresis was performed at a voltage of 100 V. Gels were stained with 0.1 % Coomassie R-250 in 7 % CH₃COOH and 25 % aqueous methanol. The unbound protein dye was washed with 7 % CH₃COOH in 25 % aqueous methanol. A protein Protein WM mixture was used as a molecular weight marker. The obtained gels were scanned and processed using Tabl Lab 4.01.

The study of serum proteins showed changes in the qualitative and quantitative composition of the protein fractions in the control and under heavy metal intoxication rats. In rats after intoxication with heavy

metals, the directivity in the redistribution of protein fractions on electropherograms was changed. In the second experimental group, the albumin fraction decreased by 17.3 % compared with the control group. The fraction of γ-globulins increased by 2 times compared with the control group. β-, α₁- and α₂-globulin fractions did not change significantly. In rats of the third experimental group, changes in the ratio of low molecular weight protein fractions were found. The fraction of γ-globulins increased by 1.5 times compared with the control group. In experimental animals of the fourth and fifth groups, a decrease in the content of the albumin fraction by 25.7 and 21.2 %, respectively, was found, compared with the control group. The fraction of γ-globulins increased by 2.5 times in both groups compared with the control group. Stability relative to the effect of metals on the content of α₁- and α₂-globulins should be noted in all experimental groups of animals. Such an amount of the α-globulin fraction in the blood serum of animals is probably related to the adaptive functions of these proteins, primarily their well-known role in the processes of energy supply.

Thus, to assess the response of the protein system in the blood of animals to intoxication with heavy metal ions, an integral approach should be used, taking into account the possible causes of changes in the fractional composition of proteins. Indicative changes in the relative content of γ-globulins can be considered.

PREDICTION OF NUCLEUS-RELATED NON-TRANSLATIONAL FUNCTIONS OF TRANSLATION ELONGATION FACTOR eEF1B γ IN HUMAN LUNG ADENOCARCINOMA CELLS

KAPUSTIAN L.M., LYSETSKY I.L., BONDARCHUK T.V., NOVOSYLNA O.V., NEGRUTSKII B.S.
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL
ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: negrutskaa@imbg.org.ua

Translation elongation factor eEF1B γ is a component of high molecular weight translation complex eEF1B, which provides efficient GDP/GTP exchange in the molecule of another translation factor, eEF1A. However, the existence of free eEF1B γ subunit was detected in human cancer tissues. Moreover, cancer cells showed a sign of nuclear localization of eEF1B γ . As there is a general belief that protein synthesis occurs exclusively in the cytoplasm, the cyto-nucleo transfer of eEF1B γ implies some non-translational role of the subunit. Our aim was to predict novel functions of eEF1B γ in the nucleus of lung carcinoma cells.

The protein partners of eEF1B γ in the nuclear fraction of A549 cells were identified by co-

immunoprecipitation (co-IP) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) methods. The protein interaction network for nuclear eEF1B γ was determined by a Cytoscape 3.2.0 program using an MCODE plugin. Additional analysis of the eEF1B γ partners was conducted using Mapthecell database.

234 proteins interacting with eEF1B γ in the nuclear fraction of A549 cells have been identified. Analysis of possible networks involving these partners and eEF1B γ by two bioinformatic approaches produced two main biological processes in which nuclear eEF1B γ can be involved. They are the regulation of mRNA stability and splicing of pre-mRNA. We hypothesize that during carcinogenesis, a portion

of eEF1B γ leaves the cytoplasm-localized eEF1B complex and goes to nucleus to regulate the quantity of specific mRNA by influencing splicing of the corresponding pre-mRNA and/or stability of matured mRNA. According to our data, eEF1B γ may also take part in cytoskeleton-membrane linking and cellular trafficking.

Importantly, the majority of the experimentally defined protein partners of eEF1B γ in the

nucleus are strongly linked to cancer. One more function of eEF1B γ and its partners can be associated with viral propagation. Also, a number of eEF1B γ partners in nuclear fraction were shown to be related to neurodegenerative disorders (Alzheimer's disease, Parkinson's disease, epilepsy, intellectual disability) so, a possible involvement of nuclear eEF1B γ in the genesis of these diseases should be evaluated in future studies.

ВЗАЄМОДІЯ КРИНГЛА 5 МОЛЕКУЛИ ПЛАЗМІНОГЕНУ З ТРИПТИЧНИМИ ПЕПТИДАМИ АЛЬФА-ЛАНЦЮГІВ D-ФРАГМЕНТІВ ФІБРИН(ОГЕН)У

КАПУСТЯНЕНКО Л.Г., РЕБРІЄВ А.В., ГРИНЕНКО Т.В.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: kapustyanenko@biochem.kiev.ua

Раніше нами показано, що взаємодія плазміногену, опосередкована лігандзв'язувальною ділянкою п'ятого кринглого домену, відбувається з комплементарними сайтами, розташованими в альфа-ланцюгах периферичних доменів фібрин(оген)у D. Методом мас-спектрометрії досліджено поліпептидні фрагменти альфа-ланцюгів D-фрагментів непрошитого фібрину, з якими зв'язується K5. Отримані наразі експериментальні дані в поєднанні з даними літератури дозволяють конкретизувати ділянки зв'язування K5 в поліпептидних альфа-ланцюгах D-фрагментів фібрину до послідовності 161Cys–199Arg. Потенційними мішенями зв'язування K5 на ділянці альфа161Cys–199Arg є (162,167,171,197)Arg та (176,183,191)Lys. Особливу увагу привертає Arg197, що знаходиться у “пролінових дужках” – 195Pro–203Pro.

З метою встановлення сайту первинного зв'язування Glu-плазміногену на фібрині методами афінної хроматографії та мас-спектрометрії проведено визначення амінокислотних послідовностей триптичних пептидів альфа-ланцюгів D-фрагментів непрошитого фібрину, що зв'язуються з кринглом 5 проензиму. Основними завданнями дослідження було: 1) ізолювати альфа-ланцюги D-фрагментів фібрину та отримати триптичні пептиди цих ланцюгів; 2) методами афінної хроматографії та мас-спектрометрії з'ясувати, які саме триптичні пептиди зв'язуються з кринглом 5, іммобілізованим на активованій BrCN Sepharose CL-4B (GE Healthcare Bio-Science, Швеція). Для виконання означених завдань застосовано наступні підходи. Препаративним електрофорезом D-фрагментів фібрину, відновлених бета-меркаптоетанолом, ізолювано їх альфа-ланцюги. Проведено вичерпний трипсиновий гідроліз альфа-ланцюгів. З використанням афінної хроматографії на K5-сефарозі отримано пул триптичних пептидів, які зв'язуються з кринглом

5. Методом мас-спектрометрії досліджено склад таких пептидів. Статистичну обробку експериментальних даних проведено із застосуванням пакета програм Prism 5 (GraphPad Software Inc., США). До роботи включено результати експериментів, допустима похибка яких не перевищує 5 % ($P < 0.05$). Електрофореграми є типовими для повторних експериментів (не менш за три повтори). Мас-спектри отримано на MALDI-TOF мас-спектрометрії Voyager DE PRO (Applied Biosystems, США) та оброблено сервісною програмою Data Explorer 4.1.

Досліджено триптичні пептиди альфа-ланцюгів D-фрагментів фібрину в межах послідовності 111Val–199Arg. Виявлено, що з K5-сефарозою зв'язуються пептиди 168Ala–176Lys та 172Glu–183Lys. Це – так терміновані “пептиди з можливим одним пропущеним розщепленням”, яке відповідає 171Arg та 176Lys. Триптичні пептиди 163Gly–171Arg та 172Glu–176Lys, на C-кінцях яких знаходяться 171Arg та 176Lys, не виявляють зв'язування з кринглом 5. Такий факт є теоретично обґрунтованим. Зокрема, з'ясовано, що триптичний пептид 192Asp–199Arg, до складу якого входить Arg197 у розташуванні “одного пропущеного розщеплення”, не зв'язується з кринглом 5.

Таким чином, нами отримано дані, які прямо вказують на те, що первинне зв'язування Glu-плазміногену, опосередковане кринглом 5, відбувається з 171Arg та/або з 176Lys поліпептидних альфа-ланцюгів D-фрагментів фібрину. Запропоновано гіпотезу, згідно якої взаємодія Glu-плазміногену п'ятим кринглом з 171Arg та/або з 176Lys призводить до зміни конформації молекули, що дозволяє кринглам 1-3 зв'язуватись з розташованою поруч ділянкою альфа148Lys–160Ser. Така двоцентрова взаємодія плазміногену з фібрином є необхідною умовою його активації тканинним активатором.

ВПЛИВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ТА ДЕЯКИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК НА АНТИОКСИДАНТНУ АКТИВНІСТЬ ГЕМОЛІЗАТУ КРОВІ ЩУРІВ *IN VITRO*

КАРМАШ О.І.¹, ЛЮТА М.Я.¹, РЕЧИЦЬКИЙ О.Н.², СИБІРНА Н.О.¹

¹ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;

²ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;

e-mail: sashakarmash@gmail.com

Цукровий діабет – це група метаболічних захворювань головною ознакою яких є хронічна гіперглікемія, яка є результатом порушення секреції та дії інсуліну. Неконтрольована гіперглікемія спричиняє розвиток оксидативного стресу, що в кінцевому етапі призводить до виникнення важких ускладнень (ангіопатії, нефропатії, ретинопатії).

У наших попередніх дослідженнях ми виявили, що низькоінтенсивне електромагнітне випромінювання (НІЕВ) червоного діапазону спектра знижує показники окисного стресу при цукровому діабеті у щурів. Окрім того, з літературних джерел відомо, що сполуки із поліциклічною або гетероциклічною структурою можуть мати потужні антиоксидантні властивості (до прикладу кверцетин) і мати перспективи застосування у якості антидіабетичних препаратів.

Метою нашої роботи було дослідити вплив НІЕВ червоного діапазону спектра та гетероциклічних сполук 6,6,6',6'-тетраметил-2,2'-діоксо-4,4'-спіробі(гексагідрогенпіримідину) (спірокарбону), 2,4,6,8-тетразабіцикло[3,3,0]октан-3,7-діону (табоду), 4,5-диметил-2,7-діоксодекагідрогенпіримідо [4,5-d] піримідину (рацемату) на антиоксидантну активність гемолізату крові щурів *in vitro*.

Забір крові здійснювали шляхом декапітації тварини під анестезією. Кров стабілізували додаванням гепарину (кінцеве розведення гепарин : цільна кров=1:100). Відділяли плазму крові шляхом центрифугування 3000 об/хв протягом 15 хв. Еритроцитарну масу промивали тричі PBS та лізували dH₂O у пропорції 1:2. Отриманий гемолізат розводили dH₂O до E=0,800-1,000 при λ=560 нм.

Досліджувані сполуки розчиняли у dH₂O до концентрації 1 мг/мл, змішували з гемолізатом у пропорції 1:1 та інкубували протягом 1 години у темряві при температурі 20 °С. Гемолізат та суміш гемолізату з розчинами досліджуваних сполук опромінювали протягом 5 хв за допомогою світлодіодної матриці (λ=630–660 нм, потужність 150 мВ). Антиоксидантну активність визначали за допомогою методів DPPH вільнорадикального скавенджингу [Gouzi et al. 2013] та ABTS катіон-радикального скавенджингу [Re et al. 1999].

За допомогою DPPH-методу виявили, що опромінення підвищує антиоксидантну активність гемолізату на 1 %, комбінація опромінення і спірокарбону підвищує цей показник на 1,7 %. Додавання табоду і рацемату подібного ефекту не дає. ABTS метод продемонстрував підвищення антиоксидантної активності гемолізату на 14,7 % за дії опромінення, однак достовірних змін за комбінації досліджуваних сполук та опромінення виявити не вдалося. Різницю у результатах, отриманих цими двома методами можна пояснити тим, що у DPPH-методі використовується метанол, який може негативно впливати на результати під час роботи з біологічними зразками.

Отже, НІЕВ здатне підвищувати антиоксидантну активність гемолізату крові щурів *in vitro*, однак необхідно з'ясувати точну мішень впливу випромінювання. Хоча гетероциклічні сполуки не продемонстрували бажаного біологічного ефекту, проте цей клас речовин залишається предметом подальших досліджень.

НЕКОВАЛЕНТНІ КОМПЛЕКСИ КУРКУМІНУ З РЕКОМБІНАНТНИМИ ПОХІДНИМИ ДИФТЕРІЙНОГО ТОКСИНУ ЯК ЗАСОБИ ДОСТАВКИ КУРКУМІНУ В КЛІТИНИ

КАТАШИНСЬКА Д.О., ЖУКОВА Д.А., МАНОЙЛОВ К.Ю., КОЛИБО Д.В., КОМСАРЕНКО С.В.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: dargust98@gmail.com

Куркумін, терпеноїд *Curcuma longa* L., має широкий спектр біологічної дії, зокрема виявляє антиоксидативну, ангіопротекторну та помірну протипухлинну активності. Однак, для цієї сполуки

характерна низька розчинність у воді, що суттєво знижує його ефективність як терапевтичного засобу. Для підвищення біодоступності куркумін включають у нековалентні комплекси з іншими органічними молекулами, зокрема протеїнами.

Ряд пухлинних клітин має підвищену експресію трансмембранного глікопротеїну *proHB-EGF* – рецептора дифтерійного токсину (ДТ). Аналоги токсину, такі як протеїн CRM197, вже впроваджено в терапію онкологічних захворювань. Метою роботи було дослідити здатність рекомбінантних похідних ДТ доставляти куркумін в малігнізовані клітини.

У нашій роботі було використано позбавлені токсичної дії рекомбінантні аналоги ДТ для синтезу нековалентних протеїн-куркумінових комплексів. Взаємодію куркуміну з аналогом ДТ CRM197 було змодельовано *in silico*. Антипроліферативний вплив та зв'язування отриманих комплексів із малігнізованими клітинами, що походять з організму людини, були охарактеризовані за допомогою МТТ-тесту та протокової цитофлуориметрії.

Рекомбінантні аналоги ДТ CRM197, SbV (субодиниця V) та Rd (рецептор-зв'язувальний домен) були синтезовані в клітинах *Escherichia coli* та очищені на Ni-NTA агарозі. За допомогою МТТ-тесту продемонстровано більш високу антипроліфе-

ративну активність протеїн-куркумінових комплексів та дозозалежність дії цих композитів на малігнізовані клітини *in vitro*. Проте, за допомогою протокової цитофлуориметрії було показано, що у вільному від молекул протеїнів стані куркумін набагато більш ефективно зв'язується з клітинами, ніж у складі отриманих комплексів.

Враховуючи результати МТТ-тесту, було висунуто припущення, що для ефективною реалізації антипроліферативної дії куркуміну необхідною умовою є розподілення в часі дози, що надходить до клітин. Можливо, менші дози куркуміну, що повільно надходять до клітин тривалий час, суттєво більш ефективні, ніж більші дози, що повністю надходять в клітини протягом короткого часу.

Отже, нековалентні взаємодії куркуміну з рекомбінантними аналогами ДТ мають вищу антипроліферативну ефективність, ніж вільний куркумін, підвищують його водорозчинність та потенційно можуть збільшувати адресність доставки цієї молекули у ракові клітини за рахунок взаємодії з *proHB-EGF*.

MATHEMATICAL MODELING OF THE PROCESSES OF FORMATION OF SINGLE-STRANDED DAMAGES OF LARGE SIZE AND THEIR TRANSFORMATION INTO DOUBLE-STRANDED DISCONTINUITIES OF CELLULAR DNA

KNIGAVKO V.G., BATYUK L.V., ZAYTSEVA O.V., BONDARENKO M.A.,
PONOMARENKO N.S., RUKIN A.S.
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: mbfandmi@ukr.net

The theoretical study of biochemical and radiobiological processes observed in irradiation of cells with ionizing radiation requires the study of mechanisms for the formation and repair of radiation damage to DNA. An important contribution to checking existing hypotheses about the mechanisms and interconnections of these processes is mathematical modeling of the processes of formation and transformation of radiation damage of DNA. In this paper, the process of transformation of single-stranded damage of large size into double-stranded breaks of cellular DNA is modeled. In the construction of models, approaches and methods of probability theory were used, the practical implementation of which required a computer interpretation of the results obtained.

It is known that large single-strand gaps are repaired by DNA polymerase III in prokaryotes and DNA polymerase δ (possibly DNA polymerase ϵ or σ) in eukaryotes. The reparation of such damage is the slow component of the repair of single-strand breaks with a reparation time of up to 8 hours. The basic assumption for building a model is that in one piece of DNA that corresponds to one loop of chromatin (from 20 to

80 thousand base pairs) more than one single-strand gap of large size cannot be formed, the size of which is close to the average size of the gene. The length of the gap can increase with an increase in the period of time, from the possible time of formation of a gap, due to the average time of the transcribed gene. Considering that the time of initiation of a gap at a constant dose rate of radiation has a uniform distribution, as well as the time for completion of the formation of a gap, we will get if the exposure time (T_0) is longer than the possible maximum time for the formation of a gap (T_m), ($T_0 > T_m$), that $q_1 = 1 - \frac{vT_m^3}{8MT_0^2}$, where q – the likelihood that the gaps are transformed into double-stranded DNA breaks, M – total length (expressed in pairs of nucleotides) of transcribed cell DNA sequences. If $T_0 < T_m$, that $q_1 = 1 - \frac{vT_0(4T_m - T_0)}{24MT_m}$, where v – growth rate (transcription) gaps. Given the average number of double-strand breaks per cell (\bar{r}), that were formed from the gap, we can get $\bar{r} \approx \frac{l_0 N^2 T_0 (4T_m - T_0)}{24MT_m^2}$, where l_0 – the length of the gap, N – the number of single-strand breaks that are formed on average per

cell at a dose of D. As you know, the value of N is directly proportional to the value D. Thus, the number of double-stranded breaks formed from a gap is indeed proportional to the square of the radiation dose, which is characteristic of poorly repaired or nonrepairable double-stranded discontinuities (dependence of \bar{r} on N).

The obtained estimate of the value is somewhat less than the literature data on the number of hard-to-

repair double-strand breaks, which can be explained by the underestimation of the number of single-strand breaks that are formed in the irradiated cells. It has been suggested that the discrepancy is due to the fact that single-strand breaks are repaired by the mechanism of ultrafast reparation, and a significant number of them are repaired during irradiation, depending on the dose rate.

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПЕРВИННОЇ ТА ВТОРИННОЇ СТРУКТУРИ PBS ДОМЕНУ ГЕНОМНОЇ РНК РІЗНИХ ПІДТИПІВ ВІЛ-1

КОЛОМІЄЦЬ І.М., ЗАРУДНА М.І., ПОТЯГАЙЛО А.Л., ГОВОРУН Д.М.
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: i.m.kolomiets@imbg.org.ua

Домен PBS (primer binding site), який розташовано у 5'-нетрансльованій області геномної РНК (гРНК) вірусу імунодефіциту людини 1-го типу (ВІЛ-1), охоплює відомі сигнальні елементи ініціації зворотної транскрипції, зокрема сигнал PBS, U-шпильку та D-дуплекс, що маскує сигнал PAS (primer activation site). Літературні дані свідчать про кінетичну лабільність усього комплексу ініціації зворотної транскрипції та складний, динамічний і тимчасовий характер контактів між сигнальними елементами гРНК і праймером тРНК^{ліз}₃, зокрема PAS/antiPAS контакту. З метою дослідження особливостей первинної структури та структурних перебудов під час PAS/antiPAS взаємодії було проведено філогенетичний аналіз та *mfold* передбачення вторинної структури PBS домену близько 500 гРНК різних підтипів (A, B, C, D, F1, G, H та J) і рекомбінантних форм (CRF01_AE, CRF02_AG, CRF03_AB, CRF32_06A6 тощо) групи M ВІЛ-1. Отримані результати дозволили зробити наступні висновки.

При моделюванні експонування PAS спостерігалися дві основні схеми структурних перебудов всередині PBS домена: для LAI-подібних ізолятів (підтипів B, C, D, F1, H та J) – за участю недосконалої паліндромної послідовності ²²⁰AGAGGAGCUCUCUC²³³ (схема 1^{pal} із внеском енергії ~4÷6 ккал/моль та кількома перехідними структурами), а для MAL-подібних ізолятів (підтипу G, CRF01_AE, CRF02_AG), які містять дублікатну вставку ²¹¹AACAGGGACUCGAAAGCGAAAGUU²³⁴ та вкорочений D-дуплекс, – за участю паліндромної послідовності та дублікатної вставки (схема 2^{pal&ins} або 2^{GAAAel} із меншим внеском енергії ~0÷2 ккал/моль та без перехідних структур). Ізоляти кластерів найбільш гетерогенного підтипу A містять укороче-

ний D-дуплекс, але різняться, зокрема, наявністю дублікатної вставки. Для більшості ізолятів підтипу A6 та ізолятів A6-похідної рекомбінантної форми CRF03_AB, поширених на території України, Росії та Білорусі, спостерігалася особлива проміжна схема 1^{pal*} із внеском енергії ~1÷2 ккал/моль та без перехідних структур. Для частини ізолятів підтипу A6, в основному з України, та ізолятів A6-похідної рекомбінантної форми CRF32_06A6, поширених на території Естонії, – схема 2^{pal&ins} або 2^{GAAAel}.

Враховуючи літературні дані щодо структурних перебудов в праймері тРНК^{ліз}₃ під час взаємодії з гРНК, було запропоновано утворення внутрішньо-молекулярного дуплексу A* між 5'-кінцем та варіабельною петлею праймера, що може відбуватися на одному з етапів PAS/antiPAS взаємодії.

Виходячи з аналізу сучасних структурних моделей 5'-нетрансльованої області генома ВІЛ-1, яка охоплює TAR, polyA шпильки, PBS домен, SL1, SL2, SL3 шпильки і U5/AUG-дуплекс, та експериментальних даних щодо вимог нуклеотидної послідовності, яка необхідна для ефективної ініціації зворотної транскрипції, була вивчена потенційна участь сусідніх з PBS доменом структурних елементів у формуванні подовженого PBS домену. Зокрема, спостерігалася альтернативне укорочення/подовження TAR та polyA шпильок, утворення додаткового нижнього дуплекса та CU-багатої шпильки, контакт між 5'-гілкою U5/AUG-дуплекса та SL1/SL2-лінкером, довжина якого залежить від форми SL2 шпильки (SL2^{GGUG} або SL2^{AGUA}), поступове подовження SL3 шпильки, а також можливе утворення внутрішньо- та міжмолекулярних G-квадруплексів у 5'-трансльованій області *gag*.

НОВІ ІНГІБІТОРИ ТЕЛОМЕРАЗИ НА ОСНОВІ СТИРИЛЦІАНІНІВ

КРИВОРОТЕНКО Д.В.¹, НЕГРУЦЬКА В.В.¹, ІЛЬЧЕНКО М.М.¹, ПИХОВА О.В.², ДУБЕЙ І.Я.¹

¹ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "КИЄВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ", УКРАЇНА;

e-mail: dubey@imb.org.ua

Теломераза – важливий ензим, основною функцією якого в клітині є синтез теломерної ДНК. Високий рівень активності цього ензиму в 85–90 % злоякісних пухлин при її відсутності в більшості нормальних соматичних клітин робить систему теломерази одною з біологічних мішеней для створення протипухлинних засобів. Теломерна ДНК містить багаті гуаніном послідовності, здатні утворювати специфічні структури, т.зв. G-квадруплекси (G4), стабілізація яких низькомолекулярними лігандами блокує елонгацію теломер ензимом, що приводить до апоптозу. Запропоновано численні протипухлинні засоби, що діють як інгібітори теломерази, в т.ч. на основі лігандів G-квадруплексних структур теломерної ДНК. Більшість ефективних G4-лігандів (порфірини, поліоксазоли, похідні акридину, карбазолу, ціаніни та ін.) побудовані на основі гетероароматичних систем великого розміру.

Нами отримано й досліджено серію потенційних інгібіторів теломерази нового класу – катіонних похідних стирилціанінів. Їхні молекули містять фрагменти, теоретично здатні до взаємодії з ДНК-квадруплексами, подібно до класичних ціанінів. У структурі сполук присутні два основних ядра, одне з яких ароматичне *l*-N,N-диметиланілінове, а інше гетероароматичне (піридин, хінолін, бензотіазол, тощо), зв'язані між собою через дивінілову систему (-CH=CH-)₂. Гетероциклічні фрагменти містять замісники алкільного типу.

Для аналізу інгібувальної активності нових сполук щодо теломерази використано метод TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol, метод ампліфікації теломерних повторів). Аналіз ґрунтується на ПЛР-ампліфікації продуктів теломеразної реакції, отриманих при елонгації ензимом специфічно-го праймера TS, що є субстратом теломерази.

Біологічне тестування виявило ряд сполук, що інгібують теломеразу *in vitro* в низьких мікромолярних концентраціях. Для двох найактивніших інгібі-

торів величина IC₅₀ становила 6,8 та 7,9 мкМ, ще дві сполуки були менш ефективними (IC₅₀ 30–31 мкМ). Найактивніший інгібітор містить дикатіонний фрагмент; введення електронодонорної метильної групи в піридиновий залишок підвищує активність, а заміна піридинового фрагмента на низькоосновний біциклічний (бензотіазол, бензоксазол та ін.) позбавляє сполуки помітної інгібувальної дії. При цьому важливо, що речовини в умовах аналізу TRAP, на відміну від багатьох інших інгібіторів теломерази, в робочих концентраціях не впливають на активність *Taq*-ДНК-полімерази, а також не інгібують топоізомеразу I в системі релаксації ДНК *in vitro*. Отже, інгібітори виявили значну специфічність до теломерази.

Досліджено можливі способи взаємодії активного інгібітора DS6 з G4-ДНК методами квантово-хімічного моделювання. В розрахунках використано квадруплекси Tel22 паралельної й антипаралельної топології (PDB-коди відповідно 1KF1 та 143D). Структури й енергетичні параметри комплексів ліганд-G4 розраховано напівемпіричним методом PM7 (пакет MOPAC-2016); роль водного середовища враховано в рамках моделі розчинника COSMO. Енергетично найвигіднішим є борозенкове зв'язування ліганда з антипаралельним квадруплексом. Взаємодія за механізмом термінального стекінгу, можлива при зв'язуванні з квадруплексом паралельного типу й характерна для більшості відомих G4-лігандів, для стирилціаніну значно менш вигідна (ентальпія взаємодії ΔH становить відповідно -62,77 і -55,76 ккал/моль).

Отримані результати свідчать про перспективність подальшого дослідження інгібіторів теломерази класу стирилціанінів. Експериментальні дані щодо інгібувальної активності, разом із результатами моделювання, є основою для хімічної оптимізації структури інгібіторів.

DETECTION OF NEW PROTEIN TARGETS OF THIAMINE

MEZHENSKA O.O., REBRIEV A.V., PARKHOMENKO Yu.M.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: o.mejen2012@gmail.com

We are still far from full information about the mechanisms of vitamin B₁ (thiamine) involvement in the vital processes in cells. The detailed analysis of

thiamine (and its biologically active derivatives) role in metabolism regulation leads to the conclusion that the systemic effects of thiamine are not limited to the

common action of vitamin B₁ as thiamindiphosphate (TDP). Among other things, those effects can be caused by the interaction of thiamine or its derivatives with noncanonical thiamine-dependent proteins. The studies of many research groups with using a model of thiamine deficiency in the body revealed changes in more than 200 proteins, including changes in various signaling cascades responsible for the cells living cycles in different conditions.

In the late 80's of the XX century, thiamine binding protein (TBP) was detected in synaptosomal membranes' protein extracts and partially purified using affinity chromatography with thiamine as a ligand (t-AS) and subsequent gel filtration. TBP has thiamine phosphatase (in particular, thiamine triphosphate) activity. This protein is still not identified at the molecular level. The aim of this study was to identify the TBP. Our further research in this field has shown that a large number of proteins contains in the eluate from t-AS. In this work, we used methods such as mass spectrometry for protein identification (MS) and bioinformatic analysis methods. Some of the detected proteins are mentioned in publications as those that change under experimental thiamine deficiency conditions or which are involved in the neurodegenerative processes development. Proteins that were not previously considered as thiamine-dependent were found among the identified ones. Each protein specificity of binding to thiamine requires further research. The composition analysis of this proteins array is quite interesting.

Among the most interesting results, the fact that the proteins, which belong to the cluster of the nicotine type acetylcholine receptor (nAChR cluster), are eluted from the t-AS. Earlier it was known that one of these proteins (namely, Receptor-associated protein of the synapse (rapsin) (Rapsn)) is phosphorylated with using thiamine triphosphate (TTP) as the specific donor of

the phosphate group. In addition to rapsin, our MS results found in the t-AS eluate the following proteins of the nAChR cluster: Agrin (Agrn); Tyrosine-protein kinase Abl1; Low-density lipoprotein receptor-related protein 4 (Lrp4); Muscle, skeletal receptor tyrosine-protein kinase (Musk); Protein farnesyltransferase/geranylgeranyltransferase type-1 subunit alpha (FNTA); DnaJ heat shock protein family (Hsp40); Src Kinase-Associated phosphoprotein 1 (Skap1) (Proto-oncogene c-Src); Tyrosine-protein kinase CSK (C-Src kinase) and α 3- and Δ -subunits of nAChR. One of the tasks was to determine which of the proteins is binding directly to the thiamine. The docking of thiamine to the Agrin-Lrp4 complex revealed a pocket for binding to thiamine. This pocket is located between the two proteins in the binding site. For this reason, we hypothesized that thiamine could serve to stabilize this complex during the collection and operation of the nAChR cluster.

On the other hand, a protein that has three types of activity, namely: lipid hydrolase (lipase), polyphosphate hydrolase (polyphosphatase) and malate dehydrogenase was also detected in the eluate from t-AS. This protein is Gastric triacylglycerol lipase (Lipf), which functionally can be linked to Lrp4. In addition, the MS showed the presence of Gap junction alpha-1 protein (Connexin-43) in eluates, which, according to the most recent data, is responsible for the transport of NAD/NADH through the cell plasma membrane. Taking the above-mentioned into account (as well as the fact that malate dehydrogenase activity is constantly detected in t-AS eluates, and MDH is a NAD-dependent enzyme), it can be assumed that nAChR is involved in the regulation of the NAD/NADH transport via cell plasmalemma and the involvement of thiamine or its biologically active derivatives in this process. All these results require further experimental verification.

CALIX[4]ARENE C-107 EFFECT ON KINETIC PROPERTIES OF Na⁺,K⁺-ATPASE OF SPERMATOOZOA OF MEN WITH DIFFERENT FORM OF PATHOSPERMIA

MESKALO O.I., FAFULA R.V., VOROBETS Z.D.

DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: roman_fafula@ukr.net; kaf_medicalbiology@meduniv.lviv.ua

Calix[4]arenes attracted more and more attention in recent years. Due to their ability to form supramolecular complexes with biologically important molecules and ions, they affect biochemical processes. Na⁺,K⁺-ATPase plays a crucial role in sperm physiology. The search for effective inhibitors and activators of Na⁺,K⁺-ATPase is important from both fundamental and practical point of view. Specifically, such studies may be useful for the development of

potential pharmacological agents for the modulation of sperm motility.

The aim of present work was to evaluate the calix[4]arene C-107 effect on the dependence of Na⁺,K⁺-ATPase activity in spermatozoa of fertile (normozoospermia) and infertility men on the ATP concentration.

It was shown that an increase in ATP level in the incubation medium in the concentration range from

0.1 to 5.0 mM led to an increase in enzyme activity of sperm Na^+, K^+ ATPase (in conditions of constant MgCl_2 concentration – 5 mM) with the plateau at 3 mM ATP. The effect of three concentrations of calix[4]arene C107 (10, 50 and 100 nM) on this concentration dependence was studied. In all cases, a decrease in sperm Na^+, K^+ ATPase activity with varying degrees was observed. The dependences of enzyme activity on ATP concentration were similar to dependence without calix[4]arene C107, however, the plateau level of Na^+, K^+ ATPase activity decreases as the calixarene concentration increases. Similar concentration dependences were obtained for oligozoospermic, asthenozoospermic and oligoasthenozoospermic samples.

The half-inhibition coefficient determined by ATP (K_{ATP}) and Hill coefficient (n_H) were calculated using Hill's plot (equation $\lg[(A_{max} - A)/A] = n_H \lg K - n_H \lg [S]$) for all studied groups. Calculated mean values of half-inhibition coefficient K_{ATP} and Hill coefficient n_H for normozoospermic samples in the presence of different concentrations of calix[4]arene C107 did not differ from control values without effector in the incubation medium. The Hill coefficient n_H indicates the positive cooperative effect of Na^+, K^+ ATPase activity dependence on ATP concentration, which was almost unchanged in the presence of calix[4]arene C107 in different concentrations. Since calix[4]arene C107 inhibits sperm Na^+, K^+ ATPase activity with respect to control and does not change half-inhibition coefficient determined by ATP and co-operation of enzymatic reaction to ATP (K_{ATP} and n_H were unchanged), it is obvious that

inhibition by calix[4]arene C107 in normozoospermic samples occurs by a decrease in the maximum reaction rate, that is V_{max} of ATPase reaction. For oligo- and asthenozoospermic samples the Hill coefficient n_H was almost twice lower in the presence of 100 nM calix[4]arene C107 in the incubation medium compared to control. These values of Hill coefficient ($n_H > 1$) indicate the positive cooperative effect of Na^+, K^+ ATPase activity dependence on ATP concentration in pathospermic samples obtained from infertile men. Changes in values of n_H might indicate subunit changes of enzyme structure under increasing concentration of ATP in the incubation medium. The reaction rate (V_{max}) of ATPase reaction significantly decreases as calix[4]arene C107 concentration in the incubation medium increases.

It is assumed that obtained experimental data may be important to clarify membrane mechanisms of ions exchange and homeostasis in spermatozoa in normal and pathological states since they explain the inhibitory effect of calix[4]arene C107. In addition, our data can be useful for the development of potential pharmacological agents for modulating sperm motility, specifically to improve the sperm motility of asthenospermia patients or to create new spermicidal compounds. In particular, the effect of a number of calix[4]arenes is currently being studied not only on the ATPase system, but also on the sperm motility. We assume that calix[4]arene acting on membrane-bound proteins can lead to a change in sperm motility, which is extremely relevant in particular for urology and andrology.

DUAL INHIBITION OF TOPOISOMERASE I AND TELOMERASE *IN VITRO* BY NEW POLYSUBSTITUTED ACRIDINE DERIVATIVES

NEGRUTSKA V.V., ALEXEEVA I.V., KOSTINA V.G., LYSENKO N.A., DUBEY I.Y.
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: v.v.negrutsk@imb.org.ua

A modern anticancer strategy is based on the design of bioactive compounds interacting with molecular targets specific for tumor cell. A number of enzymes of nucleic acid biosynthesis, including topoisomerase I (TopoI) and telomerase, are tumor-associated targets for antitumor drugs.

Topoisomerase is responsible for the process of DNA relaxation, i.e. the enzyme changes the topological state of DNA during its replication, transcription, recombination and repair. Due to a high level of expression in tumor cells, TopoI is a well-established molecular target for antitumor drugs. The new antitumor approach is based on targeting the telomerase, an enzyme performing the synthesis of telomeric DNA. The majority (85-90%) of tumors exhibit high levels of telomerase activity, whereas normal somatic cells are

devoid of it. Telomerase inhibition results in the apoptosis of tumor cells.

Small molecules may inhibit topoisomerase via the binding to duplex DNA or DNA-enzyme complex. The majority of telomerase inhibitors act via the indirect mechanism based on their binding to telomeric DNA quadruplexes, specific four-stranded structures formed upon the folding of some guanine-rich sequences; a relatively limited number of direct inhibitors interacting with telomerase active site is known. A variety of compounds, usually based on condensed heteroaromatic systems, are able to specifically inhibit topoisomerase I or telomerase.

Multitarget approach is a promising new strategy in drug design. As both TopoI and telomerase are biological targets for antitumor agents, the search for

compounds simultaneously inhibiting these two enzymes may lead to the development of more potent antitumor agents, including those for the treatment of drug-resistant tumors.

We have developed a series of polysubstituted acridine derivatives with high inhibition activity against Topol and telomerase *in vitro*. In addition to tricyclic acridine core known to efficiently bind to duplex and quadruplex DNA, compounds contain at least two basic substituents that can be protonated under physiological conditions and thus interact with anionic DNA phosphates (or acidic groups of the enzymes), as well as hydrophobic fragments and small substituents (methyl, methoxy, Cl) modulating the biological activity.

Biological screening of the library of compounds has been performed to identify the inhibitors of two enzymes. Topol inhibitors have been studied in the test system based on the relaxation of supercoiled pBR322 plasmid DNA *in vitro*. TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol) *in vitro* assay has been used to evaluate the telomerase inhibition activity of new compounds

A series of potent inhibitors of topoisomerase and telomerase active at low micromolar concentrations have been found, with IC_{50} in the range 1.5–5 μ M. The specific configuration of substituents resulted in compounds with good specificity for individual enzymes, as well as dual inhibitors of Topol and telomerase of comparable efficiency. In particular, acridine derivatives containing two pyridyl fragments at C4 and C5 positions of acridine (derivatives of acridine-4,5-dicarboxylic acid) act as specific telomerase inhibitors and do not affect Topol at working concentrations.

Efficient dual inhibitors have been found to have high antiproliferative activity in the several tumor cell cultures (MCF-7, HeLa and U87MG lines). They are active at low micro- and nanomolar concentrations, with EC_{50} for the most efficient compounds to be in the range 200–750 nM in standard MTT assay. Thus, a reported approach involving dual topoisomerase I and telomerase inhibition demonstrates encouraging results and will be further developed.

This research was in part supported by the NAS of Ukraine program "Molecular and Cellular Biotechnologies for Medicine, Industry and Agriculture" (grant No. 43/19).

ІЗОФОРМИ ТРАНСЛЯЦІЙНОГО ФАКТОРА eEF1A: СТРУКТУРНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.

НОВОСИЛЬНА О.В.¹, БОНДАРЧУК Т.В.¹, ФАТАЛЬСЬКА А.²,
ВІСЛОВУХ А.А.¹, ДАДЛЕЗ М.², НЕГРУЦЬКИЙ Б.С.¹

¹ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ І БІОФІЗИКИ ПАН, ВАРШАВА, ПОЛЬЩА;

e-mail: negrutskii@imbg.org.ua

Дві ізоформи фактора елонгації трансляції вищих еукаріотів демонструють 97% гомологію амінокислотних послідовностей і ідентичні функції у трансляції. Їх присутність в різних тканинах організму є взаємовиключною: ізоформа eEF1A1 експресована в усіх клітинах, крім міоцитів, кардіоміоцитів, нейронів та ще деяких високоспеціалізованих клітин, де присутня виключно ізоформа eEF1A2. Існування двох ізоформ спостерігається в основному у eEF1A1-специфічних ракових тканинах, в яких починається нерегульована надекспресія eEF1A2. Існує велика кількість доказів того, що надекспресований в таких тканинах eEF1A2 є онкогенним чинником, але онкогенність, схоже, потребує присутності неонкогенної ізоформи eEF1A1, оскільки у тканинах, де присутня виключно ізоформа eEF1A2, її онкогенної дії не виявлено. Природа і механізми онкогенності eEF1A2 невідомі, що утруднює розробку специфічних інгібіторів, які б не діяли на альтернативну ізоформу eEF1A1. Отже, були започатковані дослідження, спрямовані на пошук і аналіз відмінностей у структурі і функціях двох ізоформ.

У доповіді представлені дані декількох біофізичних методів, що свідчать про істотну різницю просторової організації eEF1A1 і eEF1A2. Ці відмінності охарактеризовані на молекулярному рівні за допомогою методу воднево-дейтерієвого обміну із наступною мас-спектрометрією. Визначені конкретні ділянки білкових молекул, які залучені до ізоформоспецифічних конформаційних перебудов, тобто мають різну конформацію у eEF1A1 та eEF1A2.

Із функціонального боку, визначений один із можливих механізмів контролю тканино-специфічної експресії eEF1A2, пов'язаний з мікроРНК miR-663 та miR-744, що може бути порушений у ракових клітинах. Представлені також експериментальні докази різної здатності двох ізоформ взаємодіяти із деякими протеїнами, включаючи сигнальні.

Зроблено висновок, що, незважаючи на подібні амінокислотні послідовності та функції у трансляції, ізоформи eEF1A1 і eEF1A2 дуже відрізняються за просторовою організацією та, завдяки цьому, за здатністю взаємодіяти із протеїнами-парт-

нерами та різними РНК, що є основою для їх альтернативної участі в нетрансляційних процесах, зокрема пов'язаних із онкогенезом. Визначення

конформаційно відмінних ділянок структури ізоформ забезпечує фундамент для пошуку специфічних інгібіторів онкогена eEF1A2.

ЕКЗОМЕТАБОЛІТИ АНТАГОНІСТИЧНО АКТИВНИХ ШТАМІВ *BACILLUS* З ГЛИБОКОВОДНИХ ДОННИХ ВІДКЛАДЕНЬ ЧОРНОГО МОРЯ

ОСТАПЧУК А.М., ШТЕНІКОВ М.Д., ЛУЖЕЦЬКИЙ А.М., ІВАНИЦЯ В.О.

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;

ІНСТИТУТ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ГЕЛЬМГОЛЬЦА ЗЕМЛІ СААРЛАНД, СААРБРЮККЕН

e-mail: shtenikovn@gmail.com

Пошук раніше невідомих вторинних метаболітів є однією з головних прикладних задач біохімії мікроорганізмів, зокрема бактерій. Це дозволяє вирішити як ряд прикладних проблем, так і фундаментальних питань біології прокаріот. Особливо цікавими такі дослідження є у відношенні мікроорганізмів, що походять з мало досяжних та незвичайних біотопів. Мета роботи полягала у виявленні нових для науки вторинних метаболітів у культуральній рідині антагоністично активних штамів роду *Bacillus*, ізолюваних з глибоководних донних відкладень Чорного моря.

Як матеріали дослідження використовували більше 100 штамів споротвірних факультативно-анаеробних бактерій, ізолюваних із глибоководних донних відкладень Чорного моря. Відбір проб проводили у 2011 році в ході експедиції на судні "Метеор" Бременського університету. Після визначення антагоністичної активності по відношенню до тест штамів було відібрано найбільш активні ізоляти *Bacillus subtilis* 4, *Bacillus megaterium* 14, *Bacillus subtilis* 52. Для визначення спектра екзо-метаболітів їх вирощували на тріптон-соєвому бульйоні, екзо-метаболіти екстрагували етилацетатом та бутанолом. Органічні екстракти для кожного штамів були проаналізовані з використанням рідинної хромато-маспектрометрії для ідентифікації спектрів метаболітів. Кожна отримана фракція була протестована на антимікробну активність. Активні фракції також досліджували методом рідинної хромато-маспектрометрії.

Виявлені в екзо-метаболомі сполуки можна поділити на дві групи: такі, що вже відомі для представників роду *Bacillus*, та нові, як для даного роду, так і для прокаріот взагалі. Серед сполук першої групи для всіх штамів виявлено циклічні ліпопептиди, представлені серіями сурфактинів та фенгіцинів, до останніх належать так звані пліпастатици. Ітурини, які являють собою третю з великих родин ліпопептидів бацил, та їх аналог не було виявлено. В культуральній рідині *Bacillus subtilis* 4 виявлено лінійні ліпопептиди родини гагеостатинів, які недавно відкриті як метаболіти *B. subtilis* з антигрибковою активністю. Сполуки другої групи досліджених штамів були дуже різноманітні. Прикладами таких сполук є ауреїни (антимікробні пептиди, виділені з шкірних залоз амфібій роду *Littoria*), виявлені лише у штаму *Bacillus subtilis* 52, ферхромон (продукт покрито насінної рослини *Ferula communis*), виявлений у культуральній рідині штаму *Bacillus subtilis* 4. Для ряду сполук можна припустити, що їх асоціація з евкаріотними "продуцентами" помилкова та їх справжнім джерелом є бактерії-симбіонти, якими, зокрема, можуть бути бацили; таке пояснення виглядає особливо логічним у випадку ряду сполук, які відомі в якості продуктів метаболізму губок. Багато продуцентів фармацевтично-значущих вторинних метаболітів, зокрема таких, що належать до роду *Bacillus*, було виділено саме з цих гідробіонтів.

Виявлена різноманітність та незвичних для прокаріот сполук потребує пояснення, для якого потрібні подальші біохімічні та геномні дослідження.

НОВІ МОЖЛИВОСТІ ДЛЯ ПОТЕНЦІЙНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ВІДОМОГО БІОЦИДУ ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИН ГІДРОХЛОРИДУ (ПГМГ) У КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

ПАЛІЄНКО К.О.¹, ВЕКЛІЧ Т.О.¹, ШТАТУРСЬКИЙ О.Я.¹, ШКРАБАК О.А.¹,
ПАСТУХОВ А.О.¹, ГАЛКІН М.О.¹, КРИСАНОВА Н.В.¹, ЧУНІХІН А.Ю.¹,
РЕБРІЄВ А.В.¹, ЛИСИЦЯ А.В.², БОРИСОВА Т.А.¹, КОСТЕРІН С.О.¹

¹ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²РІВНЕНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ГУМАНІТАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;

e-mail: olegshatursky@biochem.kiev.ua;

Дія широко відомого катіонного біоциду, виробництва приватної компанії Termit polymers production (Рівне, Україна), що належить до великого сімейства гуанідинових полімерів, полігексаметиленгуанідин гідрохлориду (ПГМГ) була перевірена на мембранах клітин гладеньких м'язів свинячої матки, синапсом нервових терміналей мозку щурів, тромбоцитах крові щурів та модельних фосфоліпідних мембранах. Показано, що ПГМГ блокує активність Na^+ , K^+ -АТРази плазматичної мембрани гладеньких м'язів на $82,2 \pm 0,9$ % у концентрації 7 мкг/мл, тоді як дозозалежна деполяризація синапсом і тромбоцитів стає помітною лише після додавання 100-500 мкг/мл біоциду. Шляхом порівняльного аналізу даних мас-спектрометрії (MALDI-TOF і PDMS-TOF), віскозиметрії, динамічного світлорозсіювання та модельних фосфоліпідних мембран визначена наявність олігомерів ПГМГ з різною кількістю повторів однакових структурних елементів (8–16), які утворюють K^+ -селективні потенціалозалежні пори у вільній від стеролів фосфоліпідній мембрані, що вміщує фосфатидилета-

ноламін при концентрації ПГМГ в водно-сольовому середовищі 1 мкг/мл.

Хоча ексайтотоксичність, яку зумовлює ПГМГ, може призвести до розумових розладів, інсульту, аутизму, захворювання Альцгеймера, склерозу, тощо, отримані нами результати дозволяють рекомендувати ПГМГ для досліджень з метою подальшого використання у медичній практиці для лікування фенілкетуренії, яку пов'язують зі зниженням вивільнення глутамату.

Значне збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} у гладенькій мускулатурі, що виникає після додавання у зовнішньоклітинне середовище ПГМГ також дозволяє припустити можливість застосування біоциду для лікування дисфункцій скорочення і розслаблення гладенької мускулатури, пов'язаних із передчасними або утрудненими пологами, післяпологовою кровотечею, маточною атонією, гіпер- та гіпотонією, оскільки розлади нормального функціонування матки часто виникають унаслідок змін активності катіонних транспортерів або скорочувальних протеїнів клітин гладенької мускулатури матки.

EFFECT OF SCAFFOLD PROTEIN ITS1 ON INTERACTIONS AND AGGREGATION PROPERTIES OF RNA-BINDING PROTEIN SAM68

PANKIVSKIY S.V., SENCHENKO N.V., BUSKO P.B., RYNDITCH A.V.
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCE OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: s.v.pankivskiy@imb.org.ua

Scaffold proteins play an essential role in the coordination of cellular processes in space and times. In particular, ITS1 is a scaffold protein involved in the regulation of signaling processes in the cell cytoplasm. The alterations of ITS1 gene expression are associated with oncogenic transformations and neurodegenerative diseases. Recent studies showed that ITS1 is present in the cellular nucleus and interacts with RNA-binding protein SAM68. At the moment, the role of the ITS1-SAM68 interaction in normal and pathological processes is unknown. As a result, the current work aimed to analyze the structural

details of the interaction and to identify the possible influence of ITS1 on SAM68 functioning.

GST pull-down assay was used to obtain the interaction between proteins of interest. In brief, GST-fused SH3 domains of target proteins were used to precipitate endogenous SAM68 or its truncated forms HEK lysate, whereas Western blot analysis was used to detect the proteins. In addition, the assay was used to check if SH3-containing proteins could compete for the binding to SAM68. For the purpose, recombinant SAM68 was incubated with constant amounts of GRB2 and increasing concentrations of ITS1 SH3 domains

and vice versa. The precipitated proteins were visualized using Western blot analysis. Finally, sedimentation assay was used to analyze the formation of SAM68 aggregates in the presence of ITSN1. In brief, following the incubation, a mix of recombinant ITSN1 and SAM68 was centrifuged at low speed. The protein content in pellet and supernatant fractions was estimated by SDS-PAGE and Coomassie staining.

Using expression constructs encoding truncated forms of SAM68, it was found that ITSN1 SH3 domains precipitated N-terminal fragment of SAM68. Next, it was shown that the ubiquitous and neuron-specific isoforms of ITSN1 SH3A domain precipitated full-length SAM68 and its N-terminal fragment, confirming the interaction between SH3A domain of ITSN1 and the class II proline motif of SAM68. Using purified recombinant proteins SAM68, GRB2 and tandem of ITSN1 SH3 domains, it was found that GRB2 impaired the interaction between SAM68 and ITSN1 whereas high concentrations of ITSN1 SH3 domains displaced

GRB2, revealing the competition between ITSN1 and GRB2 for the binding to SAM68. Finally, using sedimentation assay, it was shown that ITSN1 facilitated solubilization of SAM68 aggregates *in vitro*, demonstrating that SH3 domains could impair interactions between SAM68 low-complexity regions. The data is in line with the previous results showing that the accumulation of overexpressed ITSN1 in HeLa cells nuclei abolished the formation of SAM68 nuclear bodies.

The current work demonstrated that ITSN1-SAM68 interaction is mediated by the SH3A domain of ITSN1 and the N-terminal low-complexity region of SAM68 which can also interact with other SH3-containing proteins involved in the cellular signaling whereas, at high concentrations, ITSN1 induces the dissociation of SAM68 aggregates. The results suggest that scaffold protein ITSN1 could regulate SAM68 functioning as a part of signaling crosstalk between cytoplasm and nucleus.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОХІДНИХ ХІТИНУ НА ФІБРИНОГЕН

ПЕТИК А.В.¹, УШКАЛОВ В.О.¹, ЧЕРНИШЕНКО Т.М.², ГОРНИЦЬКА О.В.²

¹НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: olgagorn67@gmail.com

Здатність хітозану впливати на систему гемостазу відома досить давно. Інтерес до цієї сполуки та її похідних особливо зріс, коли було показано їхню здатність спричинювати зсідання крові. Проте дискусія щодо механізму його впливу на систему зсідання крові триває досі. Метою роботи було з'ясування механізму утворення згустку під дією похідних хітину.

В роботі було використано біохімічні методи дослідження: одержання фібриногену, похідних хітозану, електрофорез у ПААГ, вестерн-блотинг, ELISA, визначення активованого частково тромбопластинового часу зсідання крові (АЧТЧ), визначення протромбінового часу зсідання крові (ПЧ), визначення часу утворення згустку.

Показано, що карбоксиметилхітин, хітозан, лактат-хітозан рівною мірою спричинюють утворення згустку в модельних системах цільної крові, плазми крові та розчині фібриногену. Взаємодія лактат-хітозану з молекулами фібриногену призводить до подовження часу зсідання плазми крові у тестах ПЧ і АЧТЧ (в 1,2 і 1,3 раза відповідно). За присутності карбоксиметилхітину подовження часу зсідання є незначним, а у випадку хітозану час зсідання є відповідним контролю.

Таким чином для утворення згустку хітозан не потребує активації факторів системи зсідання крові, що підтверджується відсутністю новоутвореного фібрину. Тож наймовірніше внаслідок дії хітозану утворюється просто осад фібриногену. Практичну відсутність в осаді фібрину було підтверджено імунологічно за допомогою моноклональних антитіл до фібриногену та фібрину.

Враховуючи високу спорідненість хітину та його похідних до кальцію, було перевірено можливість осадження фібриногену внаслідок конкуренції за іони кальцію. Показано, що, у разі додавання до розчину фібриногену хлориду кальцію у різних концентраціях, останній дозозалежно пригнічував ефекти хітозану.

Таким чином, під дією хітозану утворюється осад фібриногену внаслідок дестабілізації його молекули через втрату кальцію. Відсутність у такому згустку продуктів деградації фібрину виключає можливість належної активації фібринолітичної системи та фізіологічну деградацію згустку. Це робить недоцільним використання кровоспинних засобів на основі хітозану в клінічній практиці. Певною мірою цей висновок корелює з досвідом використання CELOX у тактичній медицині перших років війни.

ФОРМУВАННЯ ТА ГІДРОЛІЗ ФІБРИНОВОГО ЗГУСТКУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЛЮДИНИ ЗА ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ

ПИРОГОВА Л.В.¹, ЧЕРНИШЕНКО В.О.¹, КОЛЕСНИКОВА І.М.¹, ПЛАТОНОВА Т.М.¹, СТОРОЖУК О.Б.², СТОРОЖУК Л.О.², КОСТЮЧЕНКО О.П.¹, ЧЕРНИШЕНКО Т.М.¹, СТОРОЖУК Б.Г.², МАКОГОНЕНКО Є.М.¹

¹ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;

e-mail: lyudmilasy@gmail.com

Формування та гідроліз фібринового згустку лежить в основі процесу тромбоутворення, яке в нормі забезпечує зупинку кровотечі при порушенні цілісності стінок судини, а за патологічних станів – є головною причиною смертності осіб працездатного віку в світі. Тому метою роботи була кількісна характеристика процесу формування та гідролізу фібринового згустку в плазмі крові людини за деяких патологій та оцінка зв'язку кількісних параметрів цього процесу з концентрацією молекулярних маркерів активації системи гемостазу.

Досліджено 88 зразків плазми крові хворих на хронічну хворобу нирок, 25 зразків плазми крові пацієнтів із інфарктом міокарду, 10 зразків плазми крові пацієнтів із інсультом, 96 зразків плазми крові хворих зі стенокардією та стенозом, 8 зразків плазми крові пацієнтів із захворюваннями тазостегнового суглоба. Утворення та руйнування фібрину в плазмі крові вивчали шляхом аналізу кривих залежності величини поглинання світла згустком, що утворюється і руйнується в плазмі крові у присутності АЧТЧ реагенту і тканинного активатора плазміногену (t-РА). Визначали потенціал згортання (ЗП), фібринолітичний потенціал (ФП), загальний гемостатичний потенціал (ЗГП), а також швидкість утворення та латеральної асоціації протофібрил тощо. Концентрацію у плазмі крові хворих фібриногену, розчинного фібрину (РФ) і D-димеру визначали із застосуванням імунодіагностичних методів, розроблених у Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Вміст протеїну С у плазмі крові хворих визначали за допомогою ензимного активатора та хромогенного субстрату S2236.

Виявлено подовження лаг-періоду зсідання плазми у хворих на гострий інфаркт міокарда, у пацієнтів із інсультом та з захворюваннями тазо-

стегнового суглоба у 2,3, 7,2 і 1,5 раза відповідно. Подовження лаг-періоду за інших досліджених патологій не спостерігали.

Обчислюючи відношення потенціалу згортання та фібринолітичного потенціалу (ЗП/ФП) встановили, що за інсульту, попри виявлені нами патологічні зміни, система гемостазу ефективно підтримує баланс між зсіданням крові та фібринолізом (ЗП/ФП=4,0±1,9, значення в плазмі крові донорів: 4,1±0,1), тоді як при гострому інфаркті міокарда та хронічній хворобі нирок цю рівновагу суттєво зміщено в бік фібринолізу – показник становить 2,5±1,3 та 3,1±0,5 відповідно, а за стенокардії навпаки – в бік коагуляції (ЗП/ФП=6,85±1,2).

З метою пошуку зв'язку між параметрами гемостатичного потенціалу та концентраціями молекулярних маркерів проводили парний кореляційний аналіз за методом Пірсона у групі у хворих на хронічну хворобу нирок з високою концентрацією розчинного фібрину (понад 4 мкг/мл). Виявлено зростання сили кореляційного зв'язку між вмістом протеїну С та фібринолітичним потенціалом (-0,93), потенціалом згортання (-0,81) та вмістом фібриногену (0,73). Це вказує на існування чітких кореляційних зв'язків між системами зсідання крові, фібринолізу і антикоагулянтною системою протеїну С.

Отже, вперше показано, що кількісні параметри турбідиметричної кривої, яка відображає зміни стану плазми під час формування та гідролізу фібринового згустку, залежать від індивідуальних параметрів системи гемостазу, які визначають у діагностичних тестах (фібриноген, розчинний фібрин, D-димер, протеїн С). В роботі розроблено підходи для аналізу зв'язку між цими молекулярними маркерами та параметрами загального гемостатичного потенціалу.

ВПЛИВ МЕХАНІЧНОГО НАПРУЖЕННЯ НА СКЛАД ТА МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕРМИ ШКІРИ ЦУРІВ

ПОНОМАРЕНКО О.М., КОСТИНА Т.В., РЕМНЬОВА Н.О.

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;

e-mail: Ponomarenko.ahn@gmail.com

Фібробласти шкіри у відповідь на механічну стимуляцію можуть активно змінювати форму та запускати каскад метаболічної відповіді. Форма,

склад та розмір комірок міжклітинного матриксу (МКМ), в яких можуть функціювати прикріплені фібробласти, впливає на особливості відповіді

клітин на подразник. Механічне напруження вздовж силових ліній викликає розтягування клітин у довжину, в той час як МКМ додатково тисне на мембрани в перпендикулярному напрямі, що спричиняє ще більші зміни в цитоскелеті фібробластів. Такі зміни архітектури внутрішньоклітинного цитоскелета клітини повинні запустити адаптаційний механізм, що, можливо, пов'язано зі зміною складу та морфометричних властивостей навколишнього МКМ.

Метою роботи було дослідження залежності вмісту біополімерів сполучної тканини і гісто-морфологічних характеристик дерми шкіри від рівня механічного напруження.

Дослідження проведені на 3 місячних білих щурах. Шкіру зі спини інкубували у поживному розчині за дії розтягуючого механічного напруження в діапазоні 0–2,4 МН/м². Частину зразків шкіри фіксували розчином формальдегіду з подальшим морфологічним дослідженням зразків. У тканинах визначали вміст загального гідроксипроліну та незв'язаного колагену. Концентрацію загальних, сульфатованих і нессульфатованих ГАГ досліджували після ензимного гідролізу тканин та іонообмінної хроматографії. Вміст сульфат йонів в сульфатованих ГАГ (сГАГ) оцінювали турбодиметрично.

Механічне напруження до 0,5 МН/м² спричинювало збільшення гіперхромності профарбованих елементів сполучної тканини дерми шкіри та помірне збільшення площі МКМ. Так інтенсивність забарвлення колагенового компонента МКМ за Ван-Гізеном у порівнянні з контролем збільшувалась в 1,5 раза, в той час як інтенсивність забарвлення вуглеводних компонентів за ШИК-реакцією збільшувалось в 1,4 раза. Подальше збільшення навантаження (0,12–0,24 МН/м²) призводило до деструктивних змін, що проявлялось у значному потоншенні волокон та їх розривах. Інтенсивність

забарвлення волокон МКМ за Ван-Гізеном зменшувалось до показників контрольної групи, а кількість загальних та сГАГ за інтенсивністю забарвлення МКМ зростала. Це вказує на те, що при помірному механічному навантаженні відбувається адаптивне накопичення основних біополімерів сполучної тканини. Подальше механічне навантаження призводить до деструктивних змін в МКМ та викликає перерозподіл в питомому вмісті компонентів МКМ сполучної тканини дерми шкіри.

Дослідження складу сполучної тканини шкіри за дії механічного навантаження в діапазоні (0,25–0,5 МН/м²) призводило до збільшення вмісту основних біополімерів. Так, вміст гідроксипроліну, що відображає накопичення колагену та еластину, та загальних ГАГ, в порівнянні з контролем збільшувалась в 1,3 та 2,0 раза відповідно. Концентрація вільного колагену також значно збільшувалась, що вказує на адаптаційну інтенсифікацію процесів синтезу біополімерів. Подальше зростання механічного напруження призводило до зменшення показників вмісту гідроксипроліну, сГАГ та гіалуронату до рівня контрольної групи. Однак, рівень сульфатованості сГАГ під час граничних навантажень майже не змінювався, що вказує на значну стабільність постсинтетичної модифікації вказаної групи вуглеводів.

Механічне напруження в помірному діапазоні призводить до збільшення вмісту основних біополімерів сполучної тканини та площі МКМ, що має адаптивний характер та пов'язане з деформацією фібробластів і збільшенням механічної стабільності тканини в цілому. Подальше збільшення навантаження до 0,24 МН/м² зумовлює помітні деформаційні зміни за морфологічними показниками та зниження питомого вмісту біополімерів, що в свою чергу може бути викликано деструктивними змінами та активацією деградації біополімерів.

ESTABLISHING OF THE CHIRAL SELECTIVITY IN TRANSLATION APPARATUS: THE ROLE OF CIS- AND TRANS-EDITING FACTORS

RYBAK M.Yu., RAYEVSKY A.V., TUKALO M.A.

INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: mariia.rybak@gmail.com

Stereospecificity of amino acids is essential for correct protein biosynthesis. Naturally, only L-enantiomers are present in proteins. Translation machinery involves several checkpoints for quality control. The first step is self-control by aminoacyl-tRNA-synthetases (aaRS). These enzymes provide amino acids activation and attach them to cognate tRNAs. To achieve the accuracy of protein synthesis, an editing mechanism must occur in the case of aaRS mischarging tRNA with a non-cognate substrate. The aaRSs, ha-

ving an editing domain in their structure (*cis*-editing factors), can correct their own mistakes. Both class I – ValRS, LeuRS, LeuRS, TrpRS – and class II aaRSs superfamily members – ThrRS, ProRS, AlaRS, PheRS – represent editing activity against incorrectly formed substrates. The phylogenetic analysis of aaRSs showed that correct correspondence 'amino acid-codon' was established by the proto-tRNAs recognition system. However, the proper discrimination of cognate from noncognate tRNAs by aaRSs is a

complex process, giving the potential for horizontal transfer of aaRS genes in evolution. Both theoretical and experimental studies on aaRSs confirm the hypothesis of coevolution of the genetic code. Therefore, the earliest point was the code for Ala and among the group of the latest ones, which was added to the genetic code, Tyr appeared.

In our study we compared *T. thermophilus* AlaRS and TyrRS in their stereospecificity context as the evolutionary early and late representatives of the aaRSs superfamily, respectively. [³²P]-labelled-substrates (ATP, PPI or tRNA) were used in the experiments of steady-state kinetics. At least three measurements for each procedure were averaged. Our data revealed the phenomenon of D-Ala and D-Ser activation by AlaRS. The substrate specificity of AlaRS is approximately 1: 470 for D-Ala and 1: 180 650 for D-Ser in comparison to cognate L-Ala. These results indicate that AlaRS dimly distinguishes stereoisomers of Ala. However, TyrRS has the weakest stereospecificity among all aaRSs, it does not recognize Tyr isomers in both activation and aminoacylation steps. Discrimination factor for D-Tyr at the first one is 24 and 19 for the second one, respectively. Thus, both aaRSs

misactivate the enantiomers of their cognate amino acids.

The second checkpoint in translational control is regulation by *trans*-editing factors, free-standing enzymes, which correct the mistakes by aaRSs. Whereas, D-aminoacyl-tRNA-deacylase (DTD) is known to cleave the ester link between a D-amino acid and a tRNA molecule, we checked its editing activity against D-Ala-tRNA^{Ala}. Surprisingly, *T. thermophilus* DTD was completely inactive against those substrates in contrast to tRNA^{Ala}, charged with cognate L-Ala. To gain more insights into this deacylation paradox, we performed molecular dynamics (MD) simulations of L-Ala/D-Ala-tRNA^{Ala}, applying self-developed script and calculated all possible attacking and assisting water molecules during 5 ns simulations, presented in the active site of DTD. Analyzing total water frames for both substrates, we revealed completely unsatisfactory proportion of water molecules for D-Ala-tRNA^{Ala}, confirming our experimental data.

Consequently, we found out the catalytic efficacy of aaRSs, which are distant in their evolutionary, but similar in stereospecificity context. Our data may help to understand the scenarios of the evolution of translation system components.

КІНЕТИКА ВПЛИВУ КАЛІКС[4]АРЕНХАЛКОНАМІДІВ НА РОЗМІР ТА МЕМБРАННИЙ ПОТЕНЦІАЛ МІТОХОНДРІЙ

СИЛЕНКО А.В.¹, ШЛИКОВ С.Г.¹, КУРИЦЯ Х.І.¹, ЦАПОК Д.П.¹, БАБІЧ Л.Г.¹,
КАРАХІМ С.О.¹, ЧУНІХІН О.Ю.¹, ЄСИПЕНКО О.А.², КАЛЬЧЕНКО В.І.², КОСТЕРІН С.О.¹

¹ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: sylenkoanna@ukr.net

Каліксарени – це макроциклічні молекули, біологічна активність яких визначається хімічними групами на верхньому або нижньому вінці. У попередніх роботах, з використанням фракції мітохондрій та перфорованих дигітоніном клітин міометрія, ми показали, що калікс[4]аренхалконаміди впливають як на рівень поляризації мембран мітохондрій, так і на концентрацію Ca²⁺ у матриксі мітохондрій міометрія. Також встановлено, що 5 хвилинна інкубація мітохондрій з калікс[4]аренхалконамідами супроводжується змінами середнього гідродинамічного діаметра мітохондрій.

Метою цієї роботи було: дослідити кінетику змін діаметра мітохондрій під впливом калікс[4]аренхалконамідів з двома та чотирма халконовими залишками; на первинній культурі клітин міометрія з'ясувати, чи проникають калікс[4]аренхалконаміди у середину клітини та чи зазнає змін рівень поляризації мембран мітохондрій за інкубації з цими сполуками.

Встановлено, що інкубація мітохондрій з 10 мкМ калікс[4]аренами С-1012 та С-1011 протягом

20 хвилин супроводжувалась збільшенням гідродинамічного діаметра мітохондрій у порівнянні з контролем. Калікс[4]арен С-1011 (чотири халконові групи) мав більш потужний вплив на розмір мітохондрій у порівнянні як з контролем, так і з калікс[4]ареном С-1012 (дві халконові групи). Цікаво, що ступінь впливу досліджуваних калікс[4]аренів на діаметр мітохондрій також залежить від складу середовища інкубації: за відсутності АТФ гідродинамічний діаметр був більшим як у випадку інкубації з С-1012, так і з С-1011. Зростання гідродинамічного діаметра мітохондрій може бути результатом деполіаризації мембран мітохондрій. Отже, подальші дослідження були спрямовані на з'ясування кінетики впливу калікс[4]аренхалконамідів на поляризацію мембран мітохондрій. Проте перш ніж досліджувати це питання, ми мали переконатись, що калікс[4]аренхалконаміди проникають всередину клітини. З цією метою було синтезовано калікс[4]арен С-1070, який є флуоресцентним аналогом С-1011 із двома діазогрупами на верхньому вінці. Було доведено, що інтенсивність

флуоресценції клітин міометрія збільшується у декілька разів за інкубації з C-1070. Отже, калікс[4] аренхалконаміди проникають у інтактні клітини міометрія. Навантажені потенціал-чутливим зондом JC-1 клітини міометрія інкубували з 10 мкМ калікс[4]аренхалконамідом C-137 (дві халконові групи) протягом 20 хвилин. Графік залежності відношення інтенсивності флуоресценції зонда JC-1

у червоній та зеленій області спектра у часі мав або дзвоноподібний характер, або лінійно спадав.

Таким чином, інкубація з калікс[4]аренхалконамідами протягом 20 хвилин супроводжується зростанням середнього значення гідродинамічного діаметра мітохондрій, що корелює з ефектом калікс[4]аренхалконаміду C-137 на мембранний потенціал мітохондрії інтактних клітин міометрія.

ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ДЕФОСФОРИЛЬОВАНОГО 2'-5'-ТРИАДЕНІЛАТУ З ПРОТЕЇНОМ S100A1 ЛЮДИНИ

СКОРОБОГАТОВ О.Ю., ЖУКОВ І.Ю., ТКАЧУК З.Ю.

ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: skorobogatov.alx@gmail.com

Метою даної роботи було вивчення взаємодії 2'-5'-A₃ (2'-5'-дефосфорильованого триаденілату) з Ca²⁺-зв'язуючим протеїном S100A1 (S100 кальцій зв'язуючий протеїн A1).

Для досягнення поставленої мети було використано наступні методи: кругового дихроїзму (КД), Фур'є-трансформованої інфрачервоної спектроскопії (ФТІС), ядерно-магнітного резонансу (ЯМР) та комп'ютерного моделювання.

Статистичну обробку даних проведено із використанням t-критерію Стьюдента.

Методом КД було показано, що взаємодія 2'-5'-A₃ з S100A1 спричиняла розплітання 5 % альфа-спірального елементів протеїну та, як наслідок, їх перетворення в невпорядковані структури. Важливо, що присутність або відсутність Ca²⁺ не впливала на цей процес, що свідчить про незалежність взаємодії 2'-5'-A₃ з S100A1 від Ca²⁺.

З використанням методу ФТІС було виявлено, що зв'язування 2'-5'-A₃ з S100A1 впливає на рухливість елементів пептидного зв'язку протеїнової молекули – зв'язків C=O (так звана смуга Amide I) та N-H (так звана смуга Amide II). Порівнявши ФТІС спектри S100A1 та S100A1+2'-5'-A₃ нами було встановлено, що характерні смуги Amide I та Amide II протеїну S100A1 зміщувалися в низькочастотну область при взаємодії з 2'-5'-A₃ на 1 см⁻¹ та 3 см⁻¹ відповідно, що є свідченням перебудов елементів вторинної структури, в тому числі альфа-спіралей. Ми вважаємо, що ці дані узгоджуються та підтверджують результати щодо зменшення відсотку альфа-спіральних елементів, попередньо отримані методом КД.

На етапі вивчення взаємодії 2'-5'-A₃ з S100A1, нами було застосовано метод ЯМР, завдяки чому вдалося ідентифікувати амінокислотні залишки, хімічні зсуви яких були найбільш суттєвими. Серед

них виявилися гістидин 18, лізин 21, аспарагін 25 та лізин 25 – елементи N-кінцевої Ca²⁺-зв'язуючої амінокислотної послідовності; валін 69, глутамін 72 – елементи C-кінцевого Ca²⁺-зв'язуючого домену; глутамінова кислота 39, лейцин 41, фенілаланін 44, глутамінова кислота 91 – C-кінцевий фрагмент альфа-спіралі IV та серин 2, глутамін 3, аланін 7, валін 54, тирозин 74, треонін 82, аспарагінова кислота 87 – амінокислотні залишки, що виступають в якості елементів в складі міжмономерного інтерфейсу. Важливо, що гістидин 18, лізин 21, аспарагін 25 та лізин 25, які є лише деякими з компонентів N-кінцевої Ca²⁺-зв'язуючої амінокислотної послідовності, продемонстрували найвищі значення хімічних зсувів, на основі чого ми припустили, що саме ця ділянка протеїну S100A1 є сайтом зв'язування 2'-5'-A₃.

Останнім етапом роботи було комп'ютерне моделювання взаємодії 2'-5'-A₃ з S100A1. Для цього використовували пакет програм AutoDock Vina. Результати проведених дослідів частково слугували на користь отриманих раніше методом ЯМР даних щодо потенційного сайту зв'язування 2'-5'-A₃ на поверхні S100A1. Виявилось, що молекула 2'-5'-A₃ зв'язується на відстані в приблизно 10 ангстрем від N-кінцевого Ca²⁺-зв'язуючого домену, що може свідчити на користь впливу 2'-5'-A₃ на амінокислотні залишки в межах цієї частини S100A1.

Отже, проведені експерименти свідчать на користь того, що зв'язування 2'-5'-A₃ зумовлює структурні перебудови в структурі протеїну S100A1, суть яких в зменшенні відсотку альфа-спіральних елементів протеїну. На основі даних ЯМР та комп'ютерного моделювання, сайт зв'язування 2'-5'-A₃ знаходиться в районі N-кінцевого Ca²⁺-зв'язуючого домену.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПОЛІМЕРИЗАЦІЇ ФІБРИНУ DESAB I DESA, ЩО УТВОРЮЄТЬСЯ ПІД ДІЄЮ ТРОМБІНУ ЧИ РЕПТИЛАЗОПОДІБНОГО ЕНЗИМУ З ОТРУТИ *AGKISTRODON HALYS HALYS* АНЦИСТРОНУ Н

СОКОЛОВСЬКА Л.І., ЦАП П.Ю., МАКОГОНЕНКО Є.М., ПЛАТОНОВА Т.М.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: tsappavlo@biochem.kiev.ua

Відомо, що фібриноген є не тільки субстратом, а й інгібітором реакції полімеризації фібрину. Ми дослідили залежність швидкості складання протофібрил фібрину і швидкості їх латеральної асоціації в ході полімеризації фібрину desAB і desA, що утворюється, відповідно, під дією тромбіну чи рептилазоподібного ензиму з отрути щитомордника звичайного (*Agkistrodon halys halys*) анцистронону Н, від концентрації вихідного фібриногену. Процес полімеризації вивчали за допомогою методу турбідиметрії, заснованого на реєстрації змін розсіювання світла (з довжиною хвилі 350 нм) під час утворення згустка. Турбідиметричний метод реєстрації формування фібринового згустка дає змогу кількісно оцінити два етапи цього процесу: утворення протофібрил та їхню латеральну агрегацію. Реакційна суміш містила фібриноген – 0,2–10 мкМ; тромбін/анцистронон Н – 0,05, 0,1, 0,2 НН/мл; 0,05 М трис-НСІ буфер рН 7,4 і 0,13 М NaCl. Реак-

цію проводили за температури 37 °С. За кінетичними кривими полімеризації розраховували швидкість утворення протофібрил як величину, обернену до лаг-періоду, і швидкість латеральної агрегації протофібрил, яку визначали як тангенс кута дотичної, проведеної до найбільш крутої частини кривої. Було виявлено, що у вузькому діапазоні концентрацій фібриногену швидкість складання протофібрил і швидкість латеральної асоціації реакції полімеризації, активованої тромбіном, підкоряються рівнянню Міхаеліса–Ментен. Однак за більш високих концентрацій фібриногену швидкість реакції полімеризації значно зменшувалась і не підкорялась кінетиці Міхаеліса–Ментен. Ми показали, що швидкість полімеризації фібрину зменшується зі зростанням початкової концентрації фібриногену переважно за рахунок пригнічення першої стадії полімеризації фібрину – складання протофібрил із фібрину дезАА, що в результаті гальмує утворення фібринового згустка.

РЕАЛІЗАЦІЯ 3D-ГЕНЕТИЧНОГО КОДУ БІЛКІВ ІЗОАКЦЕПТОРНИМИ tРНК

Соколік В.В.

ДУ “ІНСТИТУТ НЕВРОЛОГІЇ, ПСИХІАТРІЇ ТА НАРКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ”, ХАРКІВ;
e-mail: v.sokolik67@gmail.com

Наразі ідея кодування в геномі інформації про тривимірну структуру протеїнів не була достатньо обґрунтованою, а тому загальноприйнятою. Це пояснюється категоричним характером відомого постулату, що в геномі кодується лише амінокислотна послідовність протеїну. Проте у цій концепції не береться до уваги характеристика пептидних зв'язків між амінокислотними залишками: мається на увазі, що вони ідентичні, але це не так. Нами була висунута гіпотеза про те, що інформація третього нуклеотиду кодонів має бути декодована у відповідний ротамер пептидного зв'язку безпосередньо тривимірною структурою ізоакцепторної tРНК (I.tРНК), а точніше, певним кутом обертання акцепторного стебла tРНК навколо своєї вісі завдяки взаємодії T і D петель в її 3D-структурі. I.tРНК для будь-якої амінокислоти відрізняються одна від одної не тільки першим нуклеотидом антикодону, але, перш за все, значенням цього кута, кратним 120°. З іншого боку, I.tРНК з синонімічними нукле-

отидами в першому положенні антикодонів для різних амінокислот повинні мати однаковий кут повороту акцепторного стебла навколо своєї вісі в 3D-структурі. Це і є механізмом трансляції інформації третього нуклеотиду кодону про ротамер пептидного зв'язку, яким амінокислота на АСС-кінці tРНК приєднується до зростаючого поліпептидного ланцюга в рибосомі.

У гіпотезі 3D-генетичного коду протеїнів вводиться поняття ротамеру пептидного зв'язку в якості основного елементу його тривимірного структурного шаблону. Три види ротамеру пептидного зв'язку при $\theta=0^\circ$ (R-ротамер), -120° (L-ротамер) і 120° (O-ротамер) відповідають трьом загальним конформерам вторинної структури: права спіраль (R_n), ліва спіраль (L_n) і β -тяж (O_n). θ -кут є кутом повороту по вісі N-CA, який задається 3D-структурою відповідної I.tРНК у момент приєднання амінокислотного залишку до пептидного ланцюга в рибосомі та фіксується самим новоутвореним пептидним

зв'язком. Загалом, декодування протеїнового структурного шаблону відбувається згідно загальної таблиці 3D-генетичного коду протеїну. Примітно, що в пулі з 200 нуклеотидних послідовностей цитоплазматичних тРНК еукаріот (tRNAab) 73 % мають в першому положенні антикодону I, C або G, які комплементарні до C/G нуклеотидів в третій позиції кодону, 20 % – U або modU для кодонів виду ХУА і тільки 7 % з Q для кодонів ХУУ. Об'єктивна передумова такого нерівномірного розподілу полягає в різній частоті кодонів, що зустрічаються і комплементарні до цих різновидів тРНК. Наприклад, для генів Human, Mouse або Drosophila частоти зустрічальності кодонів з C/G, A або U в третій позиції кодону відповідають співвідношенню 74:13:13. Впадає в око, що ХУС/G-кодони складають переважну більшість, тому не дивно, що проф. А.С. Спірін, відхиляючись від постулату синтезу протеїну у вигляді розгорнутого поліпептидного ланцюга, припустив, що в самій рибосомі поліпептид може бути синтезований у вигляді α -спіралі. Але таке узагальнення працює лише для протеїнів із закодованою спіральною структурою, винятком

з якого є β -тяжі, повороти, витки лівої спіралі, або взагалі неструктуровані протеїни.

На підставі наведених даних була створена авторська програма – Молекулярний конструктор (МС) для побудови персонального структурного шаблону будь-якого протеїну з невизначеною структурою і відсутністю гомології, виходячи з інформації, що міститься лише в нуклеотидній послідовності його мРНК. Геометричний алгоритм МС-програми включає такі компоненти: бібліотеку атомів і амінокислотних залишків у декартовій системі координат; різновиди ротамерів пептидного зв'язку; таблицю 3D-генетичного коду структурного шаблону протеїну; умови кодування конформерів вторинної структури. Для структурного шаблону протеїну МС-програма обчислює координати кожного атома, враховуючи ковалентні радіуси останніх, довжини і кратності зв'язків, а також кути між ними. В результаті, на основі декодованої інформації файлу з нуклеотидною послідовністю мРНК (вхідний файл .dne), МС виробляє вихідний файл у .pdb форматі з координатами всіх атомів реалізованого структурного шаблону протеїну і візуалізує його 3D-структуру.

9,10-ANTHRAQUINONE DITHIOCARBAMATES AS PROMISING PHARMACEUTICAL AGENTS WITH PLEIOTROPIC ACTION

STASEVYCH M.V.¹, ZVARYCH V.I.¹, NOVIKOV V.P.¹, VOVK M.V.²

¹LVIV POLYTECHNIC NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: maryna.v.stasevych@gmail.com;

²INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE OF UKRAINE, KYIV

The aim of work was the biological evaluation of 9,10-anthraquinone dithiocarbamates for antitumor, antiviral, antibacterial, antifungal, anticonvulsant activities with a determination of acute toxicity to search perspective anticancer substances with pleiotropic activity in one molecule.

The cytotoxic effects of the test compounds against cell lines Hep-2 (cells of epidermoid carcinoma of the human larynx), HeLa (cells of human cervical cancer), Raji (cells of undifferentiated human B-type lymphoblastoid from Burkitt's lymphoma), A549 (cells of human lung carcinoma), CHO (cells of Chinese hamster ovary), BL (experimental B-cell line), B95-8 (the Epstein-Barr virus (EBV)-producing marmoset B-cell line) were determined *in vitro* as CC₅₀ concentrations using the MTT method. The antiviral activity of dithiocarbamates (EC₅₀) has been investigated *in vitro* using the MTT method against strains of human adenovirus 5 serotype, herpes simplex virus type 1 and type 2 as the percentage of inhibition of reproduction of the corresponding virus. The antibacterial and antifungal activity of 9,10-anthraquinone dithio-

carbamates as minimal inhibition concentration (MIC) was investigated *in vitro* against strains of test cultures of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* and fungi *Candida tenuis* and *Aspergillus niger* using the diffusion method and serial dilution method. The compounds have been screened *in vivo* using outbreed male white mice (18–22 g) as experimental animals for their anticonvulsant potential through the PTZ test. The dynamics of the action was studied for a dose of 100 mg/kg at short (3 and 6 h) and long (24 h) time periods after a single oral administration. Acute toxicity (LD₅₀ value) in mice was determined after oral administration of the compounds. Mice were divided into groups of ten animals each and anthraquinone derivatives at single doses of 100, 250, 500 and 1000 mg/kg were administered in Tween 80/water emulsion.

It was shown that the tested compounds have good cytotoxic activity *in vitro* against the cancer Hep-2, HeLa, Raji, CHO, BL, and B95-8 cell lines. The three derivatives showed the cytotoxic effect against EBV-containing Burkitt's lymphoma cell line (Raji) in low

concentrations (<0.5 µg/ml), and one dithiocarbamate indicated cytotoxicity against EBV-producing marmoset B-cell line (B95-8). This result may indicate their direct antiviral effect against the Epstein-Barr virus. It was determined that the dithiocarbamates do not have antiadenoviral activity. It was found that one derivative has an insignificant antiviral activity against herpes virus HSV-1. The antiviral activity against herpesvirus 2 HSV-2 was found for three substances with the EC₅₀ values 75, 70 and 60 µg/ml, respectively. One dithiocarbamate with activity against herpesvirus 2 HSV-2 at EC₅₀=70 µg/ml with SI=7 was identified. Investigation of the antimicrobial activity revealed the

high active two compounds (*E. coli* MIC=3.9 µg/ml, *S. aureus* MIC=7.8-15.6 µg/ml and *M. luteum* MIC=7.8 µg/ml, *C. tenuis* MIC=0.9 µg/ml). The results of *in vivo* anticonvulsant activity using the PTZ test demonstrated five compounds with the antiseizure effect. The compounds were characterized to have acute oral toxicity in mice as moderately toxic (LD₅₀>1000 mg/kg). The correlation between the structure and each type of experimental biological activity has been established.

The obtained results of the present study revealed the perspective moderately toxic dithiocarbamate derivatives of 9,10-anthraquinone as pro

METALLOTHIONEINS - METAL CHELATORS AND SULFUR SWITCHES. TWO FACES OF “UNCONVENTIONAL PROTEINS FROM UNCONVENTIONAL ANIMAL MODEL”

STOLIAR O.B.¹, GNATYSHYNA L.L.^{1,2}, KHOMA V.V.¹, MISHCHUK O.V.³

¹VOLODYMYR HNATYUK TERNOPIL NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

²I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

³ROWAN UNIVERSITY, GLASSBORO, NJ, USA;

e-mail: Oksana.Stolyar@tnpu.edu.ua

The term “unconventional proteins from unconventional animals” was proposed by Isani and Carpenè (2014) to redefine the functionality of metallothioneins (MTs): the ubiquitous low molecular weight thermostable proteins that bind stoichiometrically metals (Zn (II), Cd (II), Cu(I), Ag (I), Hg (I)) in the metal-thiolate clusters. The investigation of MTs is concentrated on their participation in the sequestration of metals within the cells. However, despite MTs are comprised of about 30% of cysteine residues, they are not discussed as a thiol-disulfide buffer. Our 25 yearlong experience of studies of MTs in ‘unconventional’ animals (lower vertebrate and mollusks) gave the evidence of the disproportion between the concentrations of total MT (MT-SH) and its metal-contained form (Zn,Cu,Cd-MTs) in different field and laboratory exposures. Therefore the aim of present study was to evaluate the functionality of MTs in the bivalve mollusk *Unio tumidus* in the exposures that approximate the modeling to the complexity of environmental challenges. Mollusks were acclimated to non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac (Dic, 600 ng L⁻¹), Ca-channel blocker nifedipine (Nfd, 700 ng L⁻¹), or phosphonate glyphosate (Gly, 33.8 µg L⁻¹) separately at the 18 °C and jointly at the 18 °C (Dif+Nfd+Gly) and 25 °C (Dif+Nfd+Gly+T) during 14 days. The indices of digestive gland were analyzed. Zn,Cu,Cd-MTs were isolated by the size-exclusive chromatography after the treatment of homogenate under the 85 °C during 5 min. Metal concentration was detected by atomic absorption spectrophotometry and

2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(*N-n*-propyl-*N*-3-sulfo-propylamino)-phenol (5-Br-PAPS)-based spectrophotometric method. MT-SH was determined from thiols with 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). Reduced and oxidized glutathione (GSH and GSSG) were determined enzymatically utilizing DTNB. Activity of superoxide dismutase (SOD) and level of lipid peroxidation (TBARS) were assayed for the evaluation of oxidative stress manifestations. Cells bioavailability was indicated from the activity of caspase-3.

The results have shown the increase of the MT-SH in all exposures except Nfd and, particularly, by Gly and co-exposure at 25 °C (by 1.45-1.36 times). At the same time, level of Zn,Cu,Cd-MTs was not elevated in any exposure and even decreased by 1.82 times in the exposure to Gly. Consequently, the level of apothionein increased in all exposures, particularly in the groups exposed to Gly and co-exposure. Moreover, low metal-binding ability of MTs was accompanied by the elevated total level of Cu in the tissue (by 2-3) in Dic and Nfd groups, or decreased level of Zn (by 2) in Gly group. The GSH concentration increased only in the co-exposures (by 1.35 times), and level of GSSG was not changed in any exposure with the ratio GSH/GSSG in the limits of 5-6. SOD activity decreased in the exposures to Dic, Gly and Dyc+Nfd+Gly, and the TBARS level increased by all exposures except Dic+Nfd+Gly. However, caspase-3 activity was increased only in the co-exposures (by 1.40-2.06) indicating the increase in the cells bioavailability. The calculated concentration of MTs related SH-groups

was about 0.5 of the level of GSH in the tissue (in the limits of 64.4 (control) – 93.8 (Gly) nmol·g⁻¹ FW). Consequently, MTs is a powerful agent in controlling redox state of oxidizable thiols (“sulfur switches”). Its response was more sensitive than GSH/GSSG couple and/or SOD activity in the applied exposures. The detailed analysis of the targets for its antioxidant activity will be the further step of the study. To summarize,

these and previous results of study of “unconventional proteins from unconventional animals” give an evidence that orthodox viewpoint on MTs as solely metal-buffering proteins must be reconsidered.

This work has been granted by the awards of Ministry of Education and Science of Ukraine to O. Stoliar (Projects M/35-2018 and 132B).

КІНЕТИЧНИЙ ПІДХІД У КОМЕТНОМУ ЕЛЕКТРОФОРЕЗІ ЯК МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕТЕЛЬНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ХРОМАТИНУ

СИВОЛОБ А.В.

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: sivolob@univ.kiev.ua

Кометний електрофорез (електрофорез ізольованих клітин) є відомим методом виявлення пошкоджень ДНК на рівні індивідуальних клітин. Метод базується на аналізі параметрів електрофоретичного треку (так званого хвоста комети), що формується при електрофорезі нуклеїдів, отриманих шляхом лізису клітин в тонкому шарі агарози на поверхні предметного скла мікроскопа. Довгий час фізичні принципи міграції ДНК у такій незвичайній електрофоретичній системі були недостатньо зрозумілими. Було відомо при цьому, що, за відсутності пошкоджень ДНК, нуклеїди складаються з надспіралізованих петель ДНК, основи яких приєднані до залишкових білкових структур, нечутливих до умов лізису. Питання про те, наскільки такі петлі відповідають петельним доменам, які формуються на вищих рівнях структурної організації хроматину і відіграють важливу роль в регуляції транскрипції та інших процесів, залишалось нез'ясованим.

Ми розробили нову модифікацію методу кометного електрофорезу, в основі якої лежить аналіз кінетики формування електрофоретичного треку після одночасної реєстрації зміни у часі двох параметрів: відносного вмісту ДНК у хвостах комет та довжини хвостів, яка дозволяє оцінити контурну довжину найдовших петель у їхньому складі. Наші результати, по-перше, продемонстрували, що, за нейтральних значень рН, надспіралізовані петлі ДНК дійсно є головним компонентом хвостів комет при електрофорезі нуклеїдів, отриманих з неушкоджених клітин. По-друге, аналіз впливу на кінетику електрофорезу інтеркаляторів ДНК і денатурантів білків, а також порівняння наших результатів із даними інших методів, свідчать, що петлі ДНК нуклеїдів відповідають петельним доменам хроматину. Отже, наш підхід може бути застосований для дослідження певних особливостей петельної організації хроматину у клітинному ядрі.

Кінетичний підхід дозволяє розділити усі петлі ДНК на три категорії: відносно короткі петлі, розташовані на поверхні нуклеїду; більш довгі (до приблизно 200 тис. пар нуклеотидів) внутрішні петлі; внутрішні петлі більшого розміру, нездатні рухатись при електрофорезі. Розподіл петельних доменів по трьом категоріям виявився залежним від функціонального стану і типу клітин. Другою характеристикою петель, що може бути визначена за допомогою кінетичного підходу, є рівень їхньої надспіралізації. Крім того, аналіз кінетичних даних свідчить про експоненційний розподіл петельних доменів за їхньою контурною довжиною, що узгоджується з даними інших методів дослідження упаковки хроматину в клітинному ядрі. Параметри цього розподілу, що можуть бути оцінені на основі аналізу кінетичних змін довжини хвостів комет і вмісту ДНК у їхньому складі, також виявились клітинспецифічними і чутливими до зміни функціонального стану клітин.

Таким чином, відносно проста техніка кометного електрофорезу відкриває нові можливості для дослідження вищих рівнів структурної організації хроматину.

Таким чином, відносно проста техніка кометного електрофорезу відкриває нові можливості для дослідження вищих рівнів структурної організації хроматину.

ТЕРАПЕВТИЧНІ ОЛІГОРИБОНУКЛЕОТИДИ ТА ЇХ КОМПЛЕКСИ: БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ І МЕХАНІЗМ ДІЇ

ТКАЧУК З.Ю.

ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: ztkachuk47@gmail.com

Протеїн-олігонуклеотидні взаємодії відіграють важливу роль у багатьох біологічних процесах. Раніше ще в 1892 р. І.Я. Горбачевський рекомендував натрієву сіль дріжджової РНК в якості лікувального засобу. Пізніше ми встановили, що кислі форми олігорибонуклеотидів (ОРН) додатково володіють протизапальною активністю, а їх комплекси з D-манітолом (ОРН-D-M) широкою противірусною активністю (Ткачук 2013). Метою дослідження було встановити механізм дії різних похідних ОРН та їх комплексів. У роботі використано різні спектральні методи і ПЛР в реальному часі. Нами показано здатність D-манітолу утворювати комплекси з азотистими основами мононуклеотидів (МН) і формувати штучну спіраль з ОРН. Показано здатність ОРН, ОРН-D-M та МН взаємодіяти з білками *in vitro*, які супроводжуються перенесенням енергії між їх пі-електронними системами. Встановлено, що ОРН, ОРН-D-M та їх МН в кислій формі сильніше зв'язуються з протеїнами, ніж їх сольові похідні. Взаємодія протеїнів з ОРН, ОРН-D-M та МН в кислій формі відбувається екзотермічно, а в сольовій формі – ендотермічно. ОРН, ОРН-D-M та їх МН в кислій формі, призводять до зміни конформаційної рухливості протеїнів за рахунок збільшення вмісту їх неупорядкованих ділянок. В той же час сольові похідні збільшують кількість структурованих вторинних елементів і вірогідно підвищують конформаційну жорсткість протеїнів. Взаємодія протеїну з лігандами в протонізованій формі відбувається на ближчій відстані між взаємодіючими молекулами, що призводить до ефективнішої передачі енергії. Додавання манітолу до ОРН та МН збільшує їх протон-донорні властивості. Відомо, що ліганд-протеїнові взаємодії

супроводжуються обміном протонів, що призводить до зміни конформаційної рухливості протеїнів (Dadlez, 2018). Нами запропоновано гіпотезу низькоафінної взаємодії ОРН, ОРН-D-M та МН з клітинними білками, яка супроводжується константами дисоціації в зоні мікромолярних концентрацій. Гіпотеза передбачає універсальні донорно-реципієнтні протонні властивості різних ОРН та їх ОРН-D-M комплексів, які супроводжуються взаємодією з ключовими протеїнами клітини, зміною їх конформації і вторинної структури. В свою чергу такі ОРН та їх комплекси володіють різноманітними біологічними властивостями, які мають важливе практичне значення. Встановлено, що ORN-D-M має широкий спектр противірусної активності за рахунок пригнічення надмірної експресії рецепторів Tlr3, Tlr7 і Tlr8, інгібування експресії фактора транскрипції NF- κ B і фактора трансляції eFF. Встановлено здатність ORN-D-M регулювати експресію більш ніж 30 генів вродженого імунітету. ORN-D-M володіє вираженою гепатопротекторною дією, яка при фіброзі і цирозі печінки супроводжується нормалізацією експресії генів NF- κ B1, NF- κ B1 α , IL-6, TNF- α , TGF- β 1, COL1A1, α -SMA в паренхімі печінки. Комплекс ORN-D-M проявляє суттєву протипухлинну активність на моделі меланоми мишей B-16. Аналіз відносної експресії генів в здорових і дослідних мишей показав значну нормалізацію експресії генів *Ifnb1*, *Pdcd1*, *Lbp*, *Tlr3*, *Tlr8*, *Gstp1*, *Prom1*, *Oas1a*, *Oas3*, *Il1b*, які залучені в систему протипухлинного захисту мишей Отже, низькоафінна взаємодія ОРН та їх комплексів з клітинними протеїнами призводить до зміни їх біологічних властивостей і надає нові можливості їх практичного використання.

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ НІКОТИНОВИХ АЦЕТИЛХОЛІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ МІТОХОНДРІЙ: ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ АЛОСТЕРИЧНИХ МОДУЛЯТОРІВ ТА АНТАГОНІСТІВ

УСПЕНСЬКА К.Р., ЛИХМУС О.Ю., СКОК М.В.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: kate.uspenska@gmail.com

Нікотинкові ацетилхолінові рецептори (НАХР) мітохондрій залучені до регуляції мітохондрійного шляху апоптозу – вивільнення цитохрому С (Цит С), що є сигналом для утворення апоптосоми і акти-

вації каспаз. Попередніми дослідженнями було встановлено, що ця функція НАХР є іон-незалежною: конформаційні зміни в молекулі НАХР, які відбуваються за зв'язування агоністів, антагоністів

або специфічних антитіл, впливають на внутрішньомітохондрійні кінази, задіяні у відкритті мітохондрійної пори. Метою нашої роботи було визначити, зв'язування яких сайтів рецептора є необхідним/достатнім для індукції таких конформаційних змін.

Для цього було досліджено вплив ортостеричного агоністу, позитивних алостеричних модуляторів (ПАМ) та неконкурентних антагоністів різних субтипів НАХР на вивільнення Цит С з мітохондрій печінки і мозку мишей C57Bl/6 дикого типу та нокаутних за геном $\alpha 7$ субоддиниці НАХР ($\alpha 7^{-/-}$) під дією чинників, що впливають на різні сигнальні системи мітохондрій: 0,9 мкМ Ca^{2+} (СаКМІІ-кіназа), 0,5 мМ H_2O_2 (Src-кіназа) або 1.0 мкМ вортманіну (РІЗ-кіназа). Рівень вивільненого Цит С та вміст субодниць НАХР в мітохондріях визначали методом Сендвіч-ІФА з використанням специфічних антитіл. Статистичний аналіз достовірності відмінності величин описаних експериментів обчислювали за one-way ANOVA (Origin Pro 9.0). Експерименти повторювали 3-5 разів. Значення при $P < 0,05$ розглядались як достовірні.

Показано, що кількість Цит С, вивільненого з мітохондрій мишей дикого типу під впливом Ca^{2+} , зменшується за присутності $\alpha 7$ -специфічного агоністу (PNU-282987) або ПАМ II типу (PNU-120596, 4BP-TQS та ПАМ-2-4), які не впливали на мітохондрії $\alpha 7^{-/-}$ мишей. На відміну, вивільнення Цит С, стимульоване вортманіном, ефективно пригнічувалось $\beta 2$ -селективним ПАМ II типу dFBr. Ці дані свідчили про те, що $\alpha 7$ і $\beta 2$ субоддиниці НАХР під'єднані до різних внутрішньомітохондрійних кіназ. За даними молекулярного докінг-аналізу (проведеному в лабораторії Х.Р.Аріаса, США), ПАМ

II типу зв'язуються у трансмембранному сайті НАХР. Отримані нами результати показали, що зв'язування як ортостеричного (PNU-282987), так і трансмембранного (ПАМ II типу) сайта $\alpha 7\beta 2$ НАХР призводить до конформаційних змін, необхідних для інгібування СаКМІІ кінази, активації РІЗ-кінази і пригнічення вивільнення Цит С.

(\pm)-18-метоксикоронаридин (18-МС) та (+)-катарантин є неконкурентними антагоністами $\alpha 3\beta 4$ субтипу НАХР. Було встановлено, що вміст $\alpha 3\beta 4$ НАХР є вищим у печінці, ніж у мозку, та вищим у $\alpha 7^{-/-}$ мишей порівняно з мишами дикого типу. Відповідно, 18-МС достовірно знижував вивільнення Цит С з мітохондрій печінки мишей дикого типу, а також печінки та мозку $\alpha 7^{-/-}$ мишей. Подальші експерименти показали, що вплив 18-МС обумовлений пригніченням Src-кіназ (H_2O_2) у мітохондріях мишей дикого типу та СаКМІІ кінази (Ca^{2+}) у мітохондріях $\alpha 7^{-/-}$ мишей. На відміну, катарантин пригнічував вивільнення Цит С у 10 разів слабше, ніж 18-МС за дії як Ca^{2+} , так і H_2O_2 . Зважаючи на результати докінг-аналізу, сигналювання $\alpha 3\beta 4$ НАХР для пригнічення Src-кінази є більш ефективним за умови зв'язування ліганду у трансмембранному сайті між двома різними субодницями ($\alpha 3$ і $\beta 4$, 18-МС), ніж між двома однаковими $\beta 4$ субодницями (катарантин).

Отримані результати демонструють необхідні для сигналювання структурні особливості мітохондрійних НАХР, та свідчать про біологічну доцільність експресії гетеромерних ($\alpha 7\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$) субтипів НАХР в мітохондріях, узгоджена дія яких забезпечує надійний захист клітин від впливу різних апоптогенних чинників.

ЗВ'ЯЗУВАННЯ ФЕРУМУ ТРАНСФЕРИНОМ ПЛАЗМИ КРОВІ РИБ ЗА ВПЛИВУ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ Fe^{3+} У ВОДІ

ХОМЕНЧУК В.О., РАБЧЕНЮК О.О., МАРКІВ В.С., КУРАНТ В.З.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА,
УКРАЇНА;

e-mail: khomenchuk@tntpu.edu.ua

Ферум є необхідним елементом для нормальної життєдіяльності риб. Недостатня кількість, як і надлишок цього металу, може бути лімітуючим чинником розвитку організму. Серед протеїнів, що безпосередньо пов'язані із регуляцією вмісту феруму в організмі тварин, у тому числі і риб, слід виділити трансферин. Основною функцією цього протеїну плазми крові є транспорт феруму у ретикулоцити, де відбувається синтез гемоглобіну, а також підтримання на певному рівні співвідношення іонів Fe^{2+} та Fe^{3+} . Разом з тим, трансферин тісно пов'язаний з імунною системою риб і бере участь у неспецифічних гуморальних механізмах захисту

від бактеріальних інфекцій. Хоча менше 1 % феруму в організмі риб зв'язано з трансферином – це найбільш лабільна форма феруму в організмі тварин. Тому значний інтерес представляє вивчення особливостей зв'язування феруму трансферином плазми крові риб за умов підвищених концентрацій іонів Fe^{3+} у воді.

Дослідження проведено на дворічках коропа (*Cyprinus carpio L.*) і щуки (*Esox lucius L.*) з середньою масою 300-350 г. В експериментах риб утримували в лабораторних акваріумах об'ємом 200 л з розрахунку 40 л на одну особину. Вивчали вплив іонів Fe^{3+} на риб в концентраціях 0,2 і 0,5 мг/дм³.

Необхідні концентрації іонів металу у воді створювали внесенням солі $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ кваліфікації "х.ч.". Період утримування риб в експериментальних умовах становив 14 діб. Кров для дослідження відбирали із серця риб, додавали гепарин та центрифугували. В отриманій плазмі крові досліджували вміст феруму та концентрацію трансферину. Концентрацію феруму в плазмі крові визначали методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії, кількість трансферину – турбідиметричним методом із використанням набору "Трансферин-турбі". Насичення трансферину Ферумом розраховували як відношення концентрації металу плазми крові до загальної ферумзв'язуючої здатності трансферину і виражали у відсотках. Всі одержані експериментальні дані опрацювали статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Аналіз одержаних результатів показав, що вміст феруму в плазмі крові коропа контрольної групи становив 1,42 мкг/мл та зростав за дії 0,2 і 0,5 мг/дм³ іонів Fe^{3+} у 1,3 і в 1,2 раза відповідно. Одночасно із збільшенням кількості феруму в плазмі крові коропа мало місце пропорційне до концентрації іонів феруму (III) у воді збільшення вмісту трансферину – у 1,05 та 1,08 раза за дії 0,2

і 0,5 мг/дм³ іонів Fe^{3+} у воді відповідно. При цьому максимальний показник насичення трансферину ферумом у коропа був відмічений за впливу 0,2 мг/дм³ іонів Fe^{3+} – 43,5 % проти 35, 1 % контрольного значення.

Кількісні характеристики зв'язування феруму трансферином крові щуки за впливу підвищених концентрацій іонів Fe^{3+} у воді були відмінними від коропа. Відмічено максимальне акумулювання металу плазмою крові щуки (1,76 мкг/мл проти 1,18 мкг/мл у контролі) за дії 0,5 мг/л іонів Fe^{3+} . Разом із тим у плазмі крові щуки мало місце зменшення кількості трансферину в 1,13 та 1,15 раза за дії 0,2 і 0,5 мг/дм³ іонів Fe^{3+} .

Пропорційно концентрації іонів Fe^{3+} у воді зростав і показник насичення трансферину Ферумом у плазмі крові щуки. Так, у риб контрольної групи він становить 36,2 %, а у риб за дії 0,2 і 0,5 мг/дм³ іонів металу – 44,8 і 62,4 % відповідно.

Отже, підвищений вміст іонів феруму (III) у воді призводить до зростання кількості металу в плазмі крові обох видів риб та збільшення показника насичення трансферину ферумом (особливо у щуки). Дані показники можуть бути використані як біомаркери для оцінки забруднення водного середовища іонами Fe^{3+} .

ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРНОЇ ТОПОГРАФІЇ ОДНОТРИПТОФАНОВОЇ ФОРМИ МІНІ TYRRS В. TAURUS МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

ЦУВАРЄВ О.Ю.^{1,2}, ЗАЄЦЬ В.М.², ЗУБ П.Е.¹, КОРНЕЛЮК О.І.²

¹КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: a.tsuvariev@gmail.com

Тирозил-тРНК синтетаза (TyrRS) є одним з ключових ензимів, задіяних в процесі біосинтезу протеїнів. Тирозил-тРНК синтетаза *Bos taurus* складається з двох структурних модулів: N-кінцевого каталітичного (міні TyrRS) та C-кінцевого цитокінподібного. В структурі міні TyrRS містяться три залишки триптофану W40, W87 та W283, локалізовані відповідно в активному центрі ензиму, в інтерфейсі димеризації мономерів та в антикодон-зв'язуючій ділянці протеїну.

Метою даної роботи є дослідження структурної топографії мутантної одотриптофанової форми міні TyrRS, яка містить єдиний залишок триптофану W87 в області димеризації мономерів, за допомогою гасників флуоресценції акриламід, йодиду калія та хлориду цезія.

Мутантна форма міні TyrRS була отримана методом сайт-спрямованого QuickChange мутагенезу з заміною в структурі протеїну кодонів триптофану в положенні 40 та 283 на аланін. Експресію

рекомбінантного каталітичного модуля TyrRS проводили в культурі *E.coli* штаму BL21(DE3)pLysE, трансформованого плазмідною рЕТ30а-39YRS-W40,283/A з клонованою мутантною кДНК міні TyrRS. Очистку рекомбінантного протеїну здійснювали методом афінної хроматографії на колонці з Ni-NTA агарозою. Флуоресцентні дослідження проводили за допомогою спектрофлуориметра Hitachi M850 при довжині хвилі збудження 295нм та емісії 340нм. Для пояснення отриманих експериментальних даних була використана реконструйована модель просторової структури міні TyrRS. Візуалізацію молекулярної поверхні досліджуваного ензиму проводили за допомогою програмних пакетів Chimera та PyMol.

Отримані дані гасіння триптофанової флуоресценції мутантної форми міні-TyrRS свідчать про те, що триптофановий залишок W87 в структурі ензиму доступний для всіх використаних в роботі гасників флуоресценції, що також підтверджується

результатами комп'ютерного аналізу. Лінійний характер графіків Штерна-Фольмера свідчить про динамічний характер гасіння флуоресценції. Визначені на основі нахилу прямої Штерна-Фольмера значення K_{s-v} становлять $18,5 \pm 0,3$, $8,10 \pm 0,44$ та $2,24 \pm 0,13$ для акриламід, йодиду калія та хлориду цезія відповідно.

Більш ефективно гасіння триптофаної флуоресценції міні-TyrRS акриламідом порівняно з іншими гасниками можна пояснити позитивно зарядженим оточенням залишку триптофану W87 в області димеризації мономерів протеїну та флуктуацією протеїнової матриці в наносекундному часовому діапазоні, що забезпечує дифузю нейтральних молекул акриламід до флуорофора.

THE EFFECT OF TETRAPHENYLPORPHYRINS ON INSULIN AMYLOID AGGREGATION

CHERNII S.V.¹, LOSYTSKYI M.Yu.¹, KELM A.², GORSKI A.²,
TRETYAKOVA I.M.³, YARMOLUK S.M.¹, CHERNII V.Ya.³, KOVALSKA V.B.¹

¹INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF PHYSICAL CHEMISTRY, POLISH ACADEMY OF SCIENCES, WARSAW, POLAND;

³INSTITUTE OF GENERAL AND INORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: chernii.sv@gmail.com

Amyloid fibrils are rigid beta-pleated protein aggregates that are connected with a series of harmful diseases and at the same time are promising as the base for novel functional materials. It was also suggested that amyloid structures might have essential biological functions in healthy cells. Thus, design of compounds able to influence (inhibit or redirect) those aggregates formation is important both for the biomedical and bionanotechnology applications.

The aim of this work was to study the effect of tetraphenylporphyrins (metal-free, their Cu and Pd complexes, and those functionalized by carboxy- and amino-groups on the periphery) on insulin amyloid self-assembling. For this, fluorescent and UV-VIS absorption spectroscopy, scanning electron microscopy were used.

The strongest impact on insulin aggregation was demonstrated by a metal-free tetraphenylporphyrin bearing four carboxy groups. This compound suppresses the intensity of insulin amyloid aggregation (about 90 % reduction). In its presence, the formation of longer fibrils compared to those of free insulin (0.7–2.6 micron as compared to 0.8–2.0 micron, respectively) was observed. Contrarily, the presence of tetraphenylporphyrin containing four amino groups only slightly affects fibrils morphology, and also it makes a weaker impact on insulin aggregation yield

(about 50 % reduction with the formation of fibrils of 0.8 to 2.2 micron length). This can be explained by the ability of peripheral aromatic carboxy groups of tetraphenylporphyrin derivative to interact with complimentary protein binding groups and thus stabilize the formed supramolecular complex even in acidic media. While high protonation degree of tetraphenylporphyrin derivative with peripheral amino groups that takes place in acidic media during protein aggregation reaction could hinder it binding to proteins.

It was also shown that non-substituted metal-free tetraphenylporphyrins and its Pd-, and Cu-complexes similarly effect on the formation of amyloid insulin fibrils: they reduced the intensity of reaction (~50 % reduction) and shortening fibrils length (0.6–1.0 and 0.6–1.2 micron). This indicates that for these compounds, the central metal atom does not affect the inhibitory activity and the morphology of the aggregates. We suppose this to be due to coordination saturation of these metal atoms.

Based on the obtained results, we suggest that the nature of peripheral substituents of tetraphenylporphyrins influence their activity as potential agents against amyloid fibril formation.

This work was supported by the NASU Program of Fundamental Research "New Functional Substances and Materials for Chemical Engineering" № II-12-19.

CARBOXYALKYL TERMINATED IRON(II) CLATHROCHELATES AS ICD REPORTERS FOR GLOBULAR PROTEINS

CHORNENKA N.V.¹, VAKAROV S.V.¹, GUMIENNA-KONTECKA E.², VOLOSHIN Y.Z.³, KOVALSKA V.B.⁴

¹INSTITUTE OF GENERAL AND INORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²UNIVERSITY OF WROCLAW, POLAND;

³ZNESMEYANOV INSTITUTE OF ORGANOELEMENT COMPOUNDS RAS, MOSCOW, RUSSIA;

⁴INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: nina.v.chornenka@gmail.com

For today macrocyclic compounds are actively studied as agents for supramolecular recognition of specific protein surface motifs for their further use in therapeutic approaches, immobilization techniques, as protein-based materials, affinity tags and sensors. Recently macrocyclic metal complexes iron(II) clathrochelates were discovered as reporters giving strong output in ICD (induced circular dichroism) spectra upon binding to a protein. Their sensitivity to the arrangement of protein binding site was shown, i.e. clathrochelates discriminated proteins of relative structure – bovine and human serum albumins. Earlier ICD response upon binding to proteins was reported only for clathrochelates bearing rigid terminal phenylcarboxy substituents.

The aim of this work was to study the binding of iron(II) clathrochelate functionalized by flexible terminal alkylcarboxy substituents with protein molecules using ICD and ITC methods.

For CD spectra of mono-, di-, hexa- alkylcarboxy clathrochelate derivatives were studied in the presence of various globular proteins (bovine and human serum albumins (BSA, HSA), lysozyme (LYZ) and beta-lactoglobulin (BLG)).

Metal complexes with such functionalization also have shown the ability to induce CD signal in the presence of proteins. On the character of ICD output

(and thus selectivity) strongly affects the number of terminal carboxy groups in clathrochelate molecule. Mono-derivative gives pronounced CD-signals in the presence of HSA (9.76 mdeg), di-substituted derivative response on the presence of HSA (20.8 mdeg) and BLG (18.5 mdeg). The only high CD-signal for the hexa-derivative is observed with BSA (24.92 mdeg) protein, and this signal is of inverted shape relatively to spectra of other clathrochelates.

To characterize the clathrochelate-protein supramolecular assembling, the thermodynamic parameters of binding of hexa-alkylcarboxy clathrochelate derivative to BSA were determined using the ITC (isothermal titration calorimetry) technique. The values of enthalpy ($\Delta H = -39.62 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), entropy ($\Delta S = -46.58 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) and Gibbs free energy ($\Delta G = -19.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) were calculated. The stoichiometry of the interaction shows that complex of iron(II) clathrochelate with protein BSA is formed with a ratio of 1 to 1.

Thus we suggest that the use of "flexible" terminal binding groups is a prospective way for the design of clathrochelate-based CD reporters able to selectively sense certain proteins.

The project leading to these results has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation program under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 778245.

МОДУЛЯЦІЯ КАЛІКС[4]АРЕНАМИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ МІТОХОНДРІЙ МІОМЕТРІЯ

ШЛИКОВ С.Г.¹, БАБІЧ Л.Г.¹, КАРАХІМ С.О.¹, ЄСИПЕНКО О.А.², КАЛЬЧЕНКО В.І.², КОСТЕРІН С.О.¹

¹ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: sshlykov@biochem.kiev.ua

Мітохондріям належить важливе значення у забезпеченні енергетичних потреб клітини.

Функціональна активність мітохондрій визначається величиною трансмембранного потенціалу, який формується внаслідок роботи дихального ланцюга. Зокрема, акумуляція іонів Са у матриці мітохондрій є потенціалзалежною. Мета цього

дослідження – з'ясувати вплив вибраних калікс[4]аренів на мембранний потенціал мітохондрій міометрії.

У попередніх роботах ми показали, що калікс[4]аренхалконаміди (лабораторні назви С-136, С-137 та С-138) здатні впливати як на рівень поляризації мембран мітохондрій, так і на рівень іонізованого

Са у матриксі мітохондрій міометрія. Досліди проводились з використанням калікс[4]аренів, що містять один (С-138) або два (С-136 та С-137) халконових фрагменти. Закономірно постало питання, чи буде збільшуватись ефект калікс[4]аренів на досліджувані процеси зі зміною відносного розташування халконових груп та збільшенням їх кількості в молекулі калікс[4]арену. Було проаналізовано вплив калікс[4]аренів з двома (С-1012 та С-1021), трьома (С-1023 та С-1024) та чотирма (С-1011) халконовими групами на мембранний потенціал мітохондрій міометрія. Експерименти проводились на проточному цитометрі COULTER EPICS XLTM (Beckman Coulter, США) з використанням потенціал-чутливого флуоресцентного зонда TMRM. Для пермеабілізації клітин використовувався дігітонін у концентрації 0,1мг/мл (0,01 %). Було встановлено, що калікс[4]арени, які містять у структурі дві та більше халконових груп, сприяють збільшенню рівня поляризації мембран мітохондрій міометрія за нетривалої інкубації.

Наступні експерименти були спрямовані на з'ясування питання, чи проникають калікс[4]аренхалконаміди в середину інтактною клітини та яким чином калікс[4]арен С-137 впливає на мембранний

потенціал мітохондрій міометрія. Експерименти по візуалізації дії каліксаренів С-1070 та С-137 проводили на конфокальному лазерному мікроскопі із використанням первинної культури клітин міометрія. Калікс[4]арен С-1070 є аналогом С-1011, тобто містить чотири халконових залишки, крім того на верхньому вінці приєднані дві діазогрупи. Аналіз оброблених калікс[4]аренхалконамідом С-1070 клітин міометрія показав, що ці сполуки проникають у клітини міометрія. Рівень поляризації мембран мітохондрій визначали за допомогою потенціал-чутливого зонда JC-1 та розраховували як відношення інтенсивності флуоресценції зонда JC-1 у червоній області спектра до такої у зеленій області. Було встановлено, що на перших хвилинах інкубації клітин міометрія з калікс[4]ареном С-137 це співвідношення зростає, тоді як подальша інкубація супроводжується його зменшенням. Таким чином, на інтактних клітинах міометрія показано модулюючий вплив калікс[4]аренхалконаміду з двома халконовими групами на рівень поляризації мембран мітохондрій міометрія. Автори припускають, що калікс[4]аренхалконаміди мають перспективи використання у випадках необхідності корекції мембранного потенціалу мітохондрій міометрія.

DNA-INTERACTIONS AND ANTICANCER ACTIVITY OF THE RHENIUM CLUSTER COMPOUNDS

SHTEMENKO N.I.^{1,2}, POLOKHINA K.V.^{1,2}, SHTEMENKO A.V.²

¹UKRAINIAN STATE UNIVERSITY OF CHEMICAL TECHNOLOGY, DNIPRO, UKRAINE;

²DNIPRO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, DNIPRO, UKRAINE;

e-mail: n.shtemenko@i.ua

Recently a number of alternative nucleic acid structures were found, for example, G-quadruplexes (G4s). G4s are formed from stacks of two or more planar guanine tetrads arising from a hydrogen-bonding network of four assembled guanines. There is mounting evidence to suggest that these non-canonical DNA secondary structures plays pivotal role in some biological processes and may be the target of therapeutic intervention. The promising antitumor activity of rhenium cluster compounds (Re) has been recently shown. There remains, however, a general lack of information about mechanisms of anticancer activity of Re. The main goal of this study was investigation of interaction of canonical DNA and G4s with some Re; to investigate the cytotoxic activity of Re in the solutions and nanoliposomes in Jurkat cells line of human leukemic T-lymphocytes. DNA interactions were investigated by UV/visible spectroscopy, relative viscosity, DNA melting temperature measurements and electrophoretic mobility shift assay with super-

coiled plasmid; the affinity of Re for G4s DNA were investigated by Forster resonance energy transfer (FRET) melting assays; IC₅₀ calculations of the studied substances were carried, the alive and dead apoptotic cells were counted by conventional methods. With increasing Re concentrations gradual conversion of the supercoiled plasmid to a mixture with nicked DNA takes place with increasing deal of the later, showing the strongly DNA-cleaving and unwinding ability of Re. Experiments in different media showed that DNA - Re interactions are redox – activated and may be the example of “pro-drug” strategy. FRET assays showed selective affinity of some Re to G4s depending from the structure of the ligands in Re substances. Re possessed an appreciable cytostatic and proapoptotic activity against leukemic cells, especially in combination with cisplatin, that directs further search of new active rhenium compounds and confirms importance of development of protocols for combined rhenium-platinum based chemotherapeutic procedures.

ВПЛИВ ПРОТЕЇНІВ ПРОТРОМБІНОВОГО КОМПЛЕКСУ НА ВЗАЄМОДІЮ GLU-ПЛАЗМІНОГЕНУ З ТРОМБОЦИТАМИ

ЮСОВА О.І., ГРИНЕНКО Т.В.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: yusova07@gmail.com

Внаслідок пошкодження стінки судин тромбоцити контактують з протеїнами субендотеліального матриксу, включаючи колаген, фактор фон Віллебранда, фібронектин, що призводить до активації клітин із експонуванням на їх плазматичній мембрані аніонних фосфоліпідів з якими асоціюють прокоагулянтні протеїни системи зсідання крові. Тромбоцити адсорбують на своїй поверхні компоненти плазміноген/плазмінової системи і таким чином залучаються до локалізації та регуляції фібринолітичного процесу. Ряд протеїнів, що відповідають за взаємодію плазміноген/плазміну з поверхнею тромбоцитів, ідентифіковано, серед них актин, фібриноген/фібрин, тромбоспондин та вітронектин. Протеїни коагуляції, а саме фактори Va і Ха, можуть виконувати роль плазміногенових рецепторів. Показано, що аутопротеоліз або плазміновий процесинг фактора Ха в присутності іонів кальцію і від'ємно заряджених фосфоліпідів призводить до появи здатності цього протеїну виконувати кофакторну функцію при активації плазміногену тканинним активатором.

Метою роботи було дослідити взаємодію плазміногену та тканинного активатора з тромбоцитами та вплив протромбінового комплексу, зв'язаного з поверхнею тромбоцитів, на швидкість активації Glu-плазміногену тканинним активатором.

Експерименти виконані з використанням відмитих тромбоцитів, Glu-плазміногену та протромбінового комплексу (до складу якого входять фактори II, VII, IX і X, а також антикоагулянтні протеїни C і S). Статистична обробка результатів виконувалась з використанням пакета програм MS Office Excel. Взаємодію FITC-плазміногену з тромбоцитами вивчали методом проточної цитофлуориметрії, тоді як тканинного активатора – методом спектрофлуориметрії з використанням антитіл до тканинного активатора. Кінетику активації досліджували за допомогою S2257.

Показано, що плазміноген та тканинний активатор зв'язуються з плазматичною мембраною ізольованих тромбоцитів. За активації клітин, індукованої тромбіном, експонуються додаткові плазміногензв'язувальні сайти, насичення яких має місце за 1,0 мкМ концентрації проензиму. Встановлено, що активовані тромбоцити стимулюють активацію плазміногену тканинним активатором. За присутності протромбінового комплексу швидкість реакції активації збільшується втричі. Зроблено висновок, що компоненти протромбінового комплексу, які зв'язуються з плазматичною мембраною активованих тромбоцитів, залучаються до взаємодії протеїнів плазміноген/плазмінової системи з тромбоцитами.

ДІЛЯНКИ ВЗАЄМОДІЇ ПЛАЗМІНОГЕНУ ТА ТКАНИННОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМІНОГЕНУ В D-ДОМЕНАХ ФІБРИНОГЕНУ/ФІБРИНУ

ЯЦЕНКО Т.А., ХАРЧЕНКО С.М., ГРИНЕНКО Т.В.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: tetyanaa.yatsenko@gmail.com

Активация фибринолитической системы и утворення плазміну з плазміногену є необхідною умовою розчинення фібринових згустків. Цей процес ініціюється взаємодією плазміногену та тканинного активатора з фібрином. Вважається, що в D-домінах фібриногену/фібрину зв'язування плазміногену забезпечує послідовність Aα148-160 та активатора – γ312-324, і їх експонування відбувається при полімеризації фібрину. Нами було показано раніше, що центри активації плазміногену в D-домінах відкриваються внаслідок кальційзалежних структурних змін, а плазміноген здатен взаємодіяти також з β- та γ-ланцюгами D-фрагментів. Однак,

локалізація центрів взаємодії плазміногену та тканинного активатора лишається нез'ясованою.

Для з'ясування ролі окремих ділянок D-домінів фібриногену/фібрину в ініціації фібринолізу проведено дослідження кінетики активації плазміногену тканинним активатором, стимульованої фрагментами фібриногену D_{Ca} , D_{EDTA} та $D_{EDTA/CPB}$, а також зв'язування проензиму та активатора з цими фрагментами. D_{Ca} має насичені центри зв'язування іонів кальцію та максимально закрити конформацію, а також залишок лізину на C-кінці α-ланцюга внаслідок відщеплення αC-доміну. D_{EDTA} утворюється в результаті гідролізу фібриногену та фібри-

ну плазміном в присутності EDTA, що елімінує іони кальцію з центрів їх зв'язування в γ - та β -субдоменах і дестабілізує структуру D-домену, внаслідок чого плазмін відщеплює γ -субдомен і з'являється другий C-кінцевий залишок лізину в γ -ланцюзі. Для одержання $D_{EDTA/CPB}$ під дією карбоксипептидази В видаляли обидва C-кінцевих залишки лізину з D_{EDTA} .

Дослідження кінетики активації Glu-плазміногену тканинним активатором на перелічених фрагментах показало, що фрагмент D_{EDTA} , що не містить γ -субдомену, ефективно стимулює утворення плазміну, на відміну від фрагмента D_{Ca} . Відщеплення від D_{EDTA} C-кінцевих залишків лізину призводить до зниження активації проензиму на 70%. Отримані дані підтверджують роль кальцій-залежних перетворень в ініціації фібринолізу на D-доменах фібриногену/фібрину. Оскільки активація плазміногену потребує формування потрійного комплексу стимулятор-проензим-активатор, очевидно, що на D_{EDTA} -фрагменті є центри взаємодії з компонентами фібринолітичної системи поза γ -субдоменом, не пов'язані з C-кінцевими залишками лізину.

D_{Ca} та D_{EDTA} до і після обробки карбоксипептидазою В зв'язують однакову кількість плазміногену, однак D_{EDTA} має найвищу спорідненість до проензиму. D_{Ca} зв'язує плазміноген, хоча має максимально закрити конформацію і не стимулює його активацію. Ймовірно, інший ніж $A\alpha 148-160$ центр для зв'язування плазміногену в D-фрагменті є експо-

нованим, але не є достатнім для активації, що вказує на двохцентрову взаємодію проензиму з D-доменами.

Тканинний активатор має найвищу афінність до D_{Ca} -фрагменту, а видалення C-кінцевих залишків лізину призводить до суттєвого зниження кількості зв'язаного тканинного активатора з фрагментом D_{EDTA} без зміни константи дисоціації. Втрата фрагментом $D_{EDTA/CPB}$ γ -субдоменів та C-кінцевих залишків лізину призводить до втрати частини центрів взаємодії з активатором. Очевидно, D-домени фібриногену/фібрину містять центр/центри зв'язування тканинного активатора і в γ -субдомені, і поза ним, та C-кінцеві залишки лізину не є необхідними для взаємодії тканинного активатора з цими доменами. Причому, взаємодія тканинного активатора з D_{Ca} , з яким також зв'язується плазміноген, не є достатньою умовою для активації останнього.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що для активації плазміногену тканинним активатором на D-доменах фібриногену/фібрину проензим має набути оптимальної для дії активатора конформації, зв'язавшись з двома центрами в D-доміні, один з яких відомий і знаходиться на ділянці $A\alpha 148-160$, локалізація іншого вимагає встановлення. Тканинний активатор має інші центри зв'язування в D-доменах, окрім відомого $\gamma 312-324$, і, ймовірно, потребує двохцентрової взаємодії для ефективної активації проензиму.

Симпозіум 2. РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ТА КЛІТИННИХ ФУНКЦІЙ ЗА НОРМИ І ПАТОЛОГІЇ

МАРКЕРИ M1 ТА M2 ПОЛЯРИЗАЦІЇ ПЕРИТОНЕАЛЬНИХ МАКРОФАГІВ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ПРОГЕСТЕРОН-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ

**АЛЕКСАНДРОВ А.В., КОНОПЕЛЬНЮК В.І., КОМПАНЕЦЬ І.В., ГОЛОБОРОДЬКО Є.Є.,
СВЯТЕЦЬКА В.М., МОЛОЖАВА О.С., ОСТАПЧЕНКО Л.І.**
ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: alexandrov_andrey@ukr.net

Ожиріння є хворобою, яка завжди супроводжується запальним процесом. Місцеве запалення у жировій тканині внаслідок накопичення жиру в адипоцитах та наступного рекрутування до неї макрофагів викликає продукцію ними прозапальних цитокінів. Це призводить до системного запалення і розповсюдження його на різні органи і тканини. Біохімічні механізми розвитку ожиріння, викликаного дією прогестерону, який використовується для контрацепції та гормонозамісної терапії, є мало вивченими.

Метою даної роботи – з'ясувати участь перитонеальних макрофагів у запальному процесі на моделі прогестерон-індукованого ожиріння у щурів шляхом визначення маркерів їх M1-поляризації (рівня оксиду азоту та інтенсивності продукції АФК) та M2-поляризації (активності аргінази).

Досліди проводили на білих щурах-саміцях від 2 місяців. Тварин рандомно було розподілено на такі групи: 1) контрольна; 2) "Прогестерон" – вводили ПГ шляхом внутрішньом'язових ін'єкцій упродовж 28 діб у дозі 10 мг/кг ваги; 3) "Прогестерон-відміна" – тварин після введення їм прогестерону, як описано для 2 групи, утримували без введення препарату упродовж 1 місяця; Виділяли перитонеальні макрофаги з черевної порожнини, в яких вимірювали вміст оксиду азоту (NO) (за накопичення нітритів), інтенсивність кисень-залежного метаболізму (НСТ-тест) та активність аргінази (за гідролізом аргініну). Дані оброблялися статистично за допомогою програми Microsoft Excel, відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Встановлено, у щурів за введення їм прогестерону у перитонеальних макрофагах на 45 % зростає рівень маркера M1 макрофагів – NO, що свідчить про їх поляризацію за прозапальним типом. Це супроводжувалося зниженням активності аргінази на 12 % (маркеру M2-макрофагів), що вказує на пригнічення поляризації у протизапальний бік. Проте, рівень інтенсивності кисень-залежного метаболізму статистично достовірно не змінювався, що свідчило про відсутність посилення

продукції активних форм кисню (АФК) макрофагами. У групі "Прогестерон-відміна" продукція NO пригнічувалась і навіть була 2,1 раза меншою за таку у контролі. Аналогічно зменшувалась інтенсивність продукції АФК (була 39 % нижчою за контроль). Активність аргінази в цій групі зазнавала ще більшого падіння: її величина знижувалась у 2,2 раза порівняно з контролем. Зниження перших двох показників може свідчити про пригнічення функціональної активності перитонеальних макрофагів, ймовірно, внаслідок зменшення їх функціонального резерву. Причиною цього може бути розвиток системного запального процесу, який супроводжується підвищенням рівня прозапальних цитокінів у крові та зниженням рівня протизапальних, що було виявлено нами у попередніх дослідженнях на даній моделі прогестерон-індукованого ожиріння.

Таким чином було виявлено, що у щурів із ожирінням, зумовленим прогестероном, посилюється поляризація перитонеальних макрофагів у M1 прозапальний бік, у той час як M2 поляризація у протизапальний бік пригнічується. Це може бути реакцією даних клітин на запальний процес у жировій тканині, який при ожирінні набуває системного характеру. Залучення перитонеальних макрофагів до його розвитку можна пояснити тим, що саме макрофаги черевної порожнини одними з перших реагують на збільшення маси вісцерального жиру (було показано нами у попередніх дослідженнях), яке призводить до запалення. Оскільки через місяць після припинення введення щурам прогестерону ("Прогестерон-відміна") зменшуються рівень маркерів як M1-поляризації, так і M2-поляризації, ймовірно, функціональний резерв перитонеальних макрофагів зазнає зниження, що свідчить про суттєвий вплив запального процесу на тлі ожиріння на організм. Це підтверджується отриманими раніше даними, що приріст маси тварин у даній групі не зменшується і, отже, зміни при ожирінні, спричинені прогестероном, не є оборотними.

ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ЯК МАРКЕР ІНІЦІАЦІЇ ТА РЕАЛІЗАЦІЇ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНОГО АПОПТОЗУ

АНДРІЙЧУК Т. Р., РАКША Н.Г., КОВАЛЬ Т.В., ОСТАПЧЕНКО Л.І.
ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: tr.andriicuk@gmail.com

Процеси біологічного окислення за вільнорадикальним механізмом є невід'ємною частиною метаболічних перетворень у клітинах живих організмів. У результаті окисних реакцій відбувається утворення нестійких продуктів – активних кисневих метаболітів (АКМ) та активних метаболітів азоту, які виконують сигнальну функцію, спрямовану на регуляцію ряду систем організму. Вільнорадикальний гомеостаз клітин і тканин забезпечується узгодженням між системами генерації АКМ, з одного боку, та системами їх елімінації, з іншого, а також залежить від певної ємності прооксидантних та антиоксидантних систем. Одним із патогенетичних наслідків радіаційного ураження організму є оксидативний стрес, який розвивається у відповідь на порушення збалансованого функціонування вище означених систем. За радіаційного впливу різко зростає генерація АКМ, здатних ушкоджувати важливі біологічні структури; на молекулярному рівні ушкоджень зазнають протеїни, ліпіди, нуклеїнові кислоти, глікозаміноглікани. Таким чином, за дії іонізуючої радіації, яка чинить гено- та цитотоксичний вплив, що реалізується за активації програмованої клітинної загибелі, уможлиблюється детермінація та синергізм внутрішньоклітинного оксидативного стресу і апоптозу.

Метою роботи, яку проводили на лімфоцитах тимусу та селезінки щурів через 30 хв після дії рентгенівського опромінення в дозі 1.0 та 7.78 Гр, було досліджено внесок вільнорадикальних процесів у перебіг радіаційно-індукованого апоптозу. Ступінь окислювальної модифікації протеїнів реєстрували спектрофотометрично; співвідношення відновленого (GSH) та окисленого (GSSG) глутатіону – з використанням спектрофлуориметричних підходів, ензимну активність полі(ADP-рибозо)полімерази (ПАРП) вимірювали з використанням 1 мМ 814С-НАД+. Оцінку протеасомної активності

проводили спектрофлуориметрично з використанням "Proteasome Activity Fluorometric Assay Kit" (BioVision, USA).

Проведені дослідження з оцінки ступеня окисної модифікації протеїнових молекул за дії променевого чинника в обох досліджених дозах засвідчили вагомим підвищення рівня окислених протеїнів у лімфоцитах тимусу і селезінки щурів. Подібні зміни призводять до посилення деградації модифікованих протеїнових молекул шляхами ендогенного протеолізу, водночас щодо залучення протеасомної протеолітичної активності, то нами встановлено її зниження в параметрах експериментальної моделі, що може свідчити про можливість окисної деструкції протеїнових субодиниць протеасоми та бути результатом акумуляції агрегатів окисномодифікованих протеїнів (агрегасом), які чинять інгібуючий вплив на активність протеасоми. Редоксрегуляція протеасомної системи корелює з посттрансляційною модифікацією її складових шляхом глутатіонілювання, тому нами оцінено співвідношення рівнів відновленого та окисленого глутатіону, що є вагомим показником системи окисно-відновного гомеостазу за дії променевого чинника. Радіаційно-індукований апоптоз характеризується порушенням структури і функцій ядерного хроматину та зниженням репараційного потенціалу клітини, які опосередковуються функціонуванням ПАРП. Встановлена нами різнонаправленість змін активності ПАРП у лімфоцитах тимусу та селезінки щурів тісно корелює з ПАРП-опосередкованою протеасомною регуляцією репарації ДНК за гентоксичного радіаційного впливу.

Отже, згідно з результатами, отриманими у наших дослідженнях, можна стверджувати про залучення редоксчутливих ланок до перебігу радіаційно-індукованого апоптозу.

ГЕРОПРОТЕКТОРНІ ВЛАСТИВОСТІ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ У ПЛОДОВОЇ МУШКИ ДРОЗОФІЛИ

БАЙЛЯК М.М.

ДВНЗ "ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА",
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail: bayliak@ukr.net

Останніми десятиріччями відбувся перегляд уявлень про функції багатьох клітинних метаболітів. Так, багатьма дослідженнями обґрунтовано, що, окрім відомих метаболічних ролей, інтермедіати циклу Кребса виконують ряд інших важливих фізіологічних функцій. Зокрема, встановлено, що такі інтермедіати ЦТК як альфа-кетоглутарат та оксалоацетат можуть продовжувати тривалість життя нематод *Caenorhabditis elegans* через індукцію стану, подібного до калорійного обмеження. У цій роботі нами досліджено здатність доданого до їжі альфа-кетоглутарату (АКГ) модулювати тривалість життя та функціональне старіння плодової мушки *Drosophila melanogaster*, модельного об'єкту, який широко використовується у геронтологічних дослідженнях.

У роботі використовували стандартну лабораторну лінію *D. melanogaster* Canton S. Зі стадії яйця мух вирощували на дріжджово-сахарозному середовищі, яке містило динатрієву сіль АКГ у різних концентраціях за температури 25 °С, вологості 55–60 % та регульованому фотоперіоді (12:12, день:ніч). Вилуплених мух переводили на свіжі середовища того ж складу до досягнення потрібного віку (24 або 40 днів) або до загибелі. Заміну середовищ здійснювали кожен другий-третій день. Визначали стандартні показники функціонального старіння мух (плодючість, локомоторна активність, стійкість до стресів), а також вміст метаболітів та показники оксидативного стресу у їхньому тілі.

Знайдено, що ефекти АКГ залежали від його концентрації та статі мух. Додавання до їжі 1–10 мМ АКГ не впливало на середню та максимальну тривалість життя самців, за винятком збільшення їх-

ньої максимальної тривалості життя на 10 мМ АКГ. Водночас, АКГ за концентрації 20 мМ скорочував середню і не впливав на максимальну тривалість життя самців. У самок АКГ за концентрацій 1 і 5 мМ не впливав на тривалість життя, а за вищих (10 та 20 мМ) – збільшував як середню, так і максимальну тривалість життя. За концентрації, яка збільшувала тривалість життя (10 мМ), АКГ знижував плодючість самок, підвищував стійкість до холодного стресу, проте не впливав на індуковану руху активність та стійкість до окислювального стресу у мух обох статей середнього (24 дні) і старшого (40 днів) віку. Самки 24-денного віку, але не самці, вирощені на середовищі з АКГ, були стійкішими до теплового стресу, ніж відповідні мухи на контрольному середовищі. За утримування на середовищі з 10 мМ АКГ мухи середнього віку мали вищий вміст триацилгліцеридів, вільної глюкози та загального протеїну, а також нижчу активність каталази, вищий вміст низькомолекулярних тіолів та вищий вміст пероксидів ліпідів. Останні показники вказують на те, що довготривале утримування на середовищі з АКГ призводить до розвитку оксидативного стресу у тканинах мух. У експериментах *in vitro* було знайдено, що АКГ інгібує респіраторну активність мітохондрій, виділених із мух. Саме цим можуть пояснюватись вищі показники окислювального стресу та акумуляція запасних ліпідів у мух за споживання ними їжі, збагаченої АКГ.

Загалом, результати свідчать про те, що, ймовірно, як модуляція вікових змін основного метаболізму, так і індукція м'якого оксидативного стресу можуть лежати в основі геропротекторної дії АКГ у *D. melanogaster*.

CONSTRUCTION AND ANALYSIS OF GENE NETWORKS RELATED TO OXIDATIVE STRESS RESPONSE IN HUMANS

BARANNIK T.

V. N. KARAZIN KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: tbarannik@karazin.ua

Genes and their products are considered to be organized in the specific networks to provide certain biological functions. Genes interaction is maintained both by the long-term control on transcriptional or post-transcriptional levels and by short-term regulation through protein modifications or binding into oligomeric

complexes. Recent investigations of oxidative stress response have provided new knowledge on proteins involved in principal adaptive reactions in mammals. Genes co-expression under oxidative stress is known to be linked to the antioxidant response elements (ARE) that coordinate target genes of NFE2L2 (Nrf2)

and several other transcription factors. Disturbances in redox signaling and antioxidant defence may lead to various pathologies possibly through the protein networks disintegration, therefore the interactions of genes related to oxidative stress were chosen as the subject of the current investigation.

Systems biology curated databases and bioinformatics tools with open access were used for the search of human genes with relevant annotations. Primary data mining was performed in gene ontology databases QuickGO and AmiGO for the genes involved in the responses to oxidative stress (GO:0006979), reactive oxygen species (GO:0000302), hypoxia (GO:0001666) or hyperoxia (GO:0055093) and regulation of redox state (GO:0051775). Experimental evidence with manual assertion was applied as a filter that covered five main types of studies: direct assays, expression patterns, genetic interactions, mutant phenotypes and physical interactions. Binary interactions for genes related to oxidative stress (search terms "oxidative stress" and "antioxidant" and "redox") were downloaded for further analysis from IntAct DB (EMBL-EBI).

Both separate and combined non-redundant genes sets with different annotations were analyzed for functional enrichment by DAVID 6.7 and EnrichR tools. DAVID analysis was restricted to molecular functions (GO_MF), protein domains (InterPro), cellular pathways (KEGG) and diseases (OMIM). The most statistically significant gene clusters contained the components of signaling cascades with protein kinase

and transcription factor activity, iron- and heme-binding proteins (mostly, oxidoreductases and transport proteins), antioxidant enzymes. EnrichR was applied for the analysis of molecular functions, pathways, protein kinases, protein domains and pathologies linked with applied genes sets. It is worth to mention the significant enrichment of genes linked to Parkinson disease, cancer, anemia, diabetes mellitus (type 2) and myocardial infarction in the gene sets related to oxidative stress.

These groups of pathologies were used for genes associations search in diseases-focused databases Malacards, OMIM and DisGeNet. Search results contained several hundreds of genes that were used for the oxidative stress-related interactome study. Gene sets were checked for overlap by NetworkAnalyst tool and were used for further gene network generation. Gene networks construction and analysis by NetworkAnalyst, Genemania and Cytoscape tools were compared. Gene lists were also checked for tissue-specific functional modules by HumanBase. The regulators (transcription factors, protein kinases) from the applied gene list with key positions in the networks were analyzed by GIANT v2 tool. Blood, aorta, vessels, heart, spleen and liver were taken as examples of tissues where this data was available.

The hub genes with the most connectivity revealed in tissue-specific gene networks could be used in the further search of potential therapeutic targets for stress-related pathologies.

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРАЗИ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ У ЖІНОК ХВОРИХ НА РАК ЯЄЧНИКА

БАРИЛЯК Р.В., ВОРОБЕЦЬ Н.М., ВОРОБЕЦЬ Д.З.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: kaf_medicalbiology@meduniv.lviv.ua

Рак яєчника відноситься до тяжкої патології жіночої репродуктивної системи. Ця патологія проявляється особливо високою здатністю до проліферації та метастазування, що й визначає клінічний перебіг захворювання. Вона широко вивчається з метою як удосконалення методів діагностики і виявлення пухлинного процесу на ранніх стадіях, так й оптимізації лікування на підставі сучасних уявлень про його патогенез. Відомо, що іонізований кальцій відіграє ключову роль в регуляції практично всіх внутрішньоклітинних процесів, включаючи пухлинний ріст, проліферацію клітин, апоптоз тощо. Важлива роль у підтриманні внутрішньоклітинного гомеостазу Ca^{2+} відводиться Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази плазматичної мембрани, функція якої полягає у зниженні концентрації даного іону в цитозолі.

Метою роботи було з'ясування особливостей функціонування Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази плазматичної мембрани лімфоцитів жінок із раком яєчника (РЯ).

Дослідження проводили на лімфоцитах крові практично здорових жінок і пацієток із неопластичними змінами яєчника. Лімфоцити крові виділяли шляхом центрифугування крові в градієнті густини фікол-тріумбразу ($\rho=1,08$ г/см³). Нами досліджені активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази плазматичної мембрани лімфоцитів крові як практично здорових жінок, так і хворих на рак яєчника III і IV стадії. З'ясовано, що у пацієнтів із раком яєчника (РЯ) Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРаза активність плазматичної мембрани лімфоцитів крові достовірно відрізнялась від фізіологічної норми, знижувалась в 1,6 раза. Зниження Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРаза активності плазматичної мембрани лімфоцитів крові пацієнтів

з РЯ свідчить про зростання $[Ca^{2+}]_i$ у цитозолі лімфоцитів. З'ясування значень констант спорідненості (афінності) показало, що ці величини знаходяться в субмілімолярному діапазоні концентрацій, що відповідає фізіологічній концентрації $[Mg \cdot ATP]$ у цитоплазмі клітин (0,5–5 мМ). У здорових осіб за умов фізіологічної норми константа спорідненості Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТРази плазматичної мембрани лімфоцитів до АТР становила $0,16 \pm 0,02$ мМ, а у пацієнтів з РЯ (III стадія) – $0,31 \pm 0,03$ мМ, а при РЯ (IV стадія) $0,35 \pm 0,03$ мМ. Тобто величина константи афінності до АТР для Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТРази плазматичної мемб-

рани лімфоцитів крові пацієнтів з РЯ у 2,0–2,1 раза перевищували ці значення для лімфоцитів крові осіб групи фізіологічної норми.

Таким чином, при раку яєчника активність Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТРази лімфоцитів крові достовірно знижується щодо контрольної групи, однак достовірної різниці в активності даного ензиму між III і IV стадіями розвитку РЯ не виявлено. Кінетичний аналіз Ca^{2+} -активованого, Mg^{2+} -залежного гідролізу АТР у лімфоцитах крові жінок показав, що зниження активності Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТРази обумовлено зниженням спорідненості ензиму до субстрату (K_{ATP} зростає у 2 рази).

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ Ca^{2+} -ЗВ'ЯЗУЮЧОГО ПРОТЕЇНУ S100 β У ГОМОГЕНАТІ ШЛУНКІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ

БІЛА О., ПОЛЯНСЬКА Д., СКОРИК О.Д.

ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;
e-mail: l_d_skorik@ukr.net

Взаємонаправлений зв'язок між шлунком та мозком відбувається завдяки функціонуванню ендокринної, нервової, імунної систем та неспецифічного природного імунітету. Мозок модулює функції шлунково-кишкового тракту (ШКТ) та навпаки. Асторглія мозку та глія шлунка експресують Ca^{2+} -зв'язуючий протеїн S100 β . За даними різних авторів експресія та вивільнення протеїну S100 β корелює з запальним статусом ШКТ.

Стрес є одним із ключових чинників, що зумовлює розвиток виразкових ушкоджень органів травної системи, запалення, що зумовлюють зміни моторики, секреції, мікрогемодинаміки, вісцеральної чутливості, проникності мембран клітин. Механізм впливу стресу комплексний, проте його основна складова пов'язана з вивільненням, так званих, "стрес-гормонів" наднирковими залозами. Останні зумовлюють вазоконстрикцію, і, як наслідок, виникнення гіпоксії та розвитку нітросо-оксидативного стресу, спричинюють зміни секреції та моторики шлунка. Таким чином, дослідження впливу стресового стану на вміст протеїну S100 β у слизовій шлунка є цікавим та досить маловивченим питанням.

Отже метою роботи було дослідити вміст протеїну S100 β у гомогенаті шлунків щурів в умовах стресу.

Експеримент був проведений на 30 щурах поділених на 5 груп по 6 особин у кожній групі: 1 група – контроль; 2 група – ВІС (появу стресових виразок слизової оболонки шлунка викликали водоімерсійним стресом. Тварин поміщали в пластикові патрони для іммобілізації та занурювали у воду на 2/3 патрона. Температура води була 23 °С. Тривалість перебування тварин в воді становила 5 год); 3 група – індометацин (20 мг/кг в/шл для моделювання ульцерогенезу); 4 група – індомета-

цин (20 мг/кг в/шл) + ВІС; 5 група – α -кетоглутарат + ВІС (після індукції стрес-процедур, тварини отримували протягом 14 днів 2 % 2-оксоглутарат (SGPlus, Sweden) розчинений у питній воді). Лізис клітин слизової оболонки шлунка проводили в лізуючому буфері. Вміст S-100 β у гомогенаті шлунка визначали згідно з методикою конкурентного твердофазного імуноензимного аналізу з використанням моноспецифічних поліклональних антитіл проти S-100 β (Sigma, США) та відповідного очищеного протеїну S-100 β (Sigma, США) як стандарту (Hго, 1998). Статистичну обробку результатів проведено із застосуванням *t*-критерію Стьюдента. Достовірними вважали відмінності за $P < 0,05$.

Згідно отриманих даних виявлено зниження рівня цього протеїну у групах тварин, яким вводили індометацин та α -кетоглутарат + ВІС на 30 %, а у групах індометацин + ВІС та ВІС – на 15 %, порівняно з групою контрольних тварин. Оскільки відомо, що даний протеїн діє позитивно в залежності від концентрації (у високій він може викликати нейродегенеративний та прозапальний ефекти, а в наномолярній кількості забезпечує життєздатність нейронів, ріст аксонів, стимулює проліферацію астроцитів), можливо зниження його вмісту, спричинене стресовим станом, свідчить про недостатність при даній патології забезпечення взаємозв'язку між шлунком та мозком для повноцінного функціонування.

Отже, у всіх досліджуваних групах спостерігалося зниження вмісту Ca^{2+} -зв'язуючого протеїну S100 β у гомогенаті шлунків щурів порівняно з контрольною групою. Зниження концентрації протеїну S100 β можливо свідчить про порушення проникності гематоенцефалічного бар'єра та неповноцінного взаємозв'язку між шлунком та мозком.

ВПЛИВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА ВИСОКОКАЛОРИЙНОГО ХАРЧУВАННЯ НА СТАН НЕКОЛАГЕНОВИХ ПРОТЕЇНІВ ОРГАНІЧНОГО МАТРИКСУ ТА МІНЕРАЛЬНОЇ ФАЗИ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ЩУРІВ

БІЛЕЦЬ М.В., ОМЕЛЬЧЕНКО О.Є.

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА;

e-mail: biletsmarina@gmail.com

Відомо, що структурна цілісність скелету підтримується перебудовою кісткової тканини (КТ) – ремоделюванням, що представляє собою два різнонаправлені процеси: утворення нової КТ остеобластами і руйнування – резорбція старої кістки остеокластами. У процесі ремоделювання беруть участь мінеральна фаза та органічний матрикс КТ, особливу роль відіграють неколагенові протеїни органічного матриксу: протеоглікани (хондроїтинсульфатвмісний протеоглікан, біглікан та ін.) та глікопротеїни (остеонектин, остеокальцин та ін.). Порушення їх структурної організації призводить до порушення ремоделювання, особливо остеогенезу. Досить часто це пов'язано із порушенням гормональної регуляції та впливом різних зовнішніх та внутрішніх факторів на КТ. Досить цікавим є вивчення змін структурної організації КТ за умов сполученого впливу різних чинників, наприклад нераціонального харчування, впливу стресорних чинників та ін.

Мета нашого дослідження – оцінити вплив іммобілізаційного стресу та висококалорійного харчування на стан неколагенових протеїнів органічного матриксу та мінеральної фази кісткової тканини нижньої щелепи щурів.

Експерименти виконані на 60 статевозрілих щурах-самцях, що були розподілені на 4 групи: контроль – тварини отримували стандартний корм; тварини, що отримували стандартний харчовий раціон із додаванням свинячого сала, яке було доступне протягом всього експерименту (Краєген Е., 1991); тварини, на яких моделювали хронічний іммобілізаційний стрес за методом Г. Сельє (ХІС) та група із сполученим впливом висококалорійного харчування (ВХ) та ХІС. Після моделювання ХІС, через одну добу тварин всіх груп забивали паралельно під тіопенталовим наркозом (внутрішньоочеревинно 40 мг/кг маси тіла). Для оцінки стану неколагенових протеїнів КТ пародонта визначали вміст фукози та N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA), мінеральну фазу оцінювали

шляхом визначення вмісту кальцію, фосфору та їх співвідношення в мінералізаті КТ. Отримані результати обробляли статистично.

Встановлено, що за умов ХІС рівень фукози достовірно не змінився в КТ нижньої щелепи, а рівень NANA збільшився в 1,2 раза, порівняно з контролем. ВХ не призвело до достовірних змін досліджуваних показників. Сполучена дія ХІС та ВХ викликала достовірне підвищення рівня фукози в 1,2 раза та NANA в 1,45 раза, що свідчить про порушення структури глікопротеїнів в КТ. Концентрація кальцію достовірно знизилась (в 1,27 раза) тільки у групі тварин із сполученою дією ХІС та ВХ, вміст фосфору в жодній досліджуваній групі тварин достовірно не змінився порівняно з контролем. Співвідношення кальцію до фосфору достовірно знизилось у групі тварин з ХІС: в 1,3 раза, та в 1,47 раза в групі тварин із сполученим впливом ІС та ВХ, що свідчить про порушення балансу між вмістом кальцію та фосфору в кістковій тканині нижньої щелепи, що, імовірно, пов'язано із порушенням структури органічного матриксу КТ (відбувається раніше, ніж зміна мінеральної фази).

Відомо, що стресорні реакції супроводжуються порушенням кальцієвого гомеостазу та підсиленням катаболічних процесів за рахунок активації гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи. Довготривале висококалорійне харчування, є фактором ризику розвитку інсулінорезистентності, що призводить також до активації катаболічних реакцій в сполучній тканині, в тому числі і органічному матриксу КТ. Отже можна зробити висновок, що сполучена дія хронічного іммобілізаційного стресу та висококалорійного харчування, порівняно з їх парціальним впливом, призводять до максимальної активації катаболічних процесів в кістковій тканині, порушенню її структурної організації і, як наслідок, до порушення співвідношення остеогенезу/остеорезорбції, важливою для підтримання нормального стану кісткової тканини.

РОЗВИТОК ХОЛЕСТАЗУ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН В УМОВАХ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ

БУРМАС Н.І., ФІРА Л.С.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

e-mail: burmas@tdmu.edu.ua

Холестаз – це синдром, зумовлений порушенням формування, утворення та відтоку жовчі, що зумовлює накопичення у плазмі речовин, які екскретуються із жовчю. Встановлено, що в разі розвитку медикаментозного гепатиту кишечник та печінка зазнають ураження, яке спричинює розлади біосинтезу та ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот. Це спричинює розвиток холемії, тобто інтоксикацію компонентами жовчі, які проникають у кров, передусім жовчними кислотами і білірубіном.

Метою дослідження було дослідити показники холестазу в організмі тварин різних вікових періодів за умов ізоніазидо-рифампіцинового гепатиту.

Експериментальне ураження тварин здійснювалось за умов поєданого введення ізоніазиду та рифампіцину щодобово внутрішньошлунково у вигляді водного розчину в дозі 0,05 та 0,25 г/кг відповідно протягом 7-ми і 14-ти діб. Евтаназію тварин проводили з використанням тіопенталу натрію (25 мг/кг) на 7-у та 14-у доби після останнього введення токсикантів. Досліди проведені на білих безпородних щурах-самцях трьох вікових періодів: статевого дозрівання (3-місячні тварини, масою 90–110 г), статевої зрілості (6-місячні тварини, масою 150–170 г) та старіння (тварини 18-місячного віку, масою 280–300 г). Всі піддослідні тварини кожного вікового періоду були поділені на дві групи: контрольна група – інтактні тварини (вводили фізіологічний розчин); експериментальна група – тварини, яким вводили ізоніазид та рифампіцин. Розвиток холестазу в організмі тварин оцінювали за вмістом загального білірубіну (ЗБ) і жовчних кислот (ЖК) у сироватці крові.

Статистичну обробку цифрових даних проводили за допомогою додаткового програмного забезпечення Excel (Microsoft, США) і STATISTICA 6.0. (Statsoft, США). Статистично достовірну різни-

цю незалежних кількісних значень оцінювали за критерієм Стьюдента.

На 14-ту добу експерименту вміст ЗБ перевищував рівень тварин інтактного контролю на 53 % у статевонезрілих тварин, на 40 % у статевозрілих та на 28 % у старечих щурів при ураженні протитуберкульозними препаратами. Найвищий вміст ЗБ нами відмічено наприкінці дослідження у тварин молодого віку і він становив 153 % при порівнянні з інтактними тваринами ($P < 0,05$). Підвищення вмісту ЗБ в умовах медикаментозного гепатиту, свідчить про руйнування клітинних мембран і зокрема еритроцитів і зниження їх стійкості до гемолізу, а також про погіршення видільної функції печінки.

Відмічено зростання вмісту ЖК у статевонезрілих тварин на 42 % та 71 % на 7-у та 14-у доби дослідження відповідно. У статевозрілих та старечих тварин вміст ЖК на 7-у добу збільшився на 54 % і 50 %, на 14-у добу – на 76 % і 78 % при порівнянні з тваринами інтактного контролю ($P < 0,05$). Отже, у сироватці крові уражених тварин значно зростає вміст ЖК, що свідчить про порушення виділення їх гепатоцитами у жовчні капіляри, виникнення холестазу та зниження надходження у жовч, внаслідок чого у щурів розвивається гіпохолестеринемія, що є ознакою порушення функції гепатоцитів.

Встановлено, що найбільш виражений процес холестазу у тварини молодого віку – статевонезрілі. Це пояснюється порушенням секреції гепатоцитами жовчних кислот у жовчні капіляри, виникненням холестазу та зниженням їх надходження у жовч. Отже, в уражених тварин розвивається холемія, яка характеризується накопиченням ЖК, а також ЗБ й інших компонентів жовчі у крові, що може спричинити інтоксикацію організму.

ALPHA-KETOGLUTARATE ALLEVIATES ALUMINUM TOXICITY IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

BUTENKO N.V., LYLYK M.P., GOSPODARYOV D.V., BAYLIAK M.M.

VASYL STEFANYK PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY, IVANO-FRANKIVSK, UKRAINE;

e-mail: nataliawernik96@gmail.com

Aluminum is used extensively in human everyday life and production of some medicines and cosmetics. Aluminum was long believed to have low chemical activity and bioavailability. However, numerous studies over the last decade have indicated that long-term exposure to aluminum can lead to chronic intoxication in humans. Mechanisms of Al toxicity have not been fully elucidated. Many *in vitro* and *in vivo* studies support the idea that aluminum toxicity can be associated with its ability to trigger or augment oxidative stress, though aluminum itself is not a redox active element. In last years, *Drosophila melanogaster* has emerged as a model for studies of aluminum toxicity. The current study aimed to disclose the mechanisms of aluminum toxicity in *D. melanogaster* at larval and adult stages and examined the potential protective effects of dietary alpha-ketoglutarate (AKG).

The *D. melanogaster* strain *w¹¹¹⁸* was used in all experiments. Flies were reared on food containing either 10 mM AlCl₃ or 10 mM AKG, or both additives. Two-day-old adult flies were anesthetized with carbon dioxide, separated by sexes and then used for physiological tests or snap-frozen in liquid nitrogen for biochemical analyses.

Exposure to AlCl₃-containing diet induced developmental mortality, behavioral defects, decreased fecundity and long-term survival of female flies. The addition of dietary AKG did not ameliorate locomotor defects or the higher sensitivity of Al-treated flies to

oxidative stress, but improved their heat stress resistance, egg-laying capability and survival. Metabolic effects of AlCl₃ exposure on flies included decreased glucose levels, increased free iron, and storage triacylglyceride levels. Catalase activity, levels of protein thiols and low-molecular mass thiols were similar in AlCl₃-fed and control flies. But females reared on AlCl₃-supplemented food showed significantly lower activities of aconitase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, and higher levels of lipid peroxides. Together, received results suggest that Al induces oxidative stress in *Drosophila*. Dietary AKG did not prevent AlCl₃ effects on glucose and triacylglyceride levels, but improved metal homeostasis, inhibited the increase in free iron and restored the functional activity of iron-containing enzymes such as aconitase. In addition, AKG decreased the intensity of oxidative stress seen in AlCl₃-reared adult flies. The protective effects of AKG may be attributed mainly to its antioxidant properties rather than to its metabolic roles in the Krebs cycle or amino acid metabolism. On the other hand, some effects of AKG in AlCl₃-fed flies (lower low-molecular mass thiol level and the higher sensitivity to oxidative stress inducer menadione, compared with those parameters seen in AlCl₃-fed flies) suggest its pro-oxidant activity.

Collectively, the results show that AKG does not prevent Al toxicity completely but is able to mitigate it.

NADPH OXIDASE ACTIVITY IN ARABIDOPSIS PHOSPHATIDYLCHOLINE-HYDROLYSING PHOSPHOLIPASE C KNOCKOUTS – THE EFFECTS OF BRASSINOSTEROID AND BIOTIC STRESSORS

BUKHONSKA Y.^{1,2}, DEREVYANCHUK M.¹, KRAVETS V.¹

¹V.P.KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV, UKRAINE;
e-mail: yasya.yaroslavka@gmail.com

This study aims at disclosing the role of phosphatidylcholine-hydrolysing phospholipase C (PC-PLC, or non-specific phospholipase C – NPC) in the regulation of NADPH oxidase activity in *Arabidopsis thaliana* following recognition of flagellin.

Flagellin is a bacterial-derived PAMP (pathogen-associated molecular pattern) and is known to

induce accumulation of reactive oxygen species (ROS) as a part of plant defence strategies. However, the mode of ROS induction by flagellin is still not fully understood. In this study, the effect of flagellin was assessed using several test setups. Plants were treated either with flg22 (a signaling peptide representing monomer of bacterial flagellum) or suspen-

sions of flagellated bacteria (*E. coli* strain BI21) and non-flagellated bacteria (*Micrococcus* sp.) as a control.

The effect of flagellin recognition was assessed by monitoring the ROS production via two following assays. NADPH oxidase activity was detected histochemically using 4-nitro blue tetrazolium (NBT). NBT is converted to an insoluble blue pigment due to the formation of superoxide radicals and was monitored microscopically in leaf tissues. Quantitative measurements of flg22-induced ROS response were performed by FOX (Ferrous Oxidation–Xylenol Orange) method, based on spectrophotometrical detection of the colored complex of xylenol orange bond to ferric ions. The level of endogenous H₂O₂ is measured in this way. However, by applying NADPH oxidase inhibitor – a diphenyleneiodonium chloride (DPI) – a contribution of NADPH oxidase to ROS response could be assessed.

By combined use of two methods, we have established that flg22 indeed stimulates ROS accumulation by NADPH oxidase in the leaves of wild type (WT) *A. thaliana* plants. We have similarly observed that ROS production by NADPH oxidase is induced

following recognition of flagellated and, to a lesser extent, non-flagellated bacteria.

These effects were diminished in *npc1npc4npc6* and *npc2npc4npc6* plants – PC-PLC T-DNA insertional knockout *A. thaliana* mutants. Brassinosteroids, plant hormones with established stress-modulating properties, have an impact on ROS production activity. We have observed that plants grown on solid media containing 10⁻⁸ M 24-epibrassinolide (EBL) have their ROS response to flg22 due to NADPH-oxidase activity induced.

Based on these results we suggest that *NPC1*, *NPC2*, *NPC4* and *NPC6* PC-PLC isoforms are involved in the induction of ROS accumulation and regulation of NADPH oxidase activity in response to recognition of flagellin in *Arabidopsis* and could be a part of plant defence mechanisms. The effect of EBL of flg22-induced ROS accumulation may be due to previously demonstrated transcriptional induction of NADPH-oxidase coding genes.

This work was supported by project №2.1.10.32-15 from National Academy of Sciences of Ukraine.

СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТВАРИН ЗА ДІЇ РОСЛИННОГО ЕКСТРАКТУ НА ФОНІ СТРЕСУ, ІНДУКОВАНОГО АДРЕНАЛІНОМ

БУЧКО О.М.¹, ГАВРИЛЯК В.В.², ЯРЕМКЕВИЧ О.С.²

¹ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН, ЛЬВІВ, УКРАЇНА;

²НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ “ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА”, УКРАЇНА;

e-mail: buchko_oksana@ukr.net

Роль стресу, як однієї з причин атеросклерозу, виразкових уражень слизової шлунка і дванадцятипалої кишки, порушень функцій серця, печінки, виникнення імунодефіцитних станів та онкологічних захворювань підтверджується багатьма дослідженнями. Проте, існує потреба в розширенні уявлень про механізми хімічної регуляції стресу та пошук антистресових сполук, що володіють антиоксидантною активністю. Біологічно активні речовини рослин унікальні тим, що їх хімічна природа максимально наближена до організму, вони містяться в легкозасвоюваній формі, оптимальних концентраціях, мало токсичні, можуть використовуватися тривалий час, мають широкий спектр фармакологічної і фізіологічної активності в порівнянні з синтетичними аналогами. Мета досліджень – з'ясувати дію екстракту кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.) на антиоксидантну систему щурів у нормі та за умов адреналінового стресу.

Дослідження проведено на щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г, розділених на 4 групи:

контрольна та 3 дослідні (Д₁, Д₂, Д₃), по 7 тварин у кожній, та утримували в стандартних умовах віварію з необмеженим доступом до води та корму. Експерименти проводили відповідно до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей”. Щурам груп Д₂ і Д₃ протягом 4 тижнів випоювали 40 % етанольний екстракт кропиви у кількості 5 мл/кг маси тіла. Тваринам Д₁ та Д₃ груп на 29 добу експерименту моделювали дію стресу внутрішньом'язовим одноразовим введенням 0.1 % розчину адреналіну гідрохлориду в дозі 1 мг/кг маси тварини. Через 24 години після введення адреналіну тварин декапітували за легкого ефірного наркозу. Об'єктом дослідження служили гемолізати еритроцитів, плазма та гомогенати печінки, серця, нирок щурів. У гемолізатах еритроцитів та гомогенатах тканин визначали активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (САТ), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР) та вміст відновленого глутатіону (ВГ). У

плазмі крові і гомогенатах тканин визначали концентрацію гідропероксидів ліпідів (ГПЛ), ТБК-активних продуктів, карбонільних груп протеїнів (КГП). Відмінності між значеннями в контрольній та дослідних групах визначали за допомогою тесту Тьюкі і вважали їх достовірними при $P < 0,05$. Результати визначали як середнє \pm стандартна похибка.

Встановлено, що стрес, індукований адреналіном, в організмі тварин носить тканинспецифічний характер – в еритроцитах і в печінці виявлено низьку концентрацію продуктів вільнорадикальних процесів і активацію глутатіонової ланки системи антиоксидантного захисту (АОЗ), а в нирках і серці щурів – відсутність резистентності до гіперадреналінемії – виснаження ензиматичної ланки антиоксидантної системи (низьку активність СОД, КАТ, ГП і ГР) та розвиток оксидативного стресу (підвищення вмісту ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП). Низьку активність антиоксидантних ензимів у крові та тканинах щурів, які зазнавали дії стресу

на фоні випоювання кропиви та знижений рівень продуктів оксидативного стресу до рівня контрольних значень, можна пояснити зменшенням утворення метаболітів вільнорадикальних реакцій за дії антиоксидантних складових екстракту. Найкращий позитивний вплив екстракт кропиви мав на глутатіонову ланку АОЗ. Високу активність ГП, ГР, вміст ВГ та низьку концентрацію ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП встановлено за дії екстракту на фоні стресу, стосовно стресових тварин, і подекуди щодо контролю. Підвищення активності СОД та КАТ, особливо в нирках і серці щурів за впливу кропиви можна пояснити присутністю в її складі мікроелементів Cu, Zn та Fe, що входять до їх активних центрів.

Пригнічення утворення активних форм кисню, їх подальшого патогенного впливу та стимулювання власної системи АОЗ організму тварин за дії досліджуваного екстракту, аргументує застосування кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.) в профілактиці і лікуванні стресових станів.

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНІ СПОЛУКИ КАЛІКС[4]АРЕНИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНІ СЕЛЕКТИВНІ ІНГІТОРИ КАЛЬЦІЄВОЇ ПОМПИ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ

ВЕКЛІЧ Т.О., ШКРАБАК О.А.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: veklich@biochem.kiev.ua

У випадку гладеньких м'язів (ГМ) транспортна Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРаза плазматичної мембрани (ПМ) має фундаментальне значення у підтриманні фізіологічної концентрації Ca^{2+} у міоцитах, за рахунок компенсації пасивного потоку іонів Ca в клітину, який відбувається в стані спокою. З огляду на це перспективним є пошук ефекторів, які дозволяли б змінювати активність Ca^{2+} -помпи ПМ. У цьому аспекті, зокрема, являють інтерес каліксарени – макроциклічні сполуки, синтезовані шляхом циклоконденсації пара-заміщених фенолів і формальдегіду. Каліксарени вивчаються як молекулярні платформи для дизайну сполук, здатних впливати на протікання біохімічних процесів. Наші попередні дані свідчили на користь того, що калікс[4]арен С-90 може претендувати на роль селективного інгібітора транспортної Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ.

Ми поставили перед собою за мету вивчити вплив калікс[4]арену С-90 та його аналогів на Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРазу активність ПМ.

Калікс[4]арени були синтезовані і охарактеризовані із використанням методів ЯМР та ІЧС академіком НАНУ В.І. Кальченком та його колегами

(ІОХ НАНУ). Експерименти були виконані на суспензії ПМ клітин міометрія, оброблених 0,1 % розчином дигітоніну. Ми показали, що калікс[4]арен С-90, ефективно інгібуючи активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази (значення $I_{0,5}$ для С-90 становить $20,2 \pm 0,5$ мкМ), майже не впливає на ензиматичні активності "базальної" Mg^{2+} -АТРази і Na^+ , K^+ -АТРази. За результатами конфокальної мікроскопії під впливом С-90 (20 мкМ) спостерігається різке зростання флуоресцентної відповіді Ca^{2+} -чутливого зонду fluo-4 у клітині, після чого відбувається зменшення квантового виходу зонду та повернення інтенсивності флуоресценції до початкового рівня. Ці результати свідчать про те, що під впливом калікс[4]арену С-90 відбувається різке підвищення концентрації Ca^{2+} у клітині, яке пов'язане зі зниженням активності транспортної Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ. Наступне зниження концентрації Ca^{2+} до початкового рівня може бути пов'язано з залученням компенсаторних Ca^{2+} -транспортуючих систем в міоцитах до релаксації кальцієвого сигналу, які мають нижчу афінність до Ca^{2+} та реагують, головним чином, на його високі концентрації в клітині

(Ca²⁺-уніпортер мітохондрій, Na⁺-Ca²⁺-обмінник ПМ). Також було показано, що С-90 (50 мкМ), подібно до утеротоніку окситоцину, призводить до зменшення ефективного гідродинамічного діаметра гладеньком'язових клітин, виміряного за допомогою лазерного кореляційного спектрометра, до 74 % відносно контролю, що свідчить про скорочення міоцитів. Ми дослідили дію цілого ряду калікс[4]аренів (С-715, С-716, С-772, С-90, С-956, С-957, С-975) – структурних аналогів калікс[4]арену С-90, на Ca²⁺,Mg²⁺-АТРази активність ПМ і з'ясували, що найбільшу інгібіторну ефективність має калікс[4]арен С-956 (I_{0,5}=15,03±0,52 мкМ).

Таким чином, дані цієї роботи можуть слугувати підґрунтям для наступної розробки, на основі калікс[4]арену С-90, ефективного інгібітора

Ca²⁺,Mg²⁺-АТРази ПМ, що, в свою чергу, матиме важливе значення для подальшого з'ясування мембранних механізмів Ca²⁺-обміну у ГМ, зокрема, під час вивчення ролі ПМ в забезпеченні електро-механічного спряження в них. Результати, що були одержані, можуть бути корисними для подальших досліджень, спрямованих на використання каліксаренів як потенційних фармакологічних сполук, здатних модулювати скоротливу функцію матки при деяких патологіях скоротливої активності ГМ.

Автори висловлюють подяку академіку НАНУ С.О. Костеріну (Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАНУ) та академіку НАНУ В.І. Кальченку (ІОХ НАНУ) за обговорення експериментальних результатів.

АКТИВНІСТЬ ГЛІКОЛІТИЧНИХ ЕНЗИМІВ У ПЛІВКОТВІРНИХ ШТАМІВ *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

ВІННИКОВ А.І., ВОРОНКОВА О.С.

ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;
e-mail: voronkova_olga@i.ua

Плівкотвірні мікроорганізми та пов'язані з ними інфекції є однією зі значних проблем сучасної медицини. Мікробні біоплівки є більш пристосованими до виживання за несприятливих факторів, у тому числі і за рахунок зміни активності метаболічних процесів. У цьому сенсі особливого значення набуває вивчення окремих шляхів обміну речовин, зокрема процесів катаболізму вуглеводів, як джерела енергії для клітини. Одним із таких процесів є гліколіз.

Метою роботи було дослідження окремих ензимів гліколітичного шляху у плівкотвірних штамів *Staphylococcus epidermidis*, що виділені з репродуктивного тракту жінок при дисбіозі.

Дослідження виконані на базі бактеріологічного відділу лабораторії ВІС-Медик (м. Дніпро). Досліджено 5 біоплівкотвірних штамів *S. epidermidis*, що виділені з репродуктивного тракту жінок з дисбіозом. Контроль – неплівкотвірні штами *S. epidermidis*. Вирощування культур проводили на рідкому живильному середовищі при 37 °С у стаціонарних умовах до кінця логарифмічної фази росту. Після цього клітини відмивали двічі центрифугуванням 20 хв при 5 000 об/хв у буфері 50 мМ трис-(гідроксиметил)-амінометан гідрохлориду рН 7,8 і суспендували в цьому ж буфері з додаванням 5 мМ MgCl₂. Безклітинний гомогенат одержували ультразвуковою обробкою клітин при 22 кГц впродовж 15 хв із інтервалом в 1 хв на дезінтеграторі УЗДН-А (Україна), незруйновані клітини видаляли

після центрифугування при 5 000 об/хв впродовж 10 хв. Визначали активність наступних ензимів по зменшенню відновленого НАДН: фосфофруктокінази – при наявності додаткової ензиматичної системи, що містить фруктозо-дифосфатальдолазу, триозофосфатізомеразу, гліцерол-3-фосфатдегідрогеназу (Hempling, 1970); альдолази фруктозо-1,6-дифосфата – з додатковою ензиматичною системою, що містить триозофосфатізомеразу та гліцерол-3-фосфатдегідрогеназу (Ujita & Kimura, 1982); піруваткінази – при додаванні лактатдегідрогенази (Crow & Pritchard, 1982). Вибір цих ензимів обумовлений тим, що фосфофруктокіназа і піруваткіназа є регуляторними ензимами гліколізу, а альдолаза D-фруктозо-1,6-дифосфата є центральним ензимом цього шляху катаболізму глюкози.

Активність фосфофруктокінази у досліджених плівкотвірних ізолятах стафілококів, що виділені при дисбактеріозі, була на 28,2 % нижче за середнє значення для контрольної групи. Активність альдолази D-фруктозо-1,6-дифосфата була нижча за контрольний показник на 13,3 %. Активність піруваткінази була нижчою на 26,9 % порівняно із показниками ізолятів стафілококів, виділених із піхви жінок без дисбактеріозу репродуктивного тракту. Такі дані дозволяють передбачати можливість регуляції активності ензимів за дії несприятливих факторів.

Для стафілококів, що колонізують репродуктивний тракт жінок, характерні в основному два альтернативних процеси перетворення глюкози: гліколіз та пентозофосфатний шлях. Стосовно метаболізму стафілококів, що є представниками мікрофлори піхви, є дані щодо ізолятів *S. aureus*, виділених від здорових жінок та жінок із дисбактеріозами піхви: у таких ізолятів реалізуються переважно гліколітична схема або рідше пентозофосфатний шлях.

Показано, що індивідуальні характеристики кожного ізоляту у біоплівці варіюють. Нижча порівняно з контрольною групою активність фосфофруктокінази, альдолази фруктози-1,6-дифосфата та піруваткінази дозволяє передбачати можливість виживання культури за дії несприятливих факторів за рахунок зниженої інтенсивності обмінних процесів, що є одним з механізмів виживання відомих для клітин-персистерів у біоплівці, які складають резерв популяції.

NITROGEN OXIDE ROLE IN CELLULAR AND TISSUE OXYGEN METABOLISM

VOITSITSKIY V.M., DANCHUK V.V.

NATIONAL UNIVERSITY OF LIFE AND ENVIRONMENTAL SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: dan-vv1@ukr.net

The nitric oxide free radical (NO^\bullet) is one of the most important low-molecular regulators in cellular and tissue metabolism of oxygen. Its main source in physiological conditions is the deamination reaction of the amino acid L-arginine with the formation of NO^\bullet and citrulline, which is catalyzed by NO^\bullet – nervous tissue synthetases (nNOS) and vascular endothelium (eNOS). NO^\bullet is also formed in the case of incomplete aging of organic fuel, during lightning electrical discharges in the atmosphere, electric welding and with exhaled air in gaseous form can enter the body. NO^\bullet is released from some chemical compounds in a number of reactions, for example, from nitratol, sodium nitroprusside.

In the brain, NO^\bullet is the main regulator of education with cAMP, thus participating as a secondary messenger in the signal transduction mechanism in the brain, mainly the cerebellum. NO^\bullet also functions as a neurotransmitter, which includes the cascade activation of glutamine receptors. NO^\bullet also protects the blood-brain barrier from oxidative damage.

In vessels, NO^\bullet is mainly a regulator of vascular tone, keeping it at a relatively low level, and, along with prostacyclin, it prevents platelet aggregation and blood clotting.

Enzyme systems nNOS and eNOS produce NO^\bullet in low concentrations, which correspond to the physiological needs for regulation and limiting oxidative stress. A significant increase in NO^\bullet production compared to the main (basal) level – induction of the third form of NOS, namely inducible (iNOS).

The iNOS inducers are oxidative stress, γ -interferon, α -tumorous factor, a number of endotoxins, lipopolysaccharides, interleukins, and possibly other substances. A sharp increase in NO^\bullet level – the reason

for the inhibition of DNA synthesis, inhibition of cell proliferation, the manifestation of membrane destruction and even cell death.

The NO^\bullet radical is stable – its lifetime is 6–10 s., that means the nitric oxide is the least active among such radicals. NO^\bullet reacts mainly with paramagnetic: O_2 , O_2^\bullet – organic radicals R^\bullet , RO^\bullet , ROO^\bullet and other metals with variable valence, turning into a nitrosonium ion (NO^+), nitroxyl-anion (NO^-) or peroxyxynitrite-anion (ONOO^-) as well as nitrites. The interaction of NO^\bullet with other radicals usually leads to their mutual neutralization, i.e. Antioxidant effect (AO-effect). As a result of the interaction of NO^\bullet with active organic radicals ROO^\bullet , the effect of breaking of the POL chains occurs, i.e. also AO-effect. Thus, NO^\bullet products can be considered as AO-protection. At the same time, NO^\bullet paramagnetic properties determine the duality of its behavior depending on the conditions, mainly the microenvironment. NO^\bullet may also act as a pro-oxidant agent. Thus, in the reaction of NO^\bullet with O^- (oxygen anion radical, superoxide), ONOO^- ($\text{NO}^\bullet + \text{O}_2^- = \text{ONOO}^-$) is formed – a powerful oxidant peroxyxynitrite-anion. But an excess of NO^\bullet inhibits the formation of damage that is caused by ONOO^- due to the interception of radicals, RO^\bullet and ROO^\bullet particularly. The interaction of NO^\bullet with H_2O_2 can form an active $\cdot\text{OH}$ -radical (hydroxyl radical), however, its role in the biological effects of NO^\bullet is insignificant.

Thus, NO^\bullet functions as an intermediate and a product of a series of biochemical reactions with a predominantly AO-directionality. Only with a significant production of NO^\bullet under the influence of inductors iNOS, with the simultaneous accumulation of O^- in quantities that are close to the concentrations of NO^\bullet , the oxidizer ONOO^- is formed.

СТАН СИСТЕМИ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ХАРЧОВОГО РАЦІОНУ НУТРИЄНТАМИ

ВОЛОЩУК О.М., ПЛИТУС А.В.

ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА, УКРАЇНА;

e-mail: o.voloschuk@chnu.edu.ua

На сьогодні актуальним питанням залишається вивчення впливу дефіциту або надлишку окремих нутрієнтів на метаболічні процеси в організмі. Однією із перших на зміну співвідношення основних нутрієнтів у раціоні реагує система енергозабезпечення. Порушення процесів енергозабезпечення розглядаються як визначальні для ушкодження та загибелі клітин. Ключовим ферментом системи біотрансформації енергії є H^+ -АТРаза, яка каталізує реакцію синтезу АТР із АDР і Р_i. Робота H^+ -АТР-ази зворотня: вона здатна використовувати як енергію гідролізу АТР для перекачування протонів через внутрішню мітохондріальну мембрану, так і вільну енергію трансмембранного електрохімічного потенціалу для синтезу АТР.

Метою роботи було дослідження активності H^+ -АТРази та вмісту аденолових нуклеотидів у мітохондріях печінки щурів за умов різної забезпеченості харчового раціону протеїном та сахарозою.

Результати проведених досліджень показали, що у групі тварин, які утримувалися за умов дефіциту протеїну у раціоні, спостерігається підвищення H^+ -АТРази активності у понад 2 рази порівняно з контролем. Водночас у тварин, які перебували на високосахарозному раціоні, H^+ -АТР-азна активність у мітохондріальній фракції печінки знижується у 4 рази порівняно з контролем. Однією з можливих причин встановленого факту може бути інактивація досліджуваного ферменту внаслідок підвищення спорідненості аденолових нуклеотидів до каталітичних центрів ферменту та їх ковалентне зв'язування, що може спостерігатися при надлишку енергетичних субстратів у клітині за умов надмірного вживання вуглеводів.

Водночас у печінці щурів, які утримувалися за протеїн-дефіцитного раціону з високим вмістом сахарози, спостерігалось підвищення активності H^+ -АТРази майже вдвічі порівняно з контролем. В досліджуваних умовах активація H^+ -АТРази може бути зумовлена переключенням АТР-синтази

реакції на АТР-гідролазу внаслідок роз'єднання окисного фосфорилування і спрямована на підтримку електрохімічного потенціалу за рахунок гідролізу АТР, оскільки дія АТР-синтази зворотня і вона може використовувати гідроліз АТР для генерації $\Delta\mu H^+$, переносячи протони через мембрану проти градієнта їх концентрації. Надмірний гідроліз АТР ферментом у внутрішній мембрані мітохондрій може бути наслідком порушення окисного фосфорилування або відкриття неспецифічних пор проникливості.

Зміна активності H^+ -АТРази супроводжується кількісними змінами вмісту аденолових нуклеотидів у мітохондріях печінки щурів. Результати проведених досліджень показали, що за умов низькопротеїнового раціону в мітохондріальній фракції печінки щурів спостерігається зниження вмісту АТР на 40 % на фоні незначного зниження вмісту АDР та збереження на рівні контролю АМР. Зниження вмісту АТР може свідчити про посилений гідроліз АТР H^+ -АТРазою, що узгоджується з результатами визначення H^+ -АТРази активності за досліджуваних експериментальних умов. Водночас за умов високосахарозного раціону у мітохондріальній фракції печінки щурів спостерігається підвищення вмісту АМР та збереження на рівні контролю вмісту АТР та АDР. Слід відмітити, що у тварин, які утримувалися за умов низькопротеїнового-високосахарозного раціону, спостерігалось виражене зниження вмісту усіх аденолових нуклеотидів. Встановлений факт вказує, що нестача у раціоні протеїну та надлишку сахарози, зумовлює поглиблення дисбалансу системи енергозабезпечення. Зниження вмісту АТР, ймовірно, пов'язано зі сповільненням її ресинтезу внаслідок порушення структурно-функціональної організації компонентів дихального ланцюга, а виснаження пулу АМР може бути зумовлене зниженням інтенсивності її синтезу *de novo* за дефіциту протеїну.

ФУНКЦІОНУВАННЯ NO-СИНТАЗНОЇ ТА ГЛУТАТІОНОВОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ЧОЛОВІКІВ З АЗООСПЕРМІЄЮ

ВОРОБЕЦЬ М.З., ОНУФРОВИЧ О.К., БОРИС Ю.Б., ВОРОБЕЦЬ Д.З.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: vorobetsm@i.ua

Азооспермія – найбільш важка форма патології, що характеризується відсутністю сперматозоїдів в еякуляті. Розрізняють азооспермію двох типів – обструктивну (ОА) та необструктивну (НОА). При ОА сперматозоїди в сім'яних канальцях продукуються, але із-за непрохідності будь-якої ділянки сім'явивідних канальців не попадають в еякулят. НОА характеризується порушенням процесу сперматогенезу в сім'яних канальцях яєчок. Обструктивна азооспермія, що включає 40 % випадків азооспермії, зазвичай супроводжується збереженням нормальної екзокринної та ендокринної функцій.

Для більш чіткої диференціації ОА і НОА та використання адекватних методів лікування необхідна розробка нових діагностичних підходів. З цією метою використовуються більш широкі дослідження не тільки біопсійного матеріалу, так і лімфоцитів крові, вивчення їх біохімічних регуляторних систем.

Показано зниження активності аргінази у лімфоцитах неплідних чоловіків із азооспермією у 1,6 раза, щодо її активності у клінічно здорових чоловіків із нормозооспермією. З'ясовано, що у лімфоцитах крові неплідних чоловіків з азооспермією активність ендотеліальної ізоформи NO-синтази нижча, ніж у чоловіків із нормозооспермією у 1,8 раза. Виявлено підвищення активності індукцибельної ізоформи NO-синтази у лімфоцитах неплідних чоловіків у 12,6 раза щодо чоловіків із нормозооспермією. Також, показано активацію процесів ПОЛ, за визначенням концентрації малонового діальдегіду. Так, у лімфоцитах крові практично здорових чоловіків вона складала (64,2±5,3) мкмоль/л. При обструктивній та необ-

структивній формах азооспермії процеси ПОЛ суттєво інтенсифікуються і зростають відповідно в 1,4 та 1,5 раза. Одночасно з інтенсифікацією процесів ПОЛ, виявлені відповідні зміни в концентрації відновленого глутатіону та в активності ензимів системи глутатіону. Показано, що у практично здорових чоловіків концентрація відновленого глутатіону складає (18,2±1,6) нмоль/мг протеїну. При обох формах азооспермії вона достовірно знижується в 1,6 та в 1,5 раза, відповідно. Також виявлено достовірне зниження активності глутатіонпероксидази щодо контрольних значень в обох досліджуваних групах при азооспермії, відповідно в 1,3 та 1,2 раза. Щодо активності глутатіонредуктази, то в обох досліджуваних групах вона практично однакова, однак достовірно нижча, ніж у контрольній групі. Під час дослідження активності глутатіонтрансферази виявлено, що в нормі вона складає (117,3±8,2) нмоль GSH/хв-мг протеїну. За обструктивної форми азооспермії активність глутатіонтрансферази дещо знижується (недостовірно), у той же час за необструктивної форми азооспермії – знижується в 1,2 раза.

Таким чином, при обох формах азооспермії в лімфоцитах периферичної крові знижується активність конститутивної NO-синтази, багатократно зростає активність індукцибельної ізоформи NO-синтази, інтенсифікуються процеси пероксидації ліпідів, знижуються концентрація відновленого глутатіону та знижуються активності ензимів глутатіонової антиоксидантної системи, що свідчить про глибокі порушення регуляторних систем організму.

ІМУНОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ПУХЛИН: РОЛЬ ЗСУВІВ У МІКРОРІНКМІ

ГАЛИЦЬКИЙ В.А.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: volha@biochem.kiev.ua

Одним із основних механізмів пригнічення імунної відповіді є активація корегуляторних рецепторів на поверхні Т-клітин, т.зв. "immune checkpoints", що викликається зв'язуванням ними своїх лігандів та призводить до анергії. Пухлинні клітини здатні експлуатувати даний механізм, здійснюючи несанкціоновану і надмірну експресію

відповідних лігандів. Як правило, такі порушення корелюють зі стадією та агресивністю пухлин. Метою даного дослідження є вивчення ролі пухлино-асоційованих зсувів у мікроРНКомі для розвитку резистентності трансформованих клітин до імунного нагляду та імунотерапії.

Пошук сайтів зв'язування мікроРНК у 3'-нетрансльованій області транскриптів генів проводився *in silico* з використанням програмного пакета TargetScan.

Мішені мікроРНК miR-15/16, miR-34, miR-140, miR-141/200, miR-145, miR-148/152, miR-199, miR-200, miR-202, miR-214, miR-302, miR-320 та miR-520 виявляються у транскрипті гена *PDL1 (CD274)*, котрий кодує ліганд молекули "immune checkpoints" PD-1. Внаслідок зниження експресії перелічених мікроРНК, яке є характерним для трансформованих клітин, репресивний вплив даних мікроРНК на експресію гена *PDL1* нівелюється, і, отже, стає можливою його реактивація та гіперекспресія. Аналогічно, стає можливою гіперекспресія й інших лігандів молекул "immune checkpoints", а саме *PDL2 (PDCD1LG2)*, *B7-H3 (CD276)*, *B7-H4 (VTCN1)*, *HLA2*, *галектину-9 (LGALS9)*, *HVEM*, *PVR (Nect-5)*, *PVRL2 (нектину-2)* та *CD200*, транскрипти генів яких містять численні мішені мікроРНК *let-7*, *miR-1/206*, *miR-15/16*, *miR-22*, *miR-26*, *miR-29*, *miR-31*, *miR-34*, *miR-124*, *miR-125*, *miR-128*, *miR-129*, *miR-133a/b*, *miR-138*, *miR-140*, *miR-141/200*, *miR-143*, *miR-145*, *miR-148/152*, *miR-149*, *miR-194*, *miR-199*, *miR-204*, *miR-205*, *miR-214*, *miR-218*, *miR-302*, *miR-326*, *miR-449*, *miR-506*, *miR-520* та *miR-655*, експресія котрих у пухлинних клітинах зазвичай знижується.

Іншим важливим механізмом, який забезпечує імунну привілейованість пухлини, є експресія *Fas*-ліганда її клітинами. У транскрипті гена *FASL*, який кодує даний ліганд, виявляються мішені мікроРНК *let-7*, *miR-22*, *miR-141/200*, *miR-149*, *miR-194*, *miR-199*, *miR-214* та *miR-302/520*, чия експресія

у пухлинних клітинах знижується, дозволяючи реактивацію та надмірну експресію даного гена.

Опосередковано імунна привілейованість пухлини може досягатись також через гіперекспресію хемокінів, які рекрутують імуносупресивні T_{reg} -лімфоцити, а також інші нормальні клітини у пухлинне мікрооточення з наступною продукцією ними відповідних цитокінів.

Пухлинообумовлюючі зсуви у мікроРНКомі провокують гіперекспресію більшості лігандів рецепторів "immune checkpoints" у один і той же час. Це означає, що пухлинні клітини мають первинну стійкість до факторів імунобіологічного нагляду, і вона відразу носить множинний характер. Однак сучасні імунотерапевтичні препарати націлені на одномоментну точкову блокаду лише одного з шляхів "immune checkpoints" (приміром, моноклональні антитіла *Nivolumab*, *Pembrolizumab* блокують молекулу *PD-1*). З огляду на це, очевидно, що ефективність таких препаратів носить обмежений у часі характер і визначається періодом, необхідним пухлинним клітинам для нівелювання наслідків блокади однієї з молекул "immune checkpoints" за рахунок простого посилення експресії лігандів інших. Крім того, гіперекспресія *Fas*-ліганда, викликаючи апоптоз лімфоцитів, що проникають у пухлинну тканину, обмежує застосування та знижує ефект адаптивної імунотерапії (введення в організм лімфокінактивованих цитотоксичних лімфоцитів, лімфоцитів із химерними Т-клітинними рецепторами і т.д.) чи імунізації пухлинними антигенами. Більш дієвою стратегією могла б стати одночасна нормалізація мікроРНКому пухлинних клітин.

ВПЛИВ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕЧІНЦІ САМИЦЬ ЩУРІВ

ГАНУСОВА Г.В.

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. Н. КАРАЗИНА, УКРАЇНА;
e-mail: g.ganusova@karazin.ua

Метали зі змінною валентністю такі, як залізо, мідь, марганець і кобальт є есенціальними мікроелементами, вони необхідні для нормальної життєдіяльності організму. Однак, у надмірній кількості ці метали викликають утворення активних форм кисню (АФК) таких, як супероксидні радикали, пероксид водню і гідроксильні радикали, впливають на обмін іолів і мобілізують систему антиоксидантного захисту організму. Супероксиддисмутаза, каталаза і ензими обміну глутатіону є основною ензиматичною захисною системою клітини від шкідливої дії АФК. Більшість робіт присвячено вивченню тривалого впливу металів (від двох тижнів до кількох місяців) на показники у крові та тканинах

самців тварин. Метою даної роботи було дослідження одноразового введення хлориду кобальту на деякі показники антиоксидантного захисту в печінці самиць щурів.

У роботі використовували щурів-самок лінії Wistar масою 180-220 г у фазі estrus. Хлорид кобальту вводили підшкірно з розрахунку 3 мг на 100 г маси. Контрольним тваринам вводили 0,9 % NaCl. Щурів декапітували через 2 і 24 год. після введення солі під легким ефірним наркозом. Печінку гомогенізували у 0,1 М Na, К-фосфатному буфері, рН=7,4. Гомогенати тканини центрифугували при 10000 g протягом 30 хв для отримання постмітохондріальної фракції. Активність супероксиддисмута-

зи, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази і глутатіонредуктази визначали спектрофотометрично у постмітохондріальній фракції печінки щурів. Вміст сумарних SH-груп визначали за реакцією з реактивом Еллмана. Вміст протеїну визначали методом Лоурі в модифікації Міллера. Статистичну обробку результатів проводили, використовуючи *t*-критерій Стьюдента.

Згідно з отриманими результатами, через 2 год після введення хлориду кобальту показано значне підвищення активності супероксиддисмутази (140 %), каталази (139 %) і нормалізація активності цих ензимів до 24 год експерименту. Ці дані свідчать про утворення АФК (супероксидних аніон-радикалів і пероксид водню) на ранніх етапах дії хлориду кобальту. Активність ензимів обміну глутатіону таких, як глутатіонпероксидаза і глутатіон-S-трансфераза не змінювалися при цьому впливі. Каталітична активність цих ензимів пов'язана з витрачанням GSH, його перетворенням в окислений глутатіон (GSSG). Зворотна реакція відновлення GSSG здійснюється глутатіонредуктазою в присутності NADPH. Після введення хло-

риду кобальту виявлено підвищення активності глутатіонредуктази до 24 год (133 %).

У цих умовах вміст сумарних протеїнових і непротеїнових (SH-груп) і загального протеїну в печінці щурів змінювався незначно. Однак підвищення активності глутатіонредуктази супроводжувалося збільшенням вмісту непротеїнових тіолів (152 %) через добу після введення хлориду кобальту. Підвищення активності глутатіонредуктази можна розглядати як адаптивну відповідь клітин печінки на порушення тканинного балансу антиоксидантів і прооксидантів. Ця робота проводилася на самках щурів в фазі estrus, що характеризується високим рівнем естрогенів у крові. Слід зазначити, що естрогени відіграють важливу роль в системі антиоксидантного захисту печінки і плазми крові, стимулюють синтез металотіонеїнів у печінці та нирках при надмірному надходженні іонів металів в організм.

Таким чином, активація деяких ланок антиоксидантної системи в печінці самиць щурів пов'язана із захисною реакцією організму при введенні хлориду кобальту.

FEATURES OF SIRTUIN 1 AND SIRTUIN 3 EXPRESSION CHANGES IN BRAIN OF ALPHA7 NICOTINIC RECEPTOR DEFICIENT MICE AT CHRONIC CEREBRAL HYPOPERFUSION

HARMATINA O., PORTNYCHENKO A.

BOGOMOLETZ INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: harmatina@ukr.net

Severe stenoses and occlusions of brachiocephalic arteries lead to chronic cerebral hypoperfusion (ChCH) and are the cause of stroke and chronic ischemia. Hypoxia is a mechanism for development of these pathological processes, it determines the reaction of brain tissue to stress and degree of its damage. However, hypoxic preconditioning is known to elicit neuroprotection in models of ischemic brain damage. It has been shown that sirtuins (Sirts) epigenetically regulates response to cellular stress and may be a factor in gene transcription processes, post-translational modification of proteins, apoptosis regulators, cell aging, etc. We have previously shown that the changes of Sirt 1 and 3 expression decreased DNA neuron damage in the ChCH simulation. Since alpha7 nicotinic receptors ($\alpha 7nAChR$) are considered the one from the main targets for neuroprotection, now we have used $\alpha 7nAChR$ knockout (KO) mice to study the hypothesis that alpha7-receptors get involved in mediating neuroprotection through activation of Sirt1 and Sirt3 mechanisms under modeling of ChCH. The experiments were performed in 30 male $\alpha 7nAChR$ KO mice 6 weeks old (weight 18-20 g), divided into three

experimental groups: (1) control sham-operated group (n=10); (2) ChCH group (n=10), (3) ChCH+IH group (n=10). Hypoxic preconditioning was carried out by applying interval hypoxia seances (IH), which was modeled in a barochamber: an ascent of 6000 m above sea level ($pO_2=9.8\%$), an exposure of 1 h daily for 3 days before modeling of ChCH. Surgical manipulations were carried out in anesthetized with ketamine mice (60 mg/kg, i.p.). ChCH was performed using left common carotid artery ligation. In 8 weeks, Sirt1/Sirt3 expressions in left and right brain hemispheres by immunohistochemistry were studied. In ChCH group, levels of Sirt1 and Sirt3 gene expression was decreased in both hemispheres compared with the control, with more pronounced changes unilateral for both in ChCH ($P<0.05$). IH did not affect on Sirt1/Sirt3 expression. At the same time, Sirt1/Sitr3 expression rates were higher in all relevant wild type mice groups. This finding reinforces the view that neurocytoprotective mechanisms in chronic brain diseases suggest a probable relationship between alpha7 receptors and Sirt1/Sitr3 (by activating a cholinergic anti-inflammatory pathway).

AN ANALYSIS OF AN EXPRESSION PATTERN OF GENES INVOLVED IN LIPID METABOLISM IN PROSTATE TUMORS

GERASHCHENKO G.V.¹, KASHUBA V.I.^{1,2}

¹INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²KAROLINSKA INSTITUTET, SWEDEN;
e-mail: anna.gerashchenko@ukr.net

Metabolic reprogramming of cancer cells includes changes in all components of lipid metabolism, starting from import of lipids, their catabolism (fatty lipid oxidation and tricarboxylic acid cycle), lipogenesis, cholesterol synthesis export of lipoproteins and cholesterol and ending with lipid storage. All these processes play an important role in the initiation and progression of prostate cancer.

The aim of our work was to assess the relative gene expression (RE) levels of a set of genes, involved in lipid metabolism in benign and malignant prostate tumors. Next, define clinically significant specific alterations and possible correlations with prostate cancer stromal markers, based on the expression pattern.

RE levels of five genes (*FASN*, *CPT1C*, *LDLR*, *HMGCR*, *COX2*) were analyzed in 37 samples of the paired prostate cancer samples and conventional normal tissues (CNT) and 20 adenoma samples by a quantitative PCR. Tumors were of the different clinical and pathological characteristics (CPC), such as the Gleason score (GS) and stages. Four reference genes (*TBP*, *HPRT*, *ALAS1* and *TUBA1B*) were used for normalization of gene RE. The statistical analysis was performed, the Kruskal-Wallis test to determine differences between pairs of experimental groups; the Dunn-Bonferroni post hoc test for multiple comparisons to determine RE differences between groups and the Benjamini-Hochberg procedure with false discovery

rate (FDR) 0.10-0.25 for multiple comparisons. The Spearman's rank correlation test was used to find possible correlations between RE of genes and CPC.

It was found that RE of *FASN* and *COX2* was increased in an adenocarcinoma group, compared with the adenoma group. Four genes, namely *FASN*, *LDLR*, *HMGCR* and *COX2*, demonstrated significant alterations in RE in the adenocarcinoma group that contained samples at the different stages, compared with the adenoma and CNT groups. We have found negative correlations of CPC (stage and GS) for three genes (*LDLR*, *HMGCR*, *COX2*) in the adenocarcinoma group. For *FASN*, *LDLR*, *HMGCR*, we calculated several positive correlations of RE with RE levels of the epithelial cell markers (*CDH1*, *AR 1isof*, *KRT18*, *OCLN*, *NKX3-1*). *CPT1C* and *COX2* demonstrated positive correlations of RE with expression of mesenchymal cell markers (*CDH2*, *FN1*), cancer-associated fibroblasts (*ACTA2*, *CXCL12*, *CTGF*) and inflammation markers (*CIAS*, *IRF1*) in the adenocarcinoma group. The obtained data suggest that lipid metabolism is changed not only in tumor cells, but also in tumor stroma.

Thus, genes, involved in lipid metabolism showed differential RE in prostate cancer samples. RE levels of *FASN*, *HMGCR* and *COX2* might serve as putative markers of sensitivity and efficacy of inhibitory drugs. Further studies on a larger patient cohort are needed to confirm the present results.

CHROMOSOMIC INSTABILITY OF LYMPHOCYTES AND INTENSITY OF OXIDATIVE PROCESSES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH PROSTATE CANCER

GLAVIN O.A., DOMINA E.A., MIKHAILENKO V.M., MAKOVETSKA L.I.

R. E. KAVETSKY INSTITUTE OF EXPERIMENTAL PATHOLOGY, ONCOLOGY AND RADIOBIOLOGY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: veterok61@ukr.net

Purpose of the study was to investigate the degree of chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes (PBL) and the intensity of pro- and antioxidant processes in the blood of patients with prostate cancer (PC) before and after the first fraction of therapeutic irradiation.

The research was performed on the blood of 31 patients with PC (experimental group) and 31 healthy

donors (control group). The work was performed using biochemical, cytogenetic and statistical methods. The production of Fe²⁺ induced reactive oxygen species (ROS) (estimated with the N,N-Diethyl-p-phenylenediamine), the content of sulfhydryl groups of proteins and peptides (SH-groups) and malonic dialdehyde (MDA) – the end product of lipid peroxidation (LPO) were determined in plasma. The activity of enzyme

catalase was determined in blood hemolysates. Total production of free radical compounds (FR) (measured with the fluorescent probe 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate), the number of spontaneous (G_0 -test) and radiation-induced (G_2 -test) chromosomes aberration in PBL were determined.

For the statistical analysis of the results, the program "OriginPro 2015" was used. The main statistics factors were calculated, the correlation coefficients were determined by the Spearman criterion, and the presence of a significant difference was assessed using the Mann Whitney U-test and the Wilcoxon paired ranking criterion.

It was found that in patients with prostate cancer before radiation therapy, the level of Fe^{2+} dependent ROS production was increased in 1.55 times, the activity of the antioxidant enzyme catalase was reduced in 1.45 times, the levels of SH-groups were lower in 1.24 times and MDA in 1.12 times in comparison with healthy donors. These changes were statistically significant that indicate the development of oxidative stress in the blood of PC patients and were accompanied by increased level of spontaneous chromosomal aberrations in PBL which was in 2.84 times higher than the average population level. The decrease of CAT activity correlated with the size and

prevalence of the primary tumor ($r=0.526$) and the decrease of the SH groups content ($r=0.446$). The concentration of the latter in turn correlated with the number of spontaneous chromosomal aberrations in PBL ($r=0.734$).

The first fraction of therapeutic irradiation of patients with PC in a dose of 2.5 Gr resulted in a decline of the prooxidant processes in the blood towards the values of the control group. At the same time, the activation of FR formation in the PBL in 1,32 times was observed. The difference was not statistically significant due to a large variation of this indicator in PBL of individual patients with PC. According to the results of the G_2 -test, the inverse correlation between the individual radiosensitivity of PC patients and the production of FR in PBL after the first fraction of therapeutic irradiation ($r=-0.646$) was observed, which may be due to the different degree of their damage after radiation exposure.

It has been shown that an increased level of chromosome aberrations in the PBL of PC patients observed on the background of oxidative stress development in their blood. This suggests that the processes associated with the development of oxidative stress may be one of the reasons for the formation of genetic instability in somatic cells of cancer patients.

IRE1- ТА HSPB8-ЗАЛЕЖНА ЕКСПРЕСІЯ ПРОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ГЕНІВ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ

ГНАТЮК О.С., МІНЧЕНКО Д.О., КУЗНЕЦОВА А.Ю., МІНЧЕНКО О.Г.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: hnatiuk@gmail.com

Вивчення молекулярних механізмів регуляції експресії генів як в нормі, так і за різних патологічних станів дає можливість глибше зрозуміти молекулярні основи патологічних процесів і знаходити молекулярні мішені для розробки новітніх стратегій лікування захворювань та створення принципово нових лікарських препаратів. Однією з особливостей злоякісних пухлин є посилення експресії чи функції факторів росту та контролюючих процеси проліферації транскрипційних факторів, що супроводжується активацією сигнальних мереж стресу ендоплазматичного ретикула. Дослідження експресії генів та їх ролі в регуляції процесів злоякісного росту спрямовані на розшифрування молекулярних основ патогенезу онкологічних захворювань і пошуку сучасних підходів до їх попередження та лікування, що є надзвичайно перспективним напрямком фундаментальних біохімічних досліджень.

Мета дослідження – виявити взаємодію генів, що контролюють процеси проліферації, шляхом пригнічення рівня мРНК полі-функціонального

протеїну HSPB8 (протеїну теплового шоку B8) за допомогою siRNA технології для в'ясування можливих механізмів функціональної перебудови геному та росту гліом.

Методи дослідження – сіленсінг мРНК, експресія генів за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції та вестерн-блот аналізу в клітинах гліоми лінії U87 зі зниженим рівнем мРНК HSPB8 та за умов пригнічення IRE1/ERN1 (inositol requiring enzyme 1/endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1). Статистичну обробку даних проводили із використанням програмного забезпечення MS Excel та Origin 7.0. Статистичний аналіз нормально розподілених двох груп проводили за допомогою t-тесту.

Встановлено, що у клітинах гліоми лінії U87 з пригніченою активністю протеїнкінази та ендорібонуклеази IRE1 у порівнянні з контрольними клітинами спостерігається різке зниження рівня експресії про-проліферативного гена *HSPB8*, що корелює з вираженим пригніченням інтенсивності проліферації цих клітин та їх росту при імплантації

у мозок мишей, причому рівень цієї мРНК супроводжується різким зниженням рівня протеїну HSPB8.

Показано, що зниження рівня мРНК та протеїну HSPB8 за допомогою siRNA технології знижує інтенсивність проліферації клітин гліоми лінії U87, гено-специфічно змінюючи рівень експресії великої групи генів, причетних до регуляції процесів проліферації та апоптозу. Так, рівень експресії генів *NAMPT*, *MYRL2*, *PALL*, *ATF3*, *DEK* і *CUL4B* знижується, а генів *NPDC1*, *RAB5C*, *BIRC5*, *TSPAN13*, *PSAT1* та *TGM2* – підвищується.

Встановлено також, що у клітинах гліоми за умов пригнічення IRE1 рівень експресії генів *CLU*,

ATF3, *BIRC5*, *RAB5C*, *CUL4A* та *TGM2* – знижується, а генів *CUL4B*, *PALL* та *MYRL2* – збільшується, причому виявлені зміни в експресії цих генів здебільшого мають протилежний напрямок у порівнянні з умовами сіленсінгу мРНК HSPB8, вказуючи на диференційний характер змін в експресії генів, що контролюють процеси проліферації, за умов зниження рівня мРНК HSPB8 та пригнічення IRE1 у клітинах гліоми.

Таким чином, сіленсінг мРНК HSPB8 істотно змінює рівень експресії генів, причетних до регуляції процесів проліферації, що не завжди співпадає зі змінами в експресії цих генів за умов пригнічення IRE1.

HYPOXIA/REOXYGENATION MODULATES THE OXIDATIVE STRESS DEVELOPMENT IN RAT MYOCARDIUM: THE POTENTIAL INVOLVEMENT OF P53 AND NF- κ B

GONCHAR O.O., MANKOVSKA I.M.

*BOGOMOLETZ INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: olga.gonchar@i.ua*

It is known that the increase in the generation of active forms of oxygen (ROS) in cells is accompanied by activating of intracellular signaling ways that, in turn, regulate expression of plenty of genes encoding the synthesis of antioxidant proteins, proteins of DNA restitution, stress-related chaperones and antiapoptotic proteins. Redox-sensible transcriptional factors – NF- κ B and P53 are considered as important sensors that play a critical role in the determination of the cell fate at oxidative stress.

It was investigated the influence of repeated short and long duration sessions of hypoxia/reoxygenation (H/R) on the markers of oxidative stress (content of superoxide anion, secondary products of lipid peroxidation, peroxide, and oxidative modification of proteins), level of expression and activity of mitochondrial antioxidant proteins as well as connection of these changes with the transcription regulators NF- κ B and P53. To investigate the mechanisms of influence of H/R on oxidative stress development and redox balance in rat myocardium, the protein expression of

NF- κ B, P53, MnSOD, and glutathione peroxidase (GPx) in cellular compartments (nucleus, cytosol and mitochondria) was analyzed by means of Western blot analysis; mRNA MnSOD was investigated by means of PCR real-time.

It was established that brief and prolonged H/R differently influenced on the cellular distribution of P53, level of mitochondrial oxidative stress and antioxidant defence. Prolonged H/R, unlike brief H/R, caused the considerable increase in ROS generation and oxidation of lipids and proteins in myocardium mitochondria, translocation of P53 from cytosol to mitochondria, mitochondrial pro- and antioxidant dysbalance, reduction in the content of antiapoptotic protein Bcl2 and accumulation of nuclear phospho-NF- κ B protein. The close correlation between a mitochondrial level of P53 and expressions/activity of its target proteins MnSOD and GPx allows admitting participation of P53 in the modulation of mitochondrial oxidative stress that was caused by sessions of H/R.

RUK/CIN85-OVEREXPRESSING MURINE BREAST ADENOCARCINOMA 4T1 CELLS POSSESS PROPERTIES OF AMOEBOID MODE OF MIGRATION/INVASION

HORAK I., GUDKOVA O., LATYSHKO N., KISHKO T., KHUDIAKOVA O., VOLODINA T.,
POPOVA N., SKATERNA T., KRYSIUK I., SHANDRENKO S., DROBOT L.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: iryna.horak@gmail.com

Metastasis is one of the main causes of high breast cancer mortality. This process requires active and directed motility and invasion of cancer cells in order to leave the primary tumor and to colonize lymph nodes and distant organs. There are two modes of individual cancer cell migration/invasion: mesenchymal and amoeboid. Mesenchymal mode of invasion is characterized by elongated fibroblast-like cell shape, relatively low velocity, activation of extracellular proteinases and “pass-generating” motion. In contrast, cancer cells using an amoeboid type of invasion, have rounded shape, relatively high velocity, and reduced proteinases activity. This invasion mode is “pass finding” and requires extracellular matrix remodeling enzymes, e.g. lysyl oxidase, to organize collagen/elastin matrix.

The aim of this study was to investigate the role of adaptor protein Ruk/CIN85 in the migration/invasion mode of breast cancer cells.

As a model, we used sublines of mouse breast adenocarcinoma 4T1 cells with stable Ruk/CIN85 overexpression (RukUp-1 subline) or knockdown (RukDown subline), and vector-transfected/infected cells as corresponding controls. Matrigel and collagen type I invasiveness *in vitro* were estimated by modified Boyden chamber assay. Expression levels of Mmp2, Mmp9, Lox, Loxl2 and Gapdh mRNA were evaluated by RT-qPCR. MMPs activities were analyzed by gelatin zymography. Amine oxidases (lysyl oxidase – LOX, semicarbazide-sensitive amine oxidase – SSAO, diamine oxidase – DAO, polyamine oxidase – PAO)

activities were measured by fluorimetric H₂O₂ estimation. Collagen production in the conditioned medium was measured spectrophotometrically by 4-hydroxyproline estimation. Statistical analysis was performed by STATISTICA software. Normality of data distribution was analyzed by Kolmogorov-Smirnov test; pairwise comparisons were performed by paired Student t-test for unequal variances. Difference between groups was considered to be significant at $P < 0.05$.

It was demonstrated that Ruk/CIN85-overexpressing 4T1 cells were characterized by increased Matrigel and collagen type I invasiveness *in vitro* by 5,2 and 3,7 times, respectively, while Ruk/CIN85 knockdown resulted in significantly decreased invasiveness. The RT-qPCR analysis revealed decreased expression of Mmp2 and Mmp9, but increased Lox and Loxl2 expression in RukUp-1 cells. In RukDown cells, oppositely directed changes in genes expression were detected. Interestingly, LOX expression and activity in studied 4T1 sublines correlate positively with collagen production. Also, it was found increased SSAO and DAO activities, but decreased PAO activity in RukUp-1 cells, while in RukDown cells opposite changes were found.

Taken together, RukUp-1 cells are characterized by increased invasiveness, associated with abrogated pericellular proteolysis and increased LOX activity. These findings suggest that Ruk/CIN85-overexpressing murine breast adenocarcinoma 4T1 cells possess properties of amoeboid mode of migration/invasion.

БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВІ ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІВ ІЗ ЗВИЧАЙНОЮ ТА РЕЗИСТЕНТНОЮ ДО ЦИСПЛАТИНУ КАРЦИНОМОЮ ЗА ВВЕДЕННЯ ЦИТОСТАТИКІВ

ГРАБОВСЬКА О.І.¹, ШТЕМЕНКО Н.І.²

¹ДУ “ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ” НАМН УКРАЇНИ, ДНІПРО, УКРАЇНА;

²НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ “ДНІПРОВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА”, ДНІПРО, УКРАЇНА;

e-mail: elnikolenko@gmail.com

Сучасні дослідження механізмів резистентності до платинидів показали вирішальну роль метаболізму міді у онко-пацієнтів та обґрунтували методи подолання резистентності шляхом модуляції транспортних механізмів міді. Виходячи з цього,

визначення рівня церулоплазміну (Ср) – основного мідь-вмісного протеїну крові в експериментах з тваринами-пухлиноносіями за введення цитостатиків, є важливим і актуальним.

Концентрацію Ср вимірювали у сироватці щурів-пухлиноносіїв із звичайною (Т8) і резистентною до цисплатину (Т8рез) карциномою Герена за введення цисплатину і сполуки диренію(III) з почверним зв'язком дихлоротетра- μ -ізобутиратодиренію(III) (I) у різних лікарських формах.

Показано, що розвиток пухлин у тварин групи Т8 супроводжувався підвищенням концентрації Ср в 3,7 раза, а у тварин групи Т8рез – більше, ніж у 8 разів у порівнянні з інтактними тваринами, що підтверджує істотну роль Ср у формуванні явища резистентності. Введення цисплатину разом із I

призвело до ефективного інгібування пухлинного росту в групах з Т8 і Т8рез, що для групи Т8рез є прикладом подолання резистентності до цисплатину. Зниження концентрації Ср у групах тварин з Т8рез, що отримували систему Реній-Платина, було більш суттєвим, ніж у групах з Т8, що підкреслює важливість подальших досліджень диренієвих(III) сполук у моделях резистентного до цитостатиків канцерогенезу. Обговорюються деякі механізми регулювання гомеостазу міді та властивостей нанокмполімерів.

ВПЛИВ ГУМІНОВИХ РЕЧОВИН НА ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ В УМОВАХ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ

ГРИНЧАК Н.М., ШКАРУПА В.М., ПІСКУН Р.П.

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;
e-mail: Grinchak.nata@ukr.net

Порушення ліпідного обміну, насамперед – підвищений вміст у крові холестеролу (ХС), тригліцеридів і атерогенних ліпопротеїнів, є одним із найважливіших факторів ризику розвитку атеросклерозу та патогенетично пов'язаних із ним захворювань серцево-судинної системи. Сьогодні Всесвітня організація охорони здоров'я включає холестерин до переліку 10 глобальних факторів ризику для здоров'я, сотні наукових праць щороку присвячують дослідженню його шкоди, а мас-медіа породжують нові міфи. Звісно, людство занепокоєно тим **як знизити холестерол**. Однак, “небезпечним” холестерол стає лише коли порушується метаболізм ліпідів, і в крові починають переважаєти ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ та ЛПДНЩ), так як холестерол у складі ЛПНЩ може утворювати атеросклеротичні бляшки, призводячи до атеросклерозу. Ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ) – навпаки, виводять холестерол із крові, транспортуючи його в печінку та відповідають за здоров'я судин.

У зв'язку з вищевикладеним, зокрема, не втрачає актуальності створення нових лікарських засобів, що містять речовини природного походження. Однією з перспективних груп природних сполук для розробки лікарських препаратів є продукти біодеградації рослинної сировини, що називаються гуміновими кислотами. Завдяки здатності розпізнавати і зв'язувати речовини, які в організмі у надлишку, гумінові кислоти формують і виводять за межі організму комплекси з холестерином і ліпопротеїнами низької щільності, що робить їх ефективними в боротьбі з атеросклерозом і його наслідками. Тому, метою нашого дослідження було

виявлення та аналіз змін у ліпідному спектрі крові тварин із експериментальним атеросклерозом за введення гумінових речовин.

Стан експериментального атеросклерозу моделювався у білих лабораторних щурів-самців за класичною методикою Анічкова. Всі піддослідні тварини були розділені на 4 групи: 1 – інтактна, 2 група – щурі, яким моделювався атеросклероз, 3 група – щурі, яким на тлі моделювання атеросклерозу вводився 1% розчин гумінових речовин, 4 група – щурі, яким на тлі моделювання атеросклерозу вводився 10% розчин гумінових речовин. Протягом 30 днів щоденно щурам 2, 3 і 4 груп внутрішньошлунково за допомогою зонду з оливою вводили холестерол в дозі 0,2 г/кг і 4(6) – метил-2-тіоурацил в дозі 5 мг/кг. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985), “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Евтаназію тварин проводили під легким ефірним наркозом шляхом декапітації. Після забою забирали кров і в сироватці визначали наступні біохімічні показники ліпідного обміну: загальний холестерол (ЗХ), холестерол β -ліпопротеїнів, холестерол α -ліпопротеїнів, тригліцериди (ТГ). Також в плазмі крові визначали аланін- і аспартатамінотрансферази (АЛТ, АСТ).

У результаті дослідження у тварин із експериментальним атеросклерозом збільшувалися такі показники: ЗХ на 21 %, холестерол β -ліпопротеїнів – на 32 %, відповідно зменшувалися холестерол

α -ліпопротеїнів – на 31 %, ТГ – на 23 %, ІА – на 11,65 %. Також збільшувалися показники АЛТ та АСТ на 10,66 % та 4,87 % відповідно. У тварин третьої групи всі показники приблизно такі, як і у групі експериментальних тварин. У тварин четвер-

тої групи майже всі показники мають тенденцію до нормалізації.

Зробити висновок, що в рамках проведеного дослідження ефективним виявилось введення гумінових речовин в концентрації 10 % розчину.

МІТОХОНДРІАЛЬНЕ ОКИСЛЕННЯ В МІОКАРДІ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ ПРОЛОНГОВАНОЇ ГІПОКІНЕЗІЇ

ГРИЦУК О.І.

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;

e-mail: alexgritsuk2019@gmail.com

Гіпокінезія (ГК) (дефіцит рушійної активності) являється пріоритетним фактором ризику розвитку серцево-судинної патології. Згідно з даними дослідників США ГК пов'язана з розвитком 35 нозологічних форм (серцево-судинна патологія, метаболічний синдром, остеопороз, рак та інші). ГК негативно впливає поперед усе на стан енергетичного обміну в міокарді і м'язовій тканині, яка при ГК є тканиною-мішенню, але цей аспект вивчений недостатньо.

Мета дослідження – вивчення параметрів тканного дихання (ТД) і окислювального фосфорилування зрізів міокарда при ГК.

Досліди проводились на безпородних білих щурах-самцях масою 180–230 г, які утримувалися на звичайному раціоні віварію. Тварин розподілили на дві групи. Перша група – інтактні тварини, друга група – тварини, що знаходились в умовах ГК, на протязі 3, 10, 30, 45, 70 і 140 діб. Тварини знаходилися у клітках власної конструкції. Були враховані всі норми Європейської конвенції по роботі з лабораторними тваринами. Вивчення параметрів ТД і ОФ проводили на зрізах міокарда методом полярографії за допомогою платинового електрода Кларка в розчині Хенкса. Отримані результати свідчать, що тривалість ГК в значній мірі визначає характер змін в процесі окислення в мітохондріях міокарда. Так, швидкість ендогенного дихання значно зростає на 3, 10, 30, 45, 70 діб ГК. При цьому, максимум спостерігався на 30 добу і зменшувався нижче контролю на 140 добу. Результати інгібіторного аналізу мітохондріально-

го окислення в міокарді в цих умовах зі застосуванням інгібіторів дихального ланцюга: амітал, малонат і 2,4-динітрофенол свідчать про збільшення інтенсивності окислення жирних кислот (ЖК) і на наявність феномену роз'єднання окислення та фосфорилування. Ця обставина поряд із результатами дослідження стану креатинкіназної системи, що продемонстрували поряд з роз'єднанням окислення та фосфорилування, порушення депонування макроергів у формі креатинфосфату. Ці обставини дають можливість стверджувати, що в міокарді тварин під час ГК формується неефективний і дисипативний аеробний енергетичний обмін, який формує передумови для розвитку різних патологій.

Отримані результати свідчать, що зниження ефективності енергоутворення міокарда при ГК обумовлено, всупереч існуючої точки зору, не зменшенням інтенсивності дихальної активності мітохондрій, а її посиленню завдяки роз'єднанню окиснення та фосфорилування. Цей ефект формує неекономне використання субстратів. Ця реакція м'язової тканини на ГК доцільна тому, що забезпечує "викид" надмірної кількості енергоємних субстратів-ЖК, запобігаючи тим самим ефекту ліпотоксичності в міокарді і швидкому утворенню надмірних форм кисню. Представлені дані добре співвідносяться з результатами прямих радіометричних досліджень, що продемонстрували підвищення глибинних температур в периферичних тканинах за умов ГК, що є додатковим свідченням роз'єднання окислення та фосфорилування.

RECOMBINANT HUMAN ALPHA-SYNUCLEIN DEPRESSES CORRECTIVE EFFECT OF SPERMIDINE ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN *OGATAEA POLYMORPHA* MODEL YEAST STRAIN

GRUSHANYK N.¹, SARAI I.¹, STASYK O.V.², STASYK O.G.¹

¹IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV, UKRAINE;

²INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEME OF SCIENCES OF UKRAINE, LVIV;

e-mail: olenastasyk@gmail.com

It is known that one of the causes of Parkinson's disease (PD) is incorrect folding and accumulation of protein alpha-synuclein, which is the main component of Lewy's bodies. It is believed that oxidative stress is associated both with initiation and with course of PD. Primary molecular changes in dopaminergic neurons that die are caused by increasing level of active forms of oxygen (ROS) and oxidative modification of lipids and proteins, among which there is also alpha-synuclein. Today, much attention is being paid to compounds that can be used to correct disturbances caused by oxidative stress. These substances include polyamines (agmatine, putrescine, spermidine, etc.). Spermidine is a polyamine, known for its neuroprotective potential, anti-inflammatory and antioxidant properties. Therefore, it was chosen for our studies as one of the potential scavengers of active radicals.

The aim of our study was to analyze effect of spermidine on prooxidant-antioxidant balance in cells of *Ogataea polymorpha* model strain, in which human alpha-synuclein is synthesized.

Previously, we found that ROS overproduction and high activity of the components of antioxidant defense system were observed in *O. polymorpha* cells

under carbon source limitation in a culture medium. Therefore, for induction of oxidative stress, yeast cells were cultured in the medium contained 0.1 % glucose. Limitation of carbon source at the presence of 1 mM spermidine in a growth medium caused increasing activity of catalase and superoxide dismutase (antioxidant defense fermenters), as well as the content of carbonyl groups and TBA-positive products (indexes of oxidative modification of proteins and lipids, respectively) in the cells of the model strain comparative to wild-type cells grown under the same conditions. This indicated different effects of spermidine on wild strain cells and model strain cells.

Indexes of oxidative stress were several times lower in wild-type cells grown on a medium with spermidine, compared to cells cultured without addition of this polyamine. This indicated its corrective effect on wild-type cells. However, effect of spermidine on equilibrium between oxidative stress and antioxidant protection was not observed in the model strain. Consequently, the presence of heterologous alpha-synuclein in cells depresses the corrective effect of spermidine on prooxidant-antioxidant balance in *O. polymorpha* model yeast strain.

EFFECTS OF ACUTE AND CHRONIC INFLAMMATION ON HAEMOSTASIS IN RAT MODELS

HUDZ Ie.A., TKACHENKO O.S., KASATKINA L.O., CHERNYSHENKO T.M.,
PLATONOVA T.M., KOSIAKOVA H.V., CHERNYSHENKO V.O.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: goudziegor@gmail.com

Haemostasis is an integral system that one of the first reacts on inflammatory process sometimes conducting it. Most of the clotting factors interact with inflammatory mediators acting on different stages of inflammatory response. Our work aimed to estimate and compare the responses of haemostasis on acute or chronic inflammation in rat models.

Acute inflammation was modeled by intraperitoneal injection of LPS (0.5 mg/kg). Rats were scarified on the third day after the injection. Chronic inflammation was observed while developing the model of insulin resistance induced by the high-fat diet containing 58 % of fats of the total diet during 6 months. Blood

of rats was collected by heart puncture using 0.38 % Sodium Citrate as an anticoagulant. Platelet-rich plasma (PRP) was obtained by the centrifugation at 100 rpm for 30 min. Platelet aggregation was induced by 12.5 μM of ADP and measured using Aggregometer Solar 2110. The concentration of fibrinogen was determined by the modified spectrophotometric method using thrombin-like enzyme from the *Agkistrodon halys* venom. Level of protein C was measured using specific chromogenic substrate S2366 (pyroGlu-Pro-Arg-pNA) and activating enzyme from the *Agkistrodon halys* venom. The activated partial thromboplastin time (APTT) was measured using Coagulometer Solar.

Both studied models led to the inflammatory response that was approved by the decreasing of the level of protein C. Its level was 63 ± 15 % in acute inflammation and 72 ± 8 % at the chronic process. However, the concentration of fibrinogen that was prominently increased during acute inflammation (4.6 ± 1.8 mg/ml against 2.1 ± 0.2 mg/ml in control) was only slightly increased during chronic inflammation (2.8 ± 0.6 mg/ml). The most interesting, we observed the adverse effects of acute and chronic inflammation on the blood plasma clotting in APTT-test and the rate of ADP-induced platelet aggregation. Clotting time in APTT-test was prolonged in acute inflammation (48 ± 10 s) and shortened in chronic process (25 ± 9 s) in comparison to control meanings (35 ± 3 s). Platelets reactivity was also suppressed in acute inflammation (aggregation rate 28 ± 10 %) and enhanced in chronic inflammation (65 ± 9 %) in comparison to control meanings (43 ± 6 %).

Thus the response of haemostasis to acute and chronic inflammation differed much and sometimes was opposite. We can assume the predisposition of rats with chronic inflammation to thrombogenesis. However, acute inflammation resulted in a dramatic decrease of platelet aggregation and prolongation of clotting time in the APTT test. Those data most likely were the evidence of disseminated intravascular coagulation and consumption coagulopathy. We detected 'slow' response to chronic inflammation that was characterized by preparation of the system to effective coagulation; and 'fast' response, when the coagulation system was over-activated. In both cases, the effective work of the hemostatic system was impaired valuably.

This study was supported by the Program of National Academy of Sciences of Ukraine: "Support of the development of priority area of studies" (6541230).

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ПАТОГЕНЕЗУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ: ВНЕСОК АМІНООКСИДАЗ

ГУДКОВА О.О., ЛАТИШКО Н.В., ТОКАРЧУК К.О., ШАНДРЕНКО С.Г.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: ogudkova@biochem.kiev.ua

Астма є одним із найпоширеніших хронічних захворювань у світі, що призводить до ураження легенів. Попри значну кількість досліджень молекулярних механізмів, які лежать в основі розвитку даної патології, загальна картина досі залишається далекою від з'ясування. Так, відомо, що бронхіальна астма розвивається як хронічне запалення, яке призводить до ремоделювання дихальних шляхів та порушення дихальної функції, проте біохімічні закономірності обміну причетних до запальних процесів біогенних амінів за участі ензимів їх катаболічного перетворення не встановлені. Тому ми зробили припущення, що мідь- та топохінонзалежні амінооксидази, такі як: семікарбазидчутлива амінооксидаза (SSAO), діамінооксидаза (DAO) та лізілоксидаза (LOX), можуть брати безпосередню участь у розвитку бронхіальної астми та її ускладнень. Дослідження проводили на моделі овальбумін (OVA)-стимульованої atopічної бронхіальної астми (БА) на мурчаках із використанням незворотного інгібітора амінооксидаз, семікарбазиду (SC), у субтоксичній дозі (0,05 % розчин з питвом або 0,2 % розчин для інгаляцій). Після 15 тижнів сенсibilізації і провокацій алергеном розвиток патології констатували за підвищеною кількістю проатопічних цитокінів IL-4 і IL-13 в плазмі крові і тканинах легенів, за даними гістологічних та морфометричних досліджень (зниження повітряності легень, що проявляється в зменшенні розмірів альвеол, зниження просвіту респіраторних бронхіол, збіль-

шення міжальвеолярної перетинки, за наявності осередків інфільтрації та фіброзу тканини). За розвинутого стану БА реєстрували зростання активності амінооксидаз в плазмі крові: SSAO в 1,5 раза та DAO вдвічі. Це може свідчити про збільшення кількості попередників субстратів SSAO, які є маркерами загострення запального процесу і субстрату DAO - прозапального аміну, гістаміну. Не виключено, що підвищений рівень SSAO/VAP-1 як адгезивного протеїну може сприяти інфільтрації в легеневу тканину таких запальних клітин, як еозинофіли, базофіли і CD4⁺ лімфоцити, які є основними показниками розвитку бронхіальної астми. Ефекторна стадія розвитку БА характеризується IL-13-стимульованим субепітеліальним фіброзом легеневої тканини, процесу, що відбувається за участі LOX. Дійсно, було показано, що активність LOX у мурчаків з БА достовірно зростала більше, ніж у 2 рази, і це разом із гістологічними та морфометричними даними підтверджувало розвиток фіброзу легенів.

У астматичних тварин обох груп, які одержували SC, рівень проалергічних цитокінів IL-4 в крові та IL-13 в легенях не зазнавав змін. Тобто, SC не впливав на розвиток алергічної реакції в організмі тварин з БА. Водночас, у тварин цих груп спостерігалась нормалізація активності SSAO та DAO в плазмі крові. Це може свідчити про пригнічення гострої фази запального процесу. Крім того, введення SC тваринам з БА призводило до нормалі-

зації активності LOX в легенях порівняно з групою БА і зменшення проявів фіброзу легеневої тканини, що підтверджувалось результатами гістологічних та морфометричних досліджень. Таким чином,

отримані дані свідчать про безпосередню участь досліджуваних амінооксидаз у розвитку патологічних процесів за хронічної атопічної БА.

ОМОЛАЖИВАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ДО 5-10 КДА, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ КРИОГЕМОЛИЗАТА КОРДОВОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, ИЛИ ПРЕПАРАТА “АКТОВЕГИН” НА ДОНОРСКУЮ КРОВЬ, ПОДВЕРЖЕННУЮ ГИПОТЕРМИЧЕСКОМУ ХРАНЕНИЮ

ГУЛЕВСКИЙ А.К.

ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРИОБИОЛОГИИ И КРИОМЕДИЦИНЫ НАН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ;

e-mail: profgulevskyy@gmail.com

Известно, что гипотермическое хранение донорской крови сопровождается существенными морфофункциональными изменениями эритроцитов: из дискоцитов эритроциты трансформируются в эхиноциты, эллиптоциты, шизоциты, стоматоциты и другие формы, вплоть до сфероцитов, которые считаются непереходной формой, потерявшей способность возврата к исходному морфологическому состоянию и неспособными выполнять дыхательную функцию. Ранее рядом авторов [Виноград-Финкель, 1972; Valeri, 1969] были представлены результаты применения специальных рецептур, включающих в себя метаболиты обмена веществ (аденин, пируват, инозин) и др. вещества, способствующие обратной трансформации части “старых” эритроцитов в дискоциты и другие переходные формы, способные к осуществлению дыхательной функции. Как было установлено, “омолаживающее” действие таких рецептур было связано с увеличением в эритроцитах содержания АТФ и 2,3-ДФГ после инкубации в нормотермических условиях. Однако недостатком предложенных методов являлась опасность токсического действия некоторых компонентов в связи с высокими эффективными концентрациями.

Нами было установлено, что инкубация эритроцитарной массы донорской крови после гипотермического хранения при 2-4 в течение 7-21 дня с низкомолекулярной фракцией 5 или 10 кДа из криогемолизата кордовой крови человека или с препаратом “Актовегин”® (“Nicosmed”, Австрия), являющегося гемодериватом крови молочных телят с молекулярной массой до 5 кДа, на 21 сутки инкубации способствует увеличению содержания в донорских эритроцитах АТФ на 42 % и 2,3-ДФГ на 29 % по отношению к контролю. При этом в присутствии исследуемых препаратов было обнаружено достоверное восстановление формы эритроцитов, в частности на 21-е сутки количество дискоидных форм увеличивается на 43 %, по отношению к контролю. Показано, что при этом в эритроцитах достоверно увеличивается количе-

ство оксигемоглобина и уменьшается содержание дезоксигемоглобина.

Исследование механизмов биологической активности низкомолекулярной фракции кордовой крови человека и препарата “Актовегин” позволило установить, что она связана с активацией процесса гликолиза в эритроцитах, поскольку эффект стимуляции содержания АТФ и трансформации формы донорских эритроцитов после гипотермического хранения подавлялся известным ингибитором гликолиза йодоацетатом.

Важно отметить, что обнаруженный эффект стимуляции накопления АТФ в эритроцитах и трансформации их в направлении более молодых форм в присутствии низкомолекулярной фракции кордовой крови человека и “Актовегина” также частично подавлялся в присутствии ингибитора опиатных рецепторов Налоксона, что может указывать на участие в механизме их действия рецепторного звена клеток. К такому же выводу можно прийти, принимая во внимание факт подавления содержания оксигемоглобина в эритроцитах, подвергнутых гипотермическому хранению и стимулирующему воздействию фракции кордовой крови и препарата “Актовегин” в присутствии ингибитора опиатных рецепторов Налоксона.

Сравнительное исследование компонентного состава фракции кордовой крови 5-10 кДа и препарата “Актовегин” с помощью гелепроникающей и высокоэффективной жидкостной хроматографии позволило установить, что эти препараты являются многокомпонентными веществами, имеющими как ряд сходных, так и отличающихся компонентов, что может объяснять различия в их биологической активности.

В связи с обнаруженными фактами можно прийти к заключению о перспективности использования низкомолекулярной фракции кордовой крови человека и препарата “Актовегин” для “омолаживания” эритроцитов донорской крови после гипотермического хранения.

ASSOCIATION OF THE *GSTP1* AND *PARP1* GENES POLYMORPHISMS WITH ALZHEIMER'S DISEASE

GULKOVSKIY R.¹, PEREBYINIS V.^{1,2}, SHKEL O.², ROZHELUK N.³, KHOLIN V.³,
KOPCHAK O.³, BACHINSKAYA N.³, HRYSHCHENKO N.¹, KRAVCHENKO S.¹

¹INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV, UKRAINE;

³D.F.CHEBOTAREV STATE INSTITUTE OF GERONTOLOGY NAMS OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: dnatest@imbg.org.ua

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia. AD neurodegeneration damages the brain and leads to disruption of the memory functioning, cognitive and behavior impairment. AD is a progressive disease – dementia symptoms getting worse from year to year. Every new case adds to the burden on individuals, families, communities and society as a whole. At present, early diagnosis and identification of presymptomatic individuals who are at higher risk of developing AD represent the main global public health priority.

Alzheimer's disease has a complex etiology, including a combination of genetics and environmental factors. Numerous studies demonstrate that genetic factors have an important role in the development of AD and can serve as markers for its diagnosis and prognosis. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (*PARP-1*) gene polymorphisms were documented in numerous studies to be associated with late-onset Alzheimer's disease (LOAD). *PARP-1* is thought to have an important role in the initiation of the DNA repair pathway in response to cellular injuries such as DNA breaks, excitotoxicity, oxidative stress and also involved in microglia-mediated inflammation and apoptosis regulation. Furthermore, glutathione S-transferases (a group of the key antioxidant end detoxification enzymes) genes polymorphisms suggested being another important contributor to LOAD susceptibility. It is commonly accepted that neuroinflammation and oxidative stress leading to DNA damage, which likely act in tandem and/or in combination, are the mechanisms of amyloid-beta neurotoxicity. However, it is unknown whether *GSTP1* and *PARP1* genetic variants combinations are associated with LOAD.

Presented study aimed to clarify the role of *PARP1* (rs3219023) and *GSTP1* (rs1695) polymorphisms and

its combinations as genetic factors of late-onset Alzheimer's disease (LOAD) pathogenesis. Assays for the detection of *PARP1* (rs3219023) and *GSTP1* (rs1695) SNVs based on PCR followed by RFLP analysis were developed. The data concerning *GSTP1* and *PARP1* genotypes and allelic variants distribution in AD patients and control group were obtained. The comparative analysis of genotypes distribution was performed in the LOAD patients group, consisted of 81 individuals including 31 (38.3 %) males and 50 (61.7 %) females and control group, consisted of 87 age-matched cognitively normal unrelated volunteers including 35 (40.2 %) males and 52 (59.8 %) females from different regions of Ukraine.

Statistical analysis showed significant association of minor *GSTP1* rs1695-G allele (OR=2,05; ДІ 95 %: 1,10 – 3,81; p=0,009) and minor *PARP1* rs3219023-G allele (OR=2,01; ДІ 95 %: 1,05 – 3,85; p=0,02) with higher risk of LOAD development. Moreover, we investigate the interaction between *GSTP1* rs1695-AA and *PARP1* rs3219023-AA genotypes, with a protective effect. It means that patients homozygous for the major *GSTP1* A-allele and major *PARP1* A-allele at the same time showed 3-fold decreased risk for LOAD (OR=0,3283; ДІ 95 %: 0,169 – 0,6378; p=0,0006).

Results of our research show that *GSTP1* rs1695 and *PARP1* rs3219023 polymorphisms and its combinations may be associated with LOAD development. Thus, significant association of the *GSTP1* and *PARP1* genes polymorphism combinations with LOAD, revealed in our study, may be explained by synergistic interaction between oxidative stress, disruptions in DNA repair pathways and neuroinflammation in LOAD pathogenesis. Additional studies using different sets of patients and control subjects are required to confirm the synergistic effect of these 2 genes on the risk of AD.

ВПЛИВ ФРУКТОЗИ ТА ТВАРИННОГО ЖИРУ НА НАКОПИЧЕННЯ ЗАПАСНИХ ЖИРІВ У ПЛОДОВОЇ МУШКИ

ГУРЗА В.В., БУТЕНКО Н.В., ГОСПОДАРЬОВ Д.В., БАЙЛЯК М.М.
ДВНЗ “ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА”,
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail: viktoriahurza@gmail.com

Довгий час ссавці, зокрема миші та щурі, вважалися найкращими моделями для дослідження ожиріння та метаболічних порушень. Проте останніми роками активно почали використовуватися альтернативні моделі, зокрема плодова мушка *Drosophila melanogaster*. За споживання висококалорійної їжі плодова мушка, як і ссавці, надлишок спожитої їжі запасає у формі запасних вуглеводів та триацилгліцеридів. Склад експериментальних живильних середовищ важливий для дослідження на *D. melanogaster* ожиріння, яке викликається переїданням. У цій роботі ми поставили за мету дослідити, як впливає високий вміст фруктози і тваринного жиру в їжі на рівень запасних жирів у плодової мушки за умови, якщо цю їжу тварини споживали, починаючи з личинкової стадії або зі стадії імаго.

У роботі використовували дві стандартні лінії *D. melanogaster* Canton S та *w¹¹¹⁸*. Для оцінки впливу харчування на личинковій стадії на вміст запасних триацилгліцеридів у молодих дорослих особин, їх вирощували зі стадії яйця до дводенного віку на середовищах, які містили незмінні компоненти (5 % сухих дріжджів, 1 % агару та 0,18 % ніпагіну) та змінні компоненти: 1) 5 % фруктози (базове середовище), 2) 15 % фруктози, 3) 10 % тваринного жиру (смальцю) і 5 % фруктози. Для оцінки розвитку ожиріння зі стадії імаго, особин вирощували на базовому середовищі до досягнення дводенного віку, розділяли за статтями та переносили на середовища, які містили 5 % фруктози (базове середовище), 15 % фруктози або 10 % смальцю і 5 % фруктози. На цих експериментальних середовищах особин утримували протягом двох тижнів, заміну середовищ здійснювали через 2–3 дні. У дорослих

мух дводенного віку та тих, які утримувались на відповідних середовищах протягом двох тижнів, визначали вміст запасних триацилгліцеридів (ТАГ). Для визначення вмісту ТАГ використовували діагностичний набір фірми “Філісіт-Діагностика” (Дніпро, Україна).

Дводенні самки та самці лінії Canton S, вирощені зі стадії яйця на середовищах, що містили 15 % фруктози та 5 % фруктози і 10 % смальцю, мали вищий вміст ТАГ, ніж особини, вирощені на базовому середовищі (з 5 % фруктози). Водночас, у молодих особин лінії *w¹¹¹⁸* вирощування на середовищі з високим вмістом фруктози або смальцю зумовлювало вищий вміст ТАГ лише у самок, тоді як у самців вміст ТАГ був подібним на всіх трьох живильних середовищах. Самці обох ліній, які, починаючи з дводенного віку, утримувались протягом двох тижнів на середовищах з 15 % фруктозою або з 10 % смальцю і 5 % фруктози не відрізнялися за масою тіла та вмістом ТАГ від відповідних самців, утримуваних на базовому середовищі. Рівень ТАГ був також подібним у самок, які протягом двох тижнів утримувалися на середовищах з 5 та 15 % фруктозою. Водночас двотижнєве утримування на середовищі з 10 % смальцю плюс 5 % фруктози зумовлювало вищий вміст ТАГ у тілі самок, порівняно з самками на середовищі 5 % фруктози.

Отримані результати свідчать про те, що накопичення запасних жирів у плодової мушки значно залежить від режиму харчування на личинковій стадії і менше піддається впливу змін харчового режиму на стадії імаго. Самки плодової мушки накопичують більші кількості ТАГ, ніж самці, тому, ймовірно, їх доцільніше використовувати у тестуваннях дрозофільної моделі ожиріння.

КАЛІКС[4]АРЕНИ – МОДУЛЯТОРИ ТРАНСПОРТНИХ І МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У МІТОХОНДРІЯХ ГЛАДЕНЬКОГО М’ЯЗА

ДАНИЛОВИЧ Г.В., ДАНИЛОВИЧ Ю.В.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: danylovych@biochem.kiev.ua

У зв’язку із першочерговим значенням іонів Са для функціонування мітохондрій, зокрема їхньої біоенергетики і біосинтезу NO, актуальним стає пошук екзогенних нетоксичних сполук, які б мали змогу ефективно діяти на Са²⁺-транспортувальні

системи цих субклітинних структур. Супрамолекулярні макроциклічні сполуки калікс[4]арени здатні модулювати перебіг катіон-транспортувальних процесів у субклітинних структурах. До цих сполук відносяться С-956 (блокатор Са²⁺-помп субклітин-

них мембранних структур) та С-97, С-99 і С-107 (інгібітори Na^+ , K^+ -АТРази). Зміни у функціонуванні зазначених АТРази, спричинені фізіологічно активними сполуками, безпосередньо пов'язані із регуляцією внутрішньоклітинного Ca^{2+} -гомеостазу і, відповідно, скоротливої здатності тканини гладеньких м'язів, які забезпечують функціональну активність сечостатевої системи. Отже, метою роботи було вивчення іонних та мембранних механізмів, які лежать в основі дії вибраних калікс[4]аренів на біосинтез NO, трансмембранний обмін Ca^{2+} та біоенергетику мітохондрій міометрія.

В дослідіах використовували міометрій матки невагітних безпородних білих щурів. Міоцити виділяли із застосуванням колагенази і соєвого інгібітора трипсину за методом Молларда; мітохондрії ізолювали методом диференційного центрифугування. Використовували лазерну конфокальну мікроскопію, протокову цитометрію, спектрофлуориметрію тощо.

Показано, що калікс[4]арени флуоресціюють в синьо-фіолетовій ділянці спектра. На прикладі калікс[4]арена С-956 нами продемонстровано можливість проникнення даної сполуки в міоцит та його взаємодію з мітохондріями. Зокрема, при аналізі оптичного зрізу клітини поза ядром методом лазерної конфокальної мікроскопії спостерігається подібний розподіл синьо-фіолетового сигналу та червоної флуоресценції мітохондріального барвника MitoTracker Orange CM-H₂TMROS. Із використанням Ca^{2+} барвника Fluo-4 AM та NO-чутливого зонда DAF-FM доведено, що калікс[4]арен С-956 (50-100 мкМ) ефективно пригнічує H^+ - Ca^{2+} -об-

мінник внутрішньої мітохондріальної мембрани та посилює біосинтез NO мітохондріями. Поряд із цим гальмується окислення ендogenous NADH/FADH₂ в електронтранспортному ланцюзі.

Калікс[4]арени С-97, С-99 та С-107 (100 нМ) пригнічують енергозалежну акумуляцію іонів Ca мітохондріями, стимулюють H^+ - Ca^{2+} обмінник (С-97 та С-99), знижують концентрацію Ca^{2+} в матриксі. Останнє може бути причиною зареєстрованого нами пригнічення NO-синтазної активності в мітохондріях, посилення окислення NADH та транзієнтної поляризації внутрішньої мітохондріальної мембрани (оцінено із використанням потенціалчутливого флуоресцентного зонда DiOC₆(3)).

Таким чином, калікс[4]арени здатні проникати в цитоплазму клітин гладенького м'яза матки та взаємодіяти з мітохондріями. Дія вибраних калікс[4]аренів на мітохондрії виявляється у модуляції Ca^{2+} -транспортних систем їхньої внутрішньої мембрани, змінах концентрації Ca^{2+} у матриксі і впливі на Ca^{2+} -залежні процеси, а саме біосинтез оксиду азоту, функціонування електронтранспортного ланцюга та поляризацію мітохондріальної мембрани.

Автори висловлюють глибоку подяку академіку НАНУ, проф. Костеріну С.О. за обговорення результатів, поради та рекомендації, академіку НАНУ, проф. Кальченку В.І., під керівництвом якого було здійснено синтез та характеристика калікс[4]аренів методами ЯМР та ІЧС, співробітникам відділу біохімії м'язів к.б.н. Карахіму С.О. та к.т.н. Чуніхіну О.Ю. за допомогу в проведенні досліджень.

СИНТЕЗ АУКСИНІВ, АБСЦИЗОВОЇ КИСЛОТИ І ЕТИЛЕНУ ОКРЕМИМИ БАКТЕРІЯМИ РОДУ *ERWINIA*

ДАНКЕВИЧ Л.А., ЛЕОНОВА Н.О.

ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д.К. ЗАБОЛІТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: ldankevich@ukr.net

Типовим видом роду *Erwinia* є *Erwinia amylovora* – карантинний для більшості країн об'єкт – збудник бактеріального опіку плодівих. Це складне захворювання, яке проходить весь свій цикл в тісному зв'язку з рослиною-господарем. Даний збудник здатен уражувати всі надземні органи рослини та швидко розповсюджуватися, навіть за умов мінімального ураження рослин. Окрім *E. amylovora* уражувати рослини родини *Rosaceae* можуть представники видів *Erwinia pyrifoliae*, *Erwinia piriflorinigrans* та вперше ізольований на території України збудник чорного бактеріозу яблуні і груші "*Erwinia horticola*", викликаючи подібні симптоми. На сьогодні ефективних методів боротьби із даними хворобами не існує, окрім заходів із

обмеження їх розповсюдження. Саме тому, увага багатьох дослідників прикута до вивчення факторів патогенності даної групи бактерій та їх механізмів взаємодії з рослиною. Зокрема відомо, що ключовими факторами патогенності *E. amylovora* є: синтез екзополісахаридів (аміловоран і леван), існування системи секреції III типу та асоційованих протеїнів. Взаємодія даного збудника з рослиною характеризується швидким зростанням активних форм кисню, після якого спостерігається продукування декількох вторинних метаболітів, зокрема і рослинних гормонів та інших компонентів захисних реакцій рослини. Серед гормональних сполук у реакціях патоген-рослина приймають участь: ауксини, жасмонова і саліцилова кислоти, етилен. Але

найбільш детально досліджено участь згаданих вище фітогормонів у захисних реакціях рослини. Натомість, відомості про синтез цих сполук *E. amylovora* практично відсутні. Тому метою наших досліджень було визначення здатності синтезувати позаклітинні ауксини, абсцизову кислоту (АБК) і етилен окремими бактеріями роду *Erwinia*. У дослідженнях використали ізолювані нами *Erwinia* sp. 1я і 10я, колекційний “*E. horticola*” 8557 та типовий *E. amylovora* УКМ В 1095^Т штами. Для визначення кількісного і якісного складу позаклітинних ауксинів, вмісту АБК та етилену використовували методи газової і рідинної хроматографії. Показано, що всі досліджені штами фітопатогенних бактерій здатні синтезувати позаклітинні ауксини, але не синтезують АБК. Включені у роботу штами різняться спектром синтезованих ауксинів. Зокрема, типовий штам *E. amylovora* УКМ В 1095^Т продукує найвищі рівні індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), але не синтезує інших сполук ауксинової природи. Натомість, колекційний “*E. horticola*” 8557 та ізолювані *Erwinia* sp. 1я і 10я штами здатні синтезувати

більш широке коло ауксинів. Так, “*E. horticola*” 8557 та *Erwinia* sp. 1я продукують ІОК і індол-3-карбоксилу кислоту, а *Erwinia* sp. 10я – ІОК та індол-3-оцтової кислоти гідразид. Слід також зазначити, що найбільша кількість ауксинів встановлена у типового штаму *E. amylovora* УКМ В 1095^Т та високоагресивних штамів “*E. horticola*” 8557 та *Erwinia* sp. 1я. Натомість, низькоагресивний штам *Erwinia* sp. 10я здатен синтезувати значно менші кількості даних сполук. У ході досліджень також встановлено, що усі штами здатні продукувати етилен. Як і у випадку індолних сполук, рівень продукції даного фітогормону корелює з їх патогенними властивостями. Найвищі кількості синтезованого етилену відмічені у високоагресивних штамів *E. amylovora* УКМ В 1095^Т, “*E. horticola*” 8557 та *Erwinia* sp. 1я. Тобто, нами показано, що кількості синтезованих штамами ауксинів та етилену корелюють з їх агресивністю. Ймовірно, це свідчить на користь їх використання як додаткових факторів патогенності у системі патоген-рослина.

ВІДСУТНІСТЬ ПРОТЕЇНІВ NRF2 ТА KEAP1 ПОРУШУЄ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗ ТА АКТИВНІСТЬ МІТОХОНДРІЙ У ПЛОДОВОЇ МУШКИ

ДЕМ'ЯНЧУК О.І., СІТКО М.В., АБРАТ О.Б., ГОСПОДАРЬОВ Д.В., БАЙЛЯК М.М.
ДВНЗ “ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА”,
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail: oleh.demyanchuk@gmail.com

Редоксчутлива система протеїнів Nrf2/Keap1 бере участь у захисті від токсикантів. За відсутності оксидативного стресу та ксенобіотиків транскрипційний фактор Nrf2 зв'язується з адапторним протеїном Keap1, що призводить до його протеолітичної деградації. За дії стресорів протеїн Keap1 окислюється і втрачає здатність зв'язуватися з Nrf2. Вільний Nrf2 переміщується у ядро і активує експресію генів антиоксидантного захисту та детоксикації ксенобіотиків, а також генів, залучених у енергетичний метаболізм і роботу мітохондрій. Система Nrf2/Keap1 виявилась еволюційно консервативною, зокрема гомологи цих протеїнів знайдені у *Drosophila melanogaster*, проте їх функції вивчені ще недостатньо, що і стало об'єктом наших досліджень.

У роботі використовували наступні лінії *D. melanogaster*: y^1w^{67c23} (контрольна) та похідні від неї лінії – *keap1* (дефектна за білком Keap1, P{EPgy2}*Keap1*^{EY02632}) та *nrf2* (дефектна за протеїном Nrf2; P{EPgy2}*cnr*^{EY08884}). Мух вирощували на стандартному середовищі. Дводенних імаго розділяли за статтю та використовували для фізіологічних та біохімічних аналізів.

Обробка молодих особин нітропрусидом натрію (НПН), який є відомим токсикантом для мух, призводила до зниження виживання особин, і найстійкішими до НПН виявились самці та самки лінії *keap1*. Водночас, самці лінії *nrf2* виявились більш чутливими до НПН, ніж особини контрольної лінії та лінії *keap1*. Динаміка загибелі самок лінії *nrf2* за впливу НПН була подібною до такої у самок контрольної лінії. Результати свідчать про те, що протеїн Nrf2 бере участь у забезпеченні стійкості мух до токсикантів. Для оцінки захисного потенціалу *D. melanogaster* визначали активність глутатіон-S-трансферази (GST), вміст пероксидів ліпідів та низькомолекулярних тіолів. У самців лінії *keap1* активність GST була вищою, ніж у особин контрольної лінії. Водночас, у самців *nrf2* та самок обох мутантних ліній активність ензиму не відрізнялась від контрольних значень. Вміст низькомолекулярних тіолів був вищим у самців лінії *nrf2* та самок ліній *keap1* та *nrf2*, порівняно з контрольною лінією. Вміст пероксидів ліпідів був суттєво нижчим у самців і самок лінії *keap1*, проте в особин обох статей лінії *nrf2* не відрізнявся від контрольних значень. Таким чином, за активації протеїну Nrf2 (лінія *keap1*)

потужність антиоксидантного захисту підвищується, а рівень окисних пошкоджень біомолекул знижується. Проте відсутність білка Nrf2 (лінія *nrf2*) не підвищує рівень окисних пошкоджень ліпідів та, навпаки, збільшує вміст низькомолекулярних тіолів. Це може вказувати на активацію компенсаторних механізмів за відсутності протеїну Nrf2.

Дефекти за протеїнами Nrf2 та Keap1 не впливали суттєво на дихальну активність мітохондрій самців (споживання кисню комплексами I-IV, показник дихального контролю та співвідношення АДФ/О), проте зумовлювати зміни у показниках активності мітохондрій самок. У самок лінії *keap1* нижчими були споживання кисню цитохром-с-оксидазою), показник дихального контролю та коефі-

цієнт ефективності окисного фосфорилування АДФ/О. НАДН-залежне та сукцинатзалежне споживання кисню мітохондріями, виділеними з самок, дефектних за геном *Nrf2*, теж демонстрували тенденцію до зниження, порівняно з такими показниками для мітохондрій самок контрольної лінії.

Загалом, результати свідчать про те, що як відсутність, так і підвищена активація протеїну Nrf2 призводить до посилення антиоксидантного захисту та зниження дихальної активності мітохондрій плодової мушки. Активація протеїну Nrf2 призводить до збільшення стійкості до ксенобіотиків у обох статей, проте по-різному впливає на біоенергетику самців і самок.

АНТИОКСИДАНТНИЙ ЕФЕКТ ЕКСТРАКТІВ ІЗ ПЛОДІВ ДЕРЕНУ СПРАВЖНЬОГО (*CORNUS MAS L.*) І ЛОГАНОВОЇ КИСЛОТИ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ДЗИДЗАН О.В.¹, БРОДЯК І.В.¹, КУCHARSKA A.Z.², СИБІРНА Н.О.¹

¹ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;

²WROCLAW UNIVERSITY OF ENVIRONMENTAL AND LIFE SCIENCES, POLAND;

e-mail: olichkadz94@gmail.com

Оксидативний стрес є одним із основних чинників розвитку ускладнень за захворювань різної етіології, зокрема цукрового діабету (ЦД). Вільні радикали інтенсифікують процеси пероксидного окислення ліпідів і спричиняють модифікацію протеїнів, що призводить до порушень на рівні біомолекул, клітин та органів. Кров – одна з перших тканин організму, що зазнає змін за розвитку оксидативного стресу. Для корекції метаболічних порушень використовують препарати з антиоксидантними властивостями. Перспективною рослинною сировиною, що може стати основою нових коригуючих препаратів, є екстракти з плодів дерену справжнього (*Cornus mas L.*). Дерен справжній зумовлює великий інтерес завдяки своїм компонентам: іридоїди, антоціани, фенольні кислоти, флавоноли, які проявляють широкий спектр біологічних активностей (Sozanski T. et al., 2014). Тому метою роботи було дослідити та порівняти антиоксидантну дію екстрактів із червоних і жовтих плодів дерену справжнього та логанової кислоти (основний іридоїдний глікозид цих екстрактів) у плазмі крові щурів за експериментального цукрового діабету.

Дослідження проводилися на щурах-самцях лінії Wistar масою тіла 120–140 г, яким забезпечували вільний доступ до їжі та води і перебування у стандартних умовах віварію. Цукровий діабет індукували внутрішньоочередним введенням

стрептозотоцину у дозі 60 мг/кг маси тіла. Починаючи з 10 дня з моменту індукції діабету тваринам перорально вводили розчини логанової кислоти та екстрактів із червоних і жовтих плодів дерену справжнього (14 днів у дозі 20 мг/кг маси). У плазмі крові проводили визначення вмісту ТБК-позитивних продуктів, окисно-модифікованих протеїнів нейтрального та основного характеру, кінцевих продуктів оксидації та глікації. Аналіз та статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Excel 2010 (Microsoft Office).

Виявлено, що за введення екстракту з червоних плодів дерену справжнього тваринам із ЦД спостерігалось зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, ОМБ нейтрального характеру, кінцевих продуктів оксидації та глікації порівняно з нелікованими тваринами. Введення екстракту з жовтих плодів дерену справжнього тваринам з ЦД призвело до зниження ОМБ основного характеру, кінцевих продуктів оксидації та глікації. У щурів з діабетом, яким вводили розчин логанової кислоти, спостерігалось достовірне зниження лише кінцевих продуктів оксидації та глікації, натомість, інші досліджувані показники не зазнали достовірних змін порівняно з діабетичними тваринами.

З отриманих експериментальних досліджень можна зробити висновок, що екстракт із червоних плодів *Cornus mas L.* проявляє сильніші антиоксидантні властивості порівняно з екстрактом із жовтих

плодів дерену справжнього та з логановою кислотою. Отримані відмінності можуть бути зумовлені різним компонентним складом досліджуваних екстрактів (Kucharska A. Z. et al., 2018), а саме

наявністю лише у складі екстракту з червоних плодів дерену антоціанів і синергізмом їхньої дії разом з іридоїдними глікозидами, фенольними кислотами, флавонолами.

АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ У ПЛАЗМІ ПАЦІЄНТІВ, ХВОРИХ НА РАК СЕЧОВОГО МІХУРА

ДМИТРИК В.В., ЛУГОВСЬКА Т.В., ЯКОВЛЕВ П.Г., САВЧУК О.М.
ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: victordmytryk@gmail.com

Рак сечового міхура (PCM) складає 70 % від частки інших пухлин сечового тракту та 4–5 % від усіх онкологічних захворювань та є 4-тим за частотою злоякісних захворювань чоловіків. Інвазія пухлин в сусідні тканини відбувається завдяки локальній секреції протеолітичних ензимів клітинами пухлин і є однією з фундаментальних властивостей злоякісних пухлин. Для інвазійного росту клітинам пухлин необхідно долати бар'єри, які представляють собою базальні мембрани, позаклітинний матрикс та тканинні структури. Протеази сприяють інвазії за рахунок пошкодження позаклітинного матриксу, беруть участь в ангиогенезі. Активність протеаз залежить не тільки від рівня біосинтезу, але й від регуляції активаторами та інгібіторами. Дослідження участі системи протеолізу при PCM є перспективним напрямом для дослідження канцерогенезу та діагностики даного захворювання.

Метою роботи було з'ясувати загальну протеолітичну активність, активність металоматриксних та серинових протеаз у плазмі крові хворих на PCM на різних стадіях захворювання.

У дослідженні брали участь 29 пацієнтів віком від 52–76 років у яких було діагностовано PCM згідно TNM класифікації, серед них 9 пацієнтів із стадією 1, по 7 пацієнтів 2 та 3 стадій та 8 пацієнтів із 4 стадією. Контрольну групу склали 30 здоро-

вих осіб відповідного віку. Загальну протеолітичну активність досліджували методом казеїнолітичної активності з модифікаціями. Для селективного визначення активності метало- та серинових протеїназ до реакційної суміші додавали до кінцевої концентрації 0,2 М етилендіамінтетраацетату або 0,2 фенілметил сульфоніл флуориду. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми Excel.

Нами було досліджено збільшення загальної протеолітичної активності у плазмі пацієнтів із PCM 1, 3, та 4 стадії у 1,3, 2 та 1,4 раза в порівнянні до контролю. Активність ММП в плазмі пацієнтів була вищою в 1,6 раза для 1 стадії, в 2 рази для 2 стадії, 1,9 раза для 3 стадії та в 1,4 раза для 4 стадії. Активність серинових протеаз в плазмі крові була вищою в 2,1 разів для 1 стадії, 2,5 разів для стадії 3 та в 1,3 раза для стадії 4.

Протеолітичні ензими є факторами прогресування онкологічних захворювань. Збільшена протеолітична активність асоційована з інвазією пухлин при інших онкологічних захворюваннях. У ході нашого дослідження показано збільшення загальної протеолітичної активності, активності ММП та серинових протеаз у залежності від стадії PCM. Наші дослідження можуть внести вагомий вклад у вивчення системи протеолізу при PCM.

ВПЛИВ ПЕПТИДУ ЦИСТЕЇЛ-ГІСТИДИЛ-ТИРОЗИЛ-ГІСТИДИЛ-ІЗОЛЕЙЦИН НА ЛІПІДНИЙ ОБМІН ЩУРІВ УРАЖЕНИХ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ І ПЕСТИЦИДОМ

ДМУХАЛЬСЬКА Є.Б., КОРДА М.М., КЛИЩ І.М.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ;
e-mail: dmukhalska@tdmu.edu.ua

В умовах швидкого розвитку промисловості, транспорту, сільського господарства і залучення в експлуатацію дедалі більшої кількості природних

ресурсів зростає рівень впливу на навколишнє середовище чинників різної етіології (хімічної, фізичної, біологічної та ін.), що призводить до погір-

шення здоров'я населення. Серед забруднювачів довкілля особливу небезпеку становить поєднання декількох чинників, тому метою нашої роботи було дослідити вплив важких металів і фосфорорганічних пестицидів на обмін ліпідів лабораторних нелінійних білих статевозрілих щурів – самців масою 80-120 г, а також коригуючу дію пептиду (цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцину) на виявлені порушення.

Інтоксикацію у щурів моделювали шляхом щоденного перорального введення впродовж 30 діб водних розчинів Плюмбум ацетату в дозі 11 мг/кг маси тіла (1/20 LD₅₀), Купрум сульфату в дозі 13 мг/кг маси тіла (1/20 LD₅₀), гліфосату (у формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла (1/20 LD₅₀). На 21-у добу експерименту через 6 годин після введення токсикантів щодня протягом 10 днів вводили внутрішньошлунково пептид цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин в дозі 9 мг/кг. Як контроль використовували інтактних щурів, яким вводили питну водопровідну дехлорвану воду. Усіх піддослідних тварин було поділено на такі групи: I – інтактні (контрольні); II – уражені одночасним введенням Плюмбум ацетату, Купрум сульфату і раундапу, III – кориговані пептидом.

Порушення ліпідного обміну в плазмі крові щурів оцінювали за зміною вмісту тригліцеридів, загальних ліпідів, загального холестеролу (ЗХС), ліпопротеїдів високої щільності (ХС-ЛПВЩ) і ліпопротеїдів низької щільності (ХС-ЛПНЩ) за допомогою стандартних біохімічних тест-наборів "Філісіт-Діагностика", Україна.

Отруєння щурів солями важких металів і раундапом супроводжувалось значними змінами показників ліпідного обміну. Так, за комбінованої дії ксенобіотиків вміст тригліцеридів і ХС-ЛПВЩ відповідно знизився на 21,8 і 34,9 % в порівнянні з інтактними щурами.

Паралельно із зниженням вміст тригліцеридів і ХС-ЛПВЩ суттєво зростає концентрація загаль-

ного холестеролу і вмісту ХС-ЛПНЩ. Так вміст загального холестеролу зріс на 43 %, а вміст ХС-ЛПНЩ 32 % від рівня контролю. Високий рівень загального холестеролу у плазмі крові є реакцією на дію токсикантів, яка може сприяти розвитку жирової інфільтрації і порушенню основних функцій печінки.

Окрім цього, для більш повної оцінки атерогенного впливу ксенобіотиків нами було розраховано співвідношення між різними ліпідами, а саме ТГ/ХС-ЛПВЩ, ТГ/ЗХС, ХС-ЛПВЩ/ХС-ЛПНЩ, ЗХС/ХС-ЛПВЩ та коефіцієнт атерогенності ((ЗХС-ХС-ЛПВЩ)/ХС-ЛПВЩ), зміни яких свідчать про ризик розвитку атеросклерозу за комбінованої дії важких металів і пестициду. Так, "Коефіцієнт атерогенності" за комбінованої дії ксенобіотиків, зріс в 2,4 раза в порівнянні з інтактними тваринами, а коефіцієнти ТГ/ХС-ЛПВЩ, ТГ/ЗХС, ХС-ЛПВЩ/ХС-ЛПНЩ, ЗХС/ХС-ЛПВЩ відповідно становили 89 %, 96 %, 75 %, 136 % від рівня контролю.

Отже, отримані дані вказують, що за тривалої інтоксикації важкими металами і гербіцидом раундапом відбувається порушення вмісту і співвідношення усіх досліджуваних класів ліпідів. Для зниження токсичності ксенобіотиків ми використали пептид цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин. За його дії спостерігалися часткове відновлення в сторону норми вмісту усіх ліпідів, а саме концентрація загальних ліпідів зросла на 46% і майже досягли рівня інтактних щурів, вміст ХС-ЛПВЩ становив 176 % від рівня уражених тварин, а концентрація загального холестеролу і ХС-ЛПНЩ знизилася на 57 % і 39 % відповідно, від рівня уражених тварин. Отже, можна вважати, що за тривалої інтоксикації ксенобіотиками відбувається порушення вмісту і співвідношення усіх класів ліпідів, а введення пептиду частково нормалізує досліджувані показники.

АКТИВНІСТЬ ЦИСТЕЇНОВИХ КАТЕПСИНІВ В, L ТА Н ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПЕЧІНКИ

ДОЛГІХ Г.В., МАСЛАК Г.С., ЧЕРНЕНКО Г.П., НЕТРОНІНА О.В.
ДЗ "ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ", ДНІПРО;
e-mail: gannamaslak@gmail.com

Запальні захворювання печінки характеризуються неухильним прогресуванням фіброзу з формуванням цирозу з подальшою втратою функції органу. Фіброз вважається хронічною запальною репаративною реакцією з надмірним відкладенням сполучної тканини, що призводить до накопичення екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ). Різні форми пошкодження призводять до активації та трансфор-

мації гепатоцитів, ендотеліальних і, особливо, зірчастих клітин. Найхарактернішою ознакою активації є посилення продукції позаклітинного матриксу, ключаючи колаген I, III, IV типів, протеоглікани, ламінін та фібронектин. Відомо, що активну участь в деградації ЕЦМ приймають цистеїнові катепсини. Катепсини В, L і Н зустрічаються в практично в усіх типах клітин і тканин та пов'язані з неспецифічною

деградацією об'ємних протеїнів в лизосомах. Однак, при деяких патологіях, цистеїнові катепсини можуть секретуватись у позаклітинне середовище, де вони деградуєть позаклітинні протеїни та руйнують компоненти базальних мембран і позаклітинного матриксу. Оскільки характерною особливістю фіброгенезу печінки є дисбаланс між виробництвом та розчиненням позаклітинного матриксу, то вирішальну роль в його ремодулюванні відіграють катепсини. Метою нашого дослідження було визначення активності цистеїнових катепсинів В, L і Н в плазмі хворих на запальні захворювання печінки та оцінити можливість використання цих показників як достовірних біохімічних тестів для діагностування та прогнозування фіброзу.

Об'єктом дослідження була плазма крові хворих на запальні захворювання печінки ($n=10$) у віці 28-46 років. Контрольну групу становили здорові волонтери ($n=15$) у віці від 25 до 52 років. Активність катепсину В визначали по відношенню до синтетичного субстрату $N\alpha$ -бензоїл-D, L-аргінін-4-нітроаніліду та активність катепсину L по відношенню до азоказеїну. Активність катепсину Н визначали за модифікованим нами методом Бредшоу за субстратом окситоцином. Статистичну обробку проводили за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 6.1. Статистично значущими вважалися розбіжності, якщо $P < 0,05$.

Отримані дані свідчать про підвищення активності катепсинів В та L на запальні захворювання

печінки відносно контрольних значень. Так, абсолютна активність катепсину В становила $1,014 \pm 0,105$ мкмоль/мг протеїну год, а відносна активність катепсину L – $0,523 \pm 0,096$ в основній групі, тоді як контрольні значення були, відповідно, $0,448 \pm 0,022$ мкмоль/мг протеїну год та $0,181 \pm 0,033$. Отже, зростання активності катепсину В в плазмі крові хворих на запальні захворювання печінки відносно контролю становило 2,2 рази $P=0,007$, а активності катепсину L – в 2,9 разів, $P=0,039$. Для катепсину Н було зафіксовано зниження активності майже в 2,4 рази, відповідно, $0,325 \pm 0,040$ і $0,809 \pm 0,023$ мкмоль/мг протеїну год в основній та контрольній групах, $P=0,0001$.

Останнім часом зростає інтерес до розробки нових неінвазивних методів, що дозволили б отримати достовірну кількісну та якісну оцінку змін тканин печінки на будь-яких стадіях запальних захворювання печінки незалежно від локалізації. Дослідження біомаркерів крові має ряд переваг у порівнянні з біопсією печінки, включаючи безпеку, економію коштів і широку доступність. Наше дослідження демонструє, що плазмові цистеїнові протеази В, L і Н можуть бути ідентифіковані як потужні діагностичні маркери при захворюванні печінки. Для обґрунтування діагностичної ефективності активності лізосомальних протеаз як неінвазивних біомаркерів фіброзу печінки край доцільним є проведення подальших досліджень.

CHROMIUM NANOPARTICLES AS A POTENTIAL DRUG FOR DIABETES TREATMENT

ZAYACHKIVSKA A.¹, STRUTYNSKA T.¹, BURDLIUK N.¹, STRILBYTSKA O.¹,
KHALAVKA Y.², MYKHAILOVYCH V.², YURKEVYCH I.¹, LUSHCHAK O.¹

¹VASYL STEFANYK PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY, IVANO-FRANKIVS, UKRAINE;

²YURIY FEDKOVYCH CHERNIVTSI NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: zayachkivska99@gmail.com

Diabetes is one of the three major conditions, which endanger human health (the others being cancer and cardiovascular disease). The development of new and more effective treatments is hence urgent. In our researches, we investigated influences of chromium- and molybdenum-containing nanoparticles (NPs). Previously we have investigated the impact of this NPs on *Drosophila* model. Our data showed that glucose levels in experimental groups which consumed medium with NPs were significantly lower as compared to the control group. Furthermore, we did not observe the toxic impact of chromium NPs on *Drosophila* development. We proceeded our investigations on mice.

In our work, we used Balb/C mice 4-weeks-old. Mice (males) were randomly divided into three groups: healthy mice (group one), diabetic mice (group two)

and diabetic mice which were gavaged by $Cr_2(MoO_4)_3$ NPs (group three). Experimental animals (groups two and three) were injected by streptozotocin, which has a toxic effect on B-cells of the pancreas and, as a result, induces diabetes mellitus type 1. We used the gavage method to feed mice by nanoparticles. Groups one and two were gavaged by physiological solution without NPs. On the 22nd day after diabetes induction, we made oral glucose tolerance test. We measured the glucose level in the blood from the tail vein of mice. We calculated the percentage of different immune cells and the number of erythrocytes and leukocytes. For data analysis, we used "Microsoft Excel" and "GraphpadPrism".

Our results showed that nanoparticles ($Cr_2(MoO_4)_3$) significantly reduces glucose level in the mice blood

compared to group two. However, individuals from group two did not survive to the end of the experiment. We registered a 2-fold increase of hypersegmented neutrophil cells and 3-fold decrease of monocytes in diabetic group, which were gavaged by NPs compared to the control group. We did not observe significant changes in erythrocytes and leukocytes amount between these groups.

Our results showed that nanoparticles have antidiabetic properties, as they reduce the glucose

level in the blood of diabetic mice. Immune cells percentages changing can be caused by diabetes. The reason of neutrophil percentage increasing in group three can be an inflammatory process. We also plan to measure different metabolites to confirm this hypothesis. Further experiments may help to develop effective drugs, which will make diabetes care more efficient and safe.

REACTIVE OXYGEN SPECIES PRODUCTION AND ASSESSMENT OF PROTEIN OXIDATION IN HUMAN ERYTHROCYTES EXPOSED TO CRYOPROTECTIVE AGENTS

ZEMLIANSKYKH N.G., MIGUNOVA R.K., BABIYCHUK L.A.
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv;
e-mail: nzemliansky@gmail.com

Cryoprotective agents (CPAs) ensure the survival of cells during freeze-thawing to ultralow temperatures. CPAs implement protective effects through endocellular or extracellular mode of action. However, the effects of both types of CPAs on different subcellular systems can cause negative changes in them, which reduce the cryoprotective efficacy. In particular, the presence of CPAs in the environment of cells can be essential for the redox balance disturbance.

The aim of the study was the examination of the effects of endo- (glycerol and DMSO) and extracellular (sucrose and PEG) CPAs on the production of reactive oxygen species (ROS) in human erythrocytes, as well as the assessment of the possibility of the protein oxidation in the membrane-cytoskeleton complex by blocking –SH groups with diamide. The ROS in erythrocytes was determined by flow cytometry with FACS Calibur (Becton Dickenson, USA) according to the fluorescence data of DCF originated from DCFH-DA (2',7'-Dichlorofluorescein diacetate) after its oxidation in cells with ROS. The erythrocytes were incubated with CPAs for 18 h; some of the samples were treated with diamide before the incubation. The results were analyzed using the software "WinMDI 2.8". Changes in the intensity of DCF fluorescence in erythrocytes were characterized by the value of the median of the distribution histograms. The results were statistically processed using the software "Statgraphics plus 2.1 for Win"

Glycerol and DMSO, despite the differences in their protective efficacy under cryopreservation, did not manifest the discrepancy in ROS production in

erythrocytes. While erythrocytes have been pretreated with diamide, a slight increase in DCF fluorescence was only noticed attesting a minor involvement of protein oxidation in response to the effects of those CPAs. The extracellular CPAs, sucrose and PEG, manifested the opposite effects on ROS production during erythrocyte incubation. Wherein the sucrose induced the decrease in ROS production, meanwhile PEG raised their level. Pretreatment of erythrocytes with diamide, which has blocked –SH groups in proteins of the membrane-cytoskeleton complex, showed the large increase in ROS production only in PEG presence. That attested the possibility of oxidative protein disturbance in erythrocytes incubated with PEG. The discrepancies in ROS production in response to incubation of erythrocytes with sucrose and PEG may be stipulated by their different effects on Ca²⁺-ATPase activity and changes in intracellular Ca²⁺ level. The data obtained allow us to speculate that the increase in ROS production under cell contact with PEG might result from Ca²⁺-dependent activation of NADPH-oxidases.

Thus, the activation of ROS production in erythrocytes depends on specific characteristics of each certain CPA, and it is not attributed to their cryoprotective efficacy. Nevertheless, if the action of CPA, such as PEG, causes an increase in ROS production that certainly can entail the erythrocyte instability at cryopreservation, especially when cryopreserved cells return to physiological conditions due to oxidative protein disturbances.

NEW DERIVATIVES OF STEROID HORMONES WITH A FLUORESCENT LABEL: ANALYSIS OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY AND LOCALIZATION IN PLANT TISSUES

KALACHOVA T.A.^{1,2}, STARODUBTSEVA A.V.², MARTINEC J.², BURKETOVÁ L.², SAUCHUK A.L.³, HURSKII A.L.³, LITVINOVSKAYA R.P.³, ZHABINSKII V.N.³, KHRIPACH V.F.³, KRAVETS V.S.¹

¹KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY NAS OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF EXPERIMENTAL BOTANY CZECH ACADEMY OF SCIENCES, PRAGUE, CZECH REPUBLIC;

³INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY NAS OF BELARUS, MINSK, BELARUS;
e-mail: kravets@nas.gov.ua

Plant growth and development are tightly regulated by phytohormones. Brassinosteroids (BS) are recently discovered plant hormones of steroid nature. BS regulate the formation of the root system, respiration and responses to various environmental stresses. Being active in nanomolar concentrations, BS are synthesized in almost all plant organs. However, the mechanisms of their distribution within tissues are currently unclear. While the BS-associated signaling cascades are extensively studied on a cellular level, the research on BS translocation *in planta* is strongly limited by the lack of molecular tools.

Here we present a new biologically active derivative of epibrassinolide with a fluorescent label – 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (EBL-BODIPY). This compound has shown biological activity similar

to that for the non-labelled epibrassinolide in a model plant *Arabidopsis thaliana*. EBL-BODIPY inhibited root elongation in *A. thaliana* seedlings in 1-10nM concentration and affected the expression of BS-related genes. Fluorescence of the EBL-BODIPY enabled the visualization of the molecule inside living cells. Using laser confocal microscopy, we were able to detect EBL-BODIPY associated signal from the cytoplasm of the root tip cells after 6h of exposure to 10nM of the compound. EBL-BODIPY fluorescence was strongly increased in root hair cells and associated with vesicles of the trans-Golgi network. We propose EBL-BODIPY as a new tool to study not only brassinosteroid intake and cellular localization, but also short- and long-distance transport in plant tissues.

METABOLIC PROCESSES OF ADAPTATION IN ORGANISMS UNDER CONDITIONS OF THE EFFECT OF EXOGENOUS AND ENDOGENOUS FACTORS

KALACHNIUK L.H., ARNAUTA O.V., PRYS-KADENKO V.O., PALONKO R.I., AL-BADU L.-E.N., STADNYK N.V.

¹NATIONAL UNIVERSITY OF LIFE AND ENVIRONMENTAL SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: lilkalachnyuk@gmail.com

All living organisms have the ability to adapt to the influence of exogenous factors within certain limits of their adaptive capacity and the power of these factors. If under natural conditions, such ability of an organism is lost, then the possibility of its functioning and life disappears. Under conditions of exogenous influence, the metabolism changes, generating endogenous levers of further changes in metabolic processes. Therefore, in some cases, biochemical studies may indicate the effect of exogenous factors on the functioning of the organism and the depth of metabolic processes, while in others – on adaptive capacity, the ability to overcome the harmful effects of exogenous and endogenous factors which may be the basis for the search for the correction of pathological changes.

The purpose of this work was the study of the regulation of biosynthesis of proteins, lipids and carbohydrates in the context of the continuation of research on the molecular aspects of exogenous regulation of metabolism in cells of microorganisms symbionts and host animals and the clarification of regulatory mechanisms of metabolic processes and their interconnecting links in a result of the actions of factors toxic to the organism (experimental simulation of alcohol-induced hepatosis and pre-diabetes condition) and correcting factors (bio-protectors, magnesium and magnesium nanoparticles, and diet therapy).

Changes in the biochemical parameters of the metabolism were studied under pathological deviations (experimental simulation of alcohol-induced hepatosis and pre-diabetic state in rats caused by the enhanced

carbohydrate diet). This is part of the research presented above as an example.

Experiments were carried out on male rats weighing 180–220 g, which were divided into 4 groups of 7 animals in each. Rats received standard food “Purina rodent chow” (1–3 groups) and mineral-protein additives with standard food (the 4th group), as well as water ad libitum (the 1st group), aqueous solutions of ethanol A (30 % v/v, 8 g/kg live weight, the 2nd group) and of mixture of carbohydrates B (in a final concentration of 35 %, the 3rd and 4th groups) for 28 days.

There were measured the quantitative content of glucogenic amino acids in the blood serum on the amino acid analyzer T 339, production (CR, Prague) and glucose concentration in the blood using a glucose-meter. The received digital data were processed statistically using Student's criterion “t”.

In blood serum of rats in conditions of hepatitis, high levels of glucogenic amino acids such as alanine, glutamate, and glutamine were found to be used extensively in various processes of the body, for

example, in the glucose-alanine cycle. In animals with increased carbohydrate loading in the diet (the 3rd group), chronic hyperglycemia was observed, which may cause pre-diabetes development.

According to the literature data and our results, under the conditions of alcoholic intoxication in the blood of rats, there were increased the activity of lactate dehydrogenase, aspartate and alanine aminotransferases, together with the probable increase in malic dialdehyde and decrease in the activity of superoxide dismutase and catalase in hepatocytes. All are evidence of metabolic disorders.

In our opinion, the above-mentioned studies, which in the future may reveal separate elements of the links of regulation between the metabolic processes of proteins (at the level of translation and changes in the amino acid spectrum) as well as catabolism and anabolism of carbohydrates under conditions of pathological deviations of the functioning of the animal organism, are promising, and the search for protective substances of a different nature is necessary.

LEVETIRACETAM-INDUCED MODULATION OF THE SYNAPTIC VESICLES DOCKING AND FUSION IN CELL-FREE SYSTEMS AND NON-EPILEPTIC DRUG-FED RATS

KASATKINA L.A., GUMENYUK V.P., SHATURSKY O.Ya., TRIKASH I.O.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: ludmilka.kasatkina@gmail.com

Synaptic vesicle (SV) glycoprotein SV2 is a specific target of levetiracetam that represents vesicle glycoproteins, which presumable action is to enhance neurotransmission by the increasing of the SVs readiness for fusion and release probability. We aimed to study the action of levetiracetam on the docking and fusion of SVs after acute application in vitro or following the prolonged animal treatment.

Levetiracetam was administered per os to Wistar rats (6-month-old, males) at 60 mg/kg once a day. Control group received equivalent volume (100 µL) of saline. Animals were sacrificed at 15th day of the experiment. SVs were isolated from brain nerve terminals. SVs acidification has been controlled by the accumulation of pH-sensitive fluorescent probe, acridine orange. The diameter of SVs (30–50 nm) determined by the laser correlation spectroscopy was consistent with the reported size of a single vesicle.

SV fusion was registered by R18 probe dequenching assay only after application of Ca²⁺ that regulated the intensity of homo- and heterotypic membrane fusion in our cell-free systems, including plane lipid bilayers.

Our data demonstrate that pre-treatment of SVs with levetiracetam and direct oral drug administration to non-epileptic rats had a similar repeatable action on SVs docking and Ca²⁺-dependent fusion. Levetiracetam increased the portion of SV clusters (300–700 nm) and reduced the number of single vesicles by 7 % on average. The rate of SVs fusion with target membranes was attenuated by 12 %. This was confirmed by the lack in fusion of levetiracetam-treated SVs with sterol-containing and sterol-free phospholipid bilayers. The application of the similar type of research may help to determine the mode of action for new anti-epileptic drugs able to modulate SVs docking and fusion in nerve terminals.

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ СТАНУ ПУХЛИН У ПРОЦЕСІ ЛІКУВАННЯ РАКУ ЯЄЧНИКІВ ІІІ–ІV СТАДІЙ

КНЯЗЄВА М.В., ПРОКОПЮК О.В.

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ, УКРАЇНА;
ГО "НОВЕ МИСЛЕННЯ У МЕДИЦИНІ"
e-mail: m_knyazyeva@ukr.net

Вивчення динаміки експресії молекулярних маркерів стану пухлин у хворих на рак яєчників (РЯ) ІІІ–ІV стадій відкриває шлях до порозуміння причин частих рецидивів захворювання після закінчення курсу лікування, причин високої смертності від РЯ, дозволяють розробити нові стратегії лікування.

Останнім часом особливу увагу дослідників привертає проблема епітеліально-мезенхімальної трансформації (ЕМТ) в пухлинах, оскільки цей процес підвищує інвазивність пухлинних клітин, сприяє метастазуванню. ЕМТ регулюється багатьма системами сигнальної трансдукції та генетичними програмами, в результаті чого епітеліальні пухлинні клітини набувають властивостей мезенхімальної клітини, перетворюються в пухлинні стовбурові клітини (ПСК). У хворих на РЯ цю проблему вивчено недостатньо.

Метою даної роботи було визначення експресії прогностичних маркерів (bcl-2, Е-кадгерин, цитокератин-7, MMP-9, Ki-67) в пухлинах хворих на РЯ ІІІ–ІV стадій із серозними аденокарциномами до і після проведення неoad'ювантною поліхемотерапії (НПХТ) для оцінки ефективності лікування РЯ та прогнозу його перебігу.

Матеріалом дослідження були серозні аденокарциноми 13 хворих на РЯ ІІІ–ІV стадій до лікування й 17 хворих після проведення НПХТ (3 і більше курсів). Імуногістохімічне дослідження проведено на серійних парафінових зрізах завтовшки 3–4 мм за стандартною методикою. Визначали експресію маркера проліферації Ki-67 із використанням первинних антитіл (клонASP6) і систему візуалізації Ultra Vision LP (LabVision), регулятора апоптозу bcl-2 (моноклональні антитіла – МКАТ, Rady-to-use, Thermo scientific, Germany), маркера клітинної адгезії Е-кадгерина (EP700Y) з викорис-

танням концентрованих кролячих МКАТ, 1:100, маркера фенотипу і диференціювання клітин пухлини цитокератину-7 (OVTL 1230), МКАТ із титром 1:200. Для вивчення стану епітеліального компонента та екстрацелюлярного матриксу пухлин і потенціалу їх метастазування використовували кролячі концентровані поліклональні антитіла (ПКАТ) до матриксної металопротеїнази-9 (MMP-9, 92kDa Collagenase IV Thermo scientific, 1:50).

Отримані результати показали значне зниження проліферативної активності серозного РЯ після проведення НПХТ, що співпадало зі зниженням рівня СА-125, зменшенням розмірів пухлинного конгломерату, метастазів, зникненням асцитичної рідини, тобто створенням умов для проведення циторедуктивної операції, що можна вважати ознакою ефективності лікування. Але ж значне підвищення експресії bcl-2, зниження Е-кадгерину в пухлинах, помірна та висока активність MMP-9 у майже 90 % хворих після проведення НПХТ, зниження експресії цитокератина-7 у майже 40 % хворих можна вважати ознакою поганого прогнозу перебігу РЯ й пояснити з позицій теорії ПСК. Розрив міжклітинних зв'язків відповідно до зниження експресії Е-кадгерина може бути одним із чинників ЕМТ, дедиференціювання клітин, придбання пухлинною клітиною фенотипу ПСК, переходу клітин до мезенхімального фенотипу. Такі клітини володіють агресивним злоякісним потенціалом, що впливає на виживаність.

Таким чином, можна припустити, що використання тільки стандартних методів лікування РЯ ІІІ–ІV стадій супроводжується загрозою ЕМТ та виникненням ПСК, що після закінчення курсу лікування провокує рецидиви РЯ і знижує виживаність. Тому у майбутньому бажано лікування доповнити методами відвертання ЕМТ і втрати Е-кадгерину.

ВМІСТ N-МЕТИЛНІКОТИНАМІДУ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЧЕРЕВНОЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ

КОБИЛЬНИК С.М.¹, КАГЛЯК М.Д.¹, ПЕТРОВ С.А.²

¹ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;

²ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;

e-mail: kobylnik.snizhana@gmail.com

Проблема трансплантації органів і тканин являється дуже актуальною в сучасній теоретичній, медичній та клінічній біохімії, яка сконцентрувала в собі новітні досягнення високих біомедичних технологій. З числа важливих питань, що мають медико-біологічне значення, ключовими являються питання функціонування та збільшення життєздатності трансплантату. Відомо, що після трансплантації ембріональної тканини, трансплантат диференціюється, проростає кровоносними судинами, утворюючи тим самим умови для оксигенації та енергетичного забезпечення своєї діяльності. Згідно з сучасними уявленнями вітаміни та їх похідні функціонують в організмі як коензими, клітинні антиоксиданти, а також як регулятори генної експресії. Відомості про особливості розподілу N-метилнікотинаміду в динаміці між тканиною донора та реципієнта при трансплантації ембріональної тканини не знайшли належного відображення в літературі. Метою нашої роботи було вивчення розподілу N-метилнікотинаміду при алотрансплантації в сформованих і ембріональних м'язових тканинах. Дослідження проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах, масою 180–300 г. У роботі були дотримані вимоги Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються в експериментальних цілях. Усі щури утримувались на стандартному харчуванні. Для алотрансплантації ембріональних м'язових тканин використовувались ембріони строком 2–3 тижні. Під ефірним наркозом в асептичних умовах тварину фіксували до хірургічної дошки у положенні

лежачи на спині, операційне поле виголювали та тричі обробляли антисептиком. В мезогастральній області повздовжним розрізом пошарово розтиналась черевна стінка. У ембріонів вилучалася черевна м'язова тканина і фіксувалась лігатурою до черевної стінки дорослого щура. Рана пошарово зашивалась наглухо вузловим швом. Операційна область оброблялась йодобаксом. Загоєння рани відбувалося первинним натягом. Трансплантацію м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду проводили по такій самій схемі, як і алотрансплантацію для порівняння впливу ембріональної тканини на тканину реципієнта. Донором черевної м'язової тканини слугували щури-самці з одного посліду, трансплантатом у щурів з одного посліду служила тканина дорослої особини. Удавану операцію (без підсадки) проводили для визначення впливу хірургічного втручання на зміни кількості досліджуваного показника. Контролем слугувала тканина, яка не підлягала ніяким хірургічним втручанням. Кількість N-метилнікотинаміду визначали в сформованих і ембріональних м'язових тканинах на першу, третю та сьому добу після хірургічного втручання.

Встановлено, що алотрансплантація черевної ембріональної м'язової тканини та трансплантація однопослідної тканини не впливала на кількість N-метилнікотинаміду в досліджуваних тканинах на всіх строках дослідження, в той час як удавана операція призвела до збільшення його на сьому добу експерименту.

INFLUENCE OF ULTRAVIOLET LOW-INTENSITY LASER RADIATION ON ROOSTERS' RED CELLS MEMBRANES

KOVALENKO A.O., OVSYANNIKOVA T.M., ZABELINA I.A.,
LEVCHENKO A.M., BILETSKA H.V., MISHCHENKO T.V.

V.N. KARAZIN KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY, KHARKIV, UKRAINE;

e-mail: kovalenko@karazin.ua

Ultraviolet (UV) radiation is successfully applied in medicine. Currently, the low-intensity laser radiation (LILR) usage for medical and biological purposes is increasing. The unique physical properties of laser radiation (coherence, polarization, monochromaticity) allow achieving the necessary biogenic effect with the

less energy load on a biological object. Studying the mechanisms of UV LILR action by using model biological systems is relevant for working out the regimes of applying LILR in medical practice.

The research was done in studying the structural and functional stage of roosters' red blood cells mem-

branes under the influence of UV LILR on erythrocytes mass *in vitro*. Washed red blood cells suspension was irradiated in a quartz cuvette with UV laser ($\lambda=337.1$ nm, density of power flux 7 mV) with constant stirring. The thickness of a radiated layer was 1 mm and the duration of the radiation was 10 min. Acid resistance was evaluated by calculation of hemolysis kinetics with aggregometer shape meter AKK-1. The primary products of lipid peroxidation (LPO), namely, diene (DC), oxodiene (ODC), triene (TC), tetraene (TET) fatty acid conjugates were evaluated in roosters' red blood cells suspensions with the help of spectrophotometric measurements after extracting the samples in heptanes:isopropanol mixture. The concentration calculations were done by using the molar extinction coefficients (ϵ_0) of the products in accordance with the Lambert-Baer law (except TET, its ϵ_0 is not defined). The LPO activity was determined by the level of the primary products of LPO that are fatty acid conjugates (diene conjugates (DC), oxodiene conjugates (ODC), triene conjugates (TC) and tetraene conjugates (TET)). Their concentrations were expressed in nmol (for DC, ODC, TC) and optical density units (for TET) per 1 ml of red blood cells mass.

It was revolved that single irradiation of erythrocytes of roosters' freshly isolated blood causes the decrease in hemolytic resistance of red blood cells as evidenced by the hemolysis rate increase, the decrease in lag-period by half a minute ($P<0.005$) com-

pared to the control and also the erythrogram displacement to the left side (unidirectional shift of the whole mass of erythrocytes towards the decrease in the acid resistance of their membranes). At the same time, the cell sphericity index did not change, it may show the absence of a laser effect on the erythrocyte cytoskeleton. Erythrogram data correlated with the level of the LPO primary products. The concentration of LPO products measured after irradiating the objects with ultraviolet for 10 minutes increases in comparison with non-irradiated control (DC concentration is 156.674 ± 3.69 vs 63.308 ± 5.52 nmol/ml in control; TC concentration is 79.514 ± 3.37 vs 36.354 ± 4.20 nmol/ml; ODC concentration is 124.295 ± 3.11 vs 54.642 ± 1.13 nmol/ml, TET concentration is $(2.829 \pm 0.06) \cdot 10^{-3}$ vs $(1.101 \pm 0.08) \cdot 10^{-3}$ unit.opt./ml. It may indicate both the transition of primary products to the secondary products of LPO (especially considering the changes in ODC) and the depletion of the substrates pool for LPO in the erythrocyte membranes.

Thus, the effect of UV LLLT with the studied characteristics on the roosters' erythrocyte mass causes changing the lipid bilayer of red blood cells and reducing the stability of the cells with preserving their shape. The similar experimental approach can serve as an additional prognostic technique that allows assessing the state of the molecular mechanisms of pathological development, accompanied by changes in membrane apparatus of red blood cells.

КІНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ЗА ДІЇ АНТИБІОТИКІВ ФТОРХІНОЛОНОВОГО РЯДУ

КОВАЛЕНКО І.В., ОНУФРОВИЧ О.К., МЕЛЬНИК О.В., КОРЧИНЬСЬКА О.С., КОРНІЙЧУК О.П.
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: iryna0012@gmail.com

Фторхінолони – синтетичні хіміотерапевтичні засоби, що володіють широким спектром антимікробної дії щодо бактерійних інфекцій різної локалізації та низькою токсичністю. Вони мають специфічний механізм дії на бактеріальні клітини – інгібують ДНК-гіразу переважно грамнегативних і топоізомеразу IV грампозитивних бактеріальних клітин, що призводить до зниження активності цих ензимів, порушення біосинтезу ДНК та РНК, та унеможливлення суперспіралізації ДНК. Цей механізм дії принципово відрізняється від такого у антибіотиків інших класів. Оскільки фторхінолони володіють гідрофільними та ліпофільними властивостями, то при будь-якому їх застосуванні вони попадають у кров де спричиняють різноманітні біохімічні ефекти. У цьому плані біологічна дія фторхінолонів дуже мало досліджена.

Метою роботи було дослідження впливу фторхінолонів різних поколінь на активність ензимів системи аргіназа/NO-синтаза в лімфоцитах периферичної крові.

Показано, що у всьому діапазоні досліджуваних концентрацій L-аргініну активність аргінази лімфоцитів крові за дії фторхінолонів була підвищена у порівнянні з контрольною групою. Активність зростала в ряді: контроль → ципрофлоксацин → левофлоксацин → моксифлоксацин. Найвища активність спостерігалася за дії моксифлоксацину, який належить до IV покоління. Розрахунок кінетичних параметрів активності аргінази свідчить про те, що максимальна швидкість (V_{max}) метаболізму L-аргініну сапонін-пермеабілізованими лімфоцитами крові при дії ципрофлоксацину у 1,4, левофлоксацину у 1,6, а моксифлоксацину у 1,9 рази вищі щодо

контрольних значень. Оскільки *L*-аргінін є субстратом не тільки для аргінази, але й для всіх ізоформ NO-синтази, наступним етапом роботи було вивчення активності окремих ізоформ NO-синтази та їх кінетичних особливостей при дії фторхінолонів. Встановлено, що активність cNOS лімфоцитів крові практично здорових жінок становить $(71,4 \pm 6,9)$ нмоль NADPH(H⁺)/хв на 1 мг протеїну. При дії досліджуваних фторхінолонів у концентрації 10^{-5} М, ципрофлоксацин зумовлює зниження активності cNOS в 1,9, левофлоксацин – у 3,0 та моксифлоксацин – у 5,4 раза щодо групи контролю. При вивченні впливу фторхінолонів на активність iNOS лімфоцитів крові практично здорових жінок, її активації ми не спостерігали, а інгібуючий ефект неможливо було визначити через низьку активність.

Для індукування активності iNOS в лімфоцитах крові використовували оксидативний стрес, преінкубуючи лімфоцити з H₂O₂. Преінкубація лімфоцитів із 0,2 мМ H₂O₂ призводить до зростання активності iNOS в 31,3 раза. На фоні активації iNOS гідроген пероксидом, ципрофлоксацин призводить до інгібування активності ензиму в 1,2 раза, левофлоксацин – у 1,4, а моксифлоксацин – у 2,3 раза. Отже, за умов впливу фторхінолонів на лімфоцити крові порушується співвідношення NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму *L*-аргінину, що свідчить про дисметаболичні зміни в системі синтезу NO. Фторхінолони здатні також знижувати активність iNOS, яка здебільшого зростає при інфекційних захворюваннях.

БІОХІМІЧНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА РОЗВИТКУ ЗВИЧАЙНОЇ ТА РЕЗИСТЕНТНОЇ ДО ЦИСПЛАТИНУ ПУХЛИНИ І ВВЕДЕННЯ ЦИТОСТАТИКІВ

КОНОВАЛОВА О.І.¹, ШТЕМЕНКО Н.І.²

¹ДНІПРОВСЬКИЙ ІНСТИТУТ ТРАДИЦІЙНОЇ І НЕТРАДИЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ, ДНІПРО, УКРАЇНА;

²НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ “ДНІПРОВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА”, ДНІПРО, УКРАЇНА;

e-mail: kulinich.es@gmail.com

У наших попередніх роботах було показано, що сполуки Ренію з ізобутиратними лігандами призводили до гальмування процесів цитолізу клітин печінки та зниження активності ензимних процесів тканин печінки за розвитку карциноми Герена та введення цисплатину (Кулініч, 2013). На основі дослідження явища ензимної активації ензимів тканини та параметрів оксидативного стресу було показано різну ступінь пошкодження тканин печінки щурів із звичайною карциномою Герена (КГ) як у процесі розвитку новоутворення, так і за введення цисплатину.

Метою роботи і наступним етапом нашого дослідження було дослідити біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв за розвитку КГ та резистентної карциноми Герена (РКГ) за введення системи Реній-Платина з адамантатильними, індолілоцтовими та ферулатними лігандами.

Показано, що розвиток РКГ призводив до меншого ушкодження печінки щурів-пухлиноносіїв, ніж розвиток КГ, що може бути пов'язане з меншою інтенсивністю оксидативного стресу у крові пухлиноносіїв з РКГ, що показано раніше (Шамелашвілі, 2016). Так, у порівнянні з контролем активність ензимів плазми крові за розвитку КГ збільшувалася: АсАТ і АлАТ у 2–3 рази; ЛДГ більше ніж у 3 рази; ГГТП у 5 разів, а за розвитку РКГ не спостерігалося суттєвого підвищення активності цих ензимів, окрім ГГТП (у 4–5 разів).

Введення системи Реній-Платина з ізобутиратним лігандом знижувало активність діагностичних ензимів в обох групах щурів-пухлиноносіїв за включенням ГГТП. В тканині печінки щурів з РКГ, на відміну від КГ, відбувалася активація цього ензиму. За розвитку КГ відбувається зниження вмісту GSH (відновленого глутатіону) в тканині печінки практично у 11 разів, а розвиток РКГ супроводжується статистично достовірним підвищенням вмісту GSH на 24 %. Введення системи Реній-Платина призводило до збільшення вмісту GSH у обох групах пухлиноносіїв.

Введення системи Реній-Платина з адамантатильними, індолілоцтовими та ферулатними лігандами призводило до підвищення вмісту відновленого глутатіону, збільшення активності глутатіонпероксидази та зменшення активності глутатіон-S-трансферази, або до незмінного значення активності цього ензиму у порівнянні з відповідними групами щурів-пухлиноносіїв.

Отримані результати свідчать про відновлення детоксикаційних функцій печінки, активацію захисних систем печінки, процесу відновлення окисленого глутатіону і стимуляцію механізмів антиоксидантного захисту за участю глутатінової системи при застосуванні системи Реній-Платина з адамантатильними, індолілоцтовими та ферулатними лігандами. Обговорюються можливі механізми регуляції інтенсивності оксидативного стресу та активації ензимної ланки захисту тканин печінки вищезазначеними сполуками за розвитку КГ та РКГ.

СИСТЕМА ВІДНОВЛЕННЯ МЕТГЕМОГЛОБІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДИСБАЛАНСУ МАКРОНУТРІЄНТІВ

КОПИЛЬЧУК Г.П., НИКОЛАЙЧУК І.М., КЛЮЧНИК Я.С.

ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА, УКРАЇНА;

e-mail: i.buchkovska@chnu.edu.ua

Гомеостатична функція крові сформована таким чином, що механізми оксигенації-дезоксигенації гемоглобіну, ензиматичних та неензиматичних шляхів відновлення метгемоглобіну пов'язані між собою в єдину буферну систему, спрямовану проти вибіркової деструктивної дії окисників, причому не лише на гем, а й на глобін.

Мета роботи – дослідження вмісту гемоглобіну, метгемоглобіну та метгемоглобінредуктази в еритроцитах щурів за умов різного забезпечення організму протеїном та сахарозою.

Впродовж експерименту тварини отримували напівсинтетичний раціон АІН-93, запропонований Американським інститутом нутрієнтології. Модель дослідження передбачала поділ тварин на групи: I – тварини, які отримували повноцінний раціон (контроль); II – тварини, які перебували на низькопротеїновій дієті; III – щурі, які споживали високосахарозний раціон; IV – тварини, які на тлі аліментарної депривації протеїну отримували надмірну кількість сахарози.

Концентрацію загального гемоглобіну (Hb) досліджували гемоглобінціанідним методом. Кількісне визначення метгемоглобіну (MetHb) проводили спектрофотометричним методом. Метгемоглобінредуктазну активність визначали за швидкістю відновлення метгемоглобіну до оксигемоглобіну в присутності NADH.

Результати досліджень показали, що в гемолізаті еритроцитів усіх дослідних груп щурів спостерігалось зниження вмісту загального гемоглобіну порівняно з контролем. Найнижчі значення цього показника зареєстровані за умов споживання тваринами низькопротеїнового раціону, що, ймовірно, пов'язано з дефіцитом есенціальних амінокислот, які беруть участь у синтезі поліпептидних ланцюгів

глобіну та забезпечують його зв'язування з гемом. З іншого боку, зниження концентрації Hb може бути пов'язано зі зменшенням кількості еритроцитів у крові дослідних тварин.

Водночас саме аліментарна нестача протеїну в харчовому раціоні виступає ключовим чинником посиленого формування MetHb в еритроцитах дослідних груп щурів. Відновлення MetHb в еритроцитах відбувається за участю двох ензимних систем, одна з яких пов'язана з гліколізом (NADH-метгемоглобінредуктаза), інша – з пентозофосфатним шляхом (NADPH-метгемоглобінредуктаза). За фізіологічних умов 70-90% MetHb трансформується в Hb за участю NADH-залежної метгемоглобінредуктази (КФ 1.6.2.2), що виконує роль специфічного переносника електронів від NADH через цитохром b5 на MetHb (при цьому залізо в гемі переходить із тривалентного стану в двовалентний). Тому підвищення відсоткового вмісту метгемоглобіну в еритроцитах дослідних груп щурів порівняно з контролем за даних експериментальних умов, очевидно, пов'язано зі зниження метгемоглобінредуктазної активності, що свідчить про порушення функціонування системи відновлення метгемоглобіну. Так, при утворенні MetHb одночасно може відбуватися окислення глобіну, який випадає в осад у вигляді тілець Гейнца. Внаслідок цього гем втрачає здатність зв'язуватися з киснем і транспортувати кисень до тканин, що призводить до розвитку гемічної гіпоксії.

Отже, аліментарна нестача протеїну в харчовому раціоні є ключовим чинником порушення функціонування системи відновлення метгемоглобіну, що супроводжується підвищенням його вмісту в еритроцитах щурів на тлі зниження метгемоглобінредуктазної активності.

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ АМІАКУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ХАРЧОВОГО РАЦІОНУ НУТРІЄНТАМИ

КОПИЛЬЧУК Г.П., ІВАНОВИЧ І.Ю.

ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА, УКРАЇНА;

e-mail: g.kopilchuk@chnu.edu.ua

Питання щодо можливих механізмів формування різноманітних метаболічних змін за умов нутритивного дисбалансу, незважаючи на актуальність даної проблеми, на сьогоднішній день зали-

шається відкритим. Нині у раціоні людей на тлі дефіциту повноцінного харчового протеїну здебільшого переважають легкодоступні вуглеводи та насичені жири. Хронічне споживання великої кіль-

кості сахарози з одночасною недостатністю у харчовому раціоні протеїну може виступати фактором індукування та прогресування метаболічних розладів, зокрема в печінці. Печінка є основним органом детоксикації аміаку, кінцевого продукту азотистого обміну. При цьому причиною підвищення концентрації аміаку може бути або інтенсифікація його утворення, або порушення аміакдетоксуючої функції печінки при деструктивних змінах гепатоцитів.

Метою роботи було дослідження особливостей метаболічних перетворень аміаку в печінці щурів за умов депривації протеїну та високого вмісту сахарози у харчовому раціоні.

У результаті проведених нами досліджень встановлено підвищення рівня нітрогену аміаку в сироватці крові тварин, що утримувались як за умов високосахарозного, так і низькопротеїнового харчового раціону з високим вмістом сахарози, вдвічі порівняно з контролем, тоді як у протеїн-дефіцитних тварин вміст нітрогену аміаку зберігався на рівні контрольних значень. Причинами встановленої нами гіперамоніємії, ймовірно, є посилення процесів утворення аміаку у печінці чи, навпаки, сповільнення шляхів його знешкодження. Основним у кількісному відношенні джерелом накопичення аміаку є окислювальне дезамінування амінокислот, ключовим ферментом якого є глутаматдегідрогеназа. Додатковими джерелами ендogenous аміаку є реакції дезамінування біогенних амінів за участі мітохондріальної моноаміноксидази.

Встановлено, що гіперамоніємія за умов високосахарозної дієти супроводжується максимально вираженим зниженням активностей досліджуваних мітохондріальних ферментів печінки – глутаматдегідрогенази та моноаміноксидази у 1,8 і 2,5 рази відповідно. Отже, виявлена нами гіперамоніємія

за умов високосахарозного раціону не пов'язана з посиленням утворенням аміаку. Тому нашим наступним кроком стало дослідження активностей ключових ферментів знешкодження аміаку в організмі – карбамоїлфосфатсинтетази та глутамінсинтетази. Встановлено, що в групі тварин, які отримували високосахарозний раціон, реєструється зниження активності карбамоїлфосфатсинтетази вдвічі порівняно з показниками контролю. Оскільки цей фермент вважається регуляторним, то, очевидно, що зниження активності карбамоїлфосфатсинтези вказує на сповільнення реакцій циклу сечовини. Водночас за умов високосахарозного раціону у клітинах печінки практично вдвічі знижується глутамінсинтетазна активність. Отже, отримані результати дозволяють зробити висновок, що виявлена нами гіперамоніємія у разі утримання тварин на високосахарозній дієті пов'язана не з посиленням утворенням аміаку, а з порушенням процесів його детоксикації в печінці. Водночас під час аліментарної депривації протеїну зниження досліджуваних активностей ключових ферментів утворення (глутаматдегідрогенази та моноаміноксидази) та знешкодження (карбамоїлфосфатсинтетази та глутамінсинтетази) аміаку, ймовірно, пов'язане з дефіцитом субстратів для вказаних ферментатичних реакцій. Водночас встановлено, що визначальним фактором для розвитку стану гіперамоніємії за одночасного дисбалансу двох основних нутрієнтів (протеїну та сахарози) є максимально виражене зниження активності ключового регуляторного ферменту циклу сечовини – карбамоїлфосфатсинтетази.

Отримані результати можуть бути використані з метою розробки стратегії корекції порушень обміну аміаку за умов різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном.

ВПЛИВ ЕТИЛТІОСУЛЬФОНІЛАТУ ТА ХРОМУ(VI) НА СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ ЩУРІВ

КОТИК Б.І., ІСКРА Р.Я.

*ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;
e-mail: banderol@i.ua*

Робота глутатіонової ланки антиоксидантного захисту регулює та підтримує на потрібному рівні процеси утворення вільних радикалів та послаблює зростання рівня гідропероксидів ліпідів у клітинах живих організмів. Шестивалентний хром (Cr(VI)) – це поширений у природі важкий метал, сполуки якого є сильними окислювачами, які здатні генерувати у живих організмах активні форми кисню (АФО). Потрапляючи в організм, Cr(VI) у результа-

ті відновлення до Cr(III) зумовлює утворення АФО та вільних радикалів, які у свою чергу пошкоджують протеїни, ліпіди, нуклеїнові кислоти та інші структурні елементи клітин. Етилтіосульфонілат відноситься до естерів сульфокислот, які володіють високими антимікробними, протипухлинними та антиоксидантними властивостями, а також протективним ефектом по відношенню до токсичного впливу Cr(VI). Тому, метою досліджень було з'ясу-

вати вплив етилтіосульфонілату на показники активності глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в еритроцитах щурів, уражених Cr(VI).

Дослідження проводили на білих лабораторних щурах, розділених на дві контрольні (K1, K2) та п'ять дослідних груп (D1-D5). Контрольним і дослідним групам тварин згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Тваринам K1 групи внутрішньоочередово вводили 150 мкл фізрозчину щоденно протягом 14 діб. Тваринам K2 групи внутрішньошлунково щоденно вводили 1 мл олії протягом 14 діб. Тваринам 1, 2, 4 та 5 дослідних груп внутрішньоочередово вводили калій бихромат ($K_2Cr_2O_7$), розчинений у фізіологічному розчині, у перерахунку 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла, щоденно протягом 7 (D1 і D4 групи) та 14 діб (D2 і D5 групи). Щурам D3, D4 та D5 груп щоденно внутрішлунково вводили олійний розчин етилтіосульфонілату з розрахунку 100 мг/кг маси тіла протягом 14 діб. Після декапітації тварин, яка відбувалася за тіопенталової анестезії, проводили забір крові. Матеріалом для досліджень слугували еритроцити крові щурів. У еритроцитах визначали вміст відновленого глутатіону (GSH), а також активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення віро-

гідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Встановлено, що активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та вміст GSH в еритроцитах щурів D1 групи вірогідно зростали на 26,8, 8,9 та 15,4 % відповідно щодо K1 групи. Однак, в еритроцитах щурів D2 групи спостерігалася вірогідне зниження глутатіонпероксидазної активності на 47,5 % та вмісту GSH на 43,9 % щодо K1 групи. Глутатіонредуктазна активність та вміст GSH в еритроцитах щурів D3, D4 і D5 групах вірогідно зростали, відповідно на 21,7 і 25,3 %; на 26,9 і 17,3 %; на 28,3 і 108,1 % щодо показників у тварин K2 групи.

Результати досліджень показали, що за 7-добового впливу Cr(VI) відбувалася активація глутатіонової ланки антиоксидантного захисту, проте після 14-добового впливу Cr(VI) активність глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у еритроцитах крові щурів значно знижувалася, що свідчило про її виснаження. Етилтіосульфонілат стимулював глутатіонредуктазну активність та сприяв збільшенню вмісту GSH в еритроцитах крові тварин, що піддавалися впливу Cr(VI). Це свідчить про те, що етилтіосульфонілат володіє антиоксидантною властивістю та захисною здатністю по відношенню до токсичного впливу Cr(VI).

EFFECT OF EXOGENOUS 24-EPICASTASTERONE ON THE CONTENT OF ENDOGENOUS BRASSINOSTEROIDS IN SOYBEAN PLANT TISSUES

KRAVETS V.S.¹, KRETYNIN S.V.¹, KOLESNIKOV Y.S.¹, MARTINEC J.², TAMANAVA M.A.³, LITVINOVSAYA R.P.³, KHRIPACH V.A.³

¹KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY NAS OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF EXPERIMENTAL BOTANY AS CR, CZECH REPUBLIC, PRAHA;

³INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY, NAS OF BELARUS, MINSK;
e-mail: kolesnikov@bpci.kiev.ua

The effect of 24-epicastasterone on the level of endogenous brassinosteroids in soybean (*Glycine max* L.) plants, on morphometric parameters and level of plant resistance to the action of osmotic stress was revealed.

The analysis of the effect of 24-epicastasterone on the endogenous level of 24-epibrassinolide, brassinolide, 28-homobrassinolide, B-lactone-type brassinosteroids and 6-ketobrassinosteroids in soybean leaf cells was performed. Quantitative determination of brassinosteroids was carried out using two-step enzyme immunoassay approach for measuring the endogenous levels of brassinosteroids of all major natural groups (brassinolide group, 24-epibrassinolide group, 28-homobrassinolide group, B-lactone group and B-ketone group).

It has been established that exogenous administration of 24-epicastasterone results in a proportional

increase in the tissues of soybean leaves of endogenous 24-epibrassinolide depending on the concentration of 24-epicastasterone. This may indicate the role of 24-epicastasterone as an inducer of the formation of 24-epibrassinolide by enhancing gene expression of enzymes of its biosynthesis or weakening the gene expression of enzymes of its inactivation.

Osmotic stress suppresses the formation of 24-epibrassinolide and 6-ketobrassinosteroids in soybean leaf cells. The dynamics of the content of 28-homobrassinolide and B-lactone-type brassinosteroids also has a certain analogy, which may indicate the participation of these hormones in the same metabolic pathway.

This work was supported by the joint grants of the NAS of Ukraine (N03-09-18-2019) – NAS of Belarus (X18UKA-010).

LIPID SIGNALING IN HORMONAL REGULATION OF CELL METABOLISM

KRAVETS V.S.¹, MARTINEC J.², RUELLAND E.³, KHRIPACH V.A.⁴

¹KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY, NAS OF UKRAINE;

²INSTITUTE OF EXPERIMENTAL BOTANY AS CR, CZECH REPUBLIC;

³UNIVERSITÉ PARIS EST, INSTITUT D'ÉCOLOGIE ET DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT DE PARIS, CRÉTEIL; FRANCE;

⁴INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY, NAS OF BELARUS;
e-mail: kravets@nas.gov.ua

Analysis of molecular mechanisms of action of hormones is considered today as one of the most relevant and modern directions of biology. The hormones themselves are going to activate signaling pathways. The lipid signal transduction system is one of the important ways of the hormonal regulation of living systems different level organization. Phospholipids are important structural components of the membranes and are involved in the formation of secondary messengers of lipid signaling produced through the action of enzymes like phospholipases, lipid kinases or phosphatases. Phospholipases have been identified in the cells of animal, plant and microorganism. There are a family of proteins capable of hydrolyzing of membranes' phospholipids and ensuring the production of a number of biologically active compounds – secondary mediators of signaling systems, which start of cell metabolism adaptation.

In our report, we will present the results of joint research of our laboratories and discuss the current state of knowledge of the role of lipid signaling in the hormonal regulation of cell metabolism, as well as under effects of stress on biosystems. The results of our research of the phospholipid signalling network includes, phospholipid-metabolizing enzymes phospholipase D (PLD), phosphatidylinositol-specific phospholipases C (PI-PLCs) and phosphatidylcholine-

specific phospholipases C (PC-PLCs) phospholipase C (PLC), which are also referred to in plants as non-specific PLCs (NPCs), are characterized by broader substrate ranges that include the most abundant membrane lipid phosphatidylcholine (PC). PLCs cleave membrane phospholipids, releasing water-soluble phosphorylated headgroups and diacylglycerol (DAG), which, with the participation of diacylglycerol kinase, provides the formation of one of the key secondary mediators of lipid nature - phosphatidic acid.

We also explored the role of phosphatidylinositol kinases. Phosphatidylinositol (PI) can be phosphorylated into PI-4-phosphate (PI4P) by PI-4-kinases (PI4K). PI4P can be phosphorylated into PI-4,5-bisphosphate (PI-4,5-P2).

We have also described ways of perception of hormones by cell receptors and converted into intracellular responses via phospholipid derivatives produced by different phospholipases/ lipid-kinases; the role of a number of hormones signal transduction components in the cell metabolism regulation, including regulation of electron transport in mitochondria.

This work was supported by the joint grants of the NAS of Ukraine (N03-09-18-2019) – NAS of Belarus (X18UKA-010). Mobility project NAS of Ukraine – AS of Czech Republic (2019).

ВМІСТ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ У КРОВІ ПАЦІЄНТІВ ЗА ШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ, УСКЛАДНЕНОГО ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ II ТИПУ

КРАВЧЕНКО О.О., РАКША Н.Г., ВОВК Т.Б., ОСТАПЧЕНКО Л.І.

ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: demidiko@gmail.com

Матриксні металопротеїнази (ММП) – родина ензимів, що гідролізують протеїни позаклітинного матриксу, відіграючи провідну роль як за умов фізіологічних процесів (морфогенез, ембріогенез, ремоделювання та резорбція тканин), так і при патологічних станах, зокрема таких, як артрити, аутоімунні та нейродегенеративні захворювання, злаякісні трансформації, фіброз легень, діабетична нефро-

патія та ін. Крім того, представники підродина желатиназ (ММП-2 та ММП-9) задіяні до розвитку первинних церебральних геморагій, до порушення цілісності гематоенцефалічного бар'єру, постішемічних реперфузійних геморагій при інсульті. Метою дослідження була оцінка вмісту ММП-2 та ММП-9 у плазмі крові пацієнтів із ішемічним інсультом та інсультом, ускладненим цукровим діабетом II типу.

У дослідження було включено 69 пацієнтів із ішемічним інсультом, у 24 з них діагностувався довготривалий клінічно підтверджений цукровий діабет II типу. За контроль було взято результати досліджень 45 умовно здорових донорів відповідної вікової групи. Визначення відносного вмісту ММП-2 та ММП-9 в плазмі крові проводили імуноензимним методом, використовуючи планшети із сорбційною здатністю для мікропланшетного спектрофотометра. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програми Stat Soft Statistica version 7.0, аналіз на параметричність – із застосуванням тесту Шапіро–Уїлка.

У ході проведених досліджень було виявлено статистично значуще зростання вмісту ММП-2 та ММП-9 у плазмі крові за умов ішемічного інсульту як порівняно із групою умовно здорових донорів, так і під час порівняння між собою результатів обох дослідних груп. Так, уміст ММП-9 був вищий за значення норми у 1,2 та 1,9 раза, що у абсолютних значеннях складало $1,01 \pm 0,05$ та $1,63 \pm 0,09$ при контрольних показниках $0,86 \pm 0,01$ ум. од/мг протеїну, відповідно, у хворих із ішемічним інсультом та пацієнтів, що додатково хворіли ще й на цукровий діабет. Одержані результати в цілому узгоджуються з даними, наведеними у літературі, відповідно до яких перші години після гострої ішемії головного мозку характеризуються зростанням рівня ММП-9 як безпосередньо у ядрі інфаркту та періінфарктної області, так і у периферійній крові. Підвищений уміст ММП-9 у ділянці інфаркту дозволяє розглядати даний ензим як потенційний

маркер ушкодження тканин головного мозку та свідчить про залучення ММП-9 у процес розширення зони інфаркту. В експериментах із застосуванням моноклональних антитіл, системно блокуючих ММП-9, чи інгібіторів даного ензиму, спостерігалось значне зменшення розмірів ділянок інфаркту головного мозку в щурів. Поряд із підвищенням рівня ММП-9 було виявлено зростання вмісту ММП-2, яке було більш вираженим порівняно із показниками для ММП-9. Уміст даного ензиму в крові хворих перевищував значення контролю у 1,4 раза для пацієнтів із ішемічним інсультом та більш, ніж удвічі – для пацієнтів з інсультом на фоні цукрового діабету II типу. Найбільш вірогідною причиною зростання вмісту конститутивної ММП-2 видається посилення секреції проензиму ММП-2 з її подальшою активацією за участі позаклітинних протеїназ, аутокаталітичного розщеплення чи дії інших ММП. Так, джерелом ММП-2 за розвитку ішемічного інсульту можуть виступати не лише активовані нейтрофіли та лейкоцити периферійної крові, а й безпосередньо клітини нервової тканини, зокрема, нейрони, астроцити, мікроглія та ендотеліальні клітини. Встановлене зростання вмісту ММП-2 та ММП-9 матиме як негативний вплив за розвитку ішемічного інсульту, через розщеплення компонентів базальної мембрани ендотеліальних клітин судин головного мозку та міграції клітин через гематоенцефалічний бар'єр, так і позитивні ефекти ремоделювання позаклітинного матриксу та міжклітинних взаємодій при регенерації пошкоджених тканин.

ВИВЧЕННЯ РОЛІ JNK У РЕГУЛЯЦІЇ ОБМІНУ НЕЙТРАЛЬНИХ ТА СФІНГОЛІПІДІВ У ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ

КРАСІЛЬНИКОВА О.А., КРАВЧЕНКО Г.Б.

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ, УКРАЇНА;
e-mail: krasilnikovaoksana16@gmail.com

c-Jun N-термінальні кінази (JNK) відносяться до сімейства MAP кіназ і активуються у відповідь на стресові сигнали поза- і внутрішньоклітинного походження, серед яких виділяють оксидативний стрес, прозапальні цитокіни, вільні жирні кислоти, вторинні сигнальні месенджери ліпідного походження та інші. Активацію JNK розглядають як ключову подію апоптозу клітини, процесу запалення або канцерогенезу, проте, найважливішу свою роль JNK відіграє у патогенезі станів, які супроводжуються порушеннями вуглеводного та ліпідного обмінів та зниженням чутливості клітин до дії інсуліну: ожиріння, метаболічного синдрому, інсулінорезистентності, діабету, стеатозу печінки, тощо. Відомо, що порушення інсулінового сигналіну асоційовано з накопиченням в клітинах печінки, серця та нервової тканини нейтральних ліпідів,

порушенням обміну сфінголіпідів. Проте вплив JNK на метаболізм ліпідів у клітинах ще достатньо невивчений.

Метою цієї роботи було вивчення участі JNK в обміні нейтральних та сфінголіпідів у ізольованих гепатоцитах щурів за умов інкубації клітин у присутності пальмітинової кислоти.

Експерименти проводили на самцях інбредних щурів масою 190–220 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію НФаУ. Гепатоцити виділяли з печінки щурів за методом Сеглена. Ізольовані гепатоцити інкубували в середовищі Eagle протягом 3 годин при 37 °С у присутності 100 мкмоль пальмітинової кислоти (ПК). В окремих випадках за 10 хв до внесення ПК гепатоцити передінкубували з 10 мкмоль SP600125 (інгібітор JNK). Реакцію зупиняли на холоді, ліпіди екстрагували за мето-

дом Блайя і Дайера. Розділення ліпідів на фракції проводили з допомогою ТШХ в системах розчинників для сфінголіпідів: I – діетиловий ефір, II – хлороформ:метанол:Н₂О (40:10:1, за об'ємом) та для нейтральних ліпідів: гептан:діетиловий ефір:льодяна оцтова кислота (60:40:1, за об'ємом). Хроматограми проявляли у парах йоду. Вміст ліпідів визначали за методом Марча і Венстейна. Дані були оброблені статистично.

Інкубація гепатоцитів у присутності ПК призвела до підвищення вмісту діацилгліцеролів (ДГ) у 1,56 раза та церамідів (Цер) у 1,33 раза. Одночасно спостерігалось зниження вмісту сфінгом'єліну (Сфм) у 1,32 раза та фосфатидилхоліну (Фх) у 1,28 раза. Відомо, що інкубація клітин, зокрема гепатоцитів у присутності насичених жирних кислот супроводжується активацією протеїнкінази JNK. Довготривала інкубація клітин у присутності в насичених жирних кислот, зокрема ПК або міристинової, призводить до апоптозу клітин. Проте на початкових етапах інкубації клітин спостерігається ряд значних метаболічних змін, зокрема гальмування процесів β-окислення жирних кислот в мітохондріях, яке опосередковане активацією JNK,

а також, ймовірно є головною причиною накопичення рівня ДАГ. Окрім цього, можливо має місце активація сфінгом'єлінази, які розчеплюють Сфм з утворенням Цер, що знаходить підтвердження отриманими у роботі даними. Не можна виключати також посилення утворення ДГ та Цер *de novo* з пальмітинової кислоти. Внесення до середовища інкубації інгібітора протеїнкінази JNK відміняло зміни, які спостерігалися під час інкубації у присутності ПК. Так, вміст ДГ та Цер знижувався в 1,3 раза, тоді як рівень Сфм та Фх підвищувалися у 1,41 та 1,25 раза, відповідно. Можливою причиною зниження рівню ДГ може бути посилення окиснення жирних кислот в мітохондріях за умов пригнічення активності JNK. Зниження вмісту Цер може бути зумовлене посиленням їх перетворення на Сфм.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що JNK залучена до регуляції обміну нейтральних та сфінголіпідів у гепатоцитах, зокрема до регуляції обміну ДГ, Цер та Сфм. Цілком ймовірно, що саме активація JNK в присутності ПК призводила до підвищення вмісту ДГ та Цер. Достовірне зниження цих фракцій ліпідів при внесенні інгібітору JNK до середовища підтверджує це припущення.

ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ЖИРОВІЙ ТКАНИНІ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ЇЖИ ТА СУМІСНОГО СПОЖИВАННЯ ЕКСТРАКТУ ЛУШПИННЯ КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ (*PHASEOLUS VULGARIS*)

КРЕНИЦЬКА Д.І., ЮРЧЕНКО А.В., САВЧУК О.М.

ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ",

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

e-mail: dashko.pyshko@gmail.com

Ожиріння є захворюванням, що характеризується надмірною вагою у вигляді накопичення жирової тканини. Відомо, що даний патологічний стан пов'язаний з підвищенням рівня пероксидного окислення ліпідів. Беззаперечно, важливою є роль жирової тканини не лише як енергетичного депо організму, а й як активного ендокринного органу, який продукує ряд біологічно активних речовин. Ці речовини задіяні в індукції метаболічних розладів, що реалізуються на системному рівні та значно ускладнюють патогенез ожиріння. Одним із чинників, що обумовлюють дисфункцію адипоцитів є оксидативний стрес. Оскільки кількість пацієнтів з ожирінням продовжує з кожним роком неухильно зростати, актуальною проблемою медицини залишається пошук нових підходів у лікуванні даного захворювання. Досить актуальними на сьогодні є дослідження різноманітних екстрактів рослин, що здавна використовувались в народній медицині.

Однією з таких рослин є квасоля звичайна (*Phaseolus vulgaris*).

Досліди проводили на білих нелінійних щурах-самцях з початковою масою 115-150 г. Впродовж 1 тижня експерименту всі тварини одержували стандартну їжу "Purina rodent chow" та воду *ad libitum*. На 8-ий день тварини були рандомізовано поділені на 3 групи. Щури 1-ої групи ("Контроль") продовжували отримувати стандартний корм впродовж наступних 10 тижнів. Тварини 2-ої групи ("ВКД") споживали висококалорійну їжу. Третя група тварин ("ВКД+ЕФ") знаходилась на висококалорійній дієті та отримувала екстракт лушпиння *P. vulgaris* (200 мг/кг). Через 4 тижні після початку експерименту тварини третьої групи почали отримувати екстракт лушпиння квасолі звичайної *P. vulgaris* (200 мг/кг). Експериментальні роботи з щурами проводили в умовах віварію КНУ імені Тараса Шевченка (2008–2019 рр.)

Вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали шляхом реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою та утворенням кольорового комплексу триметину з максимальним поглинанням при довжині хвилі 532 нм. Вміст дієнових кон'югатів визначали спектрофотометричним методом, а шифові основи – за допомогою флуориметричного методу.

У результаті 10-ти тижневого споживання висококалорійного корму у жировій тканині тварин групи "ВКД" вміст спонтанного та аскорбатзалежного МДА знижувався в 2,7 та 6,9 раза відповідно порівняно з контролем. Споживання екстракту лушпиння квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*) призвело до підвищення вмісту даних показників в 1,9 та 4,2 раза відповідно порівняно з групою тварин "ВКД". Показано, що вміст шифових основ підвищувався в жировій тканині групи тварин "ВКД"

в 1,7 раза порівняно з контрольною групою тварин та знижувався в 1,3 раза у групі "ВКД+ЕКС" порівняно з тваринами, що знаходились лише на висококалорійній дієті. В результаті проведених досліджень також встановлено зниження вмісту дієнових кон'югатів у жировій тканині тварин групи "ВКД" в 4,2 раза та підвищення даного показника у групі тварин "ВКД+Екс" в 1,6 раза порівняно з контролем та групою тварин "ВКД" відповідно.

Отримані результати вказують на тенденцію до відновлення однієї з ланок антиоксидантного захисту у щурів із ожирінням за умов споживання екстракту лушпиння квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*). Як висновок, можна стверджувати, що досліджуваний екстракт може мати певний терапевтичний вплив за розвитку ожиріння.

THE ROLE OF POLYAMINES IN THEIR REGULATION OF PHOSPHOLIPID SIGNALING IN CELLS OF CAMELINA SATIVA L.

KRETYNIN S.V.¹, KOLESNIKOV Ya.S.¹, BLUME Ya.B.², KRAVETS V.S.¹

¹KUCHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF FOOD BIOTECHNOLOGY AND GENOMICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: ksv@bpci.kiev.ua

Polyamines are biologically active polycationic molecules in plants that play an important role in the regulation of metabolic responses involved in cell division, morphogenesis, senescence and formation of tolerance to a wide range of stressors. Molecular mechanisms of polyamines action in plant cells are extensively studied, but the role of lipid signaling in primary cellular responses to these biologically active substances is far from being understood. Phospholipase D is a well-known lipid signaling enzyme. In response to extracellular cues, it rapidly produces phosphatidic acid that serves a second messenger of signaling cascades.

Role of polyamines in the example of spermine in the regulation of dynamics of signaling phospholipids was investigated in root and leaf cells of 3-weeks old *Camelina sativa* L. ("Peremoga" cultivar) plants. Plant tissues were incubated with fluorescent dye-labeled phospholipase substrate lipid 18:1-12:0 NBD PC (1-Oleoyl-2-[12-[(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino]dodecanoyl]-sn-Glycero-3-Phosphocholine). Levels of fluorescently-labeled lipid products of phospholipase-catalyzed NBD-phosphatidylcholine hydrolysis were analyzed in leaves and roots of *Camelina sativa* L. after spermine treatment. Quantity analysis of lipid zones in thin-layer chromatography plates was performed with Molecular Imager®

PharosFX™ Systems (Biorad, USA). In addition, 1-butanol was also applied into the tissues because phospholipase D specifically converts it to phosphatidylbutanol, a marker of the enzyme activity. In order to study the role of phospholipase D cofactors (calcium and phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate) in the regulation of signaling lipids dynamics, plant tissues were pretreated with EGTA (Ethylene Glycol Tetraacetic Acid), a chelator of extracellular calcium, and neomycin, a chelator of polyphosphoinositide lipids.

It was found that spermine administration in *Camelina sativa* L. root and leaf tissues induces early production of phosphatidic acid and phosphatidylbutanol indicating phospholipase D activation. Accumulation of the phospholipase D products mentioned above was significantly reduced by pre-treatment of plants with EGTA and, especially, neomycin. This suggests that phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate plays an important role as a cofactor of phospholipase D activated by polyamines. These results suggest that phospholipase D and polyphosphoinositides are one of the primary response components involved in the biological action of polyamines in plants.

This work was supported by the grant "Biofuels and bioenergy" (2019) and grant NAS of Ukraine 2.1.10.32-15.

IRE1-ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ TP53 ТА АСОЦІЙОВАНИХ ІЗ НИМ ПРОТЕЇНІВ

КРИВДЮК І.В., МІНЧЕНКО Д.О., ДАНИЛОВСЬКИЙ С.В., МІНЧЕНКО О.Г.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: sergius03@gmail.com

Пухлинні клітини знаходяться в умовах гіпоксії та дефіциту поживних речовин, які призводять до накопичення не згорнутих протеїнів, що викликає стрес ендоплазматичного ретикулума, але для пухлин він є необхідною умовою виживання та росту. Найбільш важливою сенсорно-сигнальною системою стресу ендоплазматичного ретикулума є IRE1/ERN1 (inositol requiring enzyme 1/endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1). Його ендорибонуклеазна активність відповідає за утворення альтернативного сплайс варіанту транскрипційного фактора ХВР1 та вибірккову деградацію мРНК, причому за умов виключення ензиму IRE1 відбувається значне зниження проліферації пухлинних клітин та росту пухлин із них. Актуальним залишається питання про роль TP53 та його активаторів в опосередкованому IRE1 пригніченні процесів проліферації клітин гліоми і механізми змін рівня їх експресії.

Метою роботи було дослідити рівень експресії генів пухлинного супресора TP53 та асоційованих із ним протеїнів (інгібіторів TP53 – NME6 (NME/NM23 Nucleoside Diphosphate Kinase 1), TOPORS (TOP1 Binding Arginine/Serine Rich Protein) і MDM2 (MDM2 Proto-Oncogene), активаторів TP53 – TP53BP1 (Tumor Protein P53 Binding Protein 1) та USP7 (Ubiquitin Specific Peptidase 7), а також його ефektorів – ZMAT3 (Zinc Finger Matrinx-Type 3) і PERP (P53 Apoptosis Effector Related To PMP22), а також механізми регуляції їх експресії в клітинах гліоми лінії U87 із пригніченою функцією IRE1 за умов гіпоксії.

Дослідження проводили на сублініях клітин гліоми лінії U87, трансфорованих пустим вектором рсDNA3.1, та з домінант-негативною конструкцією IRE1 без кіназного та ендорибонуклеазного доменів на основі вектора рсDNA3.1 (dnIRE1). Рівень експресії мРНК TP53 та асоційованих із ним про-

теїнів оцінювали за даними кількісної полімеразної реакції у реальному часі і нормалізували по експресії β-актину. Рівень протеїнів визначали вестерн-блот аналізом. Умови гіпоксії: 3 % кисню, 5 % вуглекислого газу та 92 % азоту протягом 16 годин при 37 °C.

Встановлено, що пригнічення сенсорно-сигнального ензиму IRE1 збільшує рівень експресії генів TP53 та USP7, а генів MDM2, TP53BP1, PERP, TOPORS, ZMAT3 і NME6 – зменшує. Це вказує на геноспецифічний характер залежності експресії асоційованих з TP53 генів від стресу ендоплазматичного ретикулума і IRE1 сигнального шляху, зокрема. За допомогою біоінформаційного аналізу були виявлені сайти зв'язування з мікроРНК в деяких із досліджених мРНК: NME6 з miR-7, PERP з miR-190b, а TP53BP1 з miR-145, що вказує на можливу участь мікроРНК в регуляції експресії цих генів на пост-транскрипційному рівні, оскільки зниження рівня експресії генів TP53BP1, PERP і NME6 корелює зі збільшеним рівнем відповідних мікроРНК.

Показано, що гіпоксія по-різному впливає на рівень експресії TP53 та залежних від нього генів у контрольних клітинах гліоми і за умов пригнічення IRE1. Так, рівень експресії генів TP53, USP7 та ZMAT3 зменшується за умов гіпоксії тільки в контрольних клітинах гліоми, а виключення функції ензиму IRE1 робить ці гени резистентними до умов гіпоксії. В той же час, пригнічення сигнального ензиму IRE1 посилює ефект гіпоксії на експресію генів TOPORS та NME6.

Таким чином, стрес ендоплазматичного ретикулума, опосередкований сигнальним шляхом IRE1, контролює експресію TP53 та залежних від нього генів різними шляхами і модифікує ефекти гіпоксії на ці гени, що розкриває молекулярні механізми пропухлинного ефекту інгібування сигнального ензиму IRE1.

DEVELOPMENT OF KNOCKOUT HEPARIN-BINDING EGF-LIKE GROWTH FACTOR CELL LINE BY CRISPR/CAS-MEDIATED GENOME EDITING.

KRYNINA O.I., KOLYBO D.V., KOMISARENKO S.V.
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: OlyaKrynina@gmail.com

Breast cancer is the most commonly occurring malignant tumor in women and the second most common cancer overall. It is proved that heparin-

binding EGF-like growth factor (HB-EGF), one of the most potent ligands of epidermal growth factor receptor (EGFR), plays a pivotal role in mammary

carcinoma progression and development, especially in proliferation and invasion. HB-EGF is synthesized as a transmembrane precursor (proHB-EGF) that can act as the receptor for diphtheria toxin (DT) molecule. This unique for growth factors feature makes it possible to use recombinant DT derivatives to inhibit HB-EGF activity. CRM197 is the non-toxic mutant of DT that is already used in breast cancer therapy and has shown a significant anti-tumor effect. Previously in our lab, we created recombinant derivatives of DT with lower molecular mass compared to CRM197. Because these proteins retain their ability to bind HB-EGF with high affinity, they can be promising candidates as HB-EGF blocking agents. And to reliably investigate their effect on malignant cell proliferation is necessary to create a cell line with the suppressed expression of HB-EGF.

The aim of this work was to generate HB-EGF knockout MDA-MB-231 cell line using CRISPR/Cas9 gene-editing technique and compare its proliferation and migration rates with wild-type cells. We first set out to analyze the pool of 23-bp target-

PAM sequences selected from a bioinformatics database to choose two of them with minimal off-target cross-reactivity. We focused on exons 1 and 2 to effectively disrupt the expression of functional growth factor. Successful knockout of HB-EGF was confirmed by flow cytometry using monoclonal antibodies and fluorescent derivative of DT – mCherry-SbB. After the selection of an appropriate clone, we additionally confirmed its ability to survive under DT treatment by propidium iodide staining. Using MTT assay, we investigated cell growth rates. The obtained results indicate a decreased proliferation rate in comparison to the control MDA-MB-231 cells. To evaluate cell motility, we performed the scratch assay that revealed the reduction of migration potential of HB-EGF knockout cell line.

In summary, we generate HB-EGF knockout MDA-MB-231 cell line, validate its viability and resistance to diphtheria toxin. Thus, this cell line could be useful for the development of effective HB-EGF inhibitors and subsequent study of their influence on breast cancer progression.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВМІСТУ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ У НИРКАХ І ЛЕГЕНЯХ ПРИ ГІПЕРТЕРМІЇ

КУЗНЕЦОВА О.В., ДІДИК О.К.

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ МОЗ УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: kuznetsova.lena9@gmail.com

Знання механізмів адаптації живих організмів до несприятливих умов навколишнього середовища в останні десятиліття увійшло в число найбільш актуальних проблем біохімії. Суттєве значення для формування адаптивних реакцій можуть мати сигнальні молекули - циклічний аденозин- і гуанозинмонофосфати. Взаємозв'язок функціонального стану системи внутрішньоклітинних месенджерів і морфофункціонального стану тканин за умов гіпертермії має достатньо складний та неоднозначний характер. Вивчення змін у активності циклічних нуклеотидів у процесі адаптації до тепла має першорядне значення для розкриття біохімічних механізмів адаптації біологічних систем до зміни температури навколишнього середовища.

Дослідження вмісту циклічних нуклеотидів (цАМФ і цГМФ) у тканині легень і нирок щурів за умов експериментальної гіпертермії.

Експеримент проводили на щурах-самцях лінії Вістар вагою 200–250 г відповідно до правил Європейської Конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) та Директиви Ради Європи 2010/63/ЄС про захист тварин. Тварин ($n=10$) перебували у спеціалізованій термокамері з температурою повітря $+43-45$ °C, відносною вологістю

у межах 75–85 % та концентрацією кисню у межах 20–20,5 % протягом 60 хвилин. Концентрацію цАМФ й цГМФ (пмоль) у легеневій і нирковій тканині досліджували методом радіоімунного аналізу за допомогою тест-систем виробництва “Chemapol” (Чехія) і розраховували на 1 мг протеїну тканини, який вимірювали методом Лоурі. Концентрацію йонів натрію і кальцію у сироватці крові вимірювали методом полум'яної фотометрії. Результати обробляли за допомогою t -критерію Стьюдента і оцінювали достовірними при $P<0,05$ у порівнянні з показниками інтактних тварин ($n=10$).

В експериментальних умовах у дослідних тварин розвивалися гіпертермія (температура тіла $39,6\pm 0,3$ °C), дегідратація (втрата близько 2 % маси тіла) і гіпернатріємія (вміст йонів натрію у сироватці крові у 1,2 раза вищий порівняно з інтактними тваринами). Вміст цАМФ і цГМФ в тканині правої легені інтактних тварин спостерігався більш високим, ніж в тканині лівої легені, що пов'язано з морфо-функціональними відмінностями між правою і лівою легенями. У дослідних тварин у правій легені концентрація цАМФ зменшилася у 1,6 рази (з $2,19\pm 0,39$ до $1,41\pm 0,36$), а цГМФ зросла у 3 рази (з $0,057\pm 0,009$ до $0,171\pm 0,042$), а у лівій легені

дослідних щурів вміст цАМФ зменшився у 3,1 раза (з $0,906 \pm 0,153$ до $0,291 \pm 0,090$), а цГМФ підвищився у 4,1 раза (з $0,035 \pm 0,009$ до $0,147 \pm 0,027$) порівняно з інтактними тваринами.

За умов гіпертермії у лівій легені спостерігалось у 12,5 раза зниження індексу цАМФ/цГМФ, в той час як у правій легені – всього у 4,75 раза. У інтактних тварин у мозковій речовині нирок вміст циклічних нуклеотидів був вищий, ніж у кірковій речовині, й цАМФ домінував над цГМФ. У кірковій речовині нирок дослідних щурів концентрація цАМФ зросла у 15,6 раза (з $0,47 \pm 0,08$ до $7,35 \pm 0,95$), цГМФ – у 3,9 раза (з $0,15 \pm 0,02$ до $0,58 \pm 0,07$), в той час у в моз-

ковій речовині вміст цАМФ збільшився у 2,2 раза (з $1,45 \pm 0,21$ до $3,22 \pm 0,33$), цГМФ – у 3 рази (з $0,96 \pm 0,07$ до $2,87 \pm 0,20$). Індекс цАМФ/цГМФ у кірковій речовині нирок виріс у 4 рази, у мозковій речовині достовірно не змінився.

Таким чином, динаміка вмісту циклічних нуклеотидів у легеневій і у нирковій тканинах щурів свідчить про те, що гіпертермія викликає неоднакові функціональні відповіді, які зумовлені особливостями тканини, що спрямовані на активацію адаптаційно-приспосувальних механізмів на тканинному і клітинному рівнях і запуск генетичної програми загибелі клітин.

ЕКСКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ НИРОК ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ НАТРІЮ НІТРАТУ ТА МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

ЛАРИЧЕВА О.М.^{1,2}, ЦВЯХ О.О.²

¹ЧОРНОМОРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ПЕТРА МОГИЛИ, МИКОЛАЇВ, УКРАЇНА;

²МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.О. СУХОМЛИНСЬКОГО, УКРАЇНА;

e-mail: laricheva72@gmail.com

Ниркам належить головна роль у регуляції гомеостазу організму. Виконання основних гомеостатичних функцій нирок пов'язано з сечоутворенням та залежить від погодженої зміни основних ниркових процесів: клубочкової фільтрації, реабсорбції й секреції.

Забруднення води та ґрунтів нітратами на більшості територій України перевищує допустимі норми. У разі надмірного щоденного надходження вони здатні до накопичення та утворення більш небезпечних сполук – нітритів.

Нирки дуже чутливі як до дії токсичних речовин, так і до порушень обміну речовин. Значною проблемою охорони здоров'я, що можна назвати епідемією у глобальному масштабі й однією з причин ранньої смерті, є метаболічний синдром (МС). МС являє собою комплекс порушень обміну речовин, що негативно впливають на здоров'я. Патологічні стани, пов'язані з МС (інсулінорезистентність, вісцеральне ожиріння, ендотеліальна дисфункція, гіпертригліцеридемія, дисліпідемія, системна прозапальна гіперцитокінемія) включають також і порушення функції нирок.

Досліджено екскреторну функцію нирок статевозрілих щурів за різних умов: 30-добове введення натрію нітрату у дозі 500 мг/кг (НН), МС, МС та НН після 5% водного навантаження. З метою стандартизації показників функції нирок їх абсолютні величини перераховували на 100 г маси тіла тварин і на 100 мкл клубочкового фільтрату.

Для характеристики екскреторної функції нирок визначали концентрації креатиніну та протеїну у плазмі крові та сечі (діурез вимірювали за дві години), розраховували екскрецію креатиніну та протеї-

ну й концентраційний індекс ендogenous креатиніну. Для оцінки функціонального стану нирок визначали швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) оскільки її ступінь зниження корелює з іншими клінічними та метаболічними змінами нирок. ШКФ розраховували за кліренсом ендogenous креатиніну. Для оцінки волюморегулювальної функції нирок розраховували канальцеву та відносну реабсорбцію води.

За умов 5 % водної гіпергідратації у щурів з НН виявлено порушення екскреторної функції нирок, що характеризувалося зниженням ряду показників: концентрації креатиніну в сечі, його екскреції, концентраційного індексу ендogenous креатиніну та відносної реабсорбції води. У щурів з МС за умов 5% водної гіпергідратації реакція клубочкового сектору супроводжувалася збільшенням діурезу без зміни інших параметрів. Показники тварин з МС та НН не відрізнялися від показників інтактної та контрольних груп. Встановлено, що за різних експериментальних умов здатність нирок концентрувати та розводити сечу не змінилася.

Таким чином, тривала дія нітратів у дозі 500 мг/кг призводить до порушення екскреторної функції нирок, у той час як метаболічний синдром та дія нітратів не впливають на екскреторну здатність даного органу. Даний ефект, можливо, пов'язаний із здатністю екзогенних нітратів виступати в якості джерела нітроген оксиду як медіатору ряду біологічних функцій через активацію цГМФ та протеїназу G, особливо за умов гіпоксії та ендотеліальної дисфункції, характерних для метаболічного синдрому.

ТЕСТ ОЦІНКИ ХОЗЛ ЯК ВІДОБРАЖЕННЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ

ЛЕМКО О.І., ГАБОР М.Л., РЕШЕТАР Д.В.

ДУ "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "РЕАБІЛІТАЦІЯ" МІНІСТЕРСТВА
ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ", УЖГОРОД;
e-mail: isl@rehab.uzhgorod.ua

Метаболічні порушення є одним із провідних системних проявів ХОЗЛ, які у великій мірі визначають важкість перебігу патологічного процесу. Водночас, розроблені клінічні критерії оцінки важкості ХОЗЛ, зокрема, тест оцінки ХОЗЛ (ТОХ).

Метою роботи було вивчення особливості метаболічних порушень у хворих на ХОЗЛ II–III ст. поза гострим періодом на основі змін показників окисного гомеостазу та в залежності від величини ТОХ.

Обстежено 60 хворих на ХОЗЛ II–III ст. поза гострим періодом та контрольна група з 17 практично здорових осіб. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) визначали за вмістом в крові первинних, вторинних, проміжних і кінцевих (основ Шифа - ОШ) продуктів. Стан ензимної ланки антиоксидантного захисту (АОЗ) оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) і каталази (К), а також обчислювали коефіцієнт оксидантного стресу (Кос) за загальноприйнятною формулою. В залежності від величини ТОХ виділяли три групи пацієнтів: хворі зі стабільним перебігом ХОЗЛ при ТОХ <10 балів, пацієнти з помірно вираженою симптомів ХОЗЛ (ТОХ 10–19 балів) та хворі з вираженими проявами ХОЗЛ при величині ТОХ ≥ 20 балів. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних комп'ютерних програм Microsoft Excel. Зміни вважали достовірними при $P < 0,05$.

У цілому обстежені особи мали ознаки розвитку оксидантного стресу, що виражалось значним підвищенням окисних реакцій з надмірним накопиченням у крові первинних, проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ на тлі недостатньої активації АОЗ. Однак, суттєвим аспектом проблеми є прогнозування перебігу ХОЗЛ, яке проводять, зокрема, за ТОХ. Вивчення особливостей процесів ПОЛ у хворих на ХОЗЛ у взаємозв'язку з величиною ТОХ дозволило виявити певні відмінності. Так, при ТОХ <10 балів (стабільний перебіг хвороби) всі

показники ПОЛ були в межах нормальних коливань, або ж не відрізнялись суттєво від контролю за виключенням кінцевих його продуктів (ОШ), які зростали до $0,33 \pm 0,01$ од. оп.г/мл проти $0,29 \pm 0,02$ од. оп.г/мл в контролі ($P < 0,1$). При виражених симптомах ХОЗЛ (ТОХ >10 балів) виявлено достовірне ($P < 0,05$) зростання вмісту первинних, проміжних і, особливо, кінцевих продуктів ПОЛ. Слід відмітити, що рівень ОШ у пацієнтів з ТОХ ≥ 20 балів був достовірно вищим за такий при стабільному перебігу хвороби (ТОХ <10 балів) і становив $0,37 \pm 0,01$ од. оп.г/мл проти $0,33 \pm 0,01$ од. оп.г/мл відповідно ($P < 0,05$).

Водночас, пригнічення ензимної ланки АОЗ, перш за все каталази, було достовірним навіть при мінімальних клінічних проявах ХОЗЛ (ТОХ <10 балів) і посилювалось відповідно до зростання величини ТОХ. Показано, що активність СОД у хворих зі стабільним перебігом ХОЗЛ зберігалась на рівні контролю, однак у разі зростання величини ТОХ її активність достовірно знижувалась. Ці зміни свідчать про неспроможність антирадикальних механізмів організму нівелювати підвищення процесів ліпопероксидації, що знаходить своє клінічне відображення в збільшенні інтенсивності клінічних проявів та супроводжується достовірним зростанням Кос, особливо при ТОХ ≥ 20 балів. Так, при ТОХ <10 балів Кос проявляв тільки тенденцію до підвищення і становив $2,31 \pm 0,64$ проти $1,09 \pm 0,11$ в контролі ($P < 0,1$), а при ТОХ ≥ 20 балів досягав $5,26 \pm 0,77$ і був достовірно вищим, ніж при стабільному перебігу хвороби (ТОХ <10 балів; $P < 0,05$).

Отже, порушення рівноваги в системі ПОЛ – АОЗ, які приводять до розвитку оксидантного стресу, носять первинний характер, зберігаються навіть поза періодом загострення хвороби і нарастають відповідно до підвищення інтенсивності клінічних симптомів за даними ТОХ, що визначає їх патогенетичну роль у прогресуванні патологічного процесу та диктує необхідність розробки комплексного лікування.

ВПЛИВ ПРИГНІЧЕННЯ ЕСТРОГЕНОВОГО СИГНАЛУ НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ НА МАРКЕРНІ ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ

ЛИТКІН Д.В., ЗАГАЙКО А.Л., ВОЛОЩЕНКО М.В.
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ, УКРАЇНА;
e-mail: d.v.lytkin@gmail.com

Останні експериментальні роботи з вивчення впливу естрогенового сигналіну в інтраабдомінальній жировій тканині свідчать, що стимуляція відповідних класичних внутрішньоклітинних рецепторів має позитивний вплив на обмін речовин: пригнічує ліполіз, посилює утилізацію жирних кислот, посилює чутливість клітин до інсуліну, зменшує прояви метаболічного запалення та ін. Так, в роботах Davis K.E. та ін. неодноразово було продемонстровано, що експериментальні тварини з екстремальним (оваріоектомія) або повним (нокдаун гена ER) пригніченням естрогенового сигналу виявляли ознаки, схожі на метаболічний синдром з боку ліпідного та вуглеводного метаболізму в жировій тканині, через що формуються необачні висновки про суто позитивний вплив естрогенів на зазначені види обміну. Разом з цим, не враховується той факт, що на тлі саме метаболічного синдрому розвивається аномальна гіперестрогенемія, спричинена надмірною активністю ароматази жирової тканини.

Метою даної роботи було вивчення впливу пригнічення естрогенового сигналу шляхом перерозподілу гормонального балансу на ліпідний обмін на тлі вже сформованої дисліпідемії та гіперестрогенемії.

Для відтворення сталих метаболічних змін *in vivo* використовували найбільш релевантну в даному випадку модель – дієтоіндукований метаболічний синдром у сирійських хом'ячків. В експерименті використано 60 тварин, рандомізованих за статтю та розподілених на дослідні групи ($n=10$). Гіперкалорійна дієта (із додатковим вмістом жирів та фруктози) отримувалася хом'ячками впродовж 9 тижнів, паралельно тварини з груп інтактного контролю утримували на стандартній дієті. Для пригнічення естрогенового сигналу в тестових

групах використовували інгібітор ароматази необоротної дії екземестан в дозі 3,1 мг/кг, який вводили внутрішньошлунково впродовж останніх 3-х тижнів експерименту. Наявність гіперестрогенемії наприкінці експерименту підтверджували імуноензимним методом за визначенням сироваткового естрадіолу, також цим методом визначали вміст вільних жирних кислот (ВЖК). Сироватковий вміст триацилгліцеролів (ТГ), загального холестеролу (ХС) та холестеролу ліпопротеїнів низької щільності (ХС-ЛПНЩ) визначали колориметрично. Для з'ясування міжгрупових відмінностей при апостеріорному аналізі використовували U-критерій Манна-Уїтні, вірогідними вважали відмінності з рівнем значущості $P<0,05$.

Відтворення метаболічного синдрому призвело до суттєвого збільшення вмісту естрадіолу в сироватці та збільшення досліджуваних маркерів ($P<0,05$ проти інтактного контролю). У свою чергу, результати дослідження продемонстрували, що зменшення вмісту естрогенів майже до інтактного рівня призводило до суттєвих позитивних змін вмісту маркерів ліпідного обміну. У самців рівень ТГ статистично не відрізнявся від інтакту, а вміст ВЖК, 3Х та ХС-ЛПНЩ вірогідно зменшувалися на 20,1 %, 15,3 % та 27,0 % відповідно у порівнянні до негативного контролю. У самиць сироватковий вміст ТГ зменшувався на 18,8 %, ВЖК – на 19,1 %, 3Х – на 8,6 %, а ХС-ЛПНЩ – на 36,2 % ($P<0,05$ проти негативного контролю).

Таким чином, незалежно від статі лише за умов нормоестрогенемії або дефіциту може проявлятися позитивний вплив естрогенового сигналіну на обмін речовин. При цьому за умов метаболічного синдрому сформована гіперестрогенемія може бути обтяжуючим фактором, що додатково сприяє прогресії порушень ліпідного обміну.

HOW SMOKING MAY DECREASE THE RISK OF PREECLAMPSIA DEVELOPMENT

LYKHENKO O., ZHOHA V., LYKHENKO D., FROLOVA A., MARTSENYUK O., OBOLENSKAYA M.
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL
ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: m.obolenska@gmail.com

Background. Cigarette smoking adversely affects every organ system. Paradoxically, smoking during pregnancy has been associated with a reduced risk of preeclampsia (PE) [Wei et al., 2015]. PE affects 5–10 % of all pregnancies worldwide with high rate of maternal and fetal morbidity and mortality. It is characterized by the onset of blood pressure $\geq 140/90$ mmHg and proteinuria ≥ 300 mg/24 h. after the 20th week of gestation. PE is treated by premature delivery by Caesarian section. The etiology of PE is unknown but altered human placental function is a main cause for its development.

The goal was to unravel the potential mechanisms of paradoxical effect of smoking and to shed the new light on the pathogenesis of PE where placenta is a main object of investigation.

Methods. Three cDNA microarray datasets were downloaded from ArrayExpress and GEO DBs on smoking-affected third trimester human placenta (E-GEO-7434 & 27272, GSE18044) and 5 datasets on preeclampsia-affected placenta (GSE35574, GSE6573, GSE73374) and 2 datasets with healthy placenta only (GSE73685, GSE9984) – 201 healthy, 39 PE and 37 samples from smokers in total. Samples were log-transformed, quantile normalized with *limma* R package and integrated into a single dataset with batch effect removed with empirical Bayes method implemented as *ComBat* function in *sva* R package. Samples were quality controlled and checked for outliers using *R* *ArrayQualityMetrics* tool. The differentially expressed genes were identified using *limma* R package.

Results. Seven differentially expressed genes (*DLK1*, *NNAT*, *EGFLAM*, *LAMC3*, *TMEM100*, *WFDC1*, *HLA-G*) were identified; all of them but *HLA-G* were up-regulated in placentas of smoking women and down-regulated in PE placentas as opposed to *HLA-G*, low in placentas of smoking women and high in PE placentas. *DLK1* (delta like non-canonical Notch ligand 1) gene is localized in the **imprinted *DLK1-DIO3* locus**; the smokers display marked hypomethylation of

DLK1; its up-regulated expression is associated with active proliferation. *DLK1* is a noncanonical ligand for Notch receptor and interacts with **CEBPA** transcription factor, both crucial for placental proliferation and development [Enterina et al., 2017]. *NNAT* (neuronatin) is paternally expressed **imprinted gene** with its **maximal expression in human placenta**; it may regulate the transportation of glucose through the PI3K-AKT pathway [Gu et al., 2012]. *WFDC1* (WAP four-disulfide core domain protein) is a protease inhibitor and anti-microbial agent; mapped to area of **frequent loss of heterozygosity** in cancers, when it loses its tumor suppressor function. *EGFLAM* (EGF like, fibronectin type III and laminin G domains) is a **dystroglycan**-interacting protein, **maximally expressed in human placenta**. *EGFLAM* interacts with FGF, essential for regulation of cell division, differentiation, migration and angiogenesis, and with dystroglycan, which links intracellular actin with the extracellular cell matrix (ECM) and transduces ERK-MAP kinase cascade signals, stimulating proliferation [Spence et al., 2004]. *LAMC3* (laminin subunit gamma 3) is a key component of the basement ECM membrane **maximally expressed** in human placenta [Proteomics DB]. *LAMC3* might tightly bind through their heparin binding domains growth factors from the VEGF/PDGF, PIGF families essential for angiogenesis, cell growth and division. *TMEM100* – important for embryonic arterial endothelium differentiation and vascular morphogenesis through the *ACVRL1* receptor; the latter is **maximally expressed in human placenta** [Junus et al., 2012]. *HLA-G* displays a restricted constitutive expression in placenta; in addition to immune functions, soluble *HLA-G1* down-regulates endothelial cell proliferation and migration [Le Bouteiller et al., 2003]. **Conclusion.** The smoking and PE induce opposite processes in human placenta, up- and down-regulation of genes directly or indirectly involved in proliferation processes, and reveal the new previously unknown targets for investigation.

THE EPICUTICULAR WAXES COMPOSITION OF WOODY PLANT LEAVES DEPENDS ON THE LEVEL OF LIGHTING IN TREE CROWN

LYKHOLAT T.Y., MARENKOV O.M., ALEXEYEV A.A., KHROMYKH N.O., LYKHOLAT Yu.V.
OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: Lyktata89@ukr.ukr

Increase in the solar radiation and temperature due to climatic changes involve a risk of overheating the surface of plant leaves and excessive water loss. The cuticle is a reliable barrier to the restriction of non-stomatal transpiration, which is largely determined by the waxes composition. Cuticular waxes are represented by two layers: the intracuticular waxes integrated into cutin, and the external epicuticular waxes, which play an important role in self-cleaning of leaves and light reflection. The aim of the work was to test the hypothesis that adaptation of plants to climate aridity enhancing includes the changes of epicuticular waxes composition.

The research objects were sun-adapted and shadow-adapted leaves of woody plants of the genera *Ulmus* L. and *Tilia* L. The epicuticular waxes were extracted by immersing the sheet cuttings in chloroform for 30 seconds, followed by removal of solvent. The extracts were analyzed using a Shimadzu 2010 PLUS GC equipped with a flame ionization detector and an SP-2560 capillary column. The content of the individual components in the epicuticular wax composition was expressed as a percentage of the total.

Significant differences in the accumulation of wax deposits on the surface of leaves with different illumination in the tree crown, as well as the features of the component composition of epicuticular waxes were established. Thus, amount of wax deposits on the surface of sunned leaves exceeded the wax mass on

shaded leaves: 2.6 and 1.6 times (respectively, for *U. minor* and *U. pumila*), as well as 1.5–1.8 times for species of the genus *Tilia*. The greatest amount of the epicuticular waxes was on leaves of *T. platyphyllos* both under shading and illumination (11.0 and 17.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively). The epicuticular waxes of all studied leaves contained the long-chain hydrocarbons represented by free fatty acids, aldehydes, alcohols and n-alkanes in various proportions.

Epicuticular wax of the shadow-adapted leaves of all tree species contained a noticeable amount of free fatty acids: 10 and 77% (*U. minor* and *U. pumila*), and 12.13 and 47 % (respectively, *T. cordata*, *T. platyphyllos*, and *T. begoniifolia*). At the same time, the epicuticular waxes of sun-adapted leaves were characterized by a reduced content of these components, especially pronounced in *U. pumila*, *T. begoniifolia* and *T. platyphyllos* species (17–36 times). The opposite trend was established for n-alkanes and alcohols, and the total content of these components in the waxes composition of the illuminated leaves increased in all studied species of woody plants (1.2–1.9 times).

Adaptive changes in the cuticle of woody plant leaves under the intensive illumination include an increase in the epicuticular waxes deposition on the leaf surface. The general pattern of changes in the epicuticular waxes composition consisted of the growth of very long chain n-alkanes amount simultaneously with a sharp decrease in the free fatty acids content.

IRE1-ЗАЛЕЖНИЙ ХАРАКТЕР ГІПОКСИЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ПРОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ГЕНІВ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ

ЛУЗИНА О.Я., ЦИМБАЛ Д.О., МІНЧЕНКО Д.О., ЛАГАНОВСЬКА Ю.О., МІНЧЕНКО О.Г.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: olg.luzina@gmail.com

Гіпоксія є одним із ключових факторів зляклого росту. За дії різних токсичних речовин, гіпоксії, дефіциту чи надлишку глюкози або амінокислот в ендоплазматичному ретикулумі (ЕР) накопичуються незгорнуті чи неправильно згорнуті протеїни і активуються сенсорно-сигнальні шляхи стресу ЕР, серед яких IRE1 (Inositol Requiring Enzyme-1) є ключовою сенсорно-сигнальною системою стресу ЕР.

Метою даного дослідження було дослідити експресію генів, що кодують важливі протеїни, які мають відношення до росту пухлин (*ATF6*, *CLU*,

ADGRE5, *TGM2*, *LIF*, *GLO1*, *TSPAN13* і *EIF2AK3*), у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення сигнального ензиму IRE1 та гіпоксії.

В цьому дослідженні ми використовували су-блінії клітин гліоми лінії U87, стабільно трансфіковані dnIRE1 конструкцією (без кіназного та ендорибонуклеазного домену) або порожнім вектором (в якості контролю). Для експериментів із гіпоксією клітини поміщали в камеру з 3% кисню. Із клітин виділяли РНК, визначали її концентрацію і спектральні характеристики на спектрофотометрі Nanodrop для оцінки чистоти зразків РНК, проводили

синтез комплементарних ДНК за допомогою зворотних транскриптаз та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію. Статистична обробка експериментальних даних здійснювалась за *t*-критерієм Стьюдента.

Встановлено, що пригнічення ензиматичної активності сигнального ензиму IRE1 у клітинах гліоми виражено знижує рівень експресії генів *ATF6* (activating transcription factor 6), *CLU* (clusterin), *ADGRE5* (adhesion G protein-coupled receptor E5), *TGM2* (transglutaminase 2, C polypeptide), *LIF* (leukemia inhibitory factor), *GLO1* (glyoxalase I) та *TSPAN13* (tetraspanin 13) порівняно з контрольними клітинами, трансфікованих порожнім вектором. Було також показано, що в клітинах гліоми за умов гіпоксії рівень експресії генів *PSAT1*, *TSPAN13*, *EIF2AK3* (eukaryotic translation initiation factor

2-alpha kinase 3) та *TGM2* підвищується, тоді як експресія гена *ATF6* знижується. В той же час, рівень експресії генів *LIF*, *CLU* та *ADGRE5* за умов гіпоксії істотно не змінювався. Разом з тим, пригнічення сигнального шляху IRE1 модифікувало ефект гіпоксії на рівень експресії більшості досліджених генів, що можливо причетне до зниження інтенсивності проліферації клітин гліоми без функціональної активності IRE1 сигнального шляху.

Таким чином, отримані результати продемонстрували, що інгібування активності сигнального ензиму знижує рівень експресії більшості досліджених проліферативних генів, а гіпоксія посилює експресію лише половини досліджених генів, знижуючи експресію гена *ATF6*, причому ефекти гіпоксії на експресію більшості досліджених генів залежали від функціональної активності IRE1.

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ ЯК ФАКТОР ЗНИЖЕННЯ КІЛЬКОСТІ ЖИТТЄЗДАТНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ

МАКАШОВА О.Є., ЗУБОВА О.Л., ЗУБОВ П.М., БАБІЙЧУК Л.О.
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ;
e-mail: Olena.makashova@gmail.com

В останні роки спостерігається тенденція до широкого використання у клінічній практиці клітин кордової крові (КК). Всезростаюча увага з боку вчених і лікарів призвела до необхідності створення банків, у яких зразки зберігаються в замороженому стані за температури $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом практично необмеженого часу без втрати їх біологічних властивостей. Найбільш широко для кріоконсервування ядровісних клітин (ЯВК) КК використовується проникаючий кріопротектор диметилсульфоксид (ДМСО) у концентраціях $7,5\div 10\%$. Однак кріоконсервування за цими протоколами може призводити до загибелі клітин, що може бути пов'язано, як із прямим впливом фізичних факторів кріоконсервування, так і з розвитком метаболічних порушень, які є наслідком накопичення в клітинах високих концентрацій активних форм кисню (АФК), викликаючи порушення енергетичного стану, пошкодження структурних елементів через перекисне окислення ліпідів, а також пошкодження ДНК, призводячи до розвитку апоптозу/некрозу клітин. Тому метою даної роботи було визначення кількості ЯВК КК людини із надлишковим вмістом АФК, а також вивчення розвитку їх апоптозу під час кріоконсервування в розчинах, які містять ДМСО.

У роботі були використані наступні методи досліджень: світлова мікроскопія; проточна цитофлуориметрія з використанням флуоресцентномі-

чених моноклональних антитіл (CD45 FITC/CD34PE) та барвників (7AAD, Annexin V FITC, DCFH₂-DA); ЯВК КК виділяли за допомогою поліглюкіну; кріоконсервування проводили зі швидкістю $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ в хвилину до $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, з наступним зануренням до рідкого азоту на програмному заморожувачі Cryosop (Німеччина). У клітинну суспензію вносили 25% -й розчин ДМСО, до кінцевих концентрацій в зразках $5\text{--}10\%$. Статистичну обробку результатів проводили методом Стьюдента-Фішера з використанням програми "Excel" ("Microsoft Office", США), після встановлення нормальності розподілу.

Показано, що процес заморожування-відігрівання ЯВК КК із усіма концентраціями ДМСО, призводив до збільшення кількості клітин із надлишковим вмістом АФК у $2\text{--}2,5$ разів, порівняно з даними, отриманими до кріоконсервування. Високий рівень АФК спостерігався в клітинах, кріоконсервованих під захистом ДМСО у концентрації 5% ($29,5\pm 4,7\%$). Найменша кількість DCF⁺-клітин була отримана після кріоконсервування ЯВК із $7,5$ ($20,6\pm 3,2\%$) та 10% ($21,2\pm 1,9\%$) ДМСО. Аналіз стадій апоптозу/некрозу виявив, що кріоконсервування призводить до пошкодження 30% ЯВК. Більша частина цих клітин характеризувалася зміною цілісності мембрани (при збереженні впорядкованості ліпідів) та фрагментацією ДНК в ядрі, що характерно для клітин, які перебувають на

стадії некрозу (AnnexinV-7AAD⁺). Тобто в процесі кріоконсервування основні втрати клітин відбуваються в результаті прямого впливу пошкоджуючого фізичного та/або хімічного фактора в процесі заморожування-відігрівання, на які клітини не можуть або ж не встигають відреагувати за допомогою своїх захисних систем. Слід зазначити, що найбільша кількість AnnexinV/7AAD⁺-клітин під час кріоконсервування була в зразках, кріоконсервованих з 5 % ДМСО, де спостерігався найбільший рівень АФК в клітинах, а найнижча – з 7,5 % ДМСО, де рівень клітин із надлишковим вмістом АФК був найменший. Можна припустити, що в даних клітинах система репарації не справлялася з додатко-

вими змінами фізико-хімічних параметрів середовища в результаті чого порушувалася прооксидант-антиоксидантна рівновага внаслідок надмірного вмісту АФК та запускався розвиток апоптозу.

Таким чином, отримані результати показали, що однією з задач під час кріоконсервування ЯВК повинно бути попередження утворення АФК, що дозволить уникнути або уповільнити розвиток оксидативного стресу на всіх стадіях заморожування-відігрівання. Це можливо, якщо додавати до суспензії клітин антиоксиданти, які були б здатні “перехоплювати” вільні радикали та знижувати інтенсивність вільнорадикального окислення.

ВПЛИВ РІЗНОГО РІВНЯ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СЕРЦЯ ЩУРІВ: ЗВ'ЯЗОК ІЗ ВМІСТОМ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ

МЕЛЬНИК А.В., ЗАІЧКО Н.В., ОСТРЕНЮК Р.С., ТЕРТИШНА О.В.

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;
e-mail: anderneting@gmail.com

Стать є важливим фактором ризику серцево-судинної патології. За результатами епідеміологічних досліджень встановлено, що поширеність ішемічної хвороби серця та артеріальної гіпертензії зростає з віком і до 55 років переважає в чоловічій популяції, а після – в жіночій, що до певної міри пов'язують з різними біологічними ефектами статевих гормонів.

В останні роки були отримані докази того, що до регуляції стану серцево-судинної системи залучений біологічно-активний метаболіт сірковмісних амінокислот – гідроген сульфід (H₂S). Показано, що H₂S виявляє цитопротекторні, антиоксидантні та протизапальні властивості, активує проліферацію гладеньких міоцитів й ендотеліоцитів судин, а також причетний до регуляції апоптозу та клітинного циклу кардіоміоцитів. Проте, статеві особливості вмісту H₂S в міокарді, як і його зв'язок із клітинним циклом кардіоміоцитів, функціональними параметрами серця залежно від рівня статевих гормонів, залишаються невизначеними.

Метою нашого дослідження було оцінити вплив різного рівня статевих гормонів на фрагментацію ДНК, показники клітинного циклу, функціональні параметри серця та вміст H₂S в міокарді у самців та самок щурів.

Досліди проведені на 40 білих щурах обох статей. Дефіцит статевих гормонів у щурів створювали за допомогою кастрації (оваріектомія та тестектомія відповідно самкам та самцям щурів) хірургічним методом. Рівень ДНК в ядрах клітин міокарду досліджували методом проточної ДНК-цитометрії. В якості функціональних маркерів мікро-

циркуляторного статусу міокарда лівого шлуночка оцінювали коефіцієнт мікроциркуляції та ступінь насичення крові киснем за допомогою лазердоплерографічного та пульсоксиметричного модулів, а показників внутрішньосерцевої гемодинаміки – зміни тиску у лівому та правому шлуночках за допомогою датчика Pressure Transducer. Вміст H₂S в серці оцінювали спектрофотометричним методом

Виявилось, що у самців щурів вміст H₂S в міокарді достовірно менший (на 16,1 %, $P < 0,05$), ніж у самок. Поряд з цим у самців вірогідно більша активність апоптозу, проліферації та поліплоїдизації (на 17–30 %, $P < 0,05$), достовірно менший коефіцієнт мікроциркуляції міокарда лівого шлуночка, порівняно з самками. За цих умов показники внутрішньошлуночкової гемодинаміки вірогідно не відрізняються у щурів обох статей. Гонадектомія самців вірогідно збільшує вміст H₂S в міокарді (на 22,2 %, $P < 0,05$), зменшує активність апоптозу, проліферації та поліплоїдизації в серці (на 13–29 %, $P < 0,05$) та викликає зростання коефіцієнту мікроциркуляції міокарда лівого шлуночка (на 12,5 %, $P < 0,05$), тоді як кастрація самок викликала протилежні зміни відносно контролю. При цьому відмічається зміна вектора статевих відмінностей: у кастрованих самців рівень H₂S в міокарді та коефіцієнт мікроциркуляції міокарда лівого шлуночка достовірно більші, тоді як активність апоптозу, проліферації та поліплоїдизації менші, ніж у відповідної групи самок. За результатами кореляційного аналізу у тварин різної статі рівень H₂S в міокарді обернено корелює з показниками клітинного циклу ($r = -(0,50-0,58)$; $P < 0,05$) та виявляє прямий зв'язок

із коефіцієнтом мікроциркуляції лівого шлуночка ($r=0,69$; $P<0,05$)

Таким чином, зменшення вмісту естрогенів (кастрація самок) супроводжується формуванням дефіциту H_2S в міокарді, що асоціюється зі зменшенням мікроциркуляції лівого шлуночка, посилен-

ням процесів апоптозу, проліферації, поліплоїдизації в міокарді та зменшенням опірності міокарду до пошкодження. Натомість, зниження рівня тестостерону (кастрація самців) викликає протилежні зміни.

THE EFFECT OF GRAPHENE ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TRAITS OF FRUIT FLY *DROSOPHILA MELANOGASTER*

MELNYCHUK A., YURKEVYCH I., LUSHCHAK O.

VASYL STEFANYK PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY, IVANO-FRANKIVSK, UKRAINE;
e-mail: melnychuk.a.v@gmail.com

Graphene is a two-dimensional one-atom-thick layer of carbon atoms arranged in a hexagonal lattice. Sharp edges in its structure can damage cell membranes, so scientists are studying the toxicity of graphene. Since graphene is widely used in various industries, including the production of water filters, it is important to study its effect on living organisms.

Therefore, the aim of our experiment was to investigate the effect of graphene on the development, pupation height, fecundity, levels of glycogen and glucose in *Drosophila* body.

We used wild type *D. melanogaster* (line *Canton S*), obtained from the Bloomington *Drosophila* Stock Center (Bloomington, Indiana, USA). Flies were kept under standard laboratory conditions.

Separated by sex 5-day-old flies were transferred in amount of 100 individuals into demographic cages, containing the experimental medium consisted of 5 % sucrose, 5 % yeast, 1.2 % agar-agar, 0.6 % propionic acid and 0.18 % methyl paraben. The content of graphene in the experimental medium was at the following concentrations: 0.02, 0.04, 0.1, 0.4, 1 % (w/v). As a control, we used experimental medium without graphene. The medium was changed every two days for females and every four days for males during two weeks. On the 14th day, flies were used for hemolymph extraction and body supernatant preparation.

We measured glucose and glycogen concentrations spectrophotometrically using glucose oxidase method. For fecundity test, one female and two males of each experimental fly cohorts were transferred into glass tubes, containing the experimental mediums. Laid eggs were counted every second day for eight days. To study the effect of graphene on development rate, we counted the number of pupae three times per day at 9, 15 and 21 o'clock. The height of each pupa was measured using a line.

Statistical data were processed using Microsoft Excel and RStudio. Graphs were created using "GraphPad Prism 6" software. The significant difference was evaluated by p -value <0.05 . Log-Rank test was used to determine the significant difference between development curves.

Supplementation of graphene into experimental medium did not affect the developmental rate. But the height of pupation was significantly higher in the experimental group, which developed on the medium with a concentration of graphene 0.1 %. Fecundity of experimental flies was also not affected by graphene supplementation. Consumption of graphene had no effect on glucose and glycogen concentrations.

Our results demonstrated the absence of graphene toxicity and no impact on some physiological and biochemical parameters in fruit flies. Graphene in concentration 0.1 % increased the height of pupation.

ЗМІНИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ СЛІЗНИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ЗАГАЛЬНОГО АДАПТАЦІЙНОГО СИНДРОМУ У ЩУРІВ

МИКИТЕНКО А.О.

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА;
e-mail: andrey_stomat@ukr.net

До порушення функцій слізних залоз можуть призвести різноманітні фактори, в тому числі і ті, які призводять до загального адаптаційного син-

дрому. Стрес – реакція організму на різноманітні когнітивні, емоційні та соматичні стрес-тригери, яка реалізується шляхом активації єдиної нейроімун-

ноендокринної системи і полягає в активації фізіологічних і поведінкових програм, які спрямовані на виживання особини. Сльоза є невід'ємним компонентом органу зору, забезпечує зволоження передньої поверхні очного яблука і прозорість рогівки, захист від інфекції, а також сприяє загоєнню ран при пошкодженні.

Метою дослідження було вивчення змін антиоксидантної системи слізних залоз щурів за умов загального адаптаційного синдрому.

Експерименти виконані на 12 білих статевозрілих щурах-самцях, вагою 180–200 г. Тварини були розділені на 2 групи: I група – інтактні тварини ($n=6$); II група – тварини, яким моделювали стрес-синдром ($n=6$) шляхом щоденного (протягом 10 діб) тримання над водою, експозиція 1 година (К. Yamamoto, 2012). Умови утримання тварин у віварію стандартні. Виведення тварин із експерименту відбувалося шляхом кровопускання під тіопенталовим наркозом. Об'єктом дослідження були органи, які відображають розвиток та тяжкість стрес-синдрому та слізні залози, в яких визначали активність каталази (Королюк М.А., 1988), активність супероксиддисмутази (Брусов О.С., 1976), концентрацію малонового діальдегіду (Жерар Моньер, 1998) та продукцію супероксидного аніон-радикала (Цебрижинський О.І., 2002). Під час експериментів дотримувались рекомендацій "Європейської конвенції

про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986). Статистичну обробку здійснювали використовуючи непараметричний метод – тест Мана–Вітні.

Результати досліджень свідчать про вірогідне зростання в 1,97 рази активності каталази та в 1,93 раза супероксиддисмутази в слізних залозах щурів за умов стресу в порівнянні з контрольною групою ($P<0,05$). Кількість малонового діальдегіду в слізних залозах у щурів за умов стрес-синдрому вірогідно підвищилась в 1,27 раза порівняно з контролем ($P<0,05$). При цьому, базова не стимульована продукція супероксидного аніон-радикала вірогідно знизилась в 1,59 разів в слізних залозах щурів за умов стресу в порівнянні з контрольною групою ($P<0,05$). Продукція супероксидного аніон-радикала від мікросомального електронно-транспортного ланцюга вірогідно знизилась в 5,24 раза в слізних залозах щурів за умов стресу в порівнянні з контрольною групою ($P<0,05$) і від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга вірогідно знизилась в 3,4 раза відповідно.

Загальний адаптаційний синдром призводить до активації ензиматичної антиоксидантної системи в слізних залозах щурів на фоні збільшення продуктів пероксидного окислення ліпідів, але не за рахунок супероксидного аніон-радикала.

ЕКСПРЕСІЯ ЗАЛЕЖНИХ ВІД СТРЕСУ ЕНДОПЛАЗМАТИЧНОГО РЕТИКУЛУМА ГЕНІВ ЗА УМОВ ОЖИРІННЯ ТА РЕЗИСТЕНТНОСТІ ДО ІНСУЛІНУ

МІНЧЕНКО О.Г., ВІЛЕЦЬКА Ю.М., МІНЧЕНКО Д.О.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: ominchenko@yahoo.com

Розвиток ожиріння та його метаболічних ускладнень пов'язаний з численними внутрішніми механізмами, які контролюють більшість ключових метаболічних процесів, включаючи проліферацію, чутливість до інсуліну, метаболізм глюкози та ліпідів і призводить до гіпертонії, метаболічного синдрому, діабету 2 типу, раннього атеросклерозу та передчасної смерті. Ожиріння є серйозною і невідкладною проблемою сьогодення, оскільки кількість людей з ожирінням постійно зростає. Численні дані вказують на можливу участь в розвитку ожиріння та його ускладнень таких ключових регуляторних факторів, як ADM (adrenomedullin), SLC1A3 (solute carrier family 1, member 3: glial high affinity glutamate transporter), PDGFC (platelet derived growth factor C), MEST (mesoderm specific transcript) та HSPA5 (heat shock protein family A member 5), які є поліфункціональними і залежними від стресу ендоп-

лазматичного ретикулума протеїнами, які приймають участь у контролі різних метаболічних шляхів і мають відношення до онкогенезу.

Мета роботи – вивчати експресію генів BiP/HSPA5, MEST, SLC1A3, PDGFC та ADM у крові та підшкірній жировій тканині підлітків і дорослих чоловіків із ожирінням за умов наявності або відсутності резистентності до інсуліну для виявлення можливої їх участі в розвитку ожиріння та резистентності до діабету.

Рівень експресії генів визначали за допомогою кількісної полімеразної реакції в реальному часі, статистичну обробку даних проводили із використанням програмного забезпечення MS Excel. Статистичний аналіз нормально розподілених двох груп проводили за допомогою t-тесту.

Встановлено, що в крові підлітків, які мали ожиріння без ознак резистентності до інсуліну, рі-

вень експресії генів SLC1A3, HSPA5, MEST та PDGFC суттєво збільшувався, але розвиток резистентності до інсуліну призводив до зниження рівня експресії цих генів за винятком гена HSPA5 при порівнянні як з контрольною групою, так і з групою підлітків з ожирінням без ознак резистентності до інсуліну. В той же час, рівень експресії гена ADM у підлітків із ожиріння без ознак резистентності до інсуліну істотно не змінювався, а розвиток резистентності до інсуліну призводив до зниження рівня експресії цього гена. У підшкірній жировій тканині дорослих чоловіків із ожирінням за умов відсутності резистентності до інсуліну рівень експресії гена SLC1A3 знижувався, а генів ADM, MEST і HSPA5 –

збільшувався. Також було показано, що розвиток резистентності до інсуліну у чоловіків із ожирінням змінював рівень експресії генів ADM та SLC1A3. Підвищений рівень експресії гена HSPA5/BiP вказує на наявність стресу ендоплазматичного ретикулула і його можливий внесок у розвиток резистентності до інсуліну.

Таким чином, отримані результати вказують на порушення в експресії низки ключових регуляторних факторів за умов ожиріння у підлітків та дорослих чоловіків і їх причетність до розвитку інсулін-резистентності, опосередкованої стресом ендоплазматичного ретикулула, що важливо як для розуміння патогенезу цих захворювань, так і для профілактики та лікування.

АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ЕНЗИМІВ РОСЛИН ПЕРЕДГІР'Я КАРПАТ

МОНАСТІРСЬКА С.С., ГОЙВАНОВИЧ Н.К.

ДРОГОБИЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;
e-mail: biochem.ddpu@gmail.com

Проблема антиоксидантного захисту організму людини є актуальною впродовж останніх декількох десятиріч років. На сьогодні доведено взаємозв'язок між вільнорадикальним окисненням та розвитком більшості патологічних процесів. Вплив вільних радикалів на організм можна мінімізувати завдяки систематичному вживанню харчових продуктів, що володіють високою антиоксидантною активністю. Основними перевагами антиоксидантів природного походження є доступність рослинної сировини (Абдулін І.Ф. та ін., 2001; Данилова Л.А., 2003). У трав'яних екстрактах біоактивні інгредієнти звільнені від клітинних стінок – за рахунок цього вони легше засвоюються організмом (Сибірна Н.О. та ін., 2006). У разі використання рослинної сировини, на відміну від тваринної, немає ризику інфекційного зараження. Завдяки широкому асортименту рослин, що мають не тільки антиоксидантні, а й інші корисні властивості можна готувати поліфункціональні фітопрепарати (Абдулін І.Ф. та ін., 2001; Wojtanowska-Rzytki M., 2009).

Метою роботи було визначення активності ензимів антиоксидантної системи деяких рослин передгір'я Карпат.

Об'єктами дослідження були рослини, що поширені в районі передгір'я Карпат. Ця територія екологічно чиста і це впливає на якість відібраних зразків та зручність їх транспортування.

Активність антиоксидантних ензимів визначали впродовж вегетаційних періодів 2016–2018 рр. в лікарських рослинах: *Polygonum hydropiper*, *Atriplex patula* L., *Arctium lappa*, *Plantago major*, *Impatiens nolitangere* L., *Lemna minor* L., *Cichorium inty-*

bus L., *Stachys palustris* L. Рослинною сировиною були різні вегетативні органи цих рослин. У рослинній сировині спектрофотометрично визначали активність антиоксидантних ензимів – пероксидази та каталази за стандартними методиками.

Показано, що пероксидазна активність досліджуваних об'єктів коливається у межах $3,0 \cdot 10^{-5}$ – $25,33 \cdot 10^{-5}$ мкмоль/г. Найвища пероксидазна активність спостерігалась у листках цикорію звичайного (*Cichorium intybus* L.) і становила $25,33 \cdot 10^{-5} \pm 6,356 \cdot 10^{-5}$ мкмоль/г, а найнижча – у квітах гірчака перцевого (*Polygonum hydropiper*) – $3,0 \cdot 10^{-5} \pm 1,33 \cdot 10^{-5}$ мкмоль/г. У *Cichorium intybus* L. та *Arctium lappa* пероксидазна активність у декілька разів перевищувала активність цього ензиму серед інших досліджуваних рослин. У *Atriplex patula* L., *Plantago major*, *Impatiens nolitangere* L. та *Stachys palustris* L. пероксидазна активність була майже на одному рівні $6,67 \cdot 10^{-5}$ – $7,67 \cdot 10^{-5}$ мкмоль/г. Каталазна активність коливалась в межах 495,8–9426,86 мкмоль/л. Найвища каталазна активність була у листках *Cichorium intybus* L. і становила $9426,86 \pm 1159,33$ мкмоль/л, а найнижча у листках *Arctium lappa* $495,8 \pm 168,26$ мкмоль/л. Підвищення активності каталази запобігає пошкодженню рослинних клітин високими концентраціями пероксиду водню. Мінімальні показники каталазної активності встановлено у рослин *Arctium lappa*, *Plantago major* та *Atriplex patula* L., а відносно високі показники – у *Lemna minor* L., квітах *Polygonum hydropiper*, листках *Impatiens nolitangere* L. та *Stachys palustris* L. Найвищу каталазну активність зафіксовано у листках *Cichorium intybus* L.. Варто відзначити, що

серед досліджуваних об'єктів у *Cichorium intybus* L. зафіксовано найвищу каталазну і пероксидазну активність.

Встановлено, що у всіх рослин значення каталазної активності значно перевищують значення

пероксидазної активності. Це можна пояснити тим, що пероксидаза та каталаза виконують у рослинах подібну функцію, тому при високих показниках одного ензиму показники іншого є мінімальними.

YACON EXTRACTS PREVENT DIABETES INDUCED OXIDATIVE DAMAGE OF MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF LEUKOCYTES

NAGALIEVSKA M.R.¹, HORBULINSKA A.V.¹, MISHCHENKO L.T.², SYBIRNA N.O.¹

¹IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV, UKRAINE;

²TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV, UKRAINE;

e-mail: khmarija@gmail.com

Diabetes mellitus is accompanied by predisposition to infection and chronic inflammation that may in part be related to hyperglycemia effects or other metabolic abnormality in polymorphonuclear leukocytes (PMN). PMNs while activation release reactive oxygen species and mediators of proteolytic tissue degradation, contributing to oxidative stress. Particularly sensitive to oxidative stress are multiple lipid components of membrane and changes of its structure can affect different properties of receptors, explaining possible differences in ligand recognition and biological responses in disease states. It is becoming clear that when developing new drugs for treatment of such multifactorial disease like diabetes it should be considered their effect not only on glucose metabolism, but also on structural and functional state of PMN. Promising therapeutic agent for treatment of diabetes condition may be medicinal herb yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) that has significant hypoglycemic, anti-oxidant, anti-fungal, antibacterial, and anti-inflammatory actions.

Therefore, the aim of the work was to investigate the influence of water yacons leaves and root tubers extracts on NADPH-oxidase and antioxidant enzymes activity as well as on changes in surface glycoconjugates carbohydrate determinants structure of rats' leukocyte membranes under experimental diabetes mellitus.

Type 1 diabetes mellitus was induced by an intra-abdominal injection of streptozotocin (Sigma, USA) in a dose of 0.055 g per 100 g of body weight. Yacon leaves and root tubers were used in experiment to produce water extracts by infusion of certain parts of the plant (the ratio was 1:10) in two consecutive phases: 15 min at 100 °C and 45 min at 20 °C. The extracts were filtered and vaporized by rotor vaporizer at 60–65 °C. Vaporized yacon extracts infusions were administered to animals *per os* in dose of 0.5 g/kg of body weight for 14 days.

Superoxide dismutase activity was determined by method, which is based on restoring white-yellow

nitroblue tetrazolium dye to dark purple formazan. The activity of catalase was calculated by the intensity of color complex formed by interaction of ammonium molybdate with H₂O₂. Activity of glutathione peroxidase was determined by glutathione oxidation speed in the presence of tert-butyl hydroperoxide. To determine intracellular O₂⁻ production by NADPH-oxidase it was used microscopic nitroblue tetrazolium assay.

Diabetes mellitus is accompanied by a disturbance in NADPH-oxidase functioning, which indicates weak stimulation of neutrophil populations and disturbance of cellular metabolism, which provides a "respiratory burst" an important mechanism of antimicrobial defense and elimination of antigens. The studied pathology is also accompanied by inhibition of antioxidant enzymes activity. Simultaneously with violation of neutrophils functioning, we established changes in the membranes glycans' profile, in particular, it was shown the decrease in the content of sialic acids of membrane glycoconjugate, accompanied by opening of galactose and mannose residues. Such changes in leukocyte membranes glycoconjugates indicate a malfunction of receptor apparatus of these cells, which, accordingly, leads to defective functioning of cellular antimicrobial mechanisms.

Yacon leaves and root tubers extracts in conditions of diabetes leads to increased activity of NADPH-oxidase as well as antioxidant enzymes and causes the normalization of the of leukocytes membranes glycoconjugate structure.

The most pronounced activity poses root tubers water extract. The established positive corrective effect we associate with high content of antioxidants in yacon root tubers. It can be assumed that use of yacon leads to decrease in the amount of superoxide anion, whose content increases significantly under the conditions of diabetes-induced oxidative stress. Thus can prevent the depletion of NADPH-oxidase enzyme complex, and also prevent the destabilization of membrane glycoconjugates profile of white blood cells.

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В НИРКАХ ЩУРІВ ЗА РІЗНИХ СТАДІЙ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ

НЕТЮХАЙЛО Л.Г., БАСАРАБ Я.О.

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА;

e-mail: liluan07@gmail.com

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я опіки займають третє місце в структурі загального травматизму і мають тенденцію до зростання. Незважаючи на велику кількість публікацій, присвячених опіковій хворобі, багато питань залишаються не вивченими, зокрема, недостатньо вивченою проблемою є механізми ушкодження нирок при опіковій хворобі. У літературі представлені нечисельні публікації з цього питання, досі немає загальної точки зору на метаболічні зміни та компенсаторно-приспосувальні реакції в організмі в різні періоди розвитку опікової хвороби.

Мета дослідження – вивчення метаболічних змін в нирках щурів за різних стадій експериментальної опікової хвороби.

Експерименти виконані на статевозрілих щурах-самцях. Опікову хворобу моделювали за методом Довганського шляхом занурення епільованої поверхні шкіри задньої кінцівки експериментальних тварин в гарячу воду ($t +70-75^{\circ}\text{C}$) під легким ефірним наркозом, протягом 7 сек. Розмір ділянки пошкодження визначали в залежності від площі шкіряного покриву, яка в середньому становила 12–15 % поверхні тіла тварини. Площу ураження розраховували за допомогою спеціальної таблиці Кочетигова.

Гістологічне дослідження пошкодженої шкіри свідчило, що за вищезазначених умов утворювався опік IIIA-B ступеня. Згідно до сучасних уявлень, це є стандартна модель розвитку опікової хвороби в експерименті. Щурів декапітували під ефірним наркозом через 1, 7, 14, 21 діб, що, за сучасними уявленнями, відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії і септикотоксемії.

Характер опікового впливу на тканини нирок оцінювали на підставі визначення ліпідного спектру (фосфоліпіди, тригліцериди, вільні жирні кислоти), інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів (вміст ТБК-реактивів, активність супероксиддисмутази, каталази), стану сполучнотканинних структур нирок (вміст оксипроліну, нейрамінової і гексуранових кислот), протеїназно-інгібіторного потенціалу тканин (загальна протеолітична активність і загальна антипротеолітична активність).

Встановлено, що реакція нирок на опік проявляється в зниженні кількості фосфоліпідів, тригліцеридів, а також підвищенні кількості вільних жирних кислот. Опікова хвороба супроводжується активацією процесів перекисного окислення ліпідів з одночасним пригніченням антиоксидантного захисту тканин нирок. Про підвищення деполімеризації сполучнотканинних структур в умовах опікової хвороби свідчить підвищення рівня оксипроліну, нейрамінових і гексуранових кислот в гомогенаті тканин нирок. При опіковій хворобі зміни в тканинах нирок характеризуються також дисбалансом системи протеоліз - інгібітори протеоліза.

Підсумовуючи вищесказане слід наголосити, що опікова хвороба призводить до метаболічних змін у тканинах нирок щурів: активації вільнорадикального окислення, розвитку дисбалансу протеїназно-інгібіторного потенціалу за декомпенсаторним типом, деполімеризацією сполучнотканинних структур, розладами ліпідного обміну. Всі досліджувані показники найбільш суттєво змінювались на 1-у та 7-у добу, що відповідає стадіям опікового шоку та ранньої токсемії.

ЗАГАЛЬНА ОКСИДАНТНА ТА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ЧЕРЕВНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ

НИКОЛАЄВА О.В.¹, КАГЛЯК М.Д.¹, ПЕТРОВ С.А.²

¹ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;

²ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;

e-mail: evkulibaba@gmail.com

Алотрансплантація ембріональної тканини є одним із актуальних напрямів в сучасній теоретичній та медичній біохімії, який розробляється для стимуляції та відновлення функцій організму.

Алотрансплантацію ембріональної тканини розглядають як можливу альтернативу традиційним, консервативним методам лікування, а також як методологічну основу експериментальних розробок.

Метою роботи було дослідити вплив алотрансплантації ембріональної черевної м'язової тканини на загальну оксидантну та антиоксидантну активності.

Для алотрансплантації ембріональних м'язових тканин використовували ембріонів строком 2–3 тижні. Під ефірним наркозом в асептичних умовах тварину фіксували до хірургічної дошки у положенні лежачи на спині, операційне поле виголювали та тричі обробляли антисептиком. У ембріонів вилучали черевну м'язову тканину, яку фіксували лігатурою до черевної стінки дорослого щура. Рану пошарово зашивали щільно вузловим швом. Використану алотрансплантацію проводили згідно хірургічних правил операцій на м'язах. Досліджувани показники визначались на першу, третю та сьому добу після операційного втручання в тканині донора і реципієнта. Підсадку сформованої тканини та удавану операцію проводили для того, щоб виключити дію як самої операції, так і ефекту підсадки тканини. Для того, щоб виявити дію ембріональної тканини на сформовану. Тому кожен показник ми досліджували не тільки при підсадці ембріональної тканини, але й при удаваній операції та підсадці сформованої тканини до сформова-

ної, та порівнювали аналогічні показники при всіх цих трьох видах втручання.

Встановлено, що загальна оксидантна активність виявляється лише на сьому добу дослідження як при удаваній операції, так і при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини в усіх досліджуваних тканинах. Загальна антиоксидантна активність визначається після всіх зазначених хірургічних маніпуляцій в тканинах і донора, і реципієнта. Отримані результати загальної оксидантної активності свідчать, що удавана операція та алотрансплантація ембріональної тканини призвели до розвитку оксидативного стресу в досліджуваних м'язах. Алотрансплантація являє собою стрес-фактор для організму, в результаті чого відбувається окислення відновлених компонентів мембран наявних клітин, що веде до виникнення супероксидних аніонів. Стрес є одним із найбільш активно досліджуваних фізіологічних станів організму, який зачіпає всі рівні його організації, і, в першу чергу, клітинний. Захисні механізми антиоксидантної системи вмикаються вже на ранніх строках, після операцій, про що свідчать результати не тільки представлені в цій роботі, але й раніше отримані.

ПРО/АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА СУБКЛІТИННИХ ФРАКЦІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РАБДОМІОЛІЗУ

НИКІТЧЕНКО І.В., ФИЛИМОНЕНКО В.П., ГАЙЛЕВИЧ Е.О.,
ПУЗАНОВА В.С., МАЗУР О.А., НИКІТЧЕНКО Ю.В.

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;
e-mail: iryna.nikitchenko@gmail.com

Рабдоміоліз характеризується руйнуванням скелетних м'язів із вивільненням міоглобіну у кровоток та, як наслідок, різким зростанням вмісту вільного гема і гемопротейнів у крові та інших тканинах. Накопичення вільного гема в клітинах призводить до розвитку оксидативного стресу і пошкодження мембранних структур. Основним механізмом захисту від прооксидантних ефектів гема є його деградація, яку каталізують гемоксигенази: індубельна ізоформа ензиму – гемоксигеназа-1 (ГО-1) і конститутивна – ГО-2. З мембранами ендоплазматичного ретикулама клітин печінки асоційовані обидві ізоформи гемоксигенази, а в мітохондріях виявлено один ізоензим – ГО-1. Ймовірно, головна функція ГО-1 – деградація надлишку вільного гема і гемопротейнів у відповідних компартментах клітин.

Метою даної роботи було дослідження низки показників про/антиоксидантної системи та функціональних характеристик електронтранспортувальних ланцюгів (ЕТЛ) мітохондріальної (МХ) і мікосомальної (МС) фракцій печінки щурів за умов

рабдоміолізу. Рабдоміоліз моделювали внутрішньом'язовою ін'єкцією гліцеролу (50 % водний розчин, 1 мл /100 г маси тіла). Субклітинні фракції печінки отримували методом диференційного центрифугування. Активність антиоксидантних ензимів: гемоксигенази (ГО), каталази (Кат), супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО), і вміст ТБК-реактивних продуктів (ТБКРП), загального гема, активність і вміст компонентів ЕТЛ мікросом визначали спектрофотометричними методами. Вимірювання швидкості споживання кисню мітохондріями проводили за допомогою полярографічного методу з використанням платинового електрода Кларка. Достовірність змін показників оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

У роботі встановлено, що вміст загального гема в МХ фракції печінки збільшується на 60 % через 2 год після введення гліцеролу, а через добу цей показник знижується до контрольного рівня. Подібна динаміка вмісту загального гема спостерігається і в постмітохондріальній (ПМХ) фракції печінки. Накопичення гема в ПМХ фракції супроводжується

ся збільшенням вмісту ТБКРП у 3 рази, а в МХ цей показник зростає на 45 % через 24 год після ін'єкції гліцеролу. У МС вміст загального гема і ТБКРП не змінюються в терміни, що досліджувались. ГО активність у МХ збільшується на 68 % через 2 год і зберігається на тому ж рівні через добу після ін'єкції гліцеролу. У МС фракції печінки активність ГО зростає у 2 рази через 24 год після ін'єкції гліцеролу. СОД активність у МХ печінки знижується на 28 %, тоді як ГПО активність підвищується через добу на 36 %. СОД активність у ПМХ і МС фракціях збільшуються через добу після введення гліцеролу на 28 % і 54 %, відповідно. Активність Кат у ПМХ фракції печінки знижується на 37 % вже в перші години після введення гліцеролу і зберігається на тому ж рівні і через добу. Введення гліцеролу не впливає на швидкість поглинання кисню МХ (V_4), але спричинює зниження швидкості фосфорилування АДФ (V_3) на 70%, що супроводжуєть-

ся відповідним зменшенням дихального контролю. За умов рабдоміолізу знижується вміст мікросомальних цитохромів b_5 і P-450. Швидкість переносу електронів в NADPH-залежному редокс-ланцюзі мікросом оцінювали, визначаючи NADPH-неотетразолій-редуктазну і NADPH-фериціанід-редуктазну активності. Остання активність знижується і складає 50% від контрольного рівня через добу після введення гліцеролу. NADH-фериціанід-редуктазна і NADH-неотетразолій-редуктазна активності не змінюються.

Таким чином, за умов гліцероліндукованого рабдоміолізу відбувається накопичення гема в МХ і ПМХ фракціях печінки, що призводить до збільшення прооксидантного потенціалу в цих компартаментах. Як наслідок, порушується функціонування дихального ланцюга МХ і ЕТЛ мембран ендоплазматичного ретикулула.

ДИНАМІКА ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО СТАНУ В РЕПРОДУКТИВНОМУ ТРАКТІ ТА ЯКІСТЬ ООЦИТІВ У ЖІНОК З ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНИМ БЕЗПЛІДДЯМ ЗА ДІЇ ПРЕПАРАТУ “ВІТА-МЕЛАТОНІН”

ОРЛОВА В.В.¹, СУСЛІКОВА Л.В.¹, ОРЛОВА О.А.²

¹НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМЕНІ П. Л. ШУПИКА, КИЇВ, УКРАЇНА;

²ДЗ “ЛУГАНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ”, РУБИЖНЕ, УКРАЇНА;
e-mail: lenfleur@ukr.net

Підтверджено негативний вплив окислювального стресу (ОС) на репродуктивну функцію жінок із безпліддям трубно-перитонеального ґенезу. Тому підвищується інтерес до засобів антиоксидантного захисту, в основі яких лежать природні метаболіти клітин. В цьому аспекті приділяється увага мелатоніну. Встановлено, що він ефективний на системному, тканинному, клітинному і субклітинному рівнях, пригнічуючи продукцію вільних радикалів кисню і активуючи антиоксидантний захист. Мета роботи – дослідити динаміку про/антиоксидантної системи та якість ооцитів у жінок з трубно-перитонеальним безпліддям, які отримували антиоксидантну терапію “Віта-мелатоніном”.

Обстежено 65 жінок, з трубно-перитонеальним безпліддям. Вони були поділені на дві групи, до першої групи увійшли 33 жінки, які отримували антиоксидантну терапію “Віта-мелатоніном” у дозі 30 мг протягом 3 місяців на етапі прегравідарної підготовки та під час оваріальної стимуляції в програмі екстакорпорального запліднення. В ендометрії та фолікулярній рідині визначали інтенсивність окислювальної модифікації протеїну (за методикою Дубініної), вміст ТБК-активних продуктів (за реакцією тіобарбітурової кислоти з малоновим діальдегідом) та активність СОД (за Чеварі), каталази (за

Королук). Оцінку якості ооцитів проводили за ступенем зрілості: зрілі – M_{II} (ооцити в стадії метафази 2 мейозу) і незрілі: M_I (в метафазі I мейозу), G_V (ооцити в стадії зародкового пухирця), A_{tr} (атретичні яйцеклітини, які нездатні до запліднення). Статистичну обробку даних проводили, застосовуючи непараметричний Т-критерій Уїлкоксона, статистично значущі відмінності вважались при $P \leq 0,05$.

Встановлено, що в ендометрії та фолікулярній рідині жінок із трубно-перитонеальним безпліддям підвищено рівень ТБК-продуктів та продуктів ОМБ, а активність ензимів антиоксидантного захисту – недостатня, щоб нейтралізувати вільні радикали, тобто порушено баланс між про- та антиоксидантами з тенденцією розвитку окислювального стресу. Фолікулярна рідина є мікрооточенням дозріваючого ооцита, а ендометрій – це субстрат для імплантації, стан якого впливає на якість ооцитів, ембріонів та його сприйнятливості до цих ембріонів.

Виявлено підвищення активності антиоксидантних ензимів СОД, каталази та зменшення вмісту прооксидантних маркерів як в ендометрії, так і в фолікулярній рідині жінок в групі, які приймали “Віта-мелатонін”. Оцінка якості ооцитів показала вищий відсоток зрілих ооцитів в цій групі, відносно

жінок, що не отримували антиоксидант. Отже, нормалізація антиоксидантного захисту репродуктивного тракту жінок з трубно-перитонеальним безпліддям сприяє підвищенню якості ооцитів.

Таким чином, нами встановлено позитивний вплив екзогенного мелатоніну на співвідношення про/антиоксидантів, як в ендометрії, так і в фолікулярній рідині, що тісно корелює з підвищенням якості ооцитів (за достатньою кількістю зрілих ооцитів). Результатом такої дії може стати покращен-

ня імплантаційної здатності ендометрію та настання вагітності.

Одержані результати дають підстави стверджувати, що антиоксидантна терапія екзогенним мелатоніном у програмі екстракорпорального запліднення може сприяти розробці нових прогностичних критеріїв настання вагітності при безплідді з трубно-перитонеальним фактором.

ВПЛИВ ГЕМІНУ ТА ГЛУТАТІОНУ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ АЗОТНОГО ТА ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ У ЩУРІВ

ОХРИМЕНКО С.М., ГРИШКОВА А.Ю.

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;
e-mail: s.okhrimenko@karazin.ua

Посилення гемолізу за дії різних чинників спричинює накопичення вільного гема, який має прооксидантні властивості, та активацію окисних процесів із пошкодженням будови макромолекул і надмолекулярних комплексів та порушенням їх функцій. Активні форми кисню знешкоджуються за допомогою антиоксидантної системи організму, важливою ланкою якої є тіолові сполуки. Актуальним є вивчення процесів азотного та вуглеводного метаболізму за оксидативного стресу та їх регуляції, оскільки вони відіграють важливу роль у формуванні адаптивних змін в організмі. Метою роботи було вивчення впливу геміну – аналога гема на показники азотного та вуглеводного метаболізму в печінці і нирках щурів та можливість корекції цього впливу антиоксидантом глутатіоном. У роботі використовували безпородних статевозрілих щурів-самців, що утримувались у стандартних умовах виварію. Тварини були поділені на 3 групи: 1 – контрольні, що отримували ін'єкції фізіологічного розчину; 2 – отримували ін'єкції розчину геміну з розрахунку 50 мг/кг ваги; 3 – отримували ін'єкції розчинів глутатіону з розрахунку 500 мг/кг ваги та геміну з інтервалом у 30 хвилин. Щурів брали у дослідження через 2 години з дотриманням правил поводження з тваринами. У гомогенатах печінки і нирок визначали вміст загальних і непротеїнових SH-груп за допомогою реактиву Елмана, а також активність гамма-глутамілтранспептидази за допомогою стандартних тест-наборів. У гомогенаті печінки визначали активність тирозинамінотрансферази за накопиченням р-оксибенілпірувату, а також вміст глікогену методом Кемпа. Вміст протеїну визначали методом Лоурі в модифікації Міллера. Також було проведено дослідження вмісту загальних і непротеїнових SH-груп у ізольованих

гепатоцитах щурів після 1-годинної інкубації з геміном (60 мМ) та комплексно з геміном та попередниками глутатіону (5 мМ N-ацетилцистеїну, 1 мМ глутаміну та 1 мМ гліцину). Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою t-критерію Стюдента у відповідності до загальноприйнятої методики. За результатами дослідження встановлено, що введення геміну спричинювало зниження вмісту загальних і непротеїнових SH-груп в печінці та загальних SH-груп у нирках щурів, що може свідчити про порушення балансу в системі прооксиданти-антиоксиданти та розвиток оксидативного стресу. В печінці при цьому знижувався вміст глікогену та підвищувалась активність тирозинамінотрансферази – показників, що є гормончутливими і можуть свідчити про розвиток стрес-реакції в організмі. Активність гамма-глутамілтранспептидази в печінці за введення геміну підвищувалась утричі порівняно з контролем, що може свідчити про активацію транспорту в гепатоцити субстратів для синтезу глутатіону. В нирках змін активності цього ензиму за введення геміну не встановлено. Введення тваринам глутатіону перед геміном запобігало всім змінам досліджених показників, що були спричинені введенням одного геміну. У досліджах із ізольованими гепатоцитами було встановлено зниження вмісту загальних і непротеїнових SH-груп при інкубації клітин з геміном, тоді як додавання попередників глутатіону в культуральне середовище запобігало таким змінам. Результати дослідження можуть свідчити про чутливість низки показників азотного та вуглеводного метаболізму до стану редокс-балансу в клітинах та тканинах організму, а також про важливу роль глутатіону в регуляції метаболічних процесів за оксидативного стресу.

LEVEL OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION STATE IN NATIVE AND CRYOPRESERVED HUMAN SPERMATOZOA

PAVLOVICH O.V., PETRUSHKO M.P., PINIAEV V.I., YURCHUK T.O., GAPON A.A.
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE, NATIONAL
ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KHARKIV;
e-mail: lenapavlovich@gmail.com

Cryopreservation of spermatozoa is widely used in infertility treatment by assisted reproductive technologies. However, during low-temperature storage, free radical oxidation reactions occur that can cause pathological changes in male sex cells.

The aim of the study was to assess the state of the lipid peroxidation (LPO) level and antioxidant defence system (ADS) in fresh and cryopreserved spermatozoa from normo- and pathospermic ejaculates at different stages of reproductive technologies. The men ejaculates were divided into 2 groups according to the spermatogenesis state: the first group included spermatozoa isolated from ejaculates at normozoospermia, the second – at oligoasthenoteratozoospermia. A two-stage method was used. To study the parameters of LPO and ADS aliquots of fresh, cryopreserved and 16-h *in vitro* incubated progressive motile sperm fraction in all study groups. The concentration of spermatozoa in the samples was 1×10^6 /ml. The concentration of MDA (malone dialdehyde) was determined by the intensity of the color. The SOD (superoxide dismutase) activity in aliquots was determined by the reduction of the nitrogen tetrazolium dye. The total ADS was determined in the model system of a suspension of yolk lipoproteins.

The activity of MDA in progressive motile sperm fraction was significantly lower in group 1, compared to group 2 in all analysis stages. The SOD activity was significantly higher in group 1 than in group 2 in the fresh progressive motile sperm fraction, which indicates normal functioning of antioxidant protection of

spermatozoa at normozoospermia. The increase in SOD activity in samples of group 2 can be considered as a compensatory response to an increase in the intensity of free radical oxidation in the case of spermatogenesis disturbance.

Accumulation of LPO products can be associated with the changes in spermatozoa ADS during their incubation. As it turned out, in the fresh progressive motile sperm fraction of groups 1 and 2, the ADS level was quite high. We noted a slight decrease in AOP in group 1 after cryopreservation, while this index in group 2 decreased down to (1.2 ± 0.3) %. After the incubation of fresh progressive motile sperm fraction of groups 1 and 2, the ADS level decreased to (5.2 ± 0.3) and (2.2 ± 0.1) %. After cryopreservation and 16 h *in vitro* incubation, a sharp decrease in ADS was observed in group 1 (17 times) and 2 (6 times).

It was shown that the equilibrium in the LPO-ADS system shifts toward the enhancement of LPO under the influence of cryopreservation factors. *In vitro* incubation of fresh and cryopreserved spermatozoa during 16 h leads to a further rise of LPO in all study groups. Our study was aimed at elucidating the causes of reduced motility of spermatozoa after cryopreservation and *in vitro* incubation. The 16-h incubation was chosen because in one of the embryonic stages of ART (*in vitro* fertilization) spermatozoa are incubated for 16 hours with oocyte-corona-cumulus complexes. The optimizing of biochemical state processes at different stages of ART will allow improving the effectiveness of infertility treatment protocols.

PLATELETS PROVIDE SPATIOTEMPORAL COORDINATION BETWEEN COAGULATION AND FIBRINOLYSIS IN A DEVELOPING FIBRIN CLOT

PATALAKH I.I., REVKA O.V., DROBOTKO T.V., GRINENKO T.V.
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: ipatalakh@biochem.kiev.ua

Platelets are traditionally ranked as the main executive (procoagulant) element of the blood coagulation system. While associating in aggregates, platelets form the primary plug to eliminate blood leakage. By presenting their surface for the assembly of the tenase and prothrombinase complexes, they generate thrombin, which, in turn, initiates the polymerization of fibrin retaining the platelet aggregates. Transforming their

surface through cytoskeleton proteins, platelets cause retraction of the fibrin network, which additionally stabilizes the blood clot. Recently, the mechanisms responsible for the alternative, profibrinolytic, effect of platelets on the fibrin clot have been actively studied. Particularly, it was found that platelets as cofactors can stimulate plasminogen activation and plasmin production, thereby accelerating the process of fibrin

clot disruption. Therefore, the aim of this study was to investigate the molecular mechanisms that platelets use to mediate the coordination of such competing processes as coagulation and fibrinolysis.

The fibrin network formation and its subsequent lysis was analyzed in an *in vitro* experiment, using 3-fold diluted platelet-rich plasma supplemented with CaCl_2 (8 mmol/l) and thrombin (0,02 NIH units/ml) as blood coagulation factor, as well as tissue activator of plasminogen (40 IU/ml) as fibrinolytic factor. Turbidimetric method was used to measure the optical density of the reaction medium at 405 nm in the course of coagulation and subsequent lysis. A plasma-based clot waveform analysis (CWA) was then used to evaluate the curves obtained by plotting the optical density units against time. CWA allowed us to compare the courses of fibrin formation and lysis.

We found that platelets markedly changed the shape of the polymerization curve in areas that reflect the initial stages of fibrin polymerization; this is the lag-time and the area of the initial increase in turbidity. Platelets also affected the lateral aggregation of protofibrils, which was reflected in the curve as a temporary attenuation of the turbidity increment that was followed by a second wave of its rise. As a result, the curve maximum was decreased by 28 % for platelet-containing clots comparing to cell-free clots, indicating a restructuring of the fibrin network after platelet incorporation. Using fibrin-monomer-derived clot model, we plan to differentiate the contribution of retraction and factor XIII-dependent crosslinking to this effect. Using the method of confocal microscopy, we observed

very specific reorganization of fibrin fibers, which were colocalized with platelet clusters and arranged in a star-like manner around compact platelet microaggregates that served as the organizational centers of this structure. When the tissue plasminogen activator was added to the plasma before clotting, platelets markedly accelerated the subsequent degradation of the clot in an amount of $300 \times 10^6/\text{ml}$ but delayed the onset of lysis in amounts below physiological ($50 \times 10^6/\text{ml}$). It is important that the fibrinolytic system had a pronounced effect on the late stages of coagulation, as evidenced by a decrease in the maximum absorption by 57 % and time to peak by 6 times. Obviously, the platelet-rearranged fibrin network facilitates the spatiotemporal connections between molecular agents of coagulation and fibrinolysis.

On the basis of the known data about the ability of platelets to stimulate both coagulation and fibrinolysis, in this study we made an attempt to figure out why this does not cause an "idle run" in the work of the hemostasis system. Platelets appear to be a universal element in hemostasis, which establishes a sequence of such spatiotemporal events as the production of thrombin and plasmin, which, in turn, affect the formation of the heterogeneous structure of the fibrin clot with nodes, bundles and cavities, ensuring coordination of such complementary processes like polymerization, retraction and degradation of fibrin on platelet microaggregates. This new understanding of the role of platelets in hemostasis can have significant biomedical value, in particular, for antiplatelet therapy.

БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ КАТАБОЛІТІВ ТІАМІНУ В ОРГАНІЗМІ

ПЕТРОВ С.А., АНДРІЄВСЬКИЙ О.М., ФЕДОРКО Н.Л., ЧЕРНАДЧУК С.С., БУДНЯК О.К.,
СОРОКІН А.В., КОКОШКІНА О.О., ЗАХАРОВ А.В., ЗАДЕРЕЙ О.В., ЯКІМЕНКО В.Є.
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;
e-mail: serpet2015@ukr.net

Переважаюча кількість досліджень в галузі біохімії тіаміну присвячена механізмам утворення його моно-, ди- і трифосфорних ефірів, тіаміндисульфиду та пошкодженням цих процесів при різних захворюваннях і патологічних станах. Однак, з початку 90-х років минулого століття почали з'являтися дослідження, в яких демонструвалися некоензимні функції деяких метаболітів цього вітаміну.

Метою нашого дослідження було встановлення конкретних біохімічних процесів, які регулюються такими катаболітами тіаміну як тіохром і 4-метил-5-β-оксиетилтіазол.

У роботі були застосовані спектрофотометричні, флюориметричні, колориметричні методи та метод іонообмінної колоночної хроматографії. Результати оброблені методом Манна-Уїтні.

В результаті проведених досліджень встановлено, що в організмі білих щурів ці катаболіти присутні в різних кількостях в окремих органах, але тіохром у найбільшій кількості утворюється в печінці, а 4-метил-5-β-оксиетилтіазол – в тонкому кишечнику і головному мозку.

При дослідженні впливу 4-метил-5-β-оксиетилтіазолу на окремі біохімічні процеси в мозку встановлено, що ця сполука здатна впливати на продукцію деяких гормонів гіпофіза.

Тіохром має значно більш широкий спектр дії на окремі ензими. Зокрема, цей катаболіт тіаміну здатен прискорювати синтез нуклеїнових кислот в клітині і активувати пепсин. У той же час, ця сполука інгібує активність низки НАД-залежних і ПАЛФ-залежних ензимів.

Таким чином, наші дослідження свідчать про наявність специфічних регуляторних властивостей у 4-метил-5- β -оксиетилтіазолу і тіохрому, які необ-

хідно враховувати при інтерпретації досліджень, присвячених тіаміну.

ВИЗНАЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ САЙТ-СПЕЦИФІЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ З ПРОТЕЇНАМИ РОСЛИН

ПОКОТИЛО І.В.^{1,2}, КРАВЕЦЬ В.С.¹

¹ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ ІМ. В.П. КУХАРЯ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ ЕКОЛОГІЇ ТА НАУК ПРО СЕРЕДОВИЩЕ ПАРИЖУ, ФРАНЦІЯ;

e-mail: pokotylo@bpci.kiev.ua

Метою даного дослідження є визначення механізмів зв'язування саліцилової кислоти (СК, фітогормон) з протеїнами-мішенями і розшифрування фізіологічного значення таких взаємодій для регулювання метаболізму рослин. Для досягнення цієї мети методи обчислювального моделювання поєднувались з методами хімії протеїну і інструментами редагування геному. Серед відібраних СК-зв'язуючих протеїнів модель їх взаємодії з СК вивчалась за допомогою дуалістичного підходу. Методами молекулярної динаміки така взаємодія моделювалась у часі. Завдяки цьому, амінокислотні залишки, що беруть участь у взаємодії протеїн/СК, були ідентифікованими. На сьогоднішній день не існує відомого консенсусного мотиву зв'язування СК з протеїнами. Саме тому комп'ютерне моделювання є необхідним етапом для визначення можливих сайтів зв'язування. Після отримання таких даних випробовувались амінокислотні заміни, які можуть переривати взаємодію СК/протеїн. Отримані дані перевірялись експериментально шляхом продукції рекомбінантних протеїнів у гетерологічних системах (*E. coli*). Аналіз зв'язування СК/протеїн виконувався *in vitro* з використанням

очищених білків у їхній нативній формі, а також з мутованими протеїнами, де конкретні амінокислотні залишки заміщені на основі даних отриманих при проведенні моделювання *in silico*. Нарешті, фізіологічне значення таких взаємодій буде оцінюватися шляхом введення мутацій у геном *Arabidopsis*, які переривають зв'язування СК з протеїнами. Мутантні рослини будуть аналізуватися на їхню здатність реагувати на екзогенну дію СК і стійкість до патогенної інфекції.

Для СК-зв'язуючого протеїну GAPDH-A1 отримані перспективні попередні результати. У GAPDH-A1 були *in silico* виявлені дві кишені, що можуть бути місцем взаємодії з СК. На основі обчислювальних даних до рекомбінантних протеїнів GAPDH-A1 введені чотири різні мутації (що впливають на дві незалежні кишені зв'язування). Аналіз *in vitro* за умов використання очищених протеїнів GAPDH-A1 підтвердив, що у зв'язуванні з СК приймають участь щонайменше два сайти на поверхні протеїну.

Робота виконана за підтримки гранту МОН України (№ М/35-2019) в рамках програми РНС Dnipro.

THE DYNAMICS OF COLLAGEN CONTENT IN GUINEA PIG SKIN UNDER BURNS WITH DIFFERENT ORIGIN

POLIKARPOVA H.V.

KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: h.polikarpova@yahoo.com

A burn is a very frequent type of trauma, occurring at home and in industry. Burn lesions belong to injury characterized by a high degree of severity. Scalds are divided into thermal, chemical, radial according to the etiology. So far, however, there is no work, which would have carried out a comparative study of the features of reactions to these kinds of burns. That is why the study of regulatory mechanisms of

such damage repair is very important. Any damage healing leads to destructive and then regenerative tissue changes occurring. Wound and repair processes are complex successive local changes and related numerous general reactions. One of the most important of these reactions is the formation of granulation and synthesis of connective tissue elements, including collagen.

The aim of the research was to investigate total collagen and its I, III, V and VI type content dynamics in injured skin area under experimental thermal, chemical and radial burns.

The study was carried out on 147 white four-month-old guinea pigs weighing 470–600 g, kept in standard vivarium conditions. The thermal burn was caused by contact way, the chemical burn was caused by the application of 20 % solution of hydrochloric acid. The radial burn was caused by X-ray influence at the exposition dose 60 Gr. It should be noted that this model was developed especially for local radial injuries cause without radial disease occurrence. The study of collagen content was carried out by the histochemical method. Determination of collagen types was performed by using monoclonal antibodies with fluorescent mark (Wallas, Austria). All parameters were investigated within an hour, at 1, 3, 5, 7 and 10 days after the application of all burns, and in the case of radial burn – even at 21 and 35 days. The statistical analysis of the results was carried out by the *Statistica-13* software (StatSoft, USA).

The results of the investigation showed that the minimal value of total collagen and collagen I, III, V and VI types in the affected skin area under thermal and chemical burns was observed at one hour after exposure during the formation of blisters, ulcers, necrosis. Further, under reducing of the inflammatory response, a gradual increase of collagen was observed. At the seventh day for thermal burn and at the fifth day for the chemical, the total collagen and all its studied type level in the skin was approached to the reference level corresponding to the stage of full wound cleaning from decay products and start filling the defect

by granulation. For a long period after radial exposure, a gradual decline of total collagen and collagen I, III, V and VI types in the affected skin area was observed. A minimal value of all studied parameters was found only at the twenty-first day after irradiation corresponding period of desquamation, scab formation, scald sealing and ulcer formation and increase of lipid peroxidation products in several times compared with the control. It should be noted that the twenty-first day after chemical or thermal action, the defects were fully covered by epithelia, so far the process of their healing was completed. At the thirty-fifth day after the radial burn, the levels of total and all studied collagen types were slightly increased, but all indexes were significantly lower than at the fifth day in after chemical and at the seventh day after the thermal injury.

The dynamics of collagen content in the damaged skin area under thermal and chemical burns is consistent with the normal stages of tissue repair. So its sharp decline at the early stages during the activation of the inflammatory response and the prevalence of destructive changes contributes to its synthesis increase in response to increased levels of anti-inflammatory cytokines and activation of the pituitary-adrenal system, which means the ending of inflammatory and beginning of the proliferative phase. A completely different picture was observed under radial burn: the gradual reduction of collagen in the early stages was observed, the minimal value of this index was found only at the twenty-first day after radial exposure, indicating a growth of destructive changes, lack of proliferative phase and violations of regulatory mechanisms of tissue repair.

МЕТИЛУВАННЯ ФАКТОРА ЕЛОНГАЦІЇ ТРАНСЛЯЦІЇ ЛЮДИНИ ЕЕФ1А2 НЕ ВПЛИВАЄ НА ЙОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ З ФАКТОРАМИ НУКЛЕОТИДНОГО ОБМІНУ ЕЛОНГАЦІЙНОГО КОМПЛЕКСУ

ПОРУБЬЛОВА Л.В., НЕГРУЦЬКИЙ Б.С.

ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: negrutskii@imbg.org.ua

Фактор елонгації трансляції 1А (еЕФ1А) зв'язує аміноацил-тРНК із А-сайтом 80S рибосоми в ГТФ-залежному процесі, що каталізується факторами нуклеотидного обміну елонгаційного комплексу еЕФ1В, який містить субодиниці еЕФ1В alpha, еЕФ1В beta і еЕФ1В gamma. Існує дві гомологічні тканиноспецифічні ізоформи еЕФ1А: еЕФ1А2 присутній в м'язових та нервових тканинах, еЕФ1А1 – в решті тканин організму. Окрім канонічної ролі в процесі трансляції, еЕФ1А виконує ще декілька неканонічних функцій, зокрема пов'язаних із онкогенезом. Так, в пухлинах тканин, в яких в нормі

присутня тільки ізоформа еЕФ1А1, спостерігається поява ізоформи еЕФ1А2. Також відомо, що багато амінокислотних залишків обох ізоформ еЕФ1А підлягають посттрансляційним модифікаціям – метилуванню, фосфорилуванню, ацетилюванню, убіквітинуванию та ін. Вважається, що посттрансляційні модифікації протеїнів необхідні для швидкої зміни їх активності/функції в клітині, або ж можуть забезпечувати регульований розподіл субфракцій одного і того ж протеїну між різними клітинними процесами. Процес злоякісної трансформації часто впливає на посттрансляційні мо-

дифікації, зокрема, метилування. Так, багато метилтрансфераз, що каталізують метилування, є мішенями для пошуку протиракових засобів. Метилування eEF1A містить п'ять метильованих залишків лізину. Але дотепер ще немає інформації про функціональне значення метилування факторів елонгації в нормі та при патологічних процесах. Метою даної роботи було вивчення можливої ролі метилування ізоформи eEF1A2 при елонгації трансляції, а саме вивчення впливу на його взаємодію з факторами нуклеотидного обміну.

Для вивчення впливу метилування був створений мутант eEF1A2, в якому лізинові залишки в 36, 55, 79, 165 і 318 положеннях, що здатні до метилування, замінені на аргінінові, і мутанти, в кожному з яких один з вищезазначених залишків замінено на аргінін. Протеїн-протеїнові взаємодії eEF1A2 вивчали в умовно нормальних клітинах 293 за допомогою HaloTag системи афінної очистки протеїнових комплексів (Promega). Клітини трансфі-

кували плазмідами, що кодують немутований eEF1A2 або його мутанти, зшиті з міткою HaloTag. Ко-преципітовані з eEF1A2 та його мутантами протеїни розділяли за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі. Фактори нуклеотидного обміну виявляли за допомогою Вестерн-блот аналізу. Для нормалізації інтенсивності смуг зразків застосовували Вестерн-блот із антитілами проти мітки Halo. Показано, що денситометрія блотограм не виявляє істотних змін у інтенсивності смуг eEF1B alpha, eEF1B beta і eEF1B gamma, зв'язаних з мутантним eEF1A2, порівняно з такими, що знаходилися в комплексі із немутованим протеїном eEF1A2, тобто метилування eEF1A2 не впливає суттєво на його взаємодію з факторами нуклеотидного обміну комплексу eEF1B. Не виключено, що метилування eEF1A2 може бути задіяним для регулювання взаємодії цього протеїну з іншими компонентами трансляційного апарату та/або для виконання його позатрансляційних функцій.

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО РОЗДІЛЕННЯ ПЕПТИДНОГО ПУЛУ ПЛАЗМИ КРОВІ

РАКША Н.Г., САВЧУК О.М., ОСТАПЧЕНКО Л.І.

ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: nkudina@ukr.net

Останні десятиліття характеризуються бурхливим розвитком пептидоміки – одного з новітніх напрямів фізико-хімічної біології, в межах якого вивчають склад, функції, механізми утворення та елімінації пептидів. Аналіз присутності та характеристика пептидних фракцій можуть бути корисними не тільки з теоретичної точки зору, але і з практичної – диференціація діагностики патологічних станів та пошук потенційних фармакологічних агентів. Впродовж тривалого часу, пептидний пул організму розглядався як набір продуктів деградації протеїнів, що не мають будь-якої біологічної функції. Проте нещодавні дослідження пояснили значення пептидів, молекулярна маса яких не перевищує 5 кДа, та підтвердили їх роль у підтримці гомеостазу, зокрема, залучення у регуляцію проліферації, диференціювання і загибелі клітин. Таким чином, пептидний пул розглядається як показник біохімічного статусу і фізіологічного стану організму. Ідентифікація та кількісне визначення молекул з біологічних рідин зазвичай вимагає попереднього селективного одержання цільових сполук. Біологічні рідини зазвичай містять ліпіди, солі, протеїни і вуглеводи, які впливають на ефективність процедури одержання пептидних пулів і

можуть заважати при проведенні подальших досліджень пептидів. Пептиди різняться за багатьма характеристиками, такими як розмір, гідрофобність, заряд, тому наявні методи екстракції та поділу пептидів є дуже різноманітними і базуються в більшості на підходах протеоміки.

Метою дослідження було оптимізувати умови фракціонування пептидного пулу з плазми крові методами обернено-фазової хроматографії та хроматографії, що поділяє за розмірами.

Одержання пептидного пулу з плазми крові проводилося за методом Ніколайчук з певними модифікаціями. Чистоту одержаних фракцій та молекулярну масу пептидів контролювали за допомогою диск-електрофорезу у 18 % ДСН-ПААГ за методом Леммлі. Для концентрування пептидного пулу та окремих фракцій пептидів використовували диференційовану фільтрацію та ліофілізацію. Було розроблено двостадійну очистку пептидів методом диференційного осадження, яка включала послідовне використання обернено-фазової хроматографії та хроматографії, що поділяє за розмірами на носіях Resource™ RPC та сефадекс G 15. Підібрано швидкості хроматографічного потоку, навантаження зразка на носій, проаналізова-

но та створено систему ступінчастого градієнта для обернено-фазової хроматографії. Як розчинник для обернено-фазової хроматографії використовували 0,1 % фосфатну кислоту, як агент елюції – 70 % розчин ацетонітрилу у 0,1 % фосфатній кислоті. Для стадії хроматографії, що поділяє за розмірами використовували 0,05 М Трис-НСІ буфер (рН 7,4), що містив 0,5 М NaCl. Порівняльний хроматографічний аналіз контрольного та патологічного пеп-

тидного пулу виявив як кількісні, так і якісні відмінності.

Таким чином, підібрано умови для ефективного поділу пептидного пулу, що відкриває перспективи ідентифікації біомаркерів для діагностики та пошуку біологічно активних пептидів з метою створення на їх основі нових фармакологічних засобів.

РОЛЬ ПРОТЕОЛІЗУ В БІОХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМАХ ЗАГОЄННЯ ОПІКУ СТРАВОХОДУ

РАЄЦЬКА Я.Б., ЧОРНЕНЬКА Н.М., КОВАЛЬ Т.В., САВЧУК О.М., ОСТАПЧЕНКО Л.І.
ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: yanaraetska@gmail.com

Вивчення протеолізу та механізму його регуляції являється важливим для вирішення питань прогресування післяопікових ускладнень, оскільки при даній патології відбувається надлишкова активація протеолізу, що являється важливою патогенетичною ланкою в розвитку деструктивних та запальних процесів. Виходячи з цього, важливим є з'ясування ролі процесів протеолізу в молекулярно-біохімічних механізмах, що супроводжують процеси загоєння внутрішніх опіків стравоходу.

У досліджах використовували статевонезрілих (1-місячних) щурів вагою 90–110 г, дотримуючись загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Схема експерименту була наступною: 1 група – щури без опіку стравоходу (інтактний контроль), 2 група – щури, яким моделювали лужний опік стравоходу другого ступеня, 3 група – щури, яким моделювали кислотний опік стравоходу другого ступеня, 4 група – щури з лужним опіком стравоходу другого ступеня, яким вводили меланін з 2-ї доби експерименту в дозі 1 мг/кг протягом 14 днів. Біологічний матеріал для дослідження відбирали на 7, 15 та 21 доби, які відповідають стадіям опікової хвороби. Дослідження проводились за допомогою наступних методів: хроматографічні (отримання фракції трипсино-подібних серинових протеїназ), електрофоретичні (аналіз білкових фракцій сироватки крові, якісного складу трипсино-подібних серинових протеїназ), полімеразна ланцюгова реакція (оцінка рівня експресії генів *Ptgs2* та *Tgfb1*), імуноензимний аналіз (вміст інтерлейкінів та матриксних металопротеїназ), гістологічні, спектрофотометричні (вміст дієнових кон'югатів, загальна протеолітична активність). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного забезпечення Statistica 7.0 та TotalLab

2.10. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стюдента (*t*). При цьому, достовірними вважались різниці при $P < 0,05$.

Отримані результати показали, що за умов лужного опіку стравоходу порушувались функції антиоксидантної системи, відбувалася активація імунної ланки. Відзначалися порушення в системі протеолізу, що призводило до високої протеолітичної активності, утворення деградованих форм плазміну, нейтрофільної еластази та поява ММП-7, що за умов хімічного опіку стравоходу може свідчити про можливе злоякісне переродження тканин стравоходу у майбутньому. Висока концентрація нетипових форм протеїнів призводить до підвищення вмісту автоімунних антитіл Ig класу G. Припускаємо, що поява автоантитіл та надмірні протеолітичні процеси, що призводять до утворення нетипових форм протеїнів можуть бути тригерами ініціації неспецифічних протеїн-протеїнових взаємодій та запуску біохімічних процесів та механізмів, які за нормального функціонування організму не ідентифікуються. Таким чином, порушення процесів протеолізу та його циклічний характер, а також підвищена концентрація нетипових форм протеїнів негативно впливає на процеси регенерації.

Результати, представлені у роботі, поглиблюють існуючі погляди на функціонування системи протеолізу за розвитку внутрішніх опіків стравоходу, та висвітлюють перспективний напрямок майбутніх досліджень, а саме, ідентифікацію в кровотоці протеїнових молекул, що здатні деталізувати процеси загоєння внутрішніх опіків стравоходу та можуть бути використанні як діагностичні та прогностичні маркери цього патологічного процесу.

ВПЛИВ ЙОДОВАНОЇ ОЛІЇ НА КОГНІТИВНІ ФУНКЦІЇ СТУДЕНТІВ

РОСТОКА Л.М., БАЛІНТ Л.І., МАЛТИС Л.А., МАЗУР Б.Ф., СІТКАР А.Д.
ДВНЗ "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", УКРАЇНА;
e-mail: siti0095@mail.com

Те, що Закарпаття зараховують до так званих ендемічних зон, тобто таких, де вміст йоду у воді, ґрунті, а, отже, і в продуктах харчування, надзвичайно малий, відомо практично всім. Проблема нестачі йоду на території області й на сьогодні залишається актуальною. Ендемічний зоб, гіпотиреоз, кретинізм – захворювання, які фігурують досить давно в дослідницьких і статистичних роботах багатьох науковців. Але попри всі заходи, які здійснюють заклади охорони здоров'я, все-таки не вдається досягти бажаного ефекту щодо профілактики йододефіциту. Роль йоду в організмі тісно пов'язана з його безпосередньою участю в синтезі тиреоїдних гормонів, які контролюють процеси метаболізму в головному мозку. Доведено їх вплив на інтелектуальний потенціал людини. Достатне надходження йоду в організм підвищує адаптаційні процеси, тим самим, знімає стреси, сприяє концентрації уваги і поліпшення пам'яті.

Метою роботи було дослідження впливу йодованої олії на когнітивні та психічні функції здорових людей, зокрема, студентів медичного факультету.

Вибірку студентів ($n=50$, частка чоловіків – 18 %, жінок – 82 %, середній вік – $19,2\pm 0,6$ років) було розподілено на 3 групи: I – контрольна, II – ті, що приймають плацебо (звичайну соняшникову олію), III – ті, що приймають йодовану олію. Когнітивні функції досліджували методом психодіагностики кристалічного інтелекту за допомогою "Тесту розумових здібностей" до та після прийому олії. Йодовану олію (ЙО) приймали в дозі 1 мл на добу (200 мкг йоду). Статистичний аналіз проводили за допомогою програми IBM SPSS Statistics 23.0.

Структура вибірки щодо загального рівня інтелекту була наступною: високий рівень мали 12 % опитаних, добру норму – 46 %, "в середній зоні" знаходилися 42 % респондентів. Кількість досліджуваних в кожній групі – 10 осіб (необхідно було

вирівняти об'єми груп, тому для I групи взяли перші 10 осіб (випадковий відбір)). За результатами маргінального критерію однорідності визначено достовірну різницю в загальному рівні інтелекту до та після прийому олії/дослідження для всіх трьох груп, який статистично значимо підвищився. Для I групи (контрольна) при $p=0,047$, II групи (плацебо) – $p=0,014$, III групи (ЙО) – $p=0,009$. Такий результат може бути зумовлений тим, що досліджувані повторно проходили один і той же самий тест, а також малою кількістю вибірки. Але можна побачити тенденцію до підвищення достовірності результатів: студенти, які приймали йодовану олію з більшою вірогідністю покращили результати тесту, в порівнянні з тими, що приймали плацебо і з контрольною групою. Це створює передумови для продовження дослідження із збільшенням об'єму вибірки та покращенням програми дослідження. Крім того, в студентів, що приймали йодовану олію, спостерігалось достовірне покращення результатів субтестів щодо визначення загального (виявляє рівень розвитку здібностей виносити судження, здібностей до абстрактного мислення) та запам'ятовування (виявляє рівень розвитку вербальної короткочасної пам'яті і здатності концентрувати увагу). Такої тенденції в інших групах не виявлено. Це, ймовірно, свідчить про покращення пам'яті та уваги після прийому йодованої олії, яка також може сприяти полегшенню засвоєння учбового матеріалу та підвищення здібностей до узагальнення (обґрунтування) вивченого, що особливо актуально для студентів медичного факультету.

Встановлено позитивний вплив ЙО на когнітивні функції студентів, статистично достовірною ефективністю її впливу на покращення рівнів пам'яті та уваги, що є вельми важливим в умовах посиленої розумової діяльності та йодного дефіциту.

DIABETES MELLITUS ACCOMPANIED BY OXIDATIVE-NITRATIVE STRESS DEVELOPMENT IN LEUKOCYTES

SABADASHKA M., SYBIRNA N.
IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV, UKRAINE;
e-mail: m.sabadashka@meta.ua

Diabetes mellitus is a chronic endocrine and metabolic disease caused by absolute or relative insufficiency of insulin. The main diagnostic indicator of the disease is hyperglycemia. In order to develop

modern effective methods for diabetes mellitus type 1 treatment it should be taken into account that the etiological cause of the disease is autoimmune damage of beta cells of Langerhans islet. Today

several new approaches have been designed and tested to contain the disease. Immunological targets and related therapy have become increasingly important in recent times, but these T1D treatment strategies are not enough effective and have side effects. In light of this, to succeed in diabetes treatment new molecular targets in immunocompetent cells should be ostend. Therefore, the aim of the work was to investigate the oxidative-nitrative stress in peripheral blood leukocytes of rats under experimental diabetes mellitus with and without cells pre-incubation with chemotactic factor fMLP for 30 seconds, 1 and 5 minutes.

It was shown an intensification of proteins oxidation and lipid peroxidation in leukocytes of diabetic animals with and without preincubation with fMLP. These results indicate the raising of reactive oxygen species levels in immunocompetent cells. On the other hand, we found decrease of activities of superoxide dismutase and catalase and malfunction of glutathione link of the antioxidant system under diabetic conditions. This tendency was kept in the case of leukocytes stimulation with bacterial tripeptide fMLP within 30 s, 1 min, and 5 min. In leukocytes of diabetic rats NO-synthase activity was higher when compared to control and fMLP stimulation caused an increase in the index only at 5 min. NO-synthase activity changes didn't altered similar to the content of reaction substrate L-arginine. It was shown the reducing of nitrites and nitrates levels in blood leukocytes of rats with diabetes compared to control. Under leukocytes pre-incubation with bacterial tripeptide the level of nitrite was not changed compared to control, whereas the level of nitrate increased after 1 and 5 min of stimulation. We investigated the level of 3-nitrotyrosine modified proteins and found the greatest increase of the index in leukocytes of diabetic animals after 1 min and the decrease after 5 min of stimulation.

In leukocytes lysates the presence of a dominant protein with a molecular weight of about 40 kDa that undergoes nitration was observed. So the next step of the work was to separate this protein using affinity chromatography technique and to identificate using mass spectrometry. This analysis revealed that the unknown protein was gamma-actin under the conditions of control and diabetes. The development of diabetes mellitus was accompanied with increased nitrated actin level in immune cells. In the case of fMLP stimulation of leukocytes from diabetic rats elicited no significant changes in the actin nitration.

To confirm the impairment of immunocompetent cells functioning we studied their phagocytic activity in conditions of diabetes mellitus. Determination of microphages phagocytic activity was performed using non-opsonised yeast cells as objects of phagocytosis. It was shown the decrease in the number of immunocompetent cells entered into phagocytosis under diabetes. In addition, such leukocytes can phagocyte less yeast cells compared to control. In the case of immunocompetent cells stimulation with bacterial tripeptide fMLP we revealed an increase in the number of phagocytes cells, but along with this the amount of absorbed yeast was unchanged compared to values without pre-incubation.

Thus, conducted research demonstrate that diabetes mellitus is accompanied by reactive species of oxygen and nitrogen overproduction, while the activity of antioxidant defense enzymes decreases. This indicate the development of deep oxidative-nitrative stress in immunocompetent cells. This leads to a violation of their morpho-functional state. Obtained data may be the basis for development of new diabetes treatment methods. The targets of such new approach may become antioxidant enzymes, NO-synthase as well as nitrated proteins.

SEPARATE AND COMBINED EFFECTS OF AMINOACIDS IN EXPERIMENTAL CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS

SALYHA N.O., ISKRA R.YA.

INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY NAAS OF UKRAINE, LVIV;
e-mail: ynosyt@yahoo.com

The goal of this research was to investigate and compare the effects of L-glutamic acid (L-Glu) and N-acetylcysteine (NAC) alone and in combination on the biochemical parameters for the purpose of mitigation of carbon tetrachloride (CCl₄)-induced stress in rats. CCl₄ is xenobiotic, which can cause severe oxidative stress and as a consequence of cellular dysfunction. Studies were conducted on albino Wistar rats (males), weighing 200-220 g. They were housed in cages under standardized laboratory conditions with a 12-h light/12-h dark cycle. All rats were allowed free

access to a standard rodent diet and water *ad libitum*. Rats were divided into 5 groups (four experimental and one control). Animals from all experimental groups received CCl₄. After that, rats from the second experimental group additionally received an aqueous solution of L-Glu; rats from the third group – L-Glu+NAC; rats from the fourth group – NAC. Test substances were administered intraperitoneally. At the end of the experimental period, rats were sacrificed. All procedures were conducted according to the European Convention for the Protection of Vertebrate

Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986) and General Ethical Principles of Experiments using Animals (First National Congress of Bioethics, Kyiv, 2001) in accordance with current legislation on animal experimentation in Ukraine. The experimental data were processed by variation statistics methods using the program Origin-Pro 8. Student's t-test was used to determine the likely differences between the means of the samples. In all cases, reliable differences were considered by P-value under 5 %. It was shown that exposure to CCl_4 led to changes in the activity of glutathione-dependent enzymes and glutathione content in blood and tissues. Additional use of L-Glu and NAC after the action of

xenobiotic resulted in less significant changes of investigated indicators and some of them were even close to the control values compared to animals receiving only the CCl_4 . The obtained results showed that amino acids (L-Glu and NAC) have a modulatory effect on the CCl_4 -induced oxidative stress in rats and can use as an antioxidant. The above lead to the conclusion that L-Glu and NAC can be considered as broad-spectrum adaptogens. A better understanding of the role of amino acids in the regulation of the antioxidant system by the actions of factors harmful to the body can be used in the search for substances that have immunomodulatory properties and can mitigate the harmful effects of xenobiotics.

ВПЛИВ СПОЖИВАННЯ *CAPSICUM FRUTESCENS* НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИЙ СТАН *DROSOPHILA MELANOGASTER*

СЕМАНЮК У.В., ЛУЦАК О.В.

ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА,
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail: usemaniuk@gmail.com

Трави і спеції – це натуральні харчові добавки, які значною мірою впливають на смак та аромат нашої їжі. У деяких культурах їх використовують як ліки та консерванти. Дослідження останніх десятиліть свідчать про кілька потенційно корисних ефектів спецій (куркума, кориця, чилі) на фізіолого-біохімічний стан досліджуваних об'єктів, особливо щодо метаболізму ліпідів, діабетичного контролю та антиоксидантного потенціалу. Метою роботи було дослідити вплив споживання їжі з високим вмістом вуглеводів та *Capsicum frutescens* (діюча речовина – капсаїцин), як харчової добавки, в різних концентраціях, на тривалість життя, стійкість до стресів та показники енергетичного обміну.

В дослідженнях використовували особин *Drosophila melanogaster* лінії *Canton S*. Експериментальне середовище містило 10 % сахарози та 5 % дріжджів, а також *Capsicum frutescens* в концентраціях: 0,04 %; 0,12 %; 0,4 %; 0,8 %; 1,5 %; 3 %. Живильне середовище кожні дві доби замінювали на свіже і фіксували кількість мертвих мух. Плодючість визначали по середній кількості відкладених яєць однією мухою. Мухи, в яких визначали стійкість до оксидативного стресу, утримували на середовищі з 5 % сахарози, доповнене 20 мМ менадіоном, поліциклічним ароматичним кетоном, який генерує внутрішньоклітинні активні форми кисню (АФК). Визначення вмісту глікогену, глюкози та триацилгліцеридів проводили у мух, що утримува-

лись на експериментальному середовищі, з використанням діагностичного набору глюкоза-моно-400-Р та тригліцериди-моно-100-Р ("Реагент"). Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми GraphPad Prism (США) та R Project (R Foundation for Statistical Computing).

У особин обох статей, що споживали живильне середовище з додаванням чилі (0,12 % та 0,4 %), середня тривалість життя збільшувалась порівняно з контрольною групою. Проте, у мух, що споживали середовище з 3 % *C. frutescens* середня тривалість життя знижувалась, що може вказувати на його токсичний ефект за високих концентрацій. У самців не було відмінностей у споживанні їжі, а у самок зі збільшенням концентрації чилі у середовищі збільшувалось споживання їжі. А також, самки, що споживали середовище з високим відсотком чилі (1,5 % та 3 %) відкладали більше яєць порівняно з контрольною групою. Показники енергетичного обміну не відрізнялись у дослідних і контрольній групі.

Отже, *C. frutescens* за низьких концентрацій продовжує тривалість життя. Проте, незважаючи на схожість ключових шляхів, що регулюють процеси енергетичного обміну у *Drosophila melanogaster* та хребетних тварин, чилі не впливає на рівень запасних вуглеводів та ліпідів, а також на рівень циркулюючих вуглеводів.

ОКИСНИЙ СТРЕС ТА ЙОННИЙ ОБМІН У НИРКАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ СТАРІННЯ ТА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ II ТИПУ

СЕМЕНКО А., МУРДАСОВ Є., КИРИЧЕНКО С., УШАКОВА Г.
ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;
e-mail: artem.semenko@gmail.com

Старіння – багатофакторний процес, що характеризується прогресуючим зменшенням функціональної активності фізіологічних функцій і метаболічних процесів. Інтенсифікація окисного стресу в організмі, з одного боку є результатом зниження ефективності захисних систем клітин, з іншого – посилення накопичення не до кінця окислених метаболітів, що провокує ендотоксикацію організму. Деякі захворювання можуть посилити процеси старіння, наприклад, такі як цукровий діабет 2 типу (ЦД2). З віком здатність утилізації пероксидних сполук і радикалів знижується, що, в свою чергу, підвищує ушкодження внутрішнього середовища організму, в тому числі і такого органу як нирки, а ЦД2 є однією з головних причин розвитку хронічного захворювання нирок, що проявляється у зниженні їх функцій, зміні йонного обміну тощо. Мета роботи – дослідити показники окисного стресу в нирках у старих тварин порівняно з тваринами, хворими на ЦД2, проаналізувати зміни йонного обміну у нирках за такими показниками, як концентрація йонів хлору та калію.

Дослідження проводили на статевозрілих щурах самця лінії Вістар відповідно до етичних норм роботи з лабораторними тваринами. Тварин було поділено на 3 групи (n=6): 1 – контрольна група, щури віком 14–16 тижнів і масою 180–220 г; 2 – щури з експериментальним стрептозотоциніндукованим ЦД2, віком і масою ідентичні до 1 групи; 3 – старі щури віком 18–22 місяців, масою 260–340 г. Рівень окисного стресу визначали у цитозольних екстрактах, отриманих із нирок досліджуваних щурів, за наступними показниками: СОД, каталаза, МДА. Активність СОД вимірювали за реакцією окислення кверцетину за Костюком; активність каталази визначали за швидкістю зменшення H_2O_2 у середовищі інкубації за Королюком; вміст МДА – у реакції взаємодії з тіобарбітуратом кислотою за Андрєєвою. Зміни йонного обміну визначали за показниками вмісту калію та хлору за допомогою

відповідних стандартних тест-наборів ТОВ НВП “Філісіт-Діагностика” (Україна). Статистичну обробку даних проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA, вірогідними вважали дані за умов $P < 0,05$.

За результатами дослідження можна спостерігати збільшення вмісту МДА у нирках старих щурів та щурів з ЦД2, збільшення активності ензиму каталази і зменшення активності СОД. У щурів з ЦД2 збільшення вмісту МДА відбулось на 22 %, у старих щурів – на 39 % в порівнянні з контрольною групою молодих щурів. Збільшення активності каталази і зменшення активності СОД у щурів з ЦД2 відбулось на 54 і 18 %, відповідно, у старих щурів – на 44 і 53 %, відповідно.

Зміни вмісту йонів калію та хлору також є показниками для обох експериментальних груп у порівнянні з контрольними тваринами. Збільшення вмісту калію та хлору у нирках щурів з ЦД2 відбувалось на 36 і 66 %, відповідно, у порівнянні з контрольною групою, у екстрактах із нирок старих щурів – на 9 і 29 %, відповідно.

Оскільки негативні зміни, пов’язані з рівнем окисного стресу, виявлені в обох експериментальних групах, можна зробити висновок, що цукровий діабет 2 типу і процеси старіння можуть посилювати одне одного, що призводить до зниження екскреційної функції нирок та накопичення ендотоксинів в організмі. Зміни йонного обміну в нирках найбільш показові за умов експериментального ЦД2, але подібні зміни спостерігались і у старіючих щурів, що можливо є наслідком порушення цілісності мембран клітин за посиленням окисного стресу.

Отримані результати вказують на те, що хронізація ЦД2 може провокувати раннє старіння нирок та активацію ланцюгової реакції зміни метаболічних процесів в організмі в цілому за рахунок накопичення токсичних метаболітів.

METABOLISM OF GLYCATION PRODUCTS IN RELATION TO CARBONYL/OXIDATIVE STRESS AND ASSOCIATED PATHOLOGIES

SEMCHYSHYN H.

VASYL STEFANYK PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY, IVANO-FRANKIVSK, UKRAINE;
e-mail: semchyshyn@pu.if.ua

Living organisms possess at least two RCS (*reactive carbonyl species*) sources: endogenous and exogenous. Endogenously RCS are generated in such nonenzymatic processes as oxidation of carbohydrates, lipids, and amino acids as well as glycation, whereas enzymatically they result from glycolysis, polyol pathway, polyamine metabolism, oxidation of amino acids and ketone bodies. In the organism, electrophilic RCS are highly reactive toward different cellular constituents, majority of which are nucleophiles. Therefore, RCS may interact with many types of compounds that leads to formation of a huge array of AGEs (*advanced glycation end products*), some of which initiate new rounds of RCS/ROS (*reactive oxygen species*) formation, form vicious cycles, and cause pathological processes. Certain diets (especially fructose- and AGEs-rich food), pharmaceuticals, and cosmetics along with pollutants may be external RCS sources.

Since RCS/ROS may be dangerous for living organisms, the latter possess diverse and tightly

controlled antiglycative/antioxidant system. Efficient cooperation of the listed above systems results in the homeostatic balance, which can be shifted if steady-state RCS/ROS level is increased, resulting in carbonyl/oxidative stress. AGEs may activate special receptors such as RAGE (*receptor for AGEs*) and AGE-R1 (*AGEs-receptor 1*). Stimulation of RAGE leads to activation of NF- κ B, associated with an enhancement of prooxidative and proinflammatory response. In turn, NF- κ B (*nuclear factor kappa-B*) increases RAGE expression, which again stimulates NF- κ B, forming a vicious cycle, producing reactive species in a new round. On the other hand, AGE-R1, besides promoting elimination of AGEs, may inhibit prooxidative events and inflammatory response to AGEs through negative regulation of RAGE. This suggests an involvement of AGE-R1 in protection of the organism against certain pathologies. Disturbance of the interplay between RAGE and AGE-R1 may be a key determinant of increased carbonyl/oxidative stress and related pathologies.

ВПЛИВ ГЛЮКОЗИ НА ПОСТГІПЕРТОНІЧНИЙ ШОК ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ

СЕМІОНОВА К.А., ЄРШОВА Н.А., ШПАКОВА Н.М., НІПОТ О.Є., ШАПКІНА О.О.
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ;
e-mail address: nipotel71@gmail.com

Протягом багатьох років глюкоза залишається компонентом багатьох гемоконсервуючих середовищ, які використовуються для забору і низькотемпературного зберігання еритроцитів і цільної крові ("Глюгіцир", SAGM, AS). Вона забезпечує клітинам достатній рівень метаболізму, стабілізує мембрану шляхом утворення водневих зв'язків, поліпшує ступінь вітрифікації цитоплазми. Це дозволяє підтримувати структурно-функціональні властивості еритроцитів до декількох тижнів. Однак, висока концентрація глюкози *in vivo* зумовлює зміни тканин, такі як неензимне глікозування протеїнових компонентів цитоскелет-мембранного комплексу, гемоглобіну, ензимів, переносників, пероксидне окислення мембранних ліпідів, зміну морфології і деформаційних властивостей еритроцитів. У роботі ми досліджували вплив різних концентрацій глюкози (0,6 %, 5 %) на постгіпертонічний шок

еритроцитів, що є моделлю поведінки клітин при їх відтаванні і видаленні кріопротектора.

Для досліджень використовували еритроцити, отримані з донорської крові людини. Після видалення плазми еритроцити зберігали у вигляді щільного осаду не більше 4 год при температурі 0 °С. Всі середовища готували на фосфатному буфері (0,01 моль/л), рН 7,4. Постгіпертонічний шок здійснювали перенесенням еритроцитів з гіпертонічного розчину (1,45 моль/л NaCl) в ізотонічний (0,15 моль/л NaCl) при 37 або 0 °С. Еритроцити інкубували в середовищі дегідратації протягом 20 хв, в середовищі регідратації – 5 хв. Кінцевий гематокрит становив 0,4 %. Обробку еритроцитів глюкозою здійснювали шляхом інкубації клітин у фізіологічному розчині, що містить 0,6 або 5 % глюкози при температурі 37 °С протягом 2 год.

Показано, що при 37 °С рівень постгіпертонічного гемолізу клітин зростав по мірі збільшення тоничності середовища дегідратації (1,5; 1,75; 2,0 моль/л NaCl). В результаті обробки глюкозою в концентрації 0,6 % статистично достовірних відмінностей від контрольного рівня пошкодження клітин не було виявлено, при концентрації 5 % спостерігалось зниження рівня ушкодження для всіх середовищ дегідратації приблизно в 1,5–1,8 раза. При 0 °С виражений захисний ефект глюкози спостерігався вже при концентрації 0,6 % (1,5–1,8 раза). Підвищення її концентрації в середовищі обробки клітин до 5 % призводило лише до невеликого зростання збереження клітин при 1,75 і 2,0 моль/л NaCl.

Відомо, що деформація мембрани під час дегідратації ініціює латеральний перерозподіл мембранних компонентів, що призводить до збільшення мембранної проникності для катіонів. Згідно з однією з останніх теорій, іони, що надходять в клітину з навколишнього гіперосмотичного розчину, зв'язуються з цитоплазматичними протеїнами. Це

ініціює їх подальший приплив із позаклітинного середовища. На етапі регідратації протеїни звільняють іони, що обумовлює надмірне надходження води в клітину, перевищення значення критичного гемолітичного об'єму клітини і її руйнування. Ймовірно, в основі виявленої захисної дії глюкози є її здатність перешкоджати надмірному надходженню іонів натрію в клітину, шляхом зв'язування з цитоплазматичними протеїнами. Варіювання температурних умов показало, що дотримання близьконульових температур при розморожуванні клітин та видаленні кріопротекторів, може дозволити використання менших концентрацій глюкози для досягнення захисного ефекту, що дозволяє уникнути її токсичного впливу на еритроцити.

Можна зробити висновок, що додавання глюкози в розчини для кріоконсервації еритроцитів сприяє не тільки підтриманню метаболічного статусу клітини, але і захищає еритроцити від впливу високих концентрацій солей на етапі розморожування і переведення еритроцитів в ізотонічні умови.

UP-REGULATION OF ADAPTOR PROTEIN Ruk/CIN85 IN HUMAN NON-SMALL CELL LUNG ADENOCARCINOMA CELLS INDUCES EPITHELIAL-TO-MESENCHYMAL TRANSITION AND IS ASSOCIATED WITH CHEMORESISTENCE

SKATERNA T.D., PASICHNYK G.V., GERASHENKO D.S., HORAK I.R., KHUDIAKOVA O.V., GARMANCHUK L.V., DROBOT L.B.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: skaterna.t@ukr.net

Non-small cell lung carcinoma (NSCLC) is the most common cause of cancer-related death in the world. Nowadays, it is becoming widely accepted that during tumor progression and metastasis cancer cells undergo epithelial-mesenchymal transition associated with an enhanced propensity to migrate and invade surrounding tissues, acquisition of self-renewing stem-like cells properties and drug resistance. We have shown previously that high levels of adaptor/scaffold protein Ruk/CIN85 in weakly invasive human breast adenocarcinoma MCF-7 cells and highly invasive murine breast adenocarcinoma 4T1 cells induced the development of malignancy-associated traits driven by EMT. However, there is no information concerning Ruk/CIN85 function in NSCLC. The current study sought to determine the interplay between Ruk/CIN85 up-regulation in NSCLC cell lines and EMT in vitro. A549, H69, MOR wild type and resistant to drugs were used in order to study the role of Ruk/CIN85 in carcinogenesis in vitro.

As a model, we used sublines of human lung adenocarcinoma A549 cells with stable overexpression

of full-length form of adaptor protein Ruk/CIN85 as well as H69 and MOR wild type and resistant to drugs cell lines. The proliferation rate of A549 sublines was evaluated by direct cell counting with trypan blue and MTT test, motility – using scratch test, and invasiveness – using Boyden chamber. Expression levels of Ruk/CIN85 and EMT markers were determined by Western-blot analysis and quantitative RT-PCR. The stemness characteristics were evaluated by the ability to form spheroids. The functionality of ABC-transporters was characterized by the efflux of dye toluidine blue from treated cells.

It was demonstrated that A549 sublines with Ruk/CIN85 up-regulation acquired the features inherent in the mesenchymal phenotype. A549 cells with Ruk/CIN85 overexpression were characterized by increased proliferative rate, motility and invasion potential. Accordingly, the levels of EMT transcription factors, Snail1, Twist1 and Zeb2, as well as mesenchymal marker vimentin were higher in Ruk/CIN85 up-regulating cells in comparison with control ones. These changes characteristic of EMT were associated with

increased pneumosphere-forming capacity and efficiency of toluidine blue elimination. In addition, Ruk/CIN85 expression levels in H69 and MOR cells with therapeutic resistance to cisplatin and doxorubicin respectively were up to 10 times higher in comparison with their parental cells.

Together, the data obtained suggest that high level of adaptor protein Ruk/CIN85 plays a key regulatory role in the induction of EMT in non-small-cell lung carcinoma, thus opening new opportunities for therapeutic intervention.

MOLECULAR MECHANISMS OF DEPENDENCE OF HYPOXIC REGULATION ON ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS

SLIUSAR M.Y., RIABOVOL O.O., LEBID-BILETSKA K.M., MINCHENKO D.O.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: slyusarmiroslava@gmail.com

Hypoxia is one of the compulsory factors for malignant growth. Condition is realized by the transcription factor – hypoxia-inducible factor (HIF). HIF activates the transcription of genes that play a decisive role in the biology of cancer, including angiogenesis, cell proliferation and survival, glucose metabolism, and invasion. The endoplasmic reticulum is key to the response of the cell to hypoxia inducing stress of the endoplasmic reticulum. The ERN1 (from endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1) signaling pathway controls the expression of a large group of genes that dependent on the endoplasmic reticulum stress and hypoxia. The X-box binding protein 1 (XBP1) is a key component of the ERN1 signaling pathway and controls about a thousand genes responsible for tumor growth, including most of the hypoxia-induced genes.

The goal of our study was to evaluate the effect of hypoxia on the expression of genes in relation to the inhibition of the ERN1 pathway. Namely, to determine the level of gene expressions associated with glioma growth in relation to the IRE1 signaling pathway inhibition; identify binding sites for XBP1 and HIF transcription factors in the promoter region of a subset of nuclear genes encoded mitochondrial proteins.

Bioinformatics methods for identification of HIF- and XBP1-binding sites in the promoter region of cancer growth-related genes were used. We used two sublines of line U87: control glioma cells and cells with blockade of ERN1 function by dominant/negative cDNA-construct. For this study we select next genes: *ME2* (malic enzyme 2), *NNT* (nicotinamide nucleotide transhydrogenase), *IDH2* (isocitrate dehydrogenase (NADP⁺) 2, mitochondrial), *MDH2* (malate dehydrogenase 2), *GOT2* (glutamate oxaloacetate transaminases), *FAM16A* (family with sequence similarity 162 member A), *ENDOG* (endonuclease G), and *AIFM1* (apoptosis-inducing factor mitochondria associated 1). The expression level of studied genes

was determined in glioma cells by real-time quantitative polymerase chain reaction. Statistical analysis was performed according to Student's *t*-test using Excel program.

We have studied the effect of hypoxia on the expression level of glioma growth-related genes such as *ME2*, *NNT*, *IDH2*, *MDH2*, *GOT2*, *FAM16A*, *ENDOG*, and *AIFM1* in relation to inhibition of the endoplasmic reticulum stress mediated by ERN1 signaling. It was shown that the expression level is significantly down-regulated in glioma cells without ERN1 enzyme function, except *IDH2*, *NNT*, *ENDOG*, and *FAM162A* genes, which expression level is strongly up-regulated. At the same time, inhibition of ERN1 leads to down-regulation of the expression level of *AIFM1* gene, which is involved in apoptosis and autophagy signaling pathways. We have shown that hypoxia affects the expression level of most studied genes in gene-specific manner and that effect of hypoxia on the expression of some genes is modulated by ERN1. Binding sites for HIF and XBP1 were found in most studied genes, and some of these binding sites can recognize both transcription factors.

The expression of all studied genes is responsible for ERN1 signaling enzyme function in gene-specific manner, because inhibition of IRE1 significantly affects their expression. Results of our investigation demonstrate that hypoxia may affect the expression of genes through binding sites for HIF and XBP1. Therefore, ERN1 can modify the effect of hypoxia on numerous gene expressions through induction of XBP1 and interaction of HIF and XBP1 transcription factors in promoter at both different and same binding sites.

Acknowledgement. I would like to express my gratitude to my research supervisor Prof. Oleksandr Minchenko and also to all colleagues from the Molecular Biology Department of the Palladin Institute of Biochemistry for their help in this study.

RESPONSE OF BRAIN-LIVER AXIS ON INTERMITTENT FASTING IN MICE

SOROCHYNSKA O.M., KUZNIAK O.V.

VASYL STEFANYK PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY, IVANO-FRANKIVSK, UKRAINE;

e-mail: sorochynska_o@ukr.net

Limited access to food in particular due to intermittent fasting needs coordination between different organs for the adequate metabolic response. Carbohydrate metabolism plays an important role in providing energy for all organs, especially for the brain. It is well known that under glucose limitation, the brain can use ketone bodies synthesized in the liver. Redistribution of glycolytic substrates and intermediates supposes a potential role of the liver in managing an energy supply to the brain. Energetic cooperation between the brain and liver are also provided by triacylglycerides and ketone bodies. The aim of this study was to investigate metabolic cooperation between liver and cortex in young mice subjected to intermittent fasting regime.

For experiments, one-month-old mice of mixed C57BL/6×sv129 strain were used. The animals were separated by sex and divided into two groups: the control one, which had *ad libitum* access to food (AL), and the experimental one, which was subjected to every-other-day feeding (EODF) regime. The mice of both sexes were on their respective regime (AL or EODF) for a 30-day period. Water was available *ad libitum* for all groups. Mice were sacrificed by CO₂ anesthesia, and liver and brain tissues were collected and frozen for measurements. The levels of ketone bodies and triglycerides (TAG), lactate, and pyruvate, and the activity of β -hydroxybutyrate dehydrogenase were measured spectrophotometrically.

Concentrations of ketone bodies in the liver were lower by 36 % and 28 %, respectively, in males and females of the EODF group compared with control ones. In the brain cortex, the levels of ketone bodies

were 43 % higher in the experimental group of males and were unaffected in females compared with respective values in control mice. Intermittent fasting did not affect TAG levels in liver, although they demonstrated tendency to be increased in experimental groups of both sexes. EODF regimen did not affect TAG levels in mouse cortex of both sexes. The lactate/pyruvate ratio in the liver was lower by 71 % in EODF males as compared with respective controls. Both AL and EODF females had by 41 % and 37 % lower lactate/pyruvate ratio in liver than respective males. It was found that lactate/pyruvate ratio in the cortex did not differ between the sexes under control conditions, but in experimental females it was by 54 % higher than that in the control counterparts. Lactate/pyruvate ratio in the cortex of EODF males was by 56 % lower than that in EODF females. The activity of β -hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH) in EODF males was by 27 % lower in the liver and by 23 % higher in the cortex compared with those values in control mice. Control and EODF females did not differ in HBDH activity. But EODF females had by 29 % lower HBDH activity in the cortex than respective males.

The obtained results demonstrate that every-other-day feeding regimen in young mice leads to decrease energy metabolism to save resources to provide vital functions. It should be noted that these effects do not depend on the sex of mice and more pronounced in the liver and brain. The latter is related with the fact that in condition of carbohydrate deficiency the energy needs of the brain is provided by the oxidation of ketone bodies, which are used as an energy source, as well as a substrate for lipid biosynthesis.

ВПЛИВ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

СПІРИНА В.А., КИРИЧЕНКО С.В., ПАВЛЕНКО Г.Ю., КИРИЧЕНКО В.В.

ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;

e-mail: lereena.sp@gmail.com

Цукровий діабет – група ендокринних захворювань, що розвиваються внаслідок абсолютної чи відносної недостатності гормону інсуліну, через що згодом розвивається стан гіперглікемії. Недостатність інсуліну та висока концентрація глюкози запускають ряд метаболічних процесів та патологічних станів. При цьому порушується не тільки ендокринна, а і екзокринна секреція підшлункової залози, оскільки α - та β -клітини тісно пов'язані. При

цукровому діабеті активність антиоксидантної системи знижується, а концентрація продуктів пероксидного окислення збільшується, що характеризується як оксидативний стрес. Мелатонін – основний гормон епіфіза, регулятор циркадних ритмів, модулятор імунної відповіді та один із найсильніших антиоксидантів організму. Мелатонін має подвійну антиоксидантну дію на пряму: нейтралізує дію активних форм кисню та азоту; активує

ензими антиоксидантного захисту. Концентрація мелатоніну в тканині підшлункової залози має циркадні коливання, які подібні до зміни концентрації мелатоніну в шишкоподібній залозі. Рецептори до мелатоніну ідентифіковані у клітинах острівців Лангерганса, активація цих рецепторів пов'язана із секрецією ферментів та гормонів підшлункової залози. Мета роботи: дослідити біохімічні показники підшлункової залози при тривалій гіперглікемії та за умов корекції введенням мелатоніну.

Дослідження проводили на статевозрілих щурах самцях лінії Вістар масою 230–250 г. Тварин було поділено на 3 групи ($n=5$): I – контрольна, II – тварини з індукованим цукровим діабетом 2 типу: одноразово внутрішньоочеревинно вводився водний розчин нікотинамідом (Sigma-Aldrich, США), 230 мг/кг і через 15 хв після цього – стрептозотоцину (Sigma-Aldrich, США) в дозі 65 мг/кг у цитратному буфері, рН 4,5 (для досліджень використані тварини з рівнем глюкози 8–14 ммоль/л), III – тварини, що отримали мелатонін 10 мг/кг після індукції ЦД-2. Дослід тривав 45 діб із моменту введення стрептозотоцину, мелатонін тваринам давали перорально упродовж останніх 15 діб. Усі досліді проводили відповідно до етичних правил поводження з тваринами. Наприкінці експерименту тварин наркотизували та декапітували. Визначали концентрацію тригліцеридів, холестерину (тест-набори Corway), ТБК-реактивних продуктів (за Ohkawa et al., 1979) та активність α -амілази (тест-набори Corway), супероксиддисмутази (за Beyer et al., 1987), каталази (за Abderrahim et al.,

2017) у підшлунковій залозі. Статистичну обробку результатів проводили за критерієм Краскера – Уолліса та Манна – Уїтні. Вірогідними змінами вважали дані за $P<0,05$.

Концентрація тригліцеридів достовірно вища у діабетичних щурів у порівнянні з I та III групами ($P<0,05$ та $P<0,05$). Активність СОД у 3 рази вища в III групі у порівнянні з I та II групами ($P<0,01$ та $P<0,01$). Активність каталази також достовірно вища у дослідній групі, якій давали мелатонін. Концентрація ТБК-реактивних продуктів була найвищою у другій групі.

У групі діабетичних тварин ми бачимо зниження активності СОД та каталази, підвищення концентрації ТБК-реактивних продуктів, що є типовим для оксидативного стресу. Мелатонін не тільки має антиоксидантні властивості, також він стимулює ензими антиоксидантного захисту. Показники другої дослідної групи повністю узгоджуються з цими даними, оскільки мають статистично значущі відмінності активності СОД, каталази та ТБК-реактивних продуктів. Підвищений рівень тригліцеридів передуює погіршенню стану підшлункової залози та розвитку панкреатиту. Щури з контрольної групи та ті, які отримали мелатонін, мали нормальні показники концентрації тригліцеридів, у той час як у діабетичних тварин їхня концентрація була підвищена. Недовготривале введення мелатоніну позитивно впливає на показники оксидативного стресу у підшлунковій залозі, а відповідно і на стан цього органу.

РОЛЬ ГЕНІВ *CG13676* ТА *MSTA* У ПРОЦЕСІ СТАРІННЯ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

СТЕФАНИШИН Н.П., ЮРКЕВИЧ І.С., ЛУЦЬК О.В.

ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА,
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК. УКРАЇНА;
e-mail: nadya_stefanyshyn@ukr.net

Старіння – це багатофакторний процес, який характеризується втратою гомеостазу, що призводить до поступового зниження функціональної здатності організмів на всіх рівнях організації живого. Як відомо, більшість молекулярних та біологічних процесів є консервативними, а отже зберігаються від безхребетних до приматів, тому можна припускати, що в регуляції процесу старіння застосовуються подібні механізми. Отже, щоб мати можливість робити передбачення стосовно тривалості чи якості життя, ми вирішили дослідити роль специфічних генів у нервових клітинах *Drosophila melanogaster*.

Метою роботи було дослідити як нокадаун цільових генів у нейронах може впливати на фізіологічні та біохімічні показники *D. melanogaster*.

У роботі як модельний об'єкт використовували плодових мушок ліній: *CG13676*, *Msta*, *60101*, що були отримані з Віденського стокового центру (VDRC) та драйверну лінію *Elav-Gal4*. Дані лінії (*CG13676*, *Msta*) характеризуються наявністю трансгенів, що містять інтерференційні РНК проти єдиного гена, який кодує певний протеїн. Самок драйверної лінії схрещували із самцями *CG*. У результаті отримували нащадків, що експресували інтерференційні РНК (іРНК) комплементарні до певного досліджуваного гена. Контролем була лінія *60101*, яка не експресувала функціонально-активної іРНК. У нащадків вимірювали такі показники як: плодючість, підраховуючи кількість відкладених яєць; стійкість до голодування й тривалість життя, фіксуєючи мертвих мух; рівень метаболітів. Аналіз

даних, побудову графіків та діаграм проводили за допомогою програм: "Microsoft Excel 2007", "Graphpad Prism7".

Наші дослідження демонструють наступне, при нокадауні гена *CG13676* репродуктивна активність самок зростала на 21 %, тоді коли нокадаун гена *Msta* не мав впливу на плодючість. Що стосується рівня метаболітів, то блокування транскрипту гена *CG13676* у самок та самців призводило до вищого вмісту циркулятивної глюкози у 1,6 раза, тоді коли при нокадауні гена *Msta* – у 1,7 раза в самок та 1,6 раза в самців. При нокадауні гена *Msta* лише у самців, збільшувався рівень глюкози в тілі на 20 %, глікогену на 30 %, а вміст триацилгліцеридів зростав у 2 рази, у порівнянні із контролем. Також експресія інтерференційної РНК до генів *CG13676* та *Msta* підвищувала стійкість до голодування як самців, так і самок *D. melanogaster*. Нокадаун генів

CG13676 та *Msta* у нейронах самців продовжував середню тривалість життя на 24 %, тоді коли у самок *CG13676* на 21 %, а *Msta* – на 15 %, у порівнянні із контролем.

Отже, нокадаун цільових генів у нейронах впливав на репродуктивну здатність *D. melanogaster*. А також на рівень метаболітів, ймовірно тому, що ці гени якимось чином впливають на продукцію інсулінопептидних гормонів нейросекреторними клітинами плодової мушки. Також, можемо зауважити збільшення тривалості життя і стійкості до голодування, що підтверджує той факт, що між цими двома процесами існує пряма залежність. Окрім того, ми беззаперечно можемо сказати, що гени *CG13676* та *Msta* задіяні у процесі старіння, адже при їх нокадауні спостерігається продовження середньої та максимальної тривалості життя.

POTENTIAL USE OF CHROMIUM-CONTAINING NANOPARTICLES IN DIABETES TYPE 1 TREATMENT

STRUTYNSKA T.¹, ZAYACHKIVSKA A.¹, BURDYLIUK N.¹, YURKEVYCH I.¹, MYKHAILOVYCH V.², KHALAVKA Y.²

¹VASYL STEFANYK PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY, IVANO-FRANKIVSK, UKRAINE;

²YURIY FEDKOVIYCH CHERNIVTSI NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: tanya1860st@gmail.com

Nowadays, diabetes is one of the most dangerous diseases in the world. It is a serious complex condition which can affect the entire body. Because of diabetes and its complications dies near 4330 people every day, and dies near 173 thousand people every year. This is a really impressive amount, and still there no cure from it. That is why it is important to find effective treatment.

Nanoparticles are used as a potential treatment for a wide range of diseases. In current work, we investigated chromium-containing nanoparticles. Chromium is one of the trace elements which is involved in insulin signal transduction and glucose metabolism. Moreover, chromium nanoparticles possess unique physical and chemical abilities like high specific surface, small sizes and variety of forms can increase the chemical potential of a substance, high absorption activity and also they can go through the hematoencephalic barrier and other biological barriers. That is why these nanoparticles became the purpose of our investigation.

The main goal of our experiment was to investigate the impact of chromium-containing nanoparticles on glucose level in the blood of diabetic mice. We also aimed to observe how feeding behavior and the weight of animals would change during the experiment.

We used four-week-old male mice of Balb/c line as a model object. Three groups were formed: control

group – healthy animals; first experimental group – mice with induced diabetes mellitus type 1; second experimental group – mice with induced diabetes which were gavaged by nanoparticle $Cr_2(MoO_4)_3$. Diabetes mellitus type 1 was induced by intraperitoneal injections of streptozotocin, which is toxic for β -cells of pancreas. We used the gavage method to feed mice by a suspension of nanoparticles and physiological solution. Mice were weight in three time points: before the experiment, after diabetes induction and after all three rounds of the gavages (19th day of the experiment).

During the experiment we measured volume of water and amount of consumed food by mice to observe changes in feeding behavior. On the nineteenth day of the experiment, we conducted Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) - a method which can help to diagnose instances of diabetes mellitus or insulin resistance and allow to see how glucose level changes in the time.

To analyze date, we used programs "Microsoft Excel" and "GraphPad Prism". Also, we used "GraphPadPrism" to made graphs. To analyze date of Oral Glucose Tolerance Test (OGTT), we applied Student's t-test for each time point.

Received data showed that injection of streptozotocin cause increased consumption of water volume and food amount, what testifies about the emergence of classic symptoms of diabetes like

increased thirst and increased hunger. Induction of diabetes also leads to weight loss. Nanoparticles $\text{Cr}_2(\text{MoO}_4)_3$ reduced glucose level in time points 15 and 45 minutes.

Obtained results showed that chromium-containing nanoparticles reduce glucose level and based on that we can say that nanoparticles potentially can be used in therapy against diabetes mellitus.

ЛОФАНТ АНІСОВИЙ ВПЛИВАЄ НА МЕТАБОЛІЗМ ТА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

СТРІЛЬБИЦЬКА О.М., ЛУЦЬКА О.В.

ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА,
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail: olya_b08@ukr.net

Синтетичні хімічні препарати, які здатні продовжувати тривалість життя, в багатьох випадках мають негативні побічні ефекти, тому останнім часом дослідження спрямовані на вивчення властивостей фітопрепаратів. Відомо, що екстракти деяких лікарських рослин мають адаптогенні властивості, тобто допомагають організму адаптуватись до дії несприятливих факторів довкілля. Ми припустили, що Лофант анісовий (*Agastache foeniculum* – Багатоколосьник фенхельний) може виявляти геропротекторні властивості, зважаючи на склад анісової олії. Тому метою даної роботи було дослідити геропротекторні властивості Лофанту анісового та його вплив на метаболізм *Drosophila melanogaster*.

Об'єктом дослідження була лабораторна лінія мух *Canton-S Drosophila melanogaster*. На 5-ий день життя мух переносили в контейнери, до яких прикріплювались пробірки із 5 мл поживного середовища наступного складу (у відсотках маса/об'єм): сахароза/дріжджі – 5С/5Д, агар-агар – 1,2 %, ніпагін – 0,18 %. Для оцінки впливу *Agastache foeniculum* до цього середовища вносили наважки лофанту в таких концентраціях: 2,5 мг/мл; 5 мг/мл; 10 мг/мл; 30 мг/мл. Для визначення біохімічних параметрів експериментальних особин утримували в демографічних клітках протягом 30-ти днів при даних харчових умовах. Вміст глюкози (глікогену) та триацилгліцеридів визначали колориметрично ензиматичним методом із використанням діагностичних наборів за вказівками виробника (Глюкоза-Моно-400-Р та Тригліцериди-Моно-100-Р, "Реагент"). Відносний рівень мРНК у головах (*dilp2*, *dilp3*, *dilp5*) та тілах мух (*dilp6*, *tobi*, *akh*, *bmm*, *perck*)

вимірювали із використанням інструментів ABI Prism 7000 (Applied Biosystems) та діагностичного набору QuantiTect SYBR Green PCR Kit (Qiagen).

Для встановлення геропротекторної властивості, ми визначали тривалість життя особин обох статей *Drosophila* при споживанні середовищ із додаванням різних концентрацій лофанту. Спостерігали продовження тривалості життя як самок, так і самців при додаванні лофанту в експериментальне середовище. Більше того, виживання особин обох статей підвищувалось зі збільшенням вмісту лофанту у дієті.

Додавання лофанту у експериментальне середовище у концентрації 10 мг/мл призводило до зниження вмісту глюкози в тілі самців, однак, не впливало на даний показник у експериментальних самок. Цікаво, що значно вищий рівень запасання глікогену та триацилгліцеридів (ТАГ) у тілі як самок, так і самців спостерігалось при споживанні середовищ із додаванням лофанту. Ми визначили відносний рівень експресії генів задіяних у регуляції метаболізму та тривалості життя. Так, споживання 5 мг/мл лофанту призводило до вищої експресії *dilp2*, однак до зниження рівня мРНК *dilp3* та *dilp6*, та не впливало на *dilp5*, *tobi*, *akh*, *bmm*, *perck*.

Отже, споживання Лофанту анісового продовжувало тривалість життя плодової мушки, що підтверджує його геропротекторну дію на організм. Окрім того встановлено, що лофант регулює метаболічні процеси через контроль експресії генів *dilp2* (метаболізм глюкози), *dilp3* (метаболізм ліпідів) та виживання, *dilp6* (метаболізм ліпідів).

СТАН ПРО/АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ІЗ АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ І ЗА ДІЇ ЦИТРАТІВ ВАНАДІЮ ТА ХРОМУ

СУШКО О.О., ІСКРА Р.Я.

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН, ЛЬВІВ, УКРАЇНА;
e-mail: sushko.ola@gmail.com

Цукровий діабет (ЦД) є важливою медико-соціальною проблемою, яка зумовлює високу захворюваність та поширеність з частими хронічними ускладненнями. Характеризується хронічною гіперглікемією, порушенням вуглеводного, ліпідного та протеїнового обміну, що асоціюється з абсолютною чи відносною недостатністю інсуліну. Патогенез ускладнень, які виникають за цього захворювання пояснюється в основному пероксидним окисленням ліпідів (ПОЛ) і оксидативним стресом (Ishida, 2018). Наявні пероральні гіпоглікемічні препарати не мають бажаних властивостей, тому дослідження спрямовані на виявлення більш ефективних та безпечних профілактичних діабетичних препаратів. Одними із таких є сполуки ванадію (V) та хрому (Cr), що виступають міметиками інсуліну та можуть посилювати чутливість клітин до гормону.

Дослідження проводилось на щурах лінії Вістар, яких розділили на чотири групи. Тварини I (контрольної) та III групи вживали чисту воду без добавок; II та IV – споживали воду з цитратами ванадію в кількості 0,5 мкг V/мл води та хрому – 0,1 мкг Cr/мл води. У тварин III і IV груп викликали ЦД шляхом внутрішньоочеревинного введення 5 % розчину моногідрату алоксану у кількості 150 мг/кг маси тіла. Після 40-добового періоду експерименту тварин декапітували та виділяли тканини для досліджень. У гомогенатах тканин печінки та скелетних м'язів визначали вміст продуктів ПОЛ: гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) і ТБК-активних продуктів, а також активність ензимів антиоксидантного захисту: каталази (КТ), супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіонредуктази (ГР) та вміст відновленого глутатіону (ВГ). Статистичне опрацювання здійснили за допомогою Microsoft Excel та порівнювали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні.

За сумісної дії цитратів V та Cr у скелетних м'язах інтактних тварин II групи знижувався вміст ГПЛ та ТБК-активних продуктів на 22,8 і 34,7 % та КТ- та ГПО активності на 28,4 і 46,7 %, відповідно

($P < 0,05$). У тканинах печінки щурів II групи вміст ТБК-активних продуктів знижувався на 16,5 %, однак зростали СОД активність і вміст ВГ ($P < 0,05$). За експериментального ЦД в обох тканинах тварин III групи зростав вміст продуктів ПОЛ ($P < 0,05$), що в перспективі може призводити до дегенеративних та судинних ускладнень. В той час у печінці та скелетних м'язах вірогідно знижувалась СОД активність, відповідно на 36,3 та 19,6 % та вміст ВГ – на 53,5 і 34,1 %. Крім цього, у печінці відзначено зниження КТ-, ГР- та ГПО активності, відповідно на 19,2 40,2 та 40,3 %, однак їх зростання у скелетних м'язах на 26,7, 62,3, 43,4 % ($P < 0,05$) відносно контролю.

За сумісної дії цитратів V та Cr на тлі ЦД у тварин IV групи нормалізувалися показники про/антиоксидантної системи, а саме у скелетних м'язах спостерігалось вірогідне зниження ГПЛ на 55,7 % та ТБК-активних продуктів – на 30,4 %, а в печінці лише ТБК-активних продуктів – на 14,5 %, відносно тварин III групи. У печінці та скелетних м'язах зростала СОД активність, відповідно на 17,3 і 14,1 % та вміст ВГ – на 71,1 і 22,5 %, порівняно до III групи ($P < 0,05$). ГПО- та КТ активність знижувалися у скелетних м'язах на 46,2 та 51,8 % та зростали у печінці – на 29,1 та 15,8 %, відносно III групи ($P < 0,05$).

Збільшення активності ензимів АОС за дії цитратів V та Cr може відбуватися як за рахунок синтезу нових молекул антиоксидантних ензимів, так і за рахунок прямої активації їхньої ензиматичної активності. Крім цього, ці елементи здатні покращувати дію інсуліну, який, у свою чергу, також активує АОС. Отримані результати узгоджуються з іншими даними, які вказують на нормалізацію системи про/антиоксидантного захисту за додаткового введення сполук V та Cr до раціону тварин із гіперглікемією (Suzan, 2013; Iskra, 2018). Внесення до раціону тварин цитратів V та Cr є ефективним у профілактиці порушень про/антиоксидантної системи в організмі за ЦД.

ГЛУТАМАТ-ОПОСЕРЕДКОВАНА МОДУЛЯЦІЯ ВИВІЛЬНЕННЯ ГАМК ІЗ НЕРВОВИХ ТЕРМІНАЛЕЙ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДЗ ГІПОВІТАМІНОЗУ

ТАРАСЕНКО А.С., КРУПКО О.О.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: tas@biochem.kiev.ua

Тривалий ДЗ гіповітаміноз, як і нестача вітаміну Д3 в період ембріонального розвитку, є фактором ризику розвитку численних нейродегенеративних захворювань, таких як розсіяний склероз, хвороби Паркінсона і Альцгеймера. Низький рівень вітаміну Д3 корелює зі схильністю до виникнення станів тривожності, депресії та шизофренії. Показано, що всі вищезазначені психічні розлади супроводжуються також змінами в функціонуванні метаболічних глутаматних рецепторів (mGluRs) II та III групи, які експресуються в основному на пресинапсі і модулюють вивільнення різних нейромедіаторів. Отже, метою роботи стало дослідження впливу тривалого ДЗ гіповітамінозу на функціонування III групи mGluRs і опосередковане ними вивільнення гальмівного нейромедіатора гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК).

Експерименти були проведені на ізольованих нервових терміналях (синапсосомах) мозку щурів, які протягом 60 днів утримувалися на ДЗ-дефіцитній дієті (№ 11222-65). Контрольна група тварин весь цей період перорально отримувала вітамін Д3 у дозах 400 МЕ/кг на добу. Основним методичним підходом був радіоізотопний метод за використанням міченої ГАМК (^3H -ГАМК). Як модулятор активності mGluRs був використаний ММРІР – негативний алостеричний модулятор сьомої підгрупи III групи mGluRs (mGluRs 7), які локалізовані в активній зоні пресинапсу.

Раніше ми показали, що тривалий ДЗ гіповітаміноз порушує ГАМК-ергічну нейротрансмісію, що проявляється в збільшенні нестимульованого і зменшенні стимульованого 4-амінопіридином (4-АП) вивільнення ^3H ГАМК з нервових терміна-

лей. Додавання ММРІР (1 мкМ) безпосередньо перед аплікацією 4-АП призвело до збільшення екзоцитозного вивільнення ^3H ГАМК на $23,5 \pm 5,74\%$ у контролі і майже на 50% у тварин, що зазнали дії експериментального ДЗ гіповітамінозу. Важливо відзначити, що стимулюючий ефект ММРІР був протилежний до дії акцептора холестеролу метил- β -циклодекстрину, в присутності якого 4-АП-індукований екзоцитоз був навпаки зменшений. Це дозволяє припустити, що саме рівень мембранного холестеролу, який за даними співробітників нашого відділу значно збільшується за умов тривалого ДЗ гіповітамінозу, є одним з ключових факторів, що впливає на функціонування mGluRs 7. ММРІР-індукована модуляція ГАМК-ергічної нейротрансмісії у ДЗ гіповітамінозних щурів виявилася також дуже чутливою до дії скавенджера вільних радикалів N-ацетил-цистеїну (N-АЦ). На відміну від контрольних синапсосом, в яких N-АЦ достовірно не впливав на досліджувані параметри, попередня інкубація ДЗ гіповітамінозних синапсосом з 0,5 мМ N-АЦ призвела до суттєвого зменшення ММРІР-індукованого 4-АП-стимульованого вивільнення ГАМК. Це вказує на те, що зміни у функціонуванні mGluRs 7 опосередковані також залученням активних форм кисню, рівень яких, як ми показали раніше, підвищується у ДЗ гіповітамінозних щурів. Отже, отримані дані свідчать про високу чутливість ГАМК-ергічної нейротрансмісії до модуляторів mGluRs 7 за умов тривалого ДЗ гіповітамінозу, що дозволяє розглядати ці рецептори як фармакологічні мішені для коригування негативних наслідків нестачі вітаміну Д3.

PLASMINOGEN/PLASMIN AFFECTS EXPRESSION OF CELL CIRCLE/APOPTOSIS REGULATORS AND INDUCES AUTOPHAGY IN A549 HUMAN LUNG CANCER CELLS

ТЯХОМІРОВ А.А.¹, НЕДЗВЕТСЬКИЙ В.С.², АґСА С.А.², ГУЗЬК М.М.¹, ГРИНЕНКО Т.В.¹

¹PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²BINGÖL UNIVERSITY, BINGÖL, TURKEY;

e-mail: artem_tykhomyrov@ukr.net

Plasminogen/plasmin (Pg/Pm) system plays a fundamental role in tissue remodeling, tumor cell migration and invasion, development of metastasis and

angiogenesis by proteolysis of extracellular matrix (ECM) or by activating intracellular signaling pathways leading to changes in cell adhesion and viability. Due

to loss of contact with ECM or neighboring cells, normal cells undergo an apoptotic process known as “anoikis”, however, cancer cells acquire anoikis resistance and can survive after detachment. Therefore, dysregulation of anoikis is a critical mechanism in tumor metastasis and may represent an “Achilles heel” of cancer. Little is known about mechanisms of anoikis resistance in cancer cells, while autophagy is thought to contribute to avoidance of anoikis as well as chemotherapy resistance of tumors. The aim of the present study was to determine Pg/Pm-induced changes in expression of some cell cycle and apoptotic regulators, angiogenesis mediators and autophagy markers in human lung adenocarcinoma cells.

A549 cells were incubated with Glu-Pg (0.1–1.0 mcM) at 37 °C for 24 h in serum-free DMEM. After treatment, cell viability was assessed by MTT-test. Pm activity was monitored spectrophotometrically with the use of specific chromogenic substrate S-2251. Levels of regulatory proteins were studied in cell lysates by western blot. Localization of p53 protein in the Pg-treated and intact cells was visualized by immunocytochemistry (ICC) using confocal laser microscope LSM510. Autophagy was measured by LC3-I/II conversion, LC3 puncta and autophagosome formation and beclin-1 expression. All measurements were conducted in triplicate, quantitative data were analyzed with the use of Mann-Whitney *U*-test, *P* less than 0.05 was considered as statistically significant.

Incubation of A549 cells with Pg resulted in concentration-dependent Pm formation. Pg/Pm had no effect on A549 cells survival, although caused robust changes in cell morphology and degraded fibronectin, resulting in cell detachment. In contrast, 1.0 mcM Pg appeared to be cytotoxic for non-transformed embryonic fibroblasts. It was shown that 0.1 mcM Pg induced

translocation of p53 inside the nuclei, where it can work to maintain genome stability, though, too much p53 may not be beneficial to cells and causes lethality. Pg/Pm (0.5–1.0 mcM)-induced up-regulation of MDM2 oncogenic protein indicates pro-survival signaling through negative regulation of p53 pro-apoptotic activity, induction of p53 protein degradation, and inhibition of p53 intranuclear translocation by forming cytosolic MDM2-p53 complex. In parallel, Pg induced up-regulation of PARP-1, a key facilitator of DNA repair. Decreased levels of caspase-9, Bax, p21, and RPA70 induced by Pg/Pm may be considered as anti-apoptotic stimuli and provide the reversibility of the cell cycle arrest and restart of DNA synthesis. TIGAR protein level was up-regulated in Pg-treated A549 cells, indicating switch on pentose phosphate pathway, protection against oxidative stress to prevent apoptosis, facilitation of DNA repair and the degradation of their own organelles (autophagy). Down-regulation of Akt (protein kinase B) by Pg/Pm may negatively affect cell survival, function of glucose transporters, and cell metabolism, however, inhibition of Akt promotes lysosomal formation and autophagy. Elevation of beclin-1 levels and enhanced LC3-I/II conversion in Pg-treated cells are the hallmarks of autophagy induction. In accordance with ICC data, increased LC3 puncta and autophagosome formation in Pg-treated cells indicate activation of autophagic response.

In conclusion, the present results suggest that stimulation of pro-survival signals, suppression of death signals, and induction of reparative autophagy are involved in apoptosis/anoikis resistance of Pg/Pm-affected cells. Based on the obtained data, targeting autophagy may be used in the future for suppression of tumor cell dissemination and treatment of lung cancer.

THE EFFECT OF N-STEAROYLETHANOLAMINE ON AGE-RELATED AND DIET-INDUCED CHANGES OF PLASMA LIPOPROTEINS AND ADIPONECTIN LEVEL

TKACHENKO O.S., KOSIAKOVA H.V., HULA N.M.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: 888oksana.tkachenko @gmail.com

Adiponectin is adipokine secreted by the adipose tissue and it is shown to be down-regulated in states of insulin resistance and associated with the lipoprotein metabolism. Diet-induced obesity, as well as aging, influence adiponectin secretion and lipoprotein metabolism and consequently provoke cardiovascular diseases. That is why the aim of our study was to investigate the level of adiponectin and content of cholesterol of high-density lipoproteins (HDL) and low-density lipoproteins (LDL) in plasma of different age rats with high-fat diet (HFD)-induced insulin

resistance (IR) and their changes under N-stearoylethanolamine (NSE) administration.

The experimental model was induced in 10-month and 24-month-old rats by HFD and confirmed by the oral glucose tolerance test. NSE was administered *per os* for 2 weeks. Plasma adiponectin level was measured using ELISA kit (Thermo Fisher Scientific, Austria). HDL and LDL cholesterol content was measured using commercial kits (Spinlab, Kharkiv, Ukraine) with calibrator (Spinreact, Spine). Experimental data were processed statistically using Stu-

dent's t-test. The statistical significance was determined for $P < 0.05$.

The results of this study demonstrated that adiponectin level in plasma of 24-month-old rats was on 8 % higher than in 10-month-old rats. Prolonged HFD statistically significantly decrease plasma adiponectin concentration compared to control animals from younger and elder groups and NSE administration favors a considerable effect on its normalization in both age groups.

The long-term dietary fats overload caused the disturbance of the lipoprotein profile of 10-month-old rat plasma: almost 1.5 times increase of the content of plasma LDL compared to the control group was observed. The results of the experiment did not show statistically significant changes in plasma lipoprotein

level of 24-month-old rats after long-term HFD. NSE treatment reduced LDL level on 43 % and caused the growth of HDL content in plasma of younger rats with impaired insulin sensitivity.

It was demonstrated that prolonged HFD induces IR and leads to changes in adiponectin level in plasma of different age rats. Plasma lipoprotein profile changes were observed in younger rats, whereas no significant changes were detected in elder animals after dietary fats overloading. As far as NSE administration had a positive effect on the normalization of adiponectin level in both age groups and influence on plasma lipoprotein composition of 10-month old rats, we can consider NSE as a prospective agent for the treatment of obesity-induced and age-related metabolic disorders threatening the cardiovascular diseases.

THE PECULIARITIES OF CARBONYL STRESS DEVELOPMENT IN RATS UNDER CONDITIONS OF DIABETES AND DIABETES, COMPLICATED WITH RHABDOMYOLYSIS

TOKARCHUK K.O., ZAITSEVA O.V., KRYSIUK I.P., SHANDRENKO S.G.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: kate_tokarchuk@ukr.net

Reactive carbonyls are formed during lipid peroxidation and protein glycation. Due to irreversible modifications of proteins, they influence their functions.

The aim of this research was to study the carbonyl stress development in rats under conditions of streptozotocin-induced diabetes (STZD, model of hyperglycemia) and diabetes, complicated with glycerol-stimulated rhabdomyolysis (RM, oxidative stress model) as well as to check the ability of Corectin 2 (complex dietary supplement at hypercarbonyl state, Cor2) to decrease the carbonyl stress manifestation. Animal groups (n=8) were as following: gr. 1 – control; gr. 2 – STZD; gr. 3 – STZD+RM; gr. 4 – STZD+RM+Cor2. For diabetes induction, rats (gr. 2-4) were injected with incomplete Freund's adjuvant (1 ml) and after 24 h with streptozotocin (STZ, 25 mg/kg) weekly for 3 times. For RM stimulation, rats (gr. 3–4) were injected intramuscularly with 50 % glycerol solution (10 ml/kg) at 7th day after last STZ injection. Cor2 consisted of 10 % L-lysine, 8 % L-glycine, 2.5 % N-acetyl-cysteine, was given to rats per os (gr. 4, 10 ml/kg/day) for 2.5 months.

Blood glucose level 27 ± 8 mmol/l was accepted as diabetic, vs. control 6.5 ± 1.7 mmol/l at the 7th day after last STZ injection. After 3 months from the beginning of the experiment, animals were decapitated.

Total aldehydes (purpald assay), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), protein CO groups

(ELISA), low weight SH groups, and carboxymethyl lysine (CML, ELISA) were determined.

In STZD, carbonyl stress development was revealed by the increase of aldehydes level in plasma by 21 % and in liver by 64 %, TBARS by 4 times in both plasma and liver, CO by 33 %, CML by 67 % in plasma as well as by the decrease of SH groups in liver by 44 % vs. control.

In RM+STZD, the decrease of aldehydes level by 52 % in liver, TBARS by 11 % in liver, CO groups by 20 % in plasma, CML by 11 % in plasma and the increase of SH groups by 20 % in liver vs. STZD were demonstrated. Taking the data obtained into account, it is important to indicate that STZD complicated with RM possesses significant effects at carbonyl stress. To elucidate the mechanisms of this phenomenon, future studies are needed.

After Cor2 use, the decrease of aldehydes level by 50 % in plasma and by 65 % in liver as well as decrease of TBARS by 2.5 times in liver and by 3 times in plasma, CML by 2 times in plasma and the increase of SH groups by 23 % vs. RM+STZD was observed. These effects may be due to complexes formation between exogenous cysteine and lysine with aldehydes that may potentially lead to biological targets protection.

Thus, it was shown that Cor2 has the ability to decrease the carbonyl stress negative effects.

THE CALCIUM-BINDING PROTEIN S100B, RECEPTOR FOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS (RAGE) AND GLYCOSAMINOGLICANS AS REGULATORS OF ETIOPATHOGENESIS OF NEURODEGENERATION

USHAKOVA G.O.

OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, DNIPRO, UKRAINE;
e-mail: ushakova_g@ukr.net

The role of astrocytes, the main glial cells that control the physiology of neurons and the state of the central nervous system. Many etiopathogeneses of neurodegeneration depend or trigger increasing reactive astrocytosis with the presence of hypertrophic astrocytes surrounding degenerating neurons and the formation of a glial scar in late phases of the disease. The calcium-binding protein S100B expressed by astrocytes in CNS in healthy conditions is believed to exert trophic actions with low concentrations, while at high concentrations it may induce the cascade of events leading to cell injury. S100B protein can be released in pathological states activating the receptor for advanced glycation end products. RAGE is expressed at low levels in most tissues in the human (and all mammals) in homeostasis (with exception to this is in the lung). The expression of RAGE is low in the absence of stress and is upregulated in diseases such as neurodegeneration, diabetes, obesity, malignant disorders and autoimmune/inflammatory conditions. Glycation of biological macromolecules results in the progression of advanced glycation end-products (AGEs) that proliferates the process of pathogenesis by activation of transcription factors and release of cytokines.

The key role of changes of S100B, RAGE and glycosaminoglycans (GAG) in the regulation of fundamental biological processes and under different pathological conditions that provoke neurodegeneration development has been established in our laboratory in the last decades and will be presented.

The different rates of elevation of S100B (especially in the hippocampus and thalamus) with corre-

lated changes of RAGE and GAG were established under stress of rats with pituitrin-isoproterenol-induced myocardial damage, classical water restraint stress and modified restraint stress with changed biorhythm. The progressive S100B and reactive astrogliosis were noted for aged animals that associated with many physiological alterations such as behavior, food intake and brain dysfunction. The acute reduction of neurons in the CA1 layer of the hippocampus was accompanied by increased calcium-binding protein S-100b to 1,6 times at 7 days after occlusion of carotid arteries. Experimental results suggest that the reaction of astroglial cells may be the earliest response of the brain tissue to an altered metabolism (especially for oxygen and glucose) playing presumably the critical role in the mechanisms underlying neurodegeneration.

The further detailed study of the mechanism of change in the level of S100B, RAGE and GAG and a correlation between them in different brain areas upon chronic diseases are under investigation to understand the role of this axis in the contexts of paradigms for synaptic plasticity impact under pathological condition.

For today, it is believed that the soluble RAGE can bind β A and prevent its penetration into the brain, develops a protective effect and restores the state of spatial memory in experimental animals. Experimental results suggest that the S100B-RAGE axis can be a trigger for the pathogenesis of neurodegenerative diseases. Its blockage may be a potential approach for a therapeutic or preventive treatment for inhibition of encephalopathy development.

EVALUATION OF ANTIHYPERGLYCEMIC EFFECTS OF ROSE PERIWINKLE AND BITTER MELON EXTRACTS AND GREEN SYNTHESIZED ZNO NANOPARTICLES TOWARDS COMMON CARP MODEL

FALFUSHYNSKA H.I., HORYN O.I., KHOMA V.V., BUYAK H.B., CHEBENYAK O.I.
TERNOPIL VOLODYMYR HNIATUK NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: falfushynska@tntpu.edu.ua

The number of patients with endocrinopathies, primarily diabetes mellitus and obesity, is steadily increasing throughout the world. It has been highly appreciated that appropriate animal models that familiarly resemble the hyperglycemia and type 2

diabetes are urgently needed for a deeper appreciation of biochemical mechanisms implicated early in the development and progression of the disease as well as testing of novel scheme of therapeutic intervention. In the previous articles, we have shown that cyprinidae

fish should serve as the convenient and alternative animal models that mimic hyperglycemia states and react similarly to glucose toxicity as higher vertebrates (Falfushynska et al., 2019). Then we are following new research tasks and evaluate the response of *Cyprinus carpio* red blood cells (RBC) to high glucose exposure *in vitro* and potentials of medicinal herbs (*Catharanthus roseus* and *Momordica charantia*) and zinc-containing compounds against glucose toxicity. RBC were incubated at 20 °C for 48 h with manufactured ZnO nanoparticles (77 μmol), herbal extracts (leaf extract of *C. roseus* and fruits extract of *M. charantia*) and synthesized (by means of green-synthesis technology) ZnO-herbal complexes. Experimental groups were constituted of RBC in 40 mM glucose, and simultaneously exposed to zinc-containing substances and herbal extracts, when control was treated with 5 mM glucose. We determined oxidative stress parameters, namely catalase, lipid peroxidation, protein carbonylation and glutathione, as well as rate of hemolysis.

The results showed that the glucose treatment was capable of causing the oxidative stress and enhancing the rate of hemolysis. When glucose-treated RBC were probed with tested compounds, specific response to different co-exposures, but similar

to compatible compounds was disclosed. Co-treatment of RBC with nano-zinc oxide deepened changes induced by glucose, videlicet stimulation of lipid and protein oxidation and oppression of catalase and glutathione. *Momordica* which is well-known nutraceutical with metabolic and antiglycemic effects and tested *Catharanthus roseus* both in herbal extract and ZnO-herbal complex have protected RBC from lipid and protein oxidation induced by glucose, highly likely via stimulation of antioxidants namely catalase and glutathione which came back to control baseline. The ability of *Catharanthus* and *Momordica* ZnO-containing complexes to protect RBC from glucose-induced cell lysis was first investigated. Extensive hemolysis was induced in the presence of glucose alone, while cells co-exposure with herbal extracts and particularly with ZnO-herbal complexes the oxidants demonstrated a reduced rate of hemolysis when faced with glucose.

Obtained results disclosed the necessity of further studies of the antihyperglycemic activity of *M. charantia* and *C. roseus* as well as their green-synthesized ZnO nanoparticle and mechanistic explanation of their potentials.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (P. # 133B).

BIOCHEMICAL BASIS OF THE ADAPTATION OF BIVALVE MOLLUSKS TO ENVIRONMENTAL STRESS. COMPARISON OF NATIVE AND INVASIVE SPECIES

KHOMA V.V.¹, GNATYSHYNA L.L.^{1,3}, RAROK YU.S.¹, MARTINYUK V.V.¹, DRUVIETIS I.², OZOLIŅŠ D.², PARELE E.², SKUJA A.², MISCHUK N.Y.¹, ZHYRSKA H.Y.¹, KOKORĪTE I.², SPRINĢE G.H.², STOLIAR O.B.¹

¹VOLODYMYR HNATYUK TERNOPIL NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

²UNIVERSITY OF LATVIA, SALASPILS;

³I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: Oksana.Stolyar@tntpu.edu.ua

The development of a stress syndrome is a typical response to environmental challenges. However, during the last decade, the comparison of different species and populations in their ability to produce stress response detected that invasive species or the populations adapted to the polluted environment are more tolerant towards stress than taxonomically related native species or the populations from pristine sites. This regularity mainly relies on the studies of aquatic animals according to the "stress on stress" scenario. Bivalve mollusks are excellent indicator organisms to assess the effects of environmental stressors on aquatic ecosystems and human exposure. The objective of this study was to compare the limits and directions of stress responses in the native and invasive species of bivalve mollusks from different populations. For this purpose, we selected the native species swollen river mussel *Unio tumidus* and invasive species

zebra mussel *Dreissena polymorpha* inhabiting artificial reservoirs that are presumably polluted by municipal and agricultural effluents (A-groups) and from the natural sites in the rural or pristine areas, presumably clean (C-groups) in Ukraine and Latvia. We applied the widely utilized biochemical markers, namely the indices of oxidative and reductive stress, metallothionein concentration and cholinesterase (ChE) activity. Vitellogenin-like proteins, determined as alkali-labile proteins (ALP), were included as components that supply gametogenesis with phosphates and zinc and can be induced by endocrine disruptors. The indices of apoptosis, caspase-3 and cathepsin D and lysosomal permeability were also evaluated.

The indigenous A-mussels demonstrated the peculiar responses typical for the polluted environment: the depletion of the ChE and increased level of ALP (by ~5 times). They were also distinguished by

the loss of lysosomal integrity and high glutathione S-transferase (GST) activity that can be induced by the pollution by organic substances. Level of metallothioneins was highest in the A-group of *U. tumidus* from four groups of comparison that can be explained by the high copper concentration in the tissue of digestive gland. The highest cathepsin D lysosomal activity and efflux in the A-group of *U. tumidus* attested the response of autophagy. All these signs reflected the impact of pollution by neurotoxic substances, endocrine disruptors and toxic metals. On the other hand, the indigenous C-mussels had the highest levels of oxidative stress indices, both reduced glutathione (GSH) and the lipid peroxidation detected as the accumulation of TBARS.

Invasive species demonstrated some similar peculiarities of A- and C-groups in terms of the oxidative stress response (GSH depletion) and ALP level.

However, the GST and ChE activities and metallothionein concentration were similar in A- and C-groups. Unexpectedly, the lysosomal cathepsin D efflux in the A-group of zebra mussels was 1.6 times lesser than in their C-counterparts.

The calculation of integrated biochemical marker response index (IBR) indicates the highest limits of responses in the indigenous mollusks, particularly due to markers of toxicity in the A-groups and stress responses in the C-groups. This comparison gives a new proof to the regularity that the invasive species are more tolerant to the polluted environment compare to the native species.

This work has been granted by the awards of Ministry of Education and Science of Ukraine to Oksana Stoliar (Projects M/70-2017; M/35-2018 and 132B) and State Education Development Agency of Latvia to Gunta Springe (Project LV-UA/2016/5).

ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ПЕЧІНЦІ МИШЕЙ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ПЕРІОДИЧНОГО ГОЛОДУВАННЯ

ХОМ'ЯКОВА І., МОСІЙЧУК Н.

ДВНЗ "ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА",
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail:iryakhomiakova@ukr.net

Печінка є центральним органом у гомеостазі глюкози, метаболізмі та детоксикації ксенобіотиків, біосинтезі та деградації стероїдних гормонів. Хоча основні функції печінки добре зберігаються з роками, деякі зміни все ж відбуваються, зокрема знижується здатність до регенерації та печінковий кліренс лікарських засобів. На додаток, з віком знижується активність антиоксидантних ензимів у печінці, що може призводити до пошкодження протеїнів та ліпідів. Періодичне голодування є однією з стратегій продовження тривалості життя та зниження захворювань, пов'язаних з віком.

Метою даної роботи було дослідити інтенсивність процесів окислення та антиоксидантного захисту у печінці мишей різного віку за умов періодичного голодування. Експерименти проводили на мишах лінії C57BL/6 обох статей трьох вікових груп: 6-, 12- та 18-місяців. Мишей розділяли на дві групи: контрольну, яка отримувала необмежений доступ до їжі і дослідну, яка перебувала на режимі періодичного голодування (ПГ) протягом 3 місяців (для 6-місячних тварин) або 6 місяців (для вікових груп 12- та 18-місяців). По закінченні експерименту тварин декапітували, швидко відбирали печінку, промивали фізіологічним розчином та заморожували у рідкому азоті для подальшого аналізу. У печінці визначали вміст карбонільних груп протеїнів, пероксидів ліпідів, глутатіону, а також активність антиоксидантних ензимів. Статистичну об-

робку даних проводили з використанням програми GraphPad Prism 7, для оцінки достовірності різниці використовували тест Тьюкі.

Вміст карбонільних груп протеїнів вірогідно не змінювався з віком у печінці самців, та дещо зменшувався у самок. Періодичне голодування зумовлювало нижчий рівень окислених протеїнів у 6-місячних самців та 12-місячних самок, порівняно з відповідними контролями. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів була вищою у печінці 12- та 18-місячних тварин обох статей порівняно з такою у 6-місячних мишей. Періодичне голодування не впливало на даний показник у печінці мишей. Вміст відновленого глутатіону знижувався з віком як у самців, так і у самок. Періодичне голодування знижувало вміст відновленого глутатіону у печінці самок трьох вікових груп та 12-місячних самців. Вміст окисленого глутатіону був вищим у печінці 12- та 18-місячних самок порівняно з 6-місячними. В умовах ПГ даний показник знижувався у 6- та підвищувався у 12-місячних самок. Активність супероксиддисмутази (СОД) зростала з віком у печінці самців та не змінювалася у самок. Зниження активності СОД спостерігалось у печінці 18-місячних самців та 12- і 18-місячних самок, які перебували в режимі ПГ. Активність каталази та глутатіон-S-трансферази (ГСТ) знижувалася з віком у печінці як самців, так і самок. Періодичне голодування знижувало активність каталази тільки

у печінці 6-місячних самок. Активність GST була нижчою у 6-місячних самців та самок, які перебували в режимі ПГ, порівняно з контрольною групою. Активність глутатіонпероксидази зростала з віком у печінці мишей обох статей. Періодичне голодування не впливало на активність даного ензиму у самок, тоді як у самців вірогідно нижча активність

даного ензиму порівняно з контролем спостерігалася тільки у печінці 6-місячних тварин.

Аналізуючи отримані результати можна зробити висновок, що з віком посилюється інтенсивність вільнорадикальних процесів у печінці мишей обох статей. Періодичне голодування знижує інтенсивність оксидативного стресу у печінці переважно молодих мишей (6-місячних).

СТАН АНТИОКСИДАНТНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ В УМОВАХ ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ

ЦВІЛІХОВСЬКИЙ В.І., ЖИРЯКОВА І.О., МАХЕНДІРАРАСА Л.П.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: ivesnyanka@gmail.com

Дослідження стану штучного вуглекислотного гіпобіозу зв'язано з перспективами його використання в ветеринарії та тваринництві, а саме як способу загального знеболювання, консервації клітин крові тощо.

Пристаюючи до умов, за яких створюється стан штучного вуглекислотного гіпобіозу, в організмі тварин знижується рівень та інтенсивність метаболічних процесів.

Основною причиною окисного стресу є не скільки продукція активної форми кисню (АФК), а порушення балансу між його генерацією і видаленням. За елімінацію АФК в організмі відповідає система антиоксидантного захисту, яка включає ензимну й неензимну складову та контролює інтенсивність індукованих АФК проокисних процесів. У гоміотермних тварин за умов стресу інтенсифікуються енергетичні процеси та, відповідно, зростає їх інтенсивність.

За умов штучного гіпобіозу окисні процеси у тканинах організму контролюються системами антиоксидантного захисту. При виході зі стану штучного гіпобіозу слід відзначити відновлення нормального протікання окисних процесів.

Вуглекислий газ CO_2 може реагувати з вільними радикалами, а в залежності від умов реакції це може спонукати або інгібувати процеси вільнорадикального окислення.

За умов штучного гіпобіозу не відбувається активація окисних процесів у тканинах організму. При цьому спостерігаються різноспрямовані зміни активності ензимів системи антиоксидантного (АО) захисту, що може бути обумовлено структурно-функціональними особливостями тканини певного органу.

Здатність системи АО захисту тканин організму стримувати розвиток проокисних процесів у тканині може бути обумовлена структурними особливостями цієї тканини.

Зниження інтенсивності окисних процесів за умов штучного гіпобіозу може бути наслідком функціональних змін дихального ланцюга мітохондрій, які призводять до зниження рівня і інтенсивності енергетичного обміну.

Питання щодо встановлення взаємозв'язку між функціонуванням дихального ланцюга мітохондрій і про/антиоксидантним станом в тканинах організму за умов штучного гіпобіозу, потребують детального вивчення та подальших досліджень.

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ШЛУНКА ЩУРІВ НА ТЛІ ГІПЕРФУНКЦІЇ ЕПІФІЗУ У АКТИВНИХ ТА ПАСИВНИХ ЩУРІВ

ЦВЯХ О.О., ЛАРИЧЕВА О.М., ЧЕБОТАР Л.Д.

МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. О. СУХОМЛИНСЬКОГО, УКРАЇНА;

e-mail: tsvyakho@gmail.ru

Посилення вільнорадикальних процесів та накопичення продуктів пероксидного окислення є однією з причин порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги слизової оболонки шлунково-кишкового тракту. На противагу вільно-ради-

кальним процесам в тканинах організму діє антиоксидантна система, основною функцією якої є знешкодження вільних радикалів. До цієї системи входять вітамін А, каротиноїди, токоферол, аскорбінова кислота, селенові похідні, система глутаті-

ону, мелатонін, а також ензими: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та ін. Дослідження останніх років показують, що активний спосіб життя також впливає на кількість вільних радикалів, вміст яких збільшується, і саме вони є основним фактором порушення як обмінних процесів, так і поділу клітини, і причиною виникнення вільнорадикальних патологій. Тому метою нашого дослідження стало вивчення впливу надлишку мелатоніну на процеси антиоксидантного захисту у шлунка щурів з різною поведінковою активністю.

В експерименті використано 32 щури лінії Wistar середньою масою 260–280 г. Після проведення тесту “Відкрите поле” було сформовано 4 експериментальні групи: перша – інтактні активні щури; друга – інтактні пасивні щури; третя – пасивні щури з гіперфункцією епіфіза; четверта – активні з гіперфункцією епіфіза. Гіперфункції епіфізу моделювали цілодобовим перебуванням у темряві та введенням мелатоніну внутрішньошлунково зондом у дозі 1 мг/кг маси тіла на добу. Для оцінки стану антиоксидантної системи шлунка щурів визначали наступні показники в гомогенатах: вміст α -токоферолу, вітаміну А та β -каротину визначали спектрофотометрично з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції, активність СОД по реакції автоокислення адреналіну і каталази за методом М.А. Королюк. Статистичний аналіз проводили з використанням комп’ютерної програми Microsoft Office Excel 2007.

Встановлено, що концентрація β -каротину знизилась тільки у пасивних щурів з гіперфункцією епіфіза на 31 % ($P < 0,05$), порівняно з інтактною групою і склала $0,318 \pm 0,09$ ммоль/кг.

Концентрація вітаміну А у активних щурів на тлі гіперфункції епіфіза практично не змінювалась, у пасивних – збільшувалась в 4 рази порівняно з інтактними пасивними тваринами ($P < 0,01$) і становила $1,33 \pm 0,79$ ммоль/кг.

Відмічено зростання вмісту α -токоферолу як у групі активних, так і пасивних щурів. В активних щурів показники збільшилися в 2 рази ($P < 0,05$) і досягли $1,4 \pm 0,41$ ммоль/кг, а у пасивних – в 5 разів ($P < 0,01$) і досягли концентрації $2,542 \pm 0,66$ ммоль/кг порівняно з відповідними інтактними групами.

Активність СОД тканин шлунка в групі активних щурів при гіперфункції епіфіза знизилась на 29 % ($P < 0,05$), тоді як у групі пасивних щурів зміни активності ензиму на тлі гіперфункції епіфіза не відбулося.

Каталазна активність в тканинах шлунка активних щурів не змінилася в експерименті, тоді як у пасивних щурів при моделюванні гіперфункції епіфіза відбулося достовірне зниження активності каталази в 2,6 рази ($P < 0,05$), це склало $1,66 \pm 0,059$ мкат/кг. Можна припустити, що механізми активації антиоксидантних систем на тлі впливу надлишку мелатоніну у активних і пасивних щурів дещо різні. Встановлено, що вітаміни і мелатонін виступили у ролі основних антиоксидантів тканин шлунка щурів, без активації антиоксидантних ензимів.

ГЕПАТОТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ НАНОРОЗМІРНОГО МАТЕРІАЛУ TiO_2 ЗА УМОВИ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ *IN VIVO*

ЦИМБАЛЮК О.В., ВЕСЕЛЬСЬКИЙ С.П., НАУМЕНКО А.М.,
ДАВИДОВСЬКА Т.Л., ВОЙТЕШЕНКО І.С., СКРИЄВСЬКИЙ В.А.
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: otsymbal@bigmir.net

Діоксид титану (TiO_2) – найбільш вживаний промисловий барвник білого кольору. Зокрема, він широко використовується для надання забарвлення харчовим продуктам, косметичним і гігієнічним засобам, медичним реактивам, фармацевтичним засобам. Відомо, що понад третина TiO_2 харчового призначення має розмір наночастинок. При інтрагастральному введенні мікро- і наночастинок TiO_2 здатні транслокуватись через епітелій тонкого і товстого кишечника. Робота мала на меті здійснити вивчення впливу наночастинок TiO_2 (середній розмір 21 ± 5 нм, співвідношення поліморфів рутіл:анатаз=1:4) на функціонування печінки щурів в умовах дії *in vivo* при тривалому (упродовж 30 і 100 діб) інтрагастральному прийомі суспензії на-

ночастинок (0,01 мг/кг на добу). У роботі здійснювали визначення концентрацій загального, прямого і зв’язаного білірубіну, активності ензимів аланін амінотрансферази і аспартат амінотрансферази у плазмі крові щурів, а також проводили тимолову пробу; також визначали АТФ-гідролазні активності (загальну Mg^{2+}, Na^+, K^+ -АТРазу, базальну Mg^{2+} -АТРазу та Na^+, K^+ -АТРазу) плазматичних мембран еритроцитів. Аналіз обміну жовчних кислот в тканині печінки здійснювали із застосуванням методів екстракції та розділення рідинною тонкошаровою хроматографією.

Встановлено, що за хронічної дії (впродовж 30 і 100 діб) *in vivo* нанорозмірного матеріалу TiO_2 у плазмі крові щурів спостерігається достовірне

підвищення активності ензимів аланін амінотрансферази і аспартат амінотрансферази, а також знижується співвідношення їх активностей (індекс де Рітса), що свідчить про руйнування гепатоцитів за присутності в організмі TiO_2 . Показано, що за цих умов у плазмі крові щурів спостерігається суттєве підвищення концентрацій прямого, непрямого і зв'язаного білірубину, що вказує на TiO_2 -індуковане порушення пігментного обміну в тканині печінки. Також в умовах навантаження організму діоксином титану спостерігалось суттєве підвищення показників тимолової проби. Виявлено, що в умовах хронічної дії (впродовж 30 діб) *in vivo* нанорозмірного матеріалу TiO_2 у плазмі крові щурів спостерігається достовірне зниження концентрацій кон'югованих (таурохолевої, таурохенодезоксихолевої, тауродезоксихолевої, глікохолевої, глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої) та вільних (глікодезоксихолевої і дезоксихолевої) жовчних

кислот, тоді як концентрація вільної холевої кислоти зростала; зазначені результати вказують на суттєві порушення пігментного обміну в печінці щурів. Встановлено, що за хронічної дії (впродовж 30 і 100 діб) *in vivo* нанорозмірного матеріалу TiO_2 спостерігається суттєве пригнічення функціонування ензимів первинного активного іонного транспорту (загальної Mg^{2+} -залежної, убаїнчутливої Na^+ , K^+ -АТРази та убаїнчутливої) АТРази активностей плазматичних мембран еритроцитів; ці результати свідчать про порушення трансплазмалемальних іон-транспортувальних процесів та іонного гомеостазу в клітинах.

Отже, отримані нами результати вказують на те, що нанорозмірний матеріал TiO_2 при пероральному надходженні в організм володіє суттєвою гепатотоксичністю та при хронічній дії спричиняє значне порушення протеїнового і пігментного обміну в печінці.

ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТІВ ВПЛИВУ ВОДОРОЗЧИННИХ ФУЛЕРЕНІВ C60 ТА ІНГІБИТОРА ПРОТЕЇНКАЗ MI-1 НА ПЕЧІНКУ ЩУРІВ НА ТЛІ РАКУ ТОВСТОЇ КИШКИ

ЧЕРЕЩУК І.О., КУЗНЄЦОВА Г.М., ДЗЮБЕНКО Н.В., РИБАЛЬЧЕНКО В.К.
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: richairis@gmail.com

Відомо, що фулерени C60 є потужними антиоксидантами з протизапальною та протипухлинною властивостями, з відносно низькою токсичністю в системах *in vitro* та *in vivo*. Інгібітори протеїнказ є високоспецифічними і малотоксичними цитостатиками. Таким чином, їхня спільна дія може стати перспективною стратегією лікування раку.

Метою роботи було виявити вплив водорозчинних біосумісних фулеренів C60 (C60FAS) на функцію печінки на тлі раку товстої кишки щурів. Модель було відтворено 20 щотижневими ін'єкціями 1,2-диметилгідрозину, тварин лікували C60FAS (0,5 мг/кг на ін'єкцію) або MI-1 (2,7 мг/кг щодня), або комбіновано. Стан печінки оцінювали за допомогою мікроскопічних (забарвлення гематоксилін-еозином) та біохімічних (активність АЛТ, АСТ плазми крові, загального та прямого білірубину).

Печінка нелікованих щурів мала потовщення судинного ендотелію, тромбоз і фіброз, зростання

АЛТ і АСТ (на 11 і 24 %). Однак рівень білірубину залишався постійним, що свідчило про затримку функції печінки. Кількість уражень пухлиною знижувалася при всіх методах лікування (на 30–50 %). У групі C60FAS запальні та фіброзні особливості печінки зберігалися, АЛТ і АСТ залишалися підвищеними. MI-1 нормалізував активність амінотрансфераз і пригнічував запалення, але не фіброз. Комбінована дія C60FAS і MI призвела до зростання АСТ (на 43%) і прямого росту білірубину (на 90 %), проте зменшилося запалення і розширення сполучної тканини.

Таким чином, C60FAS та MI-1, що діють одночасно, спричиняють різні ефекти на печінку в порівнянні з їх окремим впливом: оскільки C60FAS не покращує стан печінки і MI пригнічує запалення і нормалізує функцію, то комбінований вплив на печінку інгібує функції печінки, але нормалізує її морфологію.

РЕГУЛЯЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ КРОВІ ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІІВ ЗА ВВЕДЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА

ШАМЕЛАШВІЛІ К.Л.¹, ШТЕМЕНКО Н.І.²

¹ДЗ "ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ";

²НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "ДНІПРОВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА", УКРАЇНА;

e-mail: shamelashvili@rambler.ru

Відомо, що регуляція редокс-стану ракової клітини і малігнізованих тканин відноситься до однієї з найперспективніших стратегій антиракової терапії. У зв'язку з синтезом нових сполук ряду цис-дикарбоксилатів диренію(III) та розробкою нових змішаних наноліпосом та наночасток, що містять всередині сполуки Ренію і цисплатин, дослідження їх антиоксидантних властивостей у моделі звичайної та резистентної до цисплатину карциноми Герена є актуальним.

Роботу виконано на щурах лінії Wistar у стандартних умовах віварію. Пухлинний ріст моделювали шляхом трансплантації щурам клітин карциноми Герена та резистентної до цисплатину карциноми Герена у фізіологічному розчині. Досліджували вплив протипухлинної системи Реній-Платина з біологічно активними (адамантильними, ферулатними, індолілоцтовими) лігандами на інтенсивність процесу перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та активність каталази (КАТ), супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГП) в крові щурів-пухлиноносіїв. Визначення проводили за загальноприйнятими методами. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Ексел, використовуючи t-критерій Ст'юдента.

Показано вплив природи органічних лігандів, розташованих в цис-положенні навколо кластерного фрагмента диренію(III), на активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів, а саме:

наявність адамантильних, індолічних і ферулатних залишків сприяє збільшенню активності каталази еритроцитів щурів-пухлиноносіїв до 1,5 раза у порівнянні з контролем на відміну від впливу сполук Ренію(III) з алкільними лігандами, введення яких призводить до зниження активності каталази. Знайдено, що введення біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- μ -ферулатодиренію(III) у різних формах окремо та разом з цисплатином призвело до активації глутатіонпероксидази еритроцитів щурів-пухлиноносіїв у 5-5,5 раза у порівнянні з контролем, на відміну від введення інших ренієвих сполук, що може свідчити про особливий вплив цієї сполуки на систему глутатіонового захисту та пояснити частково її ефективні антиканцерогенні властивості. Вперше показано, що розвиток резистентної до цисплатину карциноми Герена супроводжується підвищенням активності супероксиддисмутази (у 5 разів) та каталази (на 40%) еритроцитів у порівнянні з еритроцитами контрольних тварин на відміну від еритроцитів щурів із звичайною карциномою Герена, де активність цих ферментів гальмується, що може здійснювати певний внесок у феномен резистентності. Показано різний відгук системи антиоксидантного захисту еритроцитів пухлиноносіїв із звичайною і резистентною карциномою Герена на введення цитостатиків, який полягає у різному ступені активації ферментів антиоксидантного захисту.

ГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МІОКАРДА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ДИСЛІПОПРОТЕЇДЕМІЇ

ШЕВЧУК Т.І., ХЛЄСТОВА С.С., ВАСЕНКО Т.Б.

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;

e-mail: shevchukti77@gmail.com

Результати останніх епідеміологічних досліджень вчених різних країн чітко вказують на пряму залежність між ступенем порушення ліпідного обміну і ризиком виникнення атеросклерозу та ішемічної хвороби серця. Однією із загальноприйнятих теорій розвитку атеросклерозу є реакція-відповідь ендотеліальних клітин, які вистилають внутрішню оболонку судин на пошкоджуючі фактори, до яких відносять артеріальну гіпертензію, паління, ожиріння, цукровий діабет, а також дислі-

попротеїдемію. Початковою ланкою в патогенезі атеросклерозу є ушкодження і збільшення проникності ендотелію, до якого фіксуються лейкоцити, моноцити, які в подальшому перетворюються в макрофаги. Останні захоплюють модифіковані ліпопротеїди низької щільності і накопичують ліпідні включення, перетворюючись в пінисті клітини, багаті ефірами холестерину. Поступово ліпіди накопичуються не лише інтрацелюлярно, а й в субендотеліальному шарі та інтимі судинної стінки.

Метою дослідження стало вивчення морфологічних особливостей міокарда та характеру накопичення ліпідів у структурних компонентах серця.

Під дією холестеринового навантаження, яке тривало протягом 3 місяців, у піддослідних кролів розвинулось порушення ліпідного спектра сироватки крові, яке підтверджувалося біохімічним дослідженням. Після закінчення експерименту для подальшого морфологічного дослідження забирали серця, проводили макроморфометричну кардіометрію, а потім вирізали шматочки лівого шлуночка і виготовляли парафінові блоки.

Виявлення загальних ліпідів проводили по Лізону. Методика передбачає використання як барвника судану чорного-В, оскільки він розчиняється в ліпідах, особливо у фосфоліпідах, що полегшує їх виявлення. Заморожені зрізи промивали в дистильованій воді, занурювали на 30 с в 70 % спирт, фарбували суданом чорним-В протягом 5–7 хв, промивали в 30 % спирті, дистильованій воді і заключали в гліцерин-желатин.

Результати гістохімічного дослідження показали, що атеросклеротичні зміни артерій характеризуються, в першу чергу, порушенням структури внутрішньої оболонки судин, що проявляється її потовщенням, дифузною інфільтрацією ліпідами і проліферацією клітинних елементів підендотеліального шару, що призводить до значного звуження просвіту судин. Цитоплазма гладеньких м'язових

клітин середньої оболонки містить ліпіди у вигляді крапель різної величини. В адвентиції судин і периваскулярних просторах виявляються значні скупчення ліпідів. Іноді краплі ліпідів вільно лежать по ходу волокнистих структур строми серця. В багатьох інтрамуральних артеріях відмічаються типові атеросклеротичні бляшки, які різко звужують просвіт, а іноді спостерігається дифузна ліпідна інфільтрація всіх оболонок стінки судини і повна облітерація її просвіту. Паралельно розвитку атеросклеротичного процесу в судинах відбуваються зміни і в серцевому м'язі. В більшості кардіоміоцитів відмічається накопичення ліпідів у вигляді дрібних крапель або наплення в цитоплазмі. На ультраструктурному рівні в цитоплазмі ендотеліоцитів виявляються краплі ліпідів, в кардіоміоцитах зустрічаються залишкові осміофільні тільця. Велика кількість ліпідних плям виявляється в багатьох клітинах під сарколемою, навколо ядер і між міофібрилами.

Таким чином, при холестериновій дієті у піддослідних тварин виникає стійка дисліпопротеїдемія, яка характеризується значним підвищенням рівня загального холестеролу і ліпопротеїдів низької щільності, що є пошкоджуючим фактором ендотелію судин серця і призводить до накопичення ліпідів в первинному місці ушкодження з подальшою ліпідною інфільтрацією інтими та медії судинної стінки, а також цитоплазми кардіоміоцитів.

ЗМІНА ПРОФІЛЮ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ КЛІТИН СПЕРМАТОГЕННОГО ЕПІТЕЛІУ ЗА ВПЛИВУ *PHALLUS IMPUDICUS*

ШЕМЕДЮК Н.П.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С. З. ГЖИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: natshem@bigmir.net

Триває пошук, наукове обґрунтування фармакологічної дії адаптогенів, імуномодуляторів, антиоксидантів, протипухлинних засобів нетрадиційної медицини. Перспективним джерелом таких препаратів є базидіальні гриби. Біологічно активними речовинами (БАР) *Phallus impudicus* є поліцукориди (β-глюкани, РІ-глюкоманнани), ергостерол, поліфеноли (халкони, флоретин), вітаміни групи В і D, "фітонциди" грибів. Оскільки *Ph. impudicus* у народній медицині використовується для лікування і профілактики функціонування статевої системи чоловіків, нас зацікавив факт його впливу щодо сперматогенезу *in vitro*. Актуальними є його дослідження з точки зору профілактики і лікування гормонозалежних пухлин. Спорідненість між гормонозалежними пухлинними клітинами і сперматогоніями та сперматоцитами у залежності їхнього функціонування від гормонів. Тому думаємо деякі

аспекти нашої роботи є важливими, позаяк можуть додати обґрунтування механізмів антипроліферативної активності щодо пухлинних клітин *in vitro*.

Метою роботи було дослідження генотоксичності етанольної витяжки *Ph. impudicus* (ЕВ) щодо клітин ліній сперматоцитів та сперматогоніїв мишей *in vitro*. У дослідженні використано клітинні лінії сперматогоніїв *GC-1 spg* (ATCC CRL-2053) і сперматоцитів *GC-2 spd* (ATCC CRL-2196). Для експерименту клітини інкубували з 1–3%-ми ЕВ *Ph. impudicus* 48 год. Досліджено проліферативну активність клітин за допомогою МТТ тесту, профіль клітинного циклу, утворення мікроядер за допомогою InCell Analyzer 2000. Результати подано як відсоток клітин у кожній фазі G0/G1, S і G2/M клітинного циклу та клітин з мікроядрами. У кожному зразку проаналізовано приблизно 1000 клітин. Статистичний аналіз результатів проводили за

допомогою GraphPad Prism ver. 6.0. Результатом є середнє значення трьох незалежних однотипних експериментів. Статистично достовірним вважали значення результату щодо контролю з $P < 0,05$.

Результати ММТ тесту вказують на відмінність результатів метаболічної активності різних клітинних ліній GC-1 spg та GC-2 spd за дії різних концентрацій EB *Ph. impudicus*. Лінія GC-1 spg є більш чутливою: за впливу 3 %-ої EB *Ph. impudicus* метаболічна активність знизилась на 25,14 %, тоді як щодо клітин GC-2 spd негативних наслідків впливу *Ph. impudicus* за різних концентрацій не досліджено. Варто відмітити що за інкубування ліній клітин з 1 %-ою EB *Ph. impudicus* досліджено зростання метаболічної активності клітин на 9 % (GC-1 spg) і 6 % (GC-2 spd). Подібну концентрацію (3 % EB) *Ph. impudicus* у своїх дослідженнях застосовували науковці, досліджуючи противірусні властивості цього гриба з використання культури клітин MDSK, токсичності щодо цих клітин за даної концентрації не зазначали (Терлукова Т. В. та ін., 2013 р.).

Результатами досліджень є гальмування клітинного циклу 3 %-ою EB *Ph. impudicus* у фазі G0/

G1: кількість клітин GC-1 spg і GC-2 spd зростає відповідно на 5,2 % і 11,7 % відносно контролю за рахунок зменшення кількості клітин у фазі G2/M: на 16,8 % GC-1 spg і на 31,3 % GC-2 spd відносно контролів. Досліджено, що флоретин пригнічує ріст пухлинних клітин A549, HT-29, HepG2; має проапоптичною дією, яка може бути опосередкована змінами проникності мітохондріальної мембрани і активацією каспаз; інгібує ріст ракових клітин шляхом інгібування транспортера глюкози типу 2; інгібує міграцію і метастазування пухлинних клітин; зупиняє клітинний цикл у фазі G0/G1 клітин MDA-MB-231. P1-глюкоманнани призводять до апоптозу клітини, активуючи проапоптичні протеїни і каспази. β -глюкани сприяють синтезу протеїнів-перфоринів, які руйнують ракові клітини *in vivo*.

Блокування клітинного циклу у фазі G0/G1, значне збільшення мікроядер доводить наявність БАР у *Ph. impudicus*, мішенню дії яких є ДНК. Такий ефект супроводжує явище генотоксичності, водночас може пояснити механізми антипроліферативної активності *Ph. impudicus* щодо пухлинних клітин *in vitro*.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМІЇ ТА ЇЇ ПОЄДНАННЯ З ГІПЕРУРИКЕМІЄЮ

ЮРИК І.І., БОДНАР Я.Я., ЮРИК Я.І.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ;
e-mail: iyuryk@ukr.net

Вплив гіперурикемії на морфофункціональний стан тканин трактується неоднозначно. Поряд із відновленням ендотелію та строми судинної стінки внаслідок антиоксидантних властивостей сечової кислоти є повідомлення стосовно її ушкоджувального впливу, який сприяє розвитку фіброзу і атеросклерозу.

Мета дослідження – з'ясувати ступінь десквамації ендотеліоцитів за умов експериментальної гіперхолестеролемії (ГХ) та її поєднання з гіперурикемією (ГУ).

Дослідження проведені на 24 білих щурах 10–11 місячного віку вагою 230–250 г, які були поділені на 3 підгрупи: перша – 8 тварин з біохімічно підтвердженою гіперхолестеролемією, друга – 8 тварин з біохімічно підтвердженою ГХ і ГУ та 8 тварин контрольної групи. Гіперхолестеролемію моделювали шляхом згодовування холестеролу в дозі 0,5 г/кг з підігрітою рослинною олією. З метою пригнічення функції щитоподібної залози використовували мерказоліл в дозі 10 мг/кг.

Гіперурикемію моделювали за методикою О. В. Синяченка (2007) у модифікації Я. Я. Боднара та ін. (2015). У тварин із поєднанням експериментальних ГХ та ГУ застосовувалися дві описані вище моделі харчування у комплексі. Визначення кількості циркулюючих в крові десквамованих ендотеліоцитів (ДЕЦ) проводили за методом Hladovec J. в модифікації В.В. Сівак та співавт. (2007). Підрахунок кількості ДЕЦ в двох сітках камери Горяєва проводили методом фазово-контрастної мікроскопії за формулою: $ДЕЦ = n \times 10^4 / л$, де n – кількість десквамованих ендотеліоцитів.

Утримання щурів та всі експерименти виконані відповідно до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986). Виведення лабораторних щурів з експерименту здійснювали через 15, 30 та 45 днів дослідження.

Рівень холестеролемії у щурів з експериментальною ГХ через 15 днів становив $(2,20 \pm 0,03)$

ммоль/л, через 30 діб – (2,82±0,03) ммоль/л і через 45 діб – (2,83±0,05) ммоль/л. У групі інтактних щурів рівень холестеролемії становив (1,37±0,04) ммоль/л, а показник урикемії – (125,13±2,37) мкмоль/л. Кількість десквамованих ендотеліоцитів (ДЕЦ) у інтактних щурів становила (3,13±0,35)×10⁴/л.

Через 15 діб експерименту кількість ДЕЦ у периферійній крові щурів збільшувалася до (5,63±0,38)×10⁴/л, що становило 28,53 % (P<0,05), через 30 діб – зростала у 2,11 раза і становила (9,25±0,56)×10⁴/л (P<0,001), а через 45 діб рівень ДЕЦ зростав у 2,56 раза і становив (11,25±0,70)×10⁴/л (P<0,001).

За умов поєднання експериментальних ГУ та ГХ рівень урикемії у щурів через 15 діб становив (193,60±2,66) мкмоль/л, через 30 діб – (271,10±2,85) мкмоль/л і через 45 діб – (280,92±3,90) мкмоль/л. Рівень холестеролемії у цій піддослідній групі через 15 діб становив (2,23±0,04) ммоль/л, через 30 діб –

(2,94±0,05) ммоль/л і через 45 діб – (3,16±0,04) ммоль/л.

Кількість ДЕЦ у периферійній крові цієї групи щурів через 15 діб збільшилася до (6,75±0,45)×10⁴/л, що становило 54,1 % (P<0,01), через 30 діб експерименту підвищилася у 2,42 раза і становила (10,63±0,65)×10⁴/л (P<0,001), а через 45 діб рівень ДЕЦ зростав у 3,05 раза і становив (13,38±0,75)×10⁴/л (P<0,001).

Отримані кількісні показники десквамованих ендотеліоцитів при експериментальній гіперхолестеролемії та поєднанні ГХ з ГУ свідчать про пошкодження судинного ендотелію. Найсуттєвіше збільшення числа циркулюючих в крові ДЕЦ спостерігається через 45 діб дослідження за умови поєднання експериментальних гіперхолестеролемії та гіперурикемії.

Регуляція метаболічних процесів та клітинних функцій за норми та патології.

СТАН ЦЕНТРАЛЬНОЇ ТА ПЕРИФЕРИЧНОЇ СИСТЕМИ МЕТАБОЛІЗМУ СЕРОТОНІНУ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ ТА СУМІСНОГО СПОЖИВАННЯ ЕКСТРАКТУ ЛУШПИННЯ КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ (*PHASEOLUS VULGARIS*)

ЮРЧЕНКО А.В., КРЕНИЦЬКА Д.І., САВЧУК О.М.

ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: alona.yurchenko@ukr.net

Однією з основних біологічно активних молекул організму є серотонін. Він виконує функцію нейромедіатора в мозку та тканинного гормону на периферії. Відомо, що серотонін залучений до контролю харчової поведінки та енергетичного обміну організму, а також про вплив серотоніну на процеси вуглеводного обміну. Оскільки кількість пацієнтів із ожирінням продовжує з кожним роком неухильно зростати, актуальною проблемою медицини залишається пошук нових підходів у лікуванні даного захворювання. Досить актуальними на сьогодні є дослідження різноманітних екстрактів рослин, що здавна використовувались в народній медицині. Однією з таких рослин є квасоля звичайна (*Phaseolus vulgaris*). Ця рослинна сировина відома як ефективний гіпоглікемічний засіб.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах з початковою масою 195–205 г. Протягом першого тижня всі щури отримували стандартну їжу та воду *ad libitum*. Починаючи з другого тижня тварини були рандомізовано розділені на 3 групи. Тварини першої групи ("Контроль") протягом 10 тижнів отримували стандартну їжу та воду. Тварини другої групи ("ВКД") протягом 10 тижнів знаходились на висо-

кокалорійній дієті. Тварини третьої групи ("ВКД+Екс") протягом 10 тижнів знаходились на висококалорійній дієті та отримували воду. Через 4 тижні після початку експерименту тварини третьої групи почали отримувати екстракт лушпиння квасолі звичайної *P. vulgaris* (200 мг/кг). Вміст триптофану, серотоніну та моноаміноксидази (МАО) визначали за допомогою спектрофлуориметричного методу.

У результаті 10-ти тижневого споживання висококалорійного корму в гомогенаті дванадцятипалої кишки вміст триптофану та серотоніну знижувався в 1,7 та 2,6 раза відповідно порівняно з контролем. Споживання екстракту лушпиння квасолі звичайної (*P. vulgaris*) призвело до підвищення вмісту даних показників в 1,6 та 2,5 раза відповідно порівняно з "ВКД". Моноаміноксидазна активність в гомогенаті дванадцятипалої кишки збільшувалась в 2,3 раза у групі "ВКД" та знижувалась в 2,1 раза у групі "ВКД+Екс" порівняно з контрольними тваринами та тваринами, що знаходились на висококалорійній дієті відповідно. Показано, що вміст триптофану та серотоніну в сироватці крові щурів групи "ВКД" підвищувався в 1,3 та 1,8 раза порівняно з контрольною групою тварин. Зафіксо-

вано підвищення вмісту триптофану в сироватці крові тварин групи "ВКД+Екс" в 1,2 раза та зниження вмісту серотоніну в 1,7 раза порівняно з "ВКД". Активність MAO в сироватці крові щурів групи "ВКД" знижувалась майже в 2 рази порівняно з контролем та підвищувалась в групі "ВКД+Екс" в 1,7 разів порівняно з "ВКД". У результаті досліджень також встановлено зниження вмісту триптофану та серотоніну в гомогенаті мозку тварин групи "ВКД" в 2,3 та 1,4 раза відповідно порівняно з контролем. Вміст триптофану в групі тварин "ВКД+Екс" знижується в 2,6 разів порівняно з контролем, у той час, як значення вмісту серотоніну майже дорівнюють контрольним показникам. Також показано підви-

щення активності MAO в гомогенаті мозку щурів в 2,1 раза у групі "ВКД" та зниження його в 1,8 раза у групі "ВКД+Екс" порівняно з контролем та групою "ВКД" відповідно. Також було досліджено проміжні метаболіти на шляху синтезу серотоніну та відповідні ензими і встановлено, що результати їх корелювали зі значеннями описаних вище показників.

Отже, отримані результати вказують на відновлення системи метаболізму серотоніну у щурів із ожирінням за умов споживання екстракту лущипиння квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*). На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що досліджуваний екстракт здійснює певний терапевтичний вплив за розвитку ожиріння.

PROLONGED EXPOSURE TO CYTOSKELETON-DISRUPTING DRUGS CAUSES ACTIVATION OF SALICYLIC ACID DEPENDENT CELL DEATH IN *ARABIDOPSIS THALIANA* LEAVES

IAKOVENKO O.M.^{1,2,3}, KALACHOVA T.A.¹, LEONTOVYČOVA H.¹,
POSPICHALOVÁ R.¹, BURKETOVÁ L.¹, RUELLAND E.^{4,5}, KRAVETS V.S.¹

¹V.P. KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF EXPERIMENTAL BOTANY, CZECH ACADEMY OF SCIENCES, PRAGUE, CZECH REPUBLIC;

³UNIVERSITY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY, DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND MICROBIOLOGY, PRAGUE, CZECH REPUBLIC;

⁴CNRS, INSTITUT D'ECOLOGIE ET DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT DE PARIS, CRÉTEIL, FRANCE;

⁵UNIVERSITÉ PARIS-EST, UPEC, INSTITUT D'ECOLOGIE ET DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT DE PARIS, FRANCE;
e-mail: iakovenko@ueb.cas.cz

Increasing evidence demonstrates actin cytoskeleton involvement in plant reactions on environmental stresses. Indeed, plants with disrupted cytoskeleton usually appear vulnerable to various stresses. However, here we show that the pre-treatment of *Arabidopsis thaliana* leaves with low concentrations of actin disrupting drug latrunculin B (latB) was able to trigger several defence-like responses. Infiltration of leaves with latB for 24h increased salicylic acid (SA) content in tissues and activated defence gene expression. Interestingly, only SA-associated genes were activated, while genes associated with other stress hormones (ethylene, jasmonic acid and abscisic acid) remained stable. After 4 days post infiltration, we detected leaf damage symptoms such as chlorosis, necrosis and membrane damage by the ion leakage measurement and localized callose deposition by aniline blue staining. Remarkably, mutants defected in SA content (*NahG*), biosynthesis (*sid2*) and signaling (*pad4*) demonstrated the complete absence or decrease of damage symptoms, thus suggesting the role of SA in the symptoms formation. Callose

accumulation in this setup appeared to be partly SA-independent, as it was detected in all mutant lines, while point cell death according to trypan blue staining was not detected in any of the SA-deficient mutants. As soon as actin cytoskeleton is tightly connected with membrane trafficking, we assayed the effect of latB on plants, invalidated in phosphatidylinositol-4-kinases beta1 and beta2 (*pi4kβ1β2*). *pi4kβ1β2* plants are known as SA-overaccumulators, and as expected, showed hypersensitivity to latB infiltration. In triple mutants with restored SA levels (*NahGpi4kβ1β2*, *sid2pi4kβ1β2*, *pad4pi4kβ1β2*) the response to latB was similar to that in wild plants, confirming the crucial role of SA. Notably, *pmr4* plants, deficient in callose synthase 12 and known for the enhanced SA pathway in basal conditions, exhibited severe necrosis and membrane damage, while no callose has been detected in the leaves. To conclude, we present strong evidence of the specific and crucial role of SA in plant responses to actin disruption. We propose SA as an intermediate link between actin cytoskeleton re-organisations and plant stress responses.

Симпозіум 3. МЕДИЧНА ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА БІОХІМІЯ

БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА КІР

АНДРЕЙЧИН М.А., ІВАХІВ О.Л., ВИШНЕВСЬКА Н.Ю., ЙОСИК Я.І.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ;
e-mail: vyshnevsk@tdmu.edu.ua

Попри те, що кір є інфекційною хворобою, керованою засобами специфічної профілактики, захворюваність на цю недугу у світі залишається високою. Спалахи кору продовжують виникати в країнах ЄС. Так, у 2018 р. в Європейському регіоні ВООЗ зареєстровано рекордну кількість хворих на кір – 82 596 осіб у 47 з 53 країн. Кількість захворілих у 3 рази перевищила показник 2017 р. і в 15 разів – 2016-го. Найвищі показники захворюваності відзначено в Україні. За цей час померло 72 пацієнти. В Україні у 2018 р. зареєстровано 53 219 хворих на кір, а за 5 місяців 2019 р. – понад 50 000, з початку епідемії померло 38. У частини хворих виявлено ураження печінки (Смирнова Д.Д., Усачова О.В., 2019).

Метою роботи було з'ясувати біохімічні особливості ураження печінки у хворих на кір у сучасних умовах.

Проаналізовано медичні карти 60 стаціонарних хворих, які перебували на лікуванні в інфекційному відділенні Тернопільської міської клінічної лікарні швидкої допомоги у першому кварталі 2019 р. з діагнозом кору. Пацієнти були віком від 18 до 62 років, середній вік склав (29,9±8,0) року; жінок – 46,7 %, чоловіків – 53,3 %. Усіх пацієнтів обстежено згідно з локальними протоколами лікувального закладу III рівня надання медичної допомоги. Період недуги був типовим: декілька днів тривав катаральний період, у 2/3 пацієнтів відзначено патогномонічний симптом – плями Копліка; у період розпаду кору в усіх була типова плямисто-папульозна висипка з етапним поширенням і зникненням. Функціональний стан печінки оцінювали за біохімічними показниками: активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансфера-

зи (АсАТ), вміст білірубину – загальний і фракційно, показник тимолової проби.

Залежно від активності АлАТ і АсАТ пацієнти були розподілені на дві групи. Першу групу (30 осіб) склали пацієнти з нормальною активністю АлАТ і АсАТ, другу (30 осіб) – з підвищеною. Групи були зіставні за віком, статтю і лікуванням (препарати з можливим гепатотоксичним впливом не використовували). За необхідності проведено ультразвукове дослідження органів черевної порожнини і визначення маркерів гепатитів А, В та С (не знайдено).

Збільшення розмірів печінки відзначено у половини хворих як першої, так і другої груп. Показники тимолової проби і білірубину у сироватці крові в усіх обстежених були у межах норми $-2,96\pm 0,26$ од. і $17,72\pm 0,89$ мкмоль/л та $3,06\pm 0,27$ і $18,12\pm 0,88$ у першій і другій групах відповідно. Активність АлАТ у пацієнтів першої групи була $34,09\pm 1,92$ ммоль/(л×год), АлАТ – $26,98\pm 3,22$, тобто була в межах фізіологічної норми. В осіб другої групи при вступі активність АлАТ була суттєво вищою – $85,86\pm 13,75$ ммоль/(л×год), АсАТ також – $77,25\pm 18,36$ ($P<0,05$ в обох порівняннях). Причому у третини хворих активність АлАТ була в півтора рази більшою, ніж АсАТ, у третини – меншою. У динаміці, через 10–12 днів, активність зазначених амінотрансфераз нормалізувалась. Ураження печінки, ймовірно, пов'язане з вираженим інтоксикаційним синдромом, проте не виключена цитопатична дія вірусу кору.

У половини хворих на кір, які перебували на стаціонарному лікуванні, виявлено ураження печінки без відповідної клінічної симптоматики, але з підвищенням активності сироваткових амінотрансфераз.

MODELING THE PROGRESSION OF ATHEROSCLEROSIS FROM BLOOD LIPOPROTEINS CHOLESTEROL CONCENTRATIONS AND PARAOXONASE-1 ACTIVITY IN PATIENTS AFTER ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

ARKHYPCHUK I.V.², VASYLCHENKO V.S.², KUCHMENKO O.B.^{1,2,3},
MALYNOVSKA I.E.¹, TERESHCHENKO N.M.¹, SHUMAKOV V.O.¹

¹NATIONAL SCIENTIFIC CENTRE "STRAZHESKO INSTITUTE OF CARDIOLOGY
OF NAMS OF UKRAINE", KYIV;

²NATIONAL UNIVERSITY OF "KYIV-MOHYLA ACADEMY", UKRAINE;

³NIZHYN GOGOL STATE UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: vasylichenkovita@gmail.com

The purpose of our work is to use the measurements of cholesterol in lipoproteins of low and high density and the activity of paraoxonase-1 in people with myocardial infarction to model the risk of atherosclerosis progression. After that, we want to modify the computer model with activity of paraoxonase-1 and to find whether there is a significant difference between two outcomes.

Atherosclerosis is a disease in which plaques are formed in the artery wall. Computer modeling of atherosclerosis is a new approach to find out the mechanisms that mediate this disease. This condition is a complex biomedical problem because of the number of factors involved in pathogenesis. Bio-modeling is a fast, easy and inexpensive way to reproduce these processes. It allows reflecting quantitatively the various stages of the disease, such as the concentration of cells and lipoproteins, and creates all the possibilities to be tested by other researchers in this topic. And the model is quite accessible for easy modification in the presence of new details of the progression of atherosclerosis.

Materials and methods. 76 patients after acute myocardial infarction were included in the study (mean age 52.2±1.2 years). They received basic therapy according to the current guidelines, including emergent stenting. To determine the concentration of high-density lipoproteins cholesterol (HDL-C), colorimetry was used on FEC 4/2 with a red filter at a wavelength of 630 to 690 nm in a cuvette with a width of 5 mm. Cholesterol concentrations of high-density lipoproteins and triacylglycerols were used to calculate the concentration of LDL-C. Based on the data obtained, cholesterol is considered to be of low-density lipoprotein and cholesterol of very low-density lipoprotein. And according to the formula, $LDL-C = C\text{-general} - (HDL-C + VLDL-C)$ is calculated. And the activity of paraoxonase-1 was determined, the principle of the method is that the activity of paraoxonase-1

(PON-1) is determined by the amount of substrate (phenylacetate) used during the biochemical interaction, which is measured at a wavelength of 270 nm.

It has also become known from literature that the level of HDL-C is not a sufficient factor in reducing the risk of atherosclerosis. In a recent study, it was found that a decrease in PON-1 activity is one of the prognostic factors in the occurrence of a heart attack. As a result, we decided to check how different predictions of the progression of the disease are based on the standard view and taking into account the quality of HDL. To do this, we performed the indexing of the HDL-C concentration with the activity of the PON-1. Accordingly, we first used a computer model to calculate the risk of developing the disease for 300 days with available HDL-C and LDL-C for each individual examined. And then we multiplied the value of HDL-C on the respective percentages of each subject and calculated the significance of the risk of progression of atherosclerosis and compared them.

The results of the calculations showed that the average risk of atherosclerosis in the examined patients with MI is 0.66 (median=0.61), that is, according to the conditions of the model, less than one, indicating a reduction of the atherosclerotic plaque. But if we do indexing for the PON-1 activity, then the average value is 1.06 (median=0.92), and therefore, the atherosclerotic plaque will be developing. And according to the student t-criterion $p=9.4663e-04$, there is a statistically significant difference between the results of the unmodified model of atherosclerosis and the indexed model by the values of PON-1.

We can conclude that, according to our results and current concepts, consideration of paraoxonase-1 activity is necessary to calculate the risk of progression of atherosclerosis in patients with MI. Because PON-1 is a central participant, which reduces the overall level of inflammation and neutralizes oxidized LDL.

НАНОЧАСТИНКИ ДІОКСИДУ КРЕМНІЮ ПОСИЛЮЮТЬ ВИКЛИКАНИЙ АЦЕТАТОМ СВИНЦЮ РІВЕНЬ АПОПТИЧНО ТА НЕКРОТИЧНО ЗМІНЕНИХ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ

БАНДАС І.А., КУЛІЦЬКА М.І., КОРДА М.М.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ
e-mail: bandas@tdmu.edu.ua

Наночастинки знаходять широке застосування у наукових дослідженнях, промисловості та медицині. Характерна для наночастинок здатність посилювати транспортування хімічних речовин і лікарських засобів у клітини робить актуальним питання про можливість потенціювання токсичної дії хімічних контамінантів при їх сумісному надходженні в організм.

Мета роботи – оцінити інтегральний ефект наночастинок діоксиду кремнію (SiO_2) і хімічного токсиканта ацетату свинцю на інтенсивність утворення активних форм кисню (АФК) та процеси апоптозу і некрозу нейтрофілів крові.

Досліди проведено безпородних білих щурах-самцях. Тваринам 1-ї (контрольної) групи щоденно вводили фізіологічний розчин. Щури 2-ї групи отримували розчин наночастинок SiO_2 в дозі 50 мг/кг маси тіла. Тваринам 3-ї групи вводили розчин ацетат свинцю в дозі 20 мг/кг маси тіла (у перерахунок на свинець), 4-ї – щоденно вводили розчин наночастинок SiO_2 сумісно з ацетатом свинцю протягом 3-х тижнів у вищезазначених дозах. Евтаназію щурів здійснювали через 21 добу від початку експерименту. В нейтрофілах крові цитофлуориметричним методом визначали утворення АФК за допомогою дихлорфлуоресцеїну дیاцетату, інтенсивність апоптозу і некрозу – за рівнем клітин мічених анексином V і пропідію йодидом, а також визначали кількість клітин із зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом.

Встановлено, що введення щурам наночастинок SiO_2 не викликало достовірних змін генерації АФК нейтрофілами крові, кількості клітин зі зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом, апоптозу та некрозу гранулоцитів. На відміну від групи щурів, які отримували наночастинки SiO_2 , введення ацетату свинцю зумовило виражені зміни усіх досліджуваних показників. Так, гене-

рація АФК нейтрофілами крові достовірно (у 2,2 раза) зростала порівняно з контрольною групою тварин. Дослідження також показали збільшення у 2,1 раза ($p < 0,05$) кількості нейтрофілів зі зниженим мітохондріальним потенціалом у групі тварин, яким вводили ацетат свинцю. Під впливом токсиканта у 1,8 раза ($p < 0,05$) зростала загальна кількість клітин, що загинули за рахунок апоптозу. Кількість клітин, які загинули за рахунок некрозу, збільшилася у 1,3 раза ($p < 0,05$), порівняно з контрольною групою тварин.

Найбільш суттєво досліджувані показники змінювалися у тварин, яким вводили наночастинки SiO_2 разом з ацетатом свинцю. У цьому випадку генерація АФК нейтрофілами зростала у 3,8 раза ($p < 0,05$), а кількість клітин зі зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом – у 3,4 раза ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. При порівнянні даних показників з результатами, одержаними у третій експериментальній групі, виявлено їх достовірне переважання на 73,0 і 63,6 % відповідно. Інтенсивність раннього апоптозу перевищувала аналогічні значення у контрольних тварин у 2,9 раза ($p < 0,05$), а у щурів, яким вводили лише ацетат свинцю, на 59,4 % ($p < 0,05$). При вивченні рівня P1^+ -клітин, які характеризують інтенсивність некротичних процесів, спостерігалось його підвищення у 2,2 раза ($p < 0,05$) порівняно з контрольними тваринами та на 65,8 % ($p < 0,05$) порівняно з групою щурів, яким вводили тільки ацетат свинцю.

Отже, наночастинки SiO_2 посилюють здатність ацетату свинцю підвищувати продукцію внутрішньоклітинних АФК, рівень апоптично та некротично змінених нейтрофілів крові та кількість клітин із зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом.

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПАРОДОНТИТУ, АСОЦІЙОВАНОГО З АТРОФІЧНИМ ГАСТРИТОМ

БЕДЕНЮК О.С., КОРДА М.М.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ

kordamm@yahoo.com

Розвиток запальних захворювань тісно пов'язаний з активацією вільнорадикальних реакцій. При запальному ураженні також має місце гіперекспресія індукцибельної форми синтази оксиду азоту, що призводить до продукції надмірної кількості NO, який відіграє роль важливого ефектора у механізмах розвитку запалення. Механізми, що лежать в основі впливу хвороб шлунка на патогенез пародонтиту на сьогодні все ще потребують детальнішого вивчення. Зокрема, оцінка інтенсивності оксидативного і нітрооксидативного стресів, які певною мірою детермінують вираженість резорбтивних процесів в сполучній тканині, набуває важливого значення у вивченні механізмів формування пародонтиту, асоційованого з хронічним гастритом.

Метою даної роботи було дослідити в експерименті взаємозв'язок між активацією окислювальних процесів і змінами метаболізму в органічному та мінеральному компонентах пародонту при дії на нього токсину грамнегативної мікрофлори – ліпополісахариду (ЛПС).

Пародонтит у щурів викликали шляхом введення в тканини ясен ЛПС протягом 2-х тижнів через день по 40 мікролітрів (1 мг/мл). Хронічний атрофічний гастрит викликали шляхом інтрагастрального введення протягом 6 тижнів 2 % саліцилату натрію. Питну воду цій групі тварин заміняли на 20 мМ деоксихолат натрію. Визначали загальну активність NO-синтази, рівень нітратів і нітритів (NO_x), ТБК-активних продуктів, активність супероксиддисмутази (СОД), вміст відновленого глутатіону (ГSH), загальну антиоксидну активність (ЗАА), вміст гідроксипроліну (ГП) і кальцію.

Введення ЛПС призводило до оксидативного і нітрооксидативного стресу (в плазмі крові і в тканині пародонту вміст ТБК-активних продуктів зростав в 1,2 і 1,4 рази, вміст NO_x – в 1,3 і в 1,4 рази, активність NO-синтази в пародонті – в 2,2 рази, активність СОД зменшилася в тканинах ясен в 1,6 рази, а вміст ГSH – в 1.7 рази, ЗАА плазми крові

мала тенденцію до зниження). В крові зменшувався рівень маркерів синтетичної фази в обміні колагену (білковозв'язаної фракції гідроксипроліну) та підвищувався вміст маркерів катаболічної фази в обміні колагену (вільної фракції гідроксипроліну), підвищувалася екскреція оксипроліну та кальцію із сечею. Отже, при пародонтиті, викликаному грамнегативною мікрофлорою, активація оксидативного та нітрооксидативного стресу супроводжується переважанням катаболічних процесів у сполучній тканині пародонту та зниженням рівня синтетичної активності остеобластів.

У тварин з гастритом спостерігалось підвищення рівня ТБК-активних продуктів в сироватці крові (в 1,6 рази), а рівень ГSH і ЗАА сироватки знижувалися в 1,3 і 1,6 рази.

В найбільшому ступені інтенсивність оксидативного стресу зростала у тварин з хронічним гастритом, яким моделювали запалення пародонта. У цієї групи щурів, активність реакцій вільнорадикального окислення підвищувалася в 2,2 рази в крові і в 1.8 разів в пародонті, активність NO-синтази підвищувалася в 3 рази, концентрація нітратів і нітритів – в сироватці крові в 1,7 рази, в пародонті в 2 рази, антиоксидна активність плазми була достовірно нижчою, ніж така у тварин з пародонтитом або з гастритом, активність СОД і вміст ГSH в пародонті знижувалися відповідно в 2,1 і 2,2 рази порівняно з контролем і також були достовірно нижчими порівняно з відповідними показниками у тварин тільки з пародонтитом або з гастритом.

Отже, всі вищенаведені результати дозволяють прийти до висновку, що активація вільнорадикальних реакцій і гіперпродукція оксиду азоту є важливими неспецифічними механізмами розвитку запалення тканин пародонта, викликаного токсином грамнегативної мікрофлори ліпополісахаридом. Особливого значення оксидативний і нітрооксидативний стрес набувають в умовах, коли пародонтит розвивається на фоні хронічного атрофічного гастриту.

IN SILICO ВЗАЄМОДІЯ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ З PPAR

БЕРДИШЕВ А.Г., КОСЯКОВА Г.В., ГУЛА Н.М.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

e-mail: berd@biochem.kiev.ua

N-ацилетаноламіни (NAEs) є класом міnorних ліпідів, що володіють високою біологічною активністю і входять до складу різних регуляторних систем, зокрема до ендоканабіноїдної системи організму. Як показали результати наших попередніх досліджень, насичений NAE18:0 N-стеароїлетаноламін (NSE) проявляє високу біологічну та фармакологічну активність незалежно від взаємодії з ендоканабіноїдною системою. Раніше нами показано, що NSE при запальних процесах в організмі пригнічує транслокацію фактора NF- κ B у ядро клітин. За літературними даними, активація PPAR різними агентами (наприклад, фібратами) призводить до блокування входу фосфорильованого NF- κ B в ядро, що лежить в основі їх протизапальних та антидіабетичних ефектів. За нашими припущеннями, протизапальна дія NSE може бути опосередкована саме через активацію PPAR за умов зв'язування NSE з активним центром цього ядерного рецептора.

В цій роботі ми дослідили можливість зв'язування NSE з двома підтипами PPAR – альфа (PPAR α) та гамма (PPAR γ) *in silico*.

Молекулярне моделювання взаємодії NSE, LY171883 (активатор PPAR α /g), GW6471 (інгібітор PPAR α) та GW9662 (інгібітор PPAR γ) із PPAR здійснювали методом докінгу. У дослідженні використовували просторові структури ліганд-зв'язуючого домену PPAR α (1kkq) та PPAR γ (3b0r) з інтернет-ресурсу RCSB Protein DataBank, а з інтернет-ресурсу ChemSpider – структури NSE, GW6471 та GW9662. Просторові структури ліганд-зв'язуючого домену PPAR α /g підготовляли до докінгу у програмі AutoDockTools 1.5.6 (видаляли референсні ліганди, додавали всі атоми водню, видаляли молекули води, задавали параметри сітки потенціалів (grid box) таким чином, щоб у ній знаходився весь лі-

ганд-зв'язуючий домен PPAR α /g). Для просторової структури 3b0r параметри сітки потенціалів були: center_x=-20.951; center_y=0.655; center_z=-25.044; size_x=47.25; size_y=47.25; size_z=47.25, а у випадку просторової структури 1kkq – center_x=73.429; center_y=26.339; center_z=31.642; size_x=47.25; size_y=47.25; size_z=47.25. За допомогою цієї ж програми визначали амінокислотні залишки, що беруть участь у зв'язуванні досліджуваних лігандів з активним центром PPAR α /g. Найменшу вільну енергію зв'язування ліганду з макромолекулою (HBE3) визначали за допомогою програми AutoDock Vina 1.1.2.

Використовували комп'ютер із операційною системою Windows 10 x64 PRO 1803, на якому запускали віртуальну машину VirtualBox 6.0 з встановленою Windows XP SP3 ENG (1 Гб RAM, 128 Мб відео RAM, одне ядро процесора Intel(R) Celeron(R) J1800 2.41GHz).

Встановлено, що NSE, GW6471, GW9662 та LY171883 мають спільні сайти зв'язування в ліганд-зв'язуючому домені молекул як PPAR α (HBE3=-5,3, -10,7, -9,3 кал/моль відповідно), так і PPAR γ (HBE3=-6,6, -7,9, -7,7 кал/моль відповідно). Виявилося, що NSE має спільні місця зв'язування з інгібітором PPAR α GW6471 (Thr279 та Leu321). При цьому спільних місць зв'язування NSE і агоніста PPAR α /g LY171883 в ліганд-зв'язуючому домені просторової структури PPAR α не виявлено. Також встановлено, що NSE, GW9662 та LY171883 мають спільні місця зв'язування в активному центрі молекули PPAR α (амінокислотні залишки Arg288, Ile326 та Leu330).

Отримані результати підтверджують припущення про PPAR-залежні механізми реалізації протизапальної дії NSE.

IMPACT OF THE CARBON MONOXIDE RELEASING MOLECULE-2 (CORM-2) ON RED BLOOD CELL VOLUME

BESCHASNYI S., HASIUK O.

KHERSON STATE UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: beschasnyis@gmail.com

Carbon monoxide (CO) is the third most common agent that causes poisoning. Nevertheless, it is known that CO is produced endogenously and can have a

beneficial effect, especially at lower concentrations. The first reports have shown that CO is actively involved in the regulation of key intracellular functions.

At physiological concentrations, CO can affect processes of signal transmission in various organs and various cells, also including endothelial cells. For example, CO may regulate aspects of the cardiovascular system, such as platelet activation, inflammation or blood pressure, demonstrate neuroprotective and neurotherapeutic properties.

CORMs (Carbon monoxide releasing molecule-2) or molecules that release carbon monoxide make up a recently classified group of chemicals. These are compounds capable of releasing a controlled amount of CO into cells and tissues to induce biological activity. CORM molecules consist of carbonyl groups linked to metals, such as ruthenium (CORM-2 and CORM-3), and can act as drugs. The potential of CORM lies in its ability to release a CO molecule bound to a metal when it reaches its destination.

We used washed and "packed" red blood cells of donors 28–30 years old. In 3.150 ml of medium (with different osmotic strength), 0.35 ml of erythrocytes was added, and light scattering was measured. After this, the tricarbonyldichlororuthenium (II)-dimer carbon monoxide donor (CORM-2 was dissolved in DMSO (<1 %)) was added, and the light scattering was measured again. After the measurement, the clotrimazole – blocker of calcium-dependent K⁺ channels of the membrane was added.

In environments with different osmotic strengths after adding CORM-2, a decrease in the intensity of light transmission was observed. In the environment of 220 μmol (hypoosmotic), the light scattering index changed from 2.898 ± 0.144 to 2.759 ± 0.138 , in the medium of 320 μmol (isoosmotic) from 2.984 ± 0.142 to 2.887 ± 0.144 . After adding erythrocytes to the environment of 420 μmol (hyperosmotic), the index changed from $3,000 \pm 0,15$ to $2,887 \pm 0,144$, and in medium 520 μmol from $3,000 \pm 0,14$ to $2,912 \pm 0,146$ (4.8, 3.2, 3.2 and 2.9 %, respectively). In this case, the addition of clotrimazole did not significantly affect the light transmittance.

Thus, CORM-2 at a dose of 200 μm caused an increase in the volume of erythrocytes in hypertonic, isotonic and hyposmotic solutions. After melting the spectrin after the calcium-dependent potassium channel blocker was added, clotrimazole and CORM-2 erythrocytes swelled. The exception was the compression of erythrocytes in isoosmotic solution.

Thus, CORM-2 affects on the properties of the erythrocyte membrane, their ion channels. This is due to the erythrocyte cytoskeleton protein - spectrin. Thus, this should influence the micro-rheological properties of erythrocytes *in vivo* after consuming CORM-2 medication.

EXPRESSION OF *PTGS2* AND *NOS2* GENES IN BLOOD SERUM OF RATS WITH ACUTE HIND PAW INFLAMMATION AND WITH ADMINISTRATION OF CHONDROITIN SULFATE

BLOKHINA O.G., KOROTKIY A.G., DRANITSINA A.S.,
GREBINYK D.M., DVORSHCHENKO K.O., OSTAPCHENKO L.I.
ESC INSTITUTE OF BIOLOGY AND MEDICINE, TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY,
UKRAINE;
e-mail: ksenia0712@ukr.net

Osteoarthritis is a chronic degenerative-dystrophic disease of the joints caused by various factors. Cartilage degeneration begins with biomechanical and biochemical pathological changes: traumas, genetic predisposition, activation of free radical processes, etc. Such factors may lead to an excess of synthesis of proinflammatory cytokines, which, in turn, stimulates the expression of multiple chemokines, as well as proinflammatory genes. Currently, there is no effective treatment for arthrosis that would ensure complete recovery. Chondroprotectors have been used for a long time, but the effect of such drugs on the expression pattern of proinflammatory genes is not sufficiently studied

In view of this, the purpose of this work was to analyze the intensity of free radical processes and the

expression of genes mediating the inflammatory response, *Nos2* and *Ptgs2*, in rat serum during acute hind paw inflammation and with the administration of chondroitin sulfate.

The experiments were carried out using white non-strain male rats with initial weight around 180–240 g. The first series modeled acute limb inflammation by single sub-planar administration of 0.1 ml of 1 % carrageenan solution to the posterior right paw (equal volume of saline was used as the control). Previously, the animals received a therapeutic intramuscular dose of 3 mg/kg of the chondroprotector Drastop (the active ingredient – chondroitin sulfate) daily during 28 days. The content of superoxide radical, hydrogen peroxide, diene conjugates, TBK-active compounds, schiff bases was determined by standard biochemical methods in

blood serum of rats. RNA was obtained by the Chomczynski method. The expression of *Nos2* and *Ptgs2* genes was analyzed by qRT-PCR.

It was shown that the expression level of the *Ptgs2* gene in the group of animals with pathology was 1.6 times higher ($P \leq 0.001$) compared to the control animals. Upon the administration of the chondroprotector, the level of the corresponding mRNA was 1.3 times lower ($P \leq 0.01$) than in the animals with pathology. As a result of further experimental studies, it was shown that the expression level of the *Nos2* gene in the group of animals with pathology was 1.4 times higher ($P \leq 0.001$) compared to the control animals. Upon the administration of the chondroprotector, the level of *Nos2* gene mRNA was 1.2 times lower ($P \leq 0.05$) than in the group with pathology.

The level of hydrogen peroxide and superoxide radical was 1.5 and 1.7 times higher ($P \leq 0.001$) respectively in rats with pathology. Also, it was shown that levels of lipid peroxidation products in blood serum of rats during acute hind paw inflammation were in-

creased: diene conjugates – 1.6, TBA-active products – 1.5, Schiff bases – 1.5 times in comparison with the control group ($P \leq 0.001$). The administration of the chondroprotector was associated with normalization of abovementioned parameters in blood serum of rats with acute hind paw inflammation ($P \leq 0.05$).

The growth of the expression level of *Nos2* and *Ptgs2* genes in blood serum of rats with acute hind paw inflammation against the activation of free radical processes (growth of the content of the superoxide anion radical and organic hydroperoxides, which led to the activation of lipid peroxidation processes) was shown. When using the drug Drastop under the same conditions, the level of gene expression, as well as the content of the mentioned free radicals, were closer to the control values or did not differ significantly from the control values, indicating the anti-inflammatory and antioxidant properties of this chondroprotector and making it effective in the treatment of osteoarthritis.

МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ МЕТАБОЛІЧНОЇ ПАМ'ЯТІ І ПРОЦЕСИ СТАРІННЯ ОРГАНІЗМУ

БОЖКОВ А.І.¹, КУРГУЗОВА Н.І.¹, СИДОРОВ В.І.¹, ГРОМОВИЙ Т.Ю.²

¹НДІ БІОЛОГІЇ ХАРКІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ В. Н. КАРАЗИНА, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ ХІМІЇ ПОВЕРХНІ ІМ. А.А. ЧУЙКА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: bozhkov@univer.kharkov.ua

Однією з фундаментальних властивостей біологічних систем є “пам'ять”, тобто здатність відтворювати минулий досвід. “Пам'ять” в біологічних системах реалізується на різних рівнях організації біологічних систем: нейрофізіологічному, генетичному, епігенетичному та метаболічному. Концепція “метаболічної пам'яті” була запропонована наприкінці 80-х років ХХ століття на базі експериментальних даних, які стосуються глікемічного стану. Під “метаболічною пам'яттю” розуміють збереження ефекту, що передує глікемічному контролю на розвиток і прогресування судинних ускладнень при цукровому діабеті. Залишається неясним, як клітини судин і органів-мішеней здатні надовго “запам'ятовувати” той метаболічний стан в якому вони перебували в минулі часи.

Ми вважаємо, що “метаболічна пам'ять” формується не тільки в разі гіперглікемії, а й при різних тривало повторюваних впливах факторів, що регулюють метаболізм. Під “метаболічною пам'яттю” ми розуміємо тривале збереження одного з “обраних” регуляторною системою метаболічного варіанту адаптивного рішення, після скасування дії факторів, які його індукували. Досліджували формування метаболічної пам'яті після повторюваних

дій токсичних сполук (сірчаноокисла мідь) і різних трофічних факторів у молодих і старих тварин. У роботі використовували такі біохімічні методи, як визначення показників про/антиоксидантної системи, вміст гормонів та низку фізіологічних показників.

Виявили, що після багаторазових послідовних введень до організму сірчаноокислої міді індукується синтез специфічних мідьзв'язуючих протеїнів у цитоплазмі клітин печінки з молекулярною масою 8–12 кДа, які забезпечують внутрішньоклітинний розподіл іонів міді, і формують специфічний метаболічний патерн, який забезпечує резистентність організму до токсичної дії сірчаноокислої міді. Показано, що для цього процесу властива залежність від віку тварин. Якщо тваринам із таким індукованим метаболічним патерном вводили летальні дози іонів міді, то вони були стійкі до токсичного впливу.

Така індукована резистентність до летальних доз сірчаноокислої міді зберігалася не менше 45 діб після зняття індуктора. Більш того, було виявлено, що старі (20 міс) щури мали більшу стійкість до повторних введень сірчаноокислої міді. Це пояснюється тим, що у старих тварин містилася більша кількість специфічних мідьзв'язуючих протеїнів у порівнянні з молодими. Виявили, що мідьзв'язуючі

протеїни у старих тварин мали більшу зв'язуючу здатність до іонів міді в порівнянні з такими молодих тварин.

Отже, метаболічний патерн, який сформувався на тлі токсичної дії міді, забезпечував резистентність до її літальних доз. Можна припустити, що метаболічна пам'ять впливає не тільки на адаптивні характеристики організму, але й на самий процес старіння, як приклад досліджували модель ожиріння.

Виявили, що режим годування тварин забезпечує формування специфічних метаболічних

патернів, які зберігалися протягом всього онтогенезу. Для таких метаболічних станів характерно зміщення рівноваги в системі про/антиоксидантів в сторону прооксидантів, збільшений вміст тироксину в сироватці крові, зміна адаптивних характеристик до високої температури середовища і скорочення життя тварин.

У доповіді обговорюється можливі механізми формування метаболічної пам'яті та її роль у механізмі адаптаціогенезу та старінні організму.

CORRECTION OF POLYATOMIC ALCOHOLS OLIGOESTERS DETOXIFICATION UNDER THE CONDITION OF THEIR PROLONGED INFLUENCE

BONDAREVA A.V., STETSENKO S.O., ZHUKOV V.I.
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE

Significant intensity increasing of xenobiotics' influence on organism determine actuality of conducting the experiment about revealing mechanisms of possible pathological processes, searching for new approaches to compensation of disturbed functions. Oligoesters of polyatomic alcohols of the technical name "Iaprol" brand 502 (OLE-LP-502) are widely spread xenobiotics, able to influence human body negatively. It is proved that 45-day toxification of rats with OLE-LP-502 in doses of 1/10 and 1/100 LD50 causes in the liver significant disruptions in the mono-oxygenase system functions and conjugation processes against the background of free radical reactions activation, antioxidant resources reduction, deterioration of physico-chemical properties of microsomes membranes, which exacerbates the xenobiotic load and, as a result, causes the development of energy-deficient states.

It prompts to search of correctors – renovator of hepatocytes functional activity. The aim of the study was to assess the ability of infusion "Remaxol" solutions' usage for correction of the neutralization processes' OLE-LP-502 violations. To realize the aim, pathogenetically significant indices were determined according to the variation coefficients and heterogeneity degree: hepatocyte microsome membrane microviscosity, glucuronic acid (GA), total glucuronides and sulfates, glutathione, total cytochrome P-450 pool, catalase activity (CA), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPO), phenol sulfotransferase (PhST). Two groups of male rats were formed for conducting research. Group I – animals, that on the background of 45 days of OLE-LP-502 oral administration in a dose of 1/10 LD50 were injected with "Remaxol"; Group II – animals, that on the background of 45 days of OLE-LP-502 oral administration in a dose of 1/100 LD50 were injected with "Remaxol". The drug

was administered additionally from day 31 to day 45 daily intraperitoneally at a dose of 2.5 ml/kg body weight. The microviscosity of microsome membranes was evaluated by the method of lateral diffusion of a hydrophobic fluorescent pyrene probe. The level of other indexes was assessed by spectrophotometric method. Comparison of mean values in samples with a normal distribution was carried out using Student's t-test. A critical level of significance was taken at ≤ 0.05 .

The "Remaxol" injection under the action of OLE-LP-502 at 1/10 LD50 contributed to the improvement: the microviscosity of the hepatocytes membranes (decrease of the pyrene excimerization coefficient by 32 %), glucuronic and sulfate conjugation status (increase content of total glucuronides in the liver on average 8 %, decrease in the content of GA by 17 % and total sulfates by 12 %), hepatocytes microcosm antioxidant status (increase in CA by 10 %), functional state of the glutathione system (increase in the content activity of GPO by 15 % and decrease in activity GR by 10 %).

Also, "Remaxol" on the background of OLE-LP-502 at a dose of 1/100 LD50 oral administration on the 45th day of observation contributed to: the normalization of the cytochrome P450 total pool in the rats liver microsomal fraction (an increase by 115%), improvement of glucuronic and sulfate processes conjugation in the liver (decrease in the content of GA by 10 %, PhST activity by 11 % and increase in the content of total glucuronides by 7 %), improvement of glutathione conjugation (glutathione disulfide decrease by 25 %, 11 % GH activity), increase of antioxidant resources (increase of CA by 15 %).

Consequently, "Remaxol" positively contributes to changes in pathogenetically significant parameters of oligoesters neutralization processes disorders in the rats' liver, which is confirmed by the improvement of

the functional state of hepatocytes microsomes and conjugation processes.

The proposed corrective action may be recommended for use in medicine by a patient of chemical

etiology, and the introduction of medical assistance to practitioners who are directly in contact with the OLE-LP.

БІОХІМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ФІКСОВАНОЇ КОМБІНАЦІЇ ПІРИДОКСИНУ ТА МАГНІЮ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ

БРЮХАНОВА Т.О., ЗАГАЙКО А.Л.

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ, УКРАЇНА;

e-mail: tatiana.briukhanova@gmail.com

Відповідно до даних Всесвітньої організації охорони здоров'я, зловживання алкоголем є причиною понад 3,3 млн. смертей щорічно. Надмірне споживання алкоголю є першою із причин розвитку захворювань печінки в Європі, в тому числі – в Україні. Важливо зазначити, що у структурі хронічних захворювань печінки на долю метаболічних порушень, зокрема, алкогольного (АСГ) та неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) припадає більше половини клінічних випадків. При цьому, співвідношення АСГ:НАСГ складає приблизно 15:1, що свідчить про високу медико-соціальну значущість цієї патології та визначає стратегічно важливий напрям досліджень – пошук ефективних та безпечних шляхів фармакологічної корекції АСГ. Патогенез АСГ включає декілька провідних ланок: інтенсифікацію накопичення ліпідів у печінці, переважно, за рахунок збільшення їх синтезу *de novo*; порушення метаболізму сірковмісних амінокислот із розвитком виразної гіпергомоцистеїнемії та окисного стресу і полігіповітаміноз водорозчинних вітамінів. В цілому, зазначені патологічні зміни обумовлюють сукупність клінічних проявів АСГ та його прогресування.

Метою роботи було дослідження доцільності застосування фіксованої комбінації піридоксину та магнію у вигляді монотерапії або разом із адеметіоніном за алкогольної жирової хвороби печінки у щурів.

Дослідження проводили на 50 аутбредних білих щурах-самцях, віком 6 місяців на початок експерименту, масою 180-200 г. Тварин розподілили на 5 груп по 10 тварин в кожній – інтактний контроль (ІК), модельна патологія (МП), МП+препарат "МагнеВ6" у дозі 4,1 мг/кг (МП+В6); МП+препарат "Гептрал" у дозі 82,7 мг/кг (МП+адм); МП+В6+адм. Алкогольну жирову хворобу печінки індукували рідкою етанолвмісною дієтою за Lieber-DeCarli згідно останньої модифікації. Досліджувані препарати вводили протягом 30 днів, починаючи з 83-ї доби експерименту. У сироватці крові визначали активність АЛТ, АСТ, вміст гомоцистеїну та

фактора некрозу пухлини альфа (TNF- α); у гомогенаті печінки – вміст триацилгліцеролів (ТАГ), відновленого глутатіону (GSH), активність цистатіонін-бета-синтази (CBS). Отримані дані статистично обробляли із використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA.

У тварин із МП активність АЛТ та АСТ вірогідно зростала у 3,65 та 2,46 рази, відповідно, що свідчило про глибоке ушкодження структури гепатоцитів. Рівень TNF- α достовірно зростав у 3,64 рази, що підтверджувало розвиток прозапального стану. Вміст ТАГ у гомогенаті печінки збільшувався більше ніж трикратно, що підтверджувало формування характерного для патології стеатозу. Вміст гомоцистеїну достовірно зростав у 2,4 рази, в той час, як активність CBS та вміст GSH суттєво знижувались: у 2,34 та 2,1 рази, відповідно. Застосування досліджуваних препаратів у значній мірі нормалізувало зазначені показники, при цьому найвиразніший вплив виявила комбінація "МагнеВ6" та "Гептрал". Ми це пов'язуємо із відновленням активності піридоксальзалежного ензиму CBS та, відповідно, нормалізацією метаболізму гомоцистеїну із утворенням цистеїну – попередника глутатіону, а адеметіонін, у свою чергу, шляхом алостеричного регулювання, ймовірно, стимулював перетворення гомоцистеїну на метіонін, що, в цілому, супроводжувалось пригніченням виразності окисного стресу та ліпотропною дією. Корекція дефіциту магнію, який, ймовірно, мав місце за умов МП, та введення адеметіоніну приводило до нівелювання порушень ліпідного обміну, що підтверджувалось виразним зниженням рівня ТАГ. Очевидно, що комбіноване застосування препаратів супроводжувалось нормалізацією перебігу реакцій трансметилування, які є невід'ємною складовою регенераційних процесів у печінці, на користь чого свідчить нормалізація активності АСТ і АЛТ та вмісту TNF- α .

Комбіноване застосування піридоксину/магнію із адеметіоніном є високоєфективним за АСГ, що обумовлене комплексним впливом на складові патогенезу патології.

АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ПРОТЕЇНІВ І ЛІПІДІВ ТА КОМПОНЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЕ СНУ

БУРЛАКА Ю.Б., КЛИСЬ Ю.Г., ВОРОШИЛОВА Н.М.

ДУ "ІНСТИТУТ ОТОЛАРИНГОЛОГІЇ ІМ. ПРОФ. О.С. КОЛОМІЙЧЕНКА НАМН УКРАЇНИ", КИЇВ;
e-mail: yulya.klys@ukr.net

Синдром обструктивного апное сну (СОАС) – розлад дихання, що характеризується хрипінням, періодичним спаданням верхніх дихальних шляхів на рівні глотки, припиненням легеневої вентиляції при збережених дихальних зусиллях, фрагментацією сну і денною сонливістю. СОАС супроводжується епізодами гіпоксії та реоксигенації, що викликає збільшення рівня активних форм вільних радикалів і провокує окисний стрес.

було: дослідити вміст похідних пероксидного окислення протеїнів та ліпідів та компонентів антиоксидантної системи у хворих з СОАС.

Обстежено 10 хворих із СОАС, які мали більше 30 епізодів зупинки дихання на годину (індекс апное сну – $IA > 30$). Хворі перебували на стаціонарному лікуванні у ДУ "Інституті отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України". Контрольну групу склали 10 умовно здорових людей. Об'єктом біохімічних досліджень була сироватка крові. Вміст молекул середньої маси (МСМ) визначали методом Жаденова та співавт. Визначення тирозинвміщуючих пептидів (ТВП) проводили згідно методики Гаврилова та ін. Інтенсивність окислювальної модифікації протеїнів (ОМП) плазми крові оцінювали за методом R.L. Levin у модифікації A.Z. Reznick. Оцінку інтенсивності пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) визначали за вмістом ТБК-позитивних продуктів методом Гончаренко та співавт. Активність каталази визначали згідно методу Королюка та ін. Вміст вільних тіолових груп визначали методом Соколовського та співавт. Статистична обробка результатів проводилась за допомогою пакета програм для статистичної обробки біометричних даних WinPEPI.

У сироватці крові хворих встановлено підвищення рівнів МСМ та ТВП як біохімічних маркерів ендогенної інтоксикації. Вважають, що рівень МСМ, в першу чергу, відображає ступінь патологічного протеїнового метаболізму, вміст ТВП є більш інформативним показником, що відображає стан

ендогенної інтоксикації. Існують дані про взаємозв'язок між концентрацією МСМ та посиленням вільнорадикальних процесів в організмі, що призводить до утворення продуктів окислення протеїнів і ліпідів. Показано збільшення вмісту альдегідних та кетонних похідних протеїнів та ТБК-позитивних продуктів у хворих з СОАС. Альдегідні похідні протеїнів є маркерами їх структурних порушень шляхом фрагментації. Кетонні похідні свідчать про виражену деструкцію протеїнових молекул та їх агрегацію у плазмі крові, їх зростання може вказувати на зниження резервно-адаптаційних можливостей організму. До найбільш важливих наслідків ОМП належить інактивація ферментів, функціонування іонних каналів і рецепторів клітин. Встановлена нами активація процесів ПОЛ за рівнем ТБК-позитивних продуктів у хворих з СОАС узгоджується з гіпотезою *Reimund*, згідно якої під час сну відбувається видалення вільних радикалів, що акумулюються в організмі під час неспання. При дослідженні компонентів антиоксидантного захисту встановлено зменшення вмісту тіолових груп, що може бути обумовлено більш активним їх використанням як антиоксидантів, натомість виявлене зростання активності каталази може компенсувати зниження їх рівня у відповідь на розвиток оксидативного стресу.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про зростання інтенсивності процесів пероксидного окислення протеїнів і ліпідів, зміну показників антиоксидантної системи та розвиток ендогенної інтоксикації у хворих із синдромом обструктивного апное сну. Тому урахування досліджених в роботі показників окисно-відновної ланки патогенезу та антиоксидантної системи при СОАС становить науковий та практичний інтерес для розробки рекомендацій, профілактичних і лікувальних заходів з метою підвищення якості життя хворих із СОАС.

ЕКСПРЕС-МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛЬОВИХ ІЗОЛЯТІВ СУБТИПІВ Н1 ТА Н7 ВІРУСУ ПТАШИНОГО ГРИПУ ЗА ДОПОМОГОЮ ПЛР У РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ І АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ДОВЖИН РЕСТРИКЦІЙНИХ ФРАГМЕНТІВ (ПДРФ)

БУРЯЧЕНКО С.В., СТЕГНІЙ Б.Т.

ННЦ ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ, ХАРКІВ, УКРАЇНА;
e-mail:semenb837@gmail.com

Вірус грипу типу А відноситься до родини *Orthomyxoviridae*, широко поширений у природі, вражає багато видів ссавців і птиці, в основному водного та наводного комплексу, та має можливість викликати епідемії, пандемії та епізоотії (Brown I.H. et al 1993, 1995, 1998). Вірус грипу А відрізняється високим ступенем варіабельності, особливо це стосується поверхневих глікопротеїнів віріона: гемаглютиніну (HA) та нейрамінідази (NA). Відомо 16 антигенних підтипів гемаглютиніну (H1-N15), 9 підтипів нейрамінідази (N1-N9) та нуклеопротеїд (NP). Класичними методами діагностики даного збудника є реакція гальмування гемаглютинації, реакція зв'язування комплементу, реакція нейтралізації, що дозволяє визначити наявність вірусних антигенів, а також метод імуноензимного аналізу, який дозволяє визначити наявність антитіл до вірусних антигенів у сироватках крові. Крім цього, існує ряд наборів для виявлення в біологічних пробах генетичного матеріалу вірусу грипу А методом полімеразної ланцюгової реакції (WHO 2005), (Paungporn S. Et al, 2004). Метою даної роботи було проведення та визначення підтипів Н1 та Н7 польових ізолятів за допомогою розробленого експрес-методу ідентифікації на основі аналізу поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів РНК вірусу. На основі аналізу поліморфізму генів гемаглютиніну, нейрамінідази та нуклеопротеїду їх варіабельних локусів отримали пари олігонуклеотидів специфічних для вірусних підтипів Н1Н1 та Н7Н9. Для підбору праймерів використовували більше 8000 послідовностей генів HA, NA та NP вірусу грипу А підтипів Н1Н1 та Н7Н9, виділені до 2017 року. Послідовності були проаналізовані з використанням програм Alignment Service та Lasergene (версія 6.0). Рівень гомології підібраних праймерів не менше, ніж 95 %. Розроблений спосіб виявлення вірусу на основі ампліфікації ділянки кДНК вірусу грипу А за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та ПДРФ аналізу ділянки вірусного гена гемаглютиніну, нейрамінідази та нуклеопротеїду для збільшення кількості копій РНК вірусу грипу А підтипів Н1Н1 та Н7Н9. При цьому рівень гомології підібраних праймерів складає не менше 95 % для трьох генів. Вірус визначається, якщо після розділення частини реакційної суміші в агарозному гелі в аналізуючому зразку виявляються фрагменти РНК розміром 184 нуклеотидних пар для праймерів, специфічних Н1, і 213 нуклеотидних пар для праймерів, специфічних Н1 та 180 пар для Н7 і 210 для Н9.

Відсутність гомології з іншими вірусами родини *Orthomyxoviridae* та з іншими підтипами вірусу грипу А було основним критерієм відбору олігонуклеотидів. Таким чином, для кожного гена (HA, NA та NP) вірусу грипу А підтипу Н1Н1 та Н7Н9 була підібрана пара праймерів, яка висококонсервативна і специфічна до свого підтипу і не має гомології з іншими підтипами вірусу грипу А та з іншими спорідненими вірусами. Розраховані олігонуклеотиди були синтезовані на автоматичному синтезаторі 349 DNA/RNA synthesizer (Applied Biosystems (США)) по стандартній методиці.

Запропонований спосіб включає в себе дві основні реакції. Перша – це ПЛР з праймерами ACCAGCCTCCCATTTTCAGAA та TTCGGTCAGCTGCATATCCT, специфічними до ділянки гена гемаглютиніну вірусу грипу А. Матрицею для цієї реакції служить одноланцюгова РНК вірусу грипу, а затравкою – праймери для гена NATGACCGATGGACCAAGTGAT та GGTTCGATATGGGCTCCTGT, для гена NPCCACAGAGGGGTCCAGATT та GGAGATTTTCGCTGCACTGAG. Друга реакція – ПДРФ з ендонуклеазою, специфічними до ділянки гена нейрамінідази. Вірусну РНК виділяли набором "QIAprep Viral RNA kit" фірми Qiagen. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі фірми Applied Biosystem GenAmp 9700. Для постановки ПЛР використовували набір "SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq High Fidelity DNA Polymerase" (Invitrogen). Склад реакційної суміші: вода – 17,5 мкл; 2x буфер – 25,0 мкл; праймер прямий – 1,0 мкл; праймер зворотній – 1,0 мкл; ензим – 0,50 мкл; РНК вірусу – 5,0 мкл. Кінцевий об'єм – 50 мкл. Далі проводили ПДРФ аналіз з використанням 2-х типів рестриктаз XhoI, EcoRI, PstI та HindIII. Реакційну суміш аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. Вірус визначається, якщо після розділення частини реакційної суміші в агарозному гелі в аналізуючому зразку виявляються фрагменти РНК розміром 184 нуклеотидних пар для праймерів, специфічних Н1, і 213 нуклеотидних пар для праймерів, специфічних Н1 та 180 пар для Н7 і 210 для Н9. Запропонований метод діагностики вірусу пташиного грипу А методом ПЛР – ПДРФ є високочутливим та високоспецифічним до вірусу грипу А підтипів Н1Н1 та Н7Н9 і дозволяє достовірно визначити наявність РНК вірусу цього підтипу в біоло-

гічних пробах без попереднього накопичення тестуємого вірусу, що особливо важливо під час роботи з високопатогенними штамами. Тест-систе-

ма здібна виявляти збудника грипу А підтипів H1 та H7 навіть у випадку багаточисленних мутацій і реасортацій генетичного матеріалу.

FUNCTIONALIZED IRON (II) CLATHROCHELATES WITH CYTOTOXICITY AGAINST CANCER CELLS

VAKAROV S.¹, KUPERMAN M.², KOVALSKA V.², VARZATSKII O.², MOKHIR A.³

¹VERNADSKY INSTITUTE OF GENERAL AND INORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

³FRIEDRICH-ALEXANDER UNIVERSITY, ERLANGEN, GERMANY
e-mail: vakarov.s.v@gmail.com

Clathrochelates are the class of complexes, in which metal ion is encapsulated in tridimensional macrobicyclic organic ligand. The structure of clathrochelate complexes allows to functionalize it on eight different positions. Depending from the nature and geometry of such substituents, clathrochelates can show a wide range of biological activity including inhibition of T7 RNA polymerase, antifibrillogenic activity, ability to bind globular proteins. Recently, the toxicity of chloro-substituted clathrochelates of iron(II) and cobalt(II) against cancer cells (line HL-60) has been discovered, such toxicity was attributed to alkylation mechanism that is provided by reactive chlorine groups interacting with glutathione molecules. These clathrochelates demonstrate the close cytotoxicity on both cancer and healthy cells.

The presented study aimed to examine cytotoxic properties against cancer cells of iron(II) clathrochelate derivatives modified by substituents not able to alkylation reaction (covalent binding) and expected to interact with biomolecules by supramolecular interactions. For this, the series of clathrochelates with combination of terminal carboxy, carbomethoxy and phenyl groups was synthesized and characterized by physico-chemical methods. Their cytotoxicity was characterized on HL-60 cancer cell lines and healthy fibroblast cells.

We found that clathrochelates bearing two carboxy groups show moderate toxicity, while their ester derivatives show no toxicity towards both healthy and cancer cells. (IC_{50} in the range 30–100 μ M for dicarboxy and more than 200 μ M for diesters). However, the toxicity against leukemia cells of the clathrochelates with one terminal carboxygroup – monocarboxy monoester and monocarboxy monophenylsulfide derivatives ($IC_{50}=1$ μ M for both complexes) is higher than the toxicity of earlier reported complexes with reactive chlorine groups. Moreover, the toxicity of these non-symmetric clathrochelates to healthy fibroblast cells were in the range of 40–60 μ M, which is up to 60 times lower.

Thus, here we firstly report the functionalized clathrochelate complexes with high toxicity and selectivity to cancer cells compared over healthy cells. Realization of their cell toxicity mechanism is suggested to occur via supramolecular interactions between clathrochelates and biomolecules and strongly depends on nature of functional substituents in clathrochelate macrocycle.

The project leading to these results has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation program under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 778245.

THE ROLE OF VITAMIN D₃ IN CYTOKINE-DEPENDENT REGULATION OF BONE TISSUE REMODELING AT EXPERIMENTAL OSTEOPOROSIS

VELIKY M.M., LISAKOVSKA O.O., SHYMANSKYI I.O., KHOMENKO A.V., ZLATOUS N.V.
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: veliky@biochem.kiev.ua

Synthetic glucocorticoids (GC) are widely used in medicine as an effective anti-inflammatory, immunosuppressive and antiallergic drugs. However, pro-

longed use of GC is associated with pathologic complications, including glucocorticoid-induced osteoporosis (GIO). Vitamin D₃ (D₃) and D-auto/paracrine

system, including vitamin D receptor (VDR) and an enzyme 1 α -hydroxylase (CYP27B1), play a crucial role in bone remodeling. Nevertheless, the precise molecular and cellular mechanisms underlying GC-induced osteoporosis and the ways to correct impairments in the bone tissue functioning, especially concerning the angiogenesis/osteoblastogenesis/osteoclastogenesis coupling, still remain controversial. The aim of the study was therefore to elucidate the role of the NF- κ B-dependent signaling pathways, including the receptor activator of nuclear factor κ B, its ligand and osteoprotegerin (RANK/RANKL/OPG) system and the hypoxia-inducible factor 1- α (HIF-1 α)/vascular endothelial growth factor (VEGF) axis in the mechanisms of disturbances in bone tissue remodeling under experimental glucocorticoid-induced osteoporosis and to assess the effect of D₃ treatment.

Female Wistar rats received prednisolone (5 mg/kg b.w.) with or without 100 IU of D₃ (for 30 days). Biomechanical parameters of rat femurs were assessed by the 3-point bending test. The levels of VDR, CYP27A1, CYP27B1, VEGF, pNF- κ B p65, I κ B (inhibitor of NF- κ B), RANK, RANKL and OPG in bone tissue (BT) were determined by western blotting. PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ), HIF-1 α , total NF- κ B and TNF α mRNAs were measured by qRT-PCR. RANK immunostaining in BT sections was also performed. 25OHD blood serum content was assayed by ELISA.

Chronic GC administration was associated with a decrease in both maximal load and stiffness of rat femurs and was accompanied by a 3-fold reduction of D₃ bioavailability marker – 25OHD, in serum, suggesting the development of osteoporosis and severe

vitamin D deficiency. A reduced OPG/RANKL ratio in bone tissue after prednisolone administration was found, suggesting impairments in bone remodeling. Prednisolone also caused a decrease in VDR protein level (-36.7 \pm 2.3 %, P <0.05), however dramatically elevated PPAR γ mRNA level (by 10-fold) in BT that may contribute to anti-osteoblastic and pro-osteoclastic effects during GC-induced bone loss. Despite elevated mRNA levels of key upstream VEGF regulators: HIF-1 α (+82.5 \pm 7.2 %, P <0.05) and NF- κ B (+480.1 \pm 10.9 %, P <0.05), VEGF protein level crucially decreased (-89.5 \pm 5.4 %, P <0.05) after chronic GC administration, reflecting impaired bone angiogenesis. Nevertheless, the content of NF- κ B p65 (phosphorylated at Ser 311) declined (-56.6 \pm 3.8 %, P <0.05) most likely due to reduced levels of NF- κ B modulators: RANK (-49.5 \pm 4.4 %, P <0.05) and TNF α (-30.3 \pm 2.5 %, P <0.05) and increased I κ B level (+44.4 \pm 2.7 %, P <0.05). Prednisolone-induced impairments in D₃ metabolism and lowered phosphoNF- κ B level resulted in VEGF inhibition and caused impaired osteogenesis/angiogenesis coupling. Vitamin D₃ administration ameliorated GC-evoked changes in BT through a significant decrease in PPAR- γ , elevation of VEGF level and improved coupling of HIF-1 α /VEGF and RANK/NF- κ B pathways.

In general, prednisolone-induced imbalance in the interaction of VDR-, HIF-1 α /VEGF and RANK/NF- κ B, three critical bone signaling pathways, is associated with reduction of D₃ bioavailability and VDR expression and may be partially ameliorated by vitamin D₃ treatment. Thus, we can recommend using cholecalciferol to correct prednisolone-induced disturbances of bone remodeling after chronic GC treatment.

АКТУАЛІЗАЦІЯ НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНОГО ПРОЦЕСУ ЗГІДНО СУЧАСНИХ ВИМОГ ДО КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

ВИНОГРАДОВА К.Г., НИЖЕНКОВСЬКА І.В., МАНЧЕНКО О.В.

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ, УКРАЇНА;

e-mail: vinogradova@molg.com.ua

Стрімкий розвиток біотехнології протягом останнього десятиліття визначає майбутнє фармацевтичної галузі: створення нових лікарських препаратів, які вибірково діють на патологічні процеси в організмі (рекомбінантні інсуліни та їх аналоги, еритропоетини, пегільовані інтерферони, моноклональні антитіла тощо).

Для майбутніх фахівців під час навчання отримані знання та практичні навички повинні бути закріплені та актуалізовані у відповідності з сучасними вимогами фармацевтичної галузі. У першу чергу це стосується вимог, які викладено у Держав-

ній фармакопеї України – правовому акті, який містить загальні вимоги до лікарських засобів, методи контролю якості, монографії на субстанції та готові лікарські форми. Удосконалення навчальних планів, створення наскрізної програми підготовки провізорів, упровадження в освітньо-інтегративний процес сучасних міжнародних медичних та освітніх стандартів, підвищення інтелектуального, науково-освітнього, професійно-орієнтованого рівня майбутніх провізорів та, особливо, викладачів, забезпечення їх сучасними інноваційними та інформативними медичними технологіями стало

важливим досягненням у розвитку професійної діяльності майбутніх фахівців.

На цей час при викладанні багатьох дисциплін (належні практики у фармації, біологічна та фармацевтична хімії, стандартизація лікарських засобів, контроль якості лікарських засобів тощо) в навчально-методичних планах, рекомендаціях, матеріалах для підготовки, тестових завданнях враховано вимоги Державної фармакопеї України, які повинні бути виконані при застосуванні фізико-хімічних методів контролю, які є традиційними для наукових розробок в галузі біохімії, біотехнології та фармхімії: спектрометрія, хроматографія, електрофорез, ізоелектричне фокусування, пептидне картування, амінокислотний аналіз, реєстрація та вимірювання радіоактивності. Оскільки підготовка сучасного спеціаліста в галузі фармації потребує глибоких знань вимог до контролю якості біотехнологічних лікарських препаратів і поглиблених знань з біохімії, імунології та молекулярної біології в навчально-методичному забезпеченні навчального процесу важливе місце повинні займати оновлені в 2016–2018 рр. матеріали другого видання Державної фармакопеї України. Так, розділ “Біологічні випробування” розширений на 11 загальних статей, які містять докладну інформацію та вимоги до якості матеріалів, реактивів, клітинних

культур, тварин, які використовуються при випробуваннях, опис проведення випробувань, оцінку та інтерпретацію отриманих результатів, вимоги до заходів безпеки, при необхідності, відомості щодо валідації методів контролю тощо. Прикладом є “Активовані фактори зсідання крові”, “Тест на анти-D-антитіла в імуноглобуліні людини”, “Випробування на активацію моноцитів”. Розділ “Біологічні методи кількісного визначення поповнено 20 новими статтями, які стосуються методів кількісного визначення факторів зсідання крові людини II, VII, VIII, IX, X, XI, антитромбіну III людини, тощо.

Таким чином, використання актуальних вимог та оновлених матеріалів діючого видання Державної фармакопеї України в усіх видах навчально-методичного забезпечення освітнього процесу є важливим аспектом у підвищенні рівня знань майбутніх фахівців. Відстеження важливих тенденцій, використання оновлених матеріалів та розробок, які висвітлено у діючій редакції Державної фармакопеї України, обговорення їх науково-педагогічними працівниками та впровадження відповідних змін у робочі програми дозволяють отримати високі результати, що позитивно впливає і впливатиме в майбутньому на розвиток сучасної фармацевтичної галузі.

DEVELOPMENT OF AMINOACYL-TRNA MULTI-TARGET INHIBITORS USING HYBRID VIRTUAL SCREENING TO OVERCOME *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* RESISTANCE TO ANTIBIOTICS

VOLYNETS G.P., STAROSYLA S.A., BDZHOLA V.G., RYBAK M.Yu., KOVALENKO O.P., YARMOLUK S.M., TUKALO M.A.

INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: galina.volinetc@gmail.com

Tuberculosis is one of the most dangerous infectious diseases and a serious public health problem. According to the World Health Organization (WHO) report in 2018, tuberculosis belongs to the top 10 causes of death worldwide. The development of novel effective antituberculosis drugs is a challenge due to the increasing of drug-resistance. This fact induces the search of novel approaches and molecular targets to overcome *Mycobacterium tuberculosis* multidrug resistance to antibiotics.

At the present time, the inhibition of two/multi molecular targets by one single compound is considered as an efficient approach for the treatment of diseases associated with drug-resistance, since mutations are needed in all targets for resistance development.

The aim of our study was to develop novel inhibitors targeting simultaneously two enzymes – leucyl-tRNA synthetase (LeuRS) and methionyl-tRNA synthetase (MetRS) *M. Tuberculosis*, which play an indispensable role in protein synthesis.

To discover dual-targeted inhibitors for LeuRS and MetRS *M. tuberculosis*, we used hybrid virtual screening which combines ligand-based approach – pharmacophore modeling and receptor-based method – molecular docking.

We built pharmacophore models based on the structures of known inhibitors for bacterial LeuRS and MetRS, which were retrieved from the ChEMBL database using web-server PharmaGist and program Discovery Studio Visualizer. Pharmacophore screening of compound collection containing about 100,000

ligands against obtained pharmacophore hypotheses was performed with program PharmDeveloper, which was developed earlier by us. According to pharmacophore screening, we selected 156 compounds for investigation of their inhibitory activity toward recombinant LeuRS and MetRS *M. tuberculosis in vitro*.

In order to find inhibitors targeting simultaneously LeuRS and MetRS *M. tuberculosis*, we also applied molecular docking approach. For molecular docking, we built three-dimensional structure of *M. tuberculosis* LeuRS using Swiss-Model web-server and minimized with GROMACS software. The generated homology model of LeuRS *M. tuberculosis* and crystal structure of mycobacterial MetRS (PDB ID: 5XET) were taken for receptor-based virtual screening of our in-house library containing about 100,000 compounds with AutoDock program. According to the results of molecular docking and visual inspection of the best-scored complexes, we selected 213 compounds for investigation of their inhibitory activity toward recom-

binant *M. tuberculosis* LeuRS and MetRS using aminoacylation assay.

Among 369 tested compounds, which were selected based on the results of both virtual screening approaches, we identified six inhibitors with dual-targeted activity against mycobacterial LeuRS and MetRS. Two of these compounds inhibit the growth of pathogenic strain *M. tuberculosis* H37Rv with MIC values of 12.5 μM . The most promising compound inhibits LeuRS and MetRS *M. tuberculosis* with IC_{50} values of 13 μM and 13.8 μM , respectively. We performed molecular dynamics simulation of the complexes of this compound with LeuRS and MetRS and found that this ligand has a similar binding mode with aminoacyl-adenylate binding sites of both enzymes and interacts simultaneously with the adenine-binding region and leucyl- or methionyl-binding pocket. This compound can be a valuable candidate for further chemical optimization in order to find promising anti-tuberculosis agents.

СТАН РАБДОМІОЛІЗУ ПРИГНІЧУЄ ГЛІКУВАННЯ КОЛАГЕНУ У ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВИМ ДІАБЕТОМ

ВОЛОДИНА Т.Т., ПОПОВА Н.М., КРИСЮК І.П., ШАНДРЕНКО С.Г.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: volt@biochem.kiev.ua

Відомо, що одним із ускладнень діабету є неензиматичне глікування протеїнів. Результати наших попередніх досліджень продемонстрували, що комбінація рабдоміолізу з гіперглікемією сприяє зниженню показників карбонільного стресу при діабеті. Тому, ми вирішили з'ясувати особливості глікування колагену, як одного із протеїнів із тривалим часом півжиття, за умов діабету в поєднанні з рабдоміолізом. Метою даної роботи було дослідити глікування молекули колагену за умов діабету в поєднанні з рабдоміолізом (міопатія, ушкодження клітин м'язової тканини, переважаність організму продуктами розпаду міоглобіну, Fe^{++} , внаслідок розриву міоцитів, розвиток оксидативного стресу). Об'єктом досліджень були загальні вуглеводи шкіри (як органу) та очищений колаген, одержаний в кристалах із цієї ж шкіри. Дослідних тварин розділяли на три групи: I – інтактна, II-стептозотоциновий діабет, III-стрептозотоциновий діабет у поєднанні із станом рабдоміолізу. Визначали кількісно: а) вміст загального колагену в шкірі; б) його розчинність (як показник міжмолекулярного зшивання; в) вміст загальних вуглеводів як самої шкіри, так і вуглеводної складової кристалічного колагену. Колаген визначали за вмістом О-Про (специфічний маркер колагенової спіралі) в реакції з діамінобензальде-

гідом (ДАБА) після гідролізу в 6 н. HCL. Вуглеводний компонент визначали за реакцією з антроновим реактивом після гідролізу в 2 н. HCL. Результати проведених досліджень засвідчили відсутність кількісних змін у вмісті загального колагену шкіри щурів всіх досліджуваних груп, на відміну від його вуглеводної частини, яка при діабеті достовірно зростала як в самій шкірі, так і в очищеному, кристалічному колагені. Крім того, при діабеті, одночасно із зростанням вмісту вуглеводів в шкірі і очищеному колагені, спостерігалось достовірне зниження його розчинності відносно контролю, що свідчило про зростання міжмолекулярного зшивання колагенових ланцюгів. Встановлено, також, що вміст вуглеводів у шкірі тварин III групи (діабет в поєднанні з рабдоміолізом) достовірно знижений відносно таких значень при діабеті. Визначення вуглеводів у препаратах кристалічного колагену свідчило про зростання його вуглеводної компоненти однонаправлено із такими в шкірі. На основі проведених досліджень ми дійшли висновку, що стан рабдоміолізу пригнічує можливе неензиматичне глікування колагенової молекули при діабеті, через це рівень ензиматичного глікозилювання колагену суттєво не змінюється.

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА МЕТАБОЛІЗМ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В НИРКАХ ТА ЇХ ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК

ВОЛОЩУК Н.І., КОНЮХ С.А.

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;
e-mail: voloshchuk@vnmua.edu.ua

Гідро­ген суль­фід (H_2S) є важливою біологічно ак­тив­ною спо­лу­кою, яка син­тезуєть­ся ни­р­ка­ми і ре­гу­лює їхні ос­новні фізіологічні функції. По­ру­шен­ня ме­та­бо­ліз­му H_2S ле­жить в ос­нові ура­жен­ня ни­рок, од­нак на сьо­го­дні іс­нують до­сить су­пе­ре­ч­ли­ві дані що­до спря­мо­ваності змін ме­та­бо­ліз­му H_2S за різ­них па­то­ло­гіч­них станів в ни­р­ках.

Ме­тою ро­бо­ти бу­ло оці­ни­ти вплив мо­ду­ля­то­рів об­мі­ну H_2S - про­па­р­гіл­глі­ци­ну (ППГ – ін­гі­бі­то­ра ЦГЛ) та на­трій гі­дро­ген­суль­фід­у ($NaHS$ – до­но­ра H_2S) на по­ка­з­ни­ки ме­та­бо­ліз­му H_2S та па­ра­мет­ри функ­ці­о­наль­но­го ста­ну ни­рок у щу­рів з хро­ніч­ною хво­ро­бою ни­рок (ХХН).

До­слі­ди про­ве­де­ні на 55 щу­рах-са­м­ця­х лі­нії Ві­стар. Тва­ри­ни бу­ли по­ді­ле­ні на 4 гру­пи. 1 гру­па ($n=10$) – кон­троль­ні (псе­вдо­про­опе­ро­вані) тва­ри­ни, яким бу­ло про­ве­де­но се­ре­дин­ний роз­тин пе­ред­ньої че­ре­вної стін­ки з на­ступ­ним по­ша­ро­вим уш­иван­ням опе­ра­цій­ної ра­ни. Тва­ри­нам 2-4 груп ($n=15$) від­тво­рю­ва­ли ек­спер­имен­таль­ну мо­дель хро­ніч­ної хво­ро­би ни­рок (од­но­біч­на неф­рек­то­мія та ре­зе­кція 5/6 кон­тр­ла­те­раль­ної ни­рки). Щу­рам 2-ї гру­пи вну­тріш­ньо­че­ре­вно вво­ди­ли ППГ (50 мг/кг) 7 днів до по­чат­ку мо­де­лю­ван­ня ХХН та про­тя­гом 30 днів пі­сля ос­тан­ньої опе­ра­ції, тва­ри­нам 3-ї гру­пи – $NaHS$ (3 мг/кг) за ана­ло­гіч­ною схе­мою. Щу­ри 4-ї гру­пи з ек­спер­имен­таль­ною ХХН от­ри­му­ва­ли ек­ві­о­б'є­мні кіль­ко­сті фізіологічного роз­чи­ну. Вміст гі­дро­ген суль­фід­у в го­мо­ге­наті ни­рок ви­зна­ча­ли спек­тро­фо­то­мет­рич­но в ре­ак­ції між суль­фід аніоном та па­ра­фе­ні­лен­ді­амі­ном гі­дро­х­ло­ри­ду у кис­ло­му се­ре­до­ви­щі в при­сут­ності іонів заліза (III). Ак­тив­ність H_2S -син­те­зу­ю­чих ен­зи­мів – цис­та­ті­онін- γ -ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1), цис­та­ті­онін- β -син­тази (ЦБС, КФ 4.2.1.22), цис­теї­на­мін­от­ранс­фе­рази (ЦАТ, КФ 2.6.1.3) оці­ню­ва­ли в ада­п­то­ван­их на­ми ін­ку­ба­цій­них се­ре­до­ви­щах за при­ро­стом суль­фід-аніону. Здат­ність ни­рок до утилізації ек­зо­ген­но­го H_2S ви­зна­ча-

ли за швидкістю зниження кон­цен­тра­ції суль­фід-аніону в ін­ку­ба­цій­но­му се­ре­до­ви­щі. Функ­ці­о­ну­ван­ня канальцевого та клубочкового апа­ра­ту ни­рок ви­зна­ча­ли стан­дарт­ни­ми ме­то­да­ми пі­сля вод­но­го на­ван­та­жен­ня. Ре­зуль­та­ти об­ро­б­ля­ли стан­дарт­ни­ми ме­то­да­ми біо­мет­рії. Ві­ро­гід­ни­ми вва­жа­ли від­мін­ності при $p<0,05$.

У щу­рів з ХХН від­бу­ва­єть­ся по­ру­шен­ням ме­та­бо­ліз­му H_2S : змен­шуєть­ся ак­тив­ність H_2S -про­ду­ку­ю­чих ен­зи­мів на 28,3-34,2 % ($P<0,05$), зрос­тає швид­кість утилізації ек­зо­ген­но­го H_2S в ни­р­ках на 34,3 % ($P<0,05$) та зни­жуєть­ся вміст H_2S 35,8 % ($P<0,05$), від­но­сно кон­тро­лю. За умов ХХН від­мі­чаєть­ся зрос­тан­ня (на 30-70%, $P<0,05$) кон­цен­тра­ції креатиніну, на­трію та ка­лію в кро­ві, елі­мі­на­ції про­теїну з се­чею, а та­кож змен­шен­ня (в 1,4-2,1 ра­за, $P<0,05$) діурезу, ШКФ, ек­скре­ції на­трію та ка­лію з се­чею, по­рів­ня­но з кон­тро­лем. Вка­зані гло­ме­ру­ло-ту­бу­лярні по­ру­шен­ня за ХХН тісно ко­релю­ють з вмі­стом H_2S в ни­р­ках ($r=10,54-0,851$, $P<0,05$).

Зас­то­су­ван­ня мо­ду­ля­то­рів об­мі­ну гі­дро­ген суль­фід­у має різ­но­спря­мо­ва­ний вплив на функ­ці­о­ну­ван­ня гло­ме­ру­ляр­но­го та канальцевого апа­ра­тів ни­рок за ХХН у щу­рів. Так, вве­ден­ня ін­гі­бі­то­ру ЦГЛ про­па­р­гіл­глі­ци­ну за ХХН ви­кли­кає змен­шен­ня рів­ня H_2S в ни­р­ках, що супро­во­джуєть­ся по­глиб­лен­ням гло­ме­ру­ляр­ної та ту­бу­ляр­ної дис­функ­ції. В той же час, при­зна­чен­ня на­трій гі­дро­ген суль­фід­у ко­ри­гує рів­ень H_2S в ни­р­ках і ви­яв­ляє по­ту­жні неф­ро­про­те­кторні вла­стивості: пок­ра­щує фі­льт­ра­цій­ну функ­цію ни­рок, про­це­си ре­аб­сор­б­ції во­ди, елек­тро­літ­но­го об­мі­ну, ста­ну ту­бу­ляр­но­го апа­ра­ту.

Про­ве­де­ні до­слі­джен­ня є ва­го­ми­м до­ка­зом важ­ли­вої ро­лі си­сте­ми гі­дро­ген суль­фід­у в ре­гу­ля­ції функ­цій ни­рок в нор­мі та за умов ХХН, а си­сте­ма гі­дро­ген суль­фід­у є мі­шен­ню для фар­ма­ко­те­ра­пії ни­р­ко­вих по­ру­шен­ь за хро­ніч­них хво­ро­б ни­рок.

ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ

ВОРОНKOBA Ю.С., КОМПАНИСЬ В.В.

ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;

e-mail: voronkova1983@gmail.com

Судинні захворювання головного мозку є однією з провідних медичних і соціальних проблем у світі, які обумовлені високим рівнем смертності, тривалою втратою працездатності та вираженою інвалідизацією населення. Основною причиною гострих порушень мозкового кровообігу за ішемічним типом в 50 % випадків є атеросклероз, а частіше – атеротромбоз магістральних артерій або пенетруючих артерій головного мозку і тромбоемболія. Такий спектр причин розвитку ішемічного інсульту привертає увагу до атеросклеротичного ураження судин, як найважливішого чинника цереброваскулярної патології. Тому, своєчасну та правильну діагностику порушень ліпідного обміну можна розглядати як необхідний компонент профілактики та попередження розвитку ішемічного інсульту.

Метою роботи є дослідження змін показників ліпідного обміну (загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів (ТГ), холестерину-ліпопротеїнів низької щільності (ХС-ЛПНЩ) та ліпопротеїнів високої щільності (ХС-ЛПВЩ) у хворих на ішемічний інсульт різних вікових груп та статі у гострому періоді – група хворих із щойно перенесеним ішемічним інсультом віком 52–80 років (n=10) та хворих з атеросклерозом і перенесеним ішемічним інсультом після лікування: 1 – група хворих чоловіків віком 47–65 років (n=23), 2 – група хворих чоловіків віком 66–80 років (n=16), 3 – група хворих жінок віком 47–65 років (n=6), 4 – група хворих жінок віком 66–80 років (n=10). Дослідження проводилися на базі клініко-діагностичної лабораторії в КЗ “Дніпропетровський обласний клінічний центр кардіології та кардіохірургії”. У роботі використано біохімічні методи дослідження сироватки крові та методи статистичної обробки даних із використанням

t-критерію Стьюдента для оцінки достовірності різниці абсолютних значень середніх величин.

Отримані дані свідчать про порушення ліпідного обміну у хворих із ішемічним інсультом як в гострому періоді, так і після лікування. Виявлено достовірне підвищення ЗХС (в 1,7 раза), ТГ (в 1,3 раза), ХС-ЛПНЩ (в 1,6 раза), коефіцієнта атерогенності (в 5 разів) та зниження ХС-ЛПВЩ (в 1,9 раза) у хворих із ішемічним інсультом в гострому періоді. Встановлено, що в осіб експериментальних груп (чоловіки та жінки різних вікових груп) всі середні значення показників ліпідного обміну перевищували цільові рівні (відповідно до рекомендацій Європейської спілки кардіологів із профілактики серцево-судинних захворювань (ESC, 2012): ЗХС, ХС-ЛПНЩ, ТГ у пацієнтів чоловічої статі перевищували такі у жінок в середньому на 18, 21 і 22 % відповідно, що говорить про більше атеросклеротичне ураження судин у чоловіків, про важчий перебіг захворювання та про вищий ризик розвитку гострого інфаркту міокарда.

Характер порушень ліпідного обміну залежить від статі та наявності таких факторів ризику, як: атеросклероз, перенесений інфаркт міокарда, гіпертонічна хвороба 3 стадії, стенокардія. У хворих жінок та чоловіків різних вікових груп із атеросклерозом на фоні перенесеного ішемічного інсульту виявлені достовірні зміни усіх показників ліпідного спектра крові порівняно з контрольною групою.

Виявлена комбінована дисліпідемія без вірогідних відмінностей за статтю та віком, що проявлялася підвищенням вмісту загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів низької щільності, тригліцеридів та коефіцієнта атерогенності за зниженої концентрації холестеролу ліпопротеїнів високої щільності.

ВИВЧЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ [NLE⁴, SER⁵, ASN⁷] NPY (28-36) МОДИФІКОВАНОГО ФРАГМЕНТА НЕЙРОПЕПТИДУ Y

ГАВРИЛОВ І.О., ЗАГАЙКО А.Л.

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ, УКРАЇНА

Нейропептид Y – біологічно активний пептид, рецептори якого поширені в різних органах і тканинах та який бере участь у регулюванні в організмі людини процесів споживання їжі та етанолу, процесів стресу та навчання, регуляція судинного

тону та інше. [Nle⁴, Ser⁵, Asn⁷] NPY (28-36) – це модифікований фрагмент нейропептиду Y, що складається з 9 амінокислотних залишків та проявляє біологічні ефекти цілого нейропептиду.

Метою нашого дослідження є експериментальне підтвердження безпечності перспективного тест-зразка [Nle⁴, Ser⁵, Asn⁷] NPY (28–36).

Для вивчення профілю безпеки визначали параметри гострої токсичності з реєстрацією виживання та визначені середньо-смертельної дози (LD₅₀). Експеримент виконаний на 40 мишах масою 25-30 г чоловічої статі, розділених на групи по 5 тварин у кожній. Згідно з рекомендаціями токсичність вивчали при двох шляхах введення. Розчин досліджуваного пептиду вводили ентерально (внутрішньошлунково) в наступних дозах відповідно кожній групі: 500, 1000, 3000, 5000 мг/кг. Крім того розчин досліджуваного об'єкту вводили парентерально (внутрішньочеревинно) в наступних дозах відповідно кожній групі: 100, 300, 700, 1000 мг/кг. Під час проведення експерименту спостерігали клінічні прояви інтоксикації за змінами загального стану мишей, кольору слизових оболонок, стану шкіри, положення тіла, температури тіла й за появою таких симптомів як діарея, зміна кольору сечі та фекалій, судоми, сонливість, міоз, сльозоточивість). Для розрахунку середньої летальної дози (LD₅₀) визначали загибель тварин для кожної групи протягом 14 днів. Оцінка отриманих результатів проводилась за класифікацією К.К. Сидорова.

Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.). Отримані результати досліджень були статистично оброблені з використанням *t*-критерію Стьюдента.

За результатами дослідження серед тварин у 8 експериментальних групах летальних випадків

не зареєстровано. Відсутність смертності серед досліджуваних тварин при обох досліджуваних шляхах введення дозволяє припустити, що значення (LD₅₀) для зразку розчину [Nle⁴, Ser⁵, Asn⁷] NPY (28–36) перевищує 5000 при внутрішньошлунковому і 1000 мг/кг при внутрішньочеревинному введенні. По класифікації К. К. Сидорова сполука може бути віднесена до IV класу – малотоксичних речовин.

За класифікацією К. К. Сидорова сполука відноситься до IV класу (малотоксичних речовин). [Nle⁴, Ser⁵, Asn⁷] NPY (28–36) за будовою складається з 9 залишків амінокислот, усі амінокислоти у природній для людини L-формі, й 8 з 9 амінокислот є протеїногенними, тобто типовими для власних протеїнів й організму. Це регуляторна сполука, що притаманна для організму людини, метаболізм котрої добре вивчений й кінцеві продукти є безпечними. В результаті метаболізму сполука розкладається до амінокислот й надалі не має складнощів у біотрансформації й знешкодженні сполуки взагалі. Здатність активувати різні рецептори у різноманітних органах дозволяє припустити про можливі побічні фармакологічні ефекти, що потребує подальшого дослідження. Досліджувана речовина не визиває гострих токсичних реакцій за двома досліджуваними шляхами введення, але як для сполуки протеїнової природи потребує вивчення щодо її імуногенності. Все це дозволяє припустити, що [Nle⁴, Ser⁵, Asn⁷] NPY (28–36) є перспективною сполукою для подальшого та більш поглибленого фармакологічного вивчення.

ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД ТКАНИНИ НИРОК ЗА КОРОТКОЧАСНОГО ВВЕДЕННЯ ЕСТЕРІВ ТІОСУЛЬФОКИСЛОТ

ГАВРИЛЯК В.В.¹, ПИЛИПЕЦЬ А.З.^{1,2}, ЛУБЕНЕЦЬ В.І.¹, БІЛУЩАК Г.І.¹, МОНЬКА Н.Я.¹

¹НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА", УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;

e-mail: vitahavryliak@gmail.com

Естери тіосульфокислот характеризуються широким спектром біологічної активності. Вони ефективні проти різних мікроорганізмів та грибів, характеризуються протизапальною, антиоксидантною, цитотоксичною, антиканцерогенною активністю. Ці властивості роблять їх перспективними субстанціями для розробки ефективних лікувальних засобів. Ще однією з особливостей сполук тіосульфатної структури є їх здатність знижувати рівень ліпідів в організмі. Так, відомо, що тіосульфатні сполуки можуть пригнічувати біосинтез холестеролу через інгібування певних ензимів. З іншого боку, естери тіосульфокислот, як ліпофільні сполу-

ки, можуть легко проникати через мембрани клітин, і впливати на їх метаболізм. На сьогодні в літературі відсутні дані щодо впливу сполук тіосульфатної структури на фосфоліпідний профіль тканини нирок, що власне і стало предметом наших досліджень.

Дослідження провели на щурах-самцях лінії Вістар масою 190–210 г, розділених на 4 групи: контрольна та 3 дослідні (D₁, D₂, D₃), по 5 тварин у кожній. Тварин утримували в стандартних умовах віварію з необмеженим доступом до води та корму. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог Європейської конвенції "Про захист хре-

бетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей". В експерименті використовували S-аліл-4-амінобензентіосульфанілат, S-етил-4-амінобензентіосульфанілат і S-метил-4-амінобензентіосульфанілат, синтезовані на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету "Львівська політехніка". Свіжоприготовані розчини вводили внутрішньоочередово одноразово на добу з розрахунку 300 мг/кг маси тіла: групі D₁ – алілтіосульфанілат, групі D₂ – етилтіосульфанілат, групі D₃ – метилтіосульфанілат. Тваринам контрольної групи вводили відповідну дозу стерильної олії. Через три доби від початку експерименту тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Для дослідження відбирали зразки нирок. Ліпіди з гомогенату тканини екстрагували за методом Фолча. Загальний вміст фосфоліпідів оцінювали за кількістю неорганічного фосфору в ліпідному екстракті, а фосфоліпідний спектр – методом тонкошарової хроматографії. Відмінності між значеннями в контрольній і дослідних групах визначали за допомогою ANOVA з використанням поправки Бонферроні.

Встановлено, що короткотривале введення усіх синтезованих естерів істотно впливало на фосфо-

ліпідний профіль тканини нирок, хоча за цих умов загальний вміст фосфоліпідів практично не змінювався. Характерно, що за дії усіх естерів тіосульфокислот вірогідно знижувався вміст мажорної фракції фосфоліпідів – фосфатидилхоліну, яке частково компенсувалося за рахунок підвищення вмісту сфінгомієліну. Співвідношення цих фракцій може відображати зміни у структурі мембранного бішару. Так, у групах тварин, яким вводили аліловий та етиловий естери тіосульфокислоти цей коефіцієнт знижувався практично вдвічі порівняно до контролю, що може вказувати на зменшення рідинних властивостей і збільшення мікрров'язкості ліпідної фази мембрани.

Отже, короткочасне введення синтезованих естерів тіосульфокислот у дозі 300 мг/кг маси хоча і не впливало на загальний вміст фосфоліпідів у тканині нирок, проте призводило до певних змін у структурно-функціональних характеристиках мембран клітин. Так, за умов експерименту найсуттєвіший вплив на стан ліпідного бішару та мікрров'язкість мембран клітин нирок виявлено для алілового естеру тіосульфокислоти. Тому перспективнішими сполуками є етиловий та метиловий естери тіосульфокислот, які можна використовувати у подальших дослідженнях.

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЦИНКУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

ГАПОНЕНКО Я.Ю., ЛЕТНЯК Н.Я., КОРДА М.М.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ
e-mail: korda@tdmu.edu.ua

Швидкий прогрес новітніх нанотехнологій відкриває не лише широкі перспективи для використання наноматеріалів в усіх сферах діяльності людини, а й викликає велике занепокоєння в зв'язку з їх потенційним ризиком для здоров'я людини та оточуючого середовища. Нанооксид цинку (ZnO) є перспективним наноматеріалом, який використовується у виробництві різних барвників, косметики, кераміки, фотокаталізаторів та багатьох інших продуктів, для очищення води та стічних вод. Крім цього, наночастинки ZnO застосовують у харчовій промисловості та сільському господарстві, а також, як протимікробний та протигрибковий засіб у медицині. Враховуючи інтенсивний розвиток нанотехнологій та широке використання наночастинок ZnO у різних галузях промисловості, необхідно вивчити їх токсичний вплив на біологічні системи.

Метою нашого дослідження було дослідити вплив нанооксиду цинку на основні показники функціонального стану печінки.

Наночастинки ZnO вводили тваринам внутрішньошлунково у дозі 25, 50 та 100 мг/кг протягом 14 днів. В експерименті застосовували нанопорошок ZnO виробництва "USResearch Nanomaterials, Inc." (США). Визначення активності лужної фосфатази (ЛФ), аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспартатамінотрансферази (АСТ) сироватки крові проводили на напівавтоматичному аналізаторі "HUMALYZER 2000" з використанням тест-систем "Human", Німеччина.

Як показали результати наших досліджень, введення тваринам нанооксиду цинку викликає зміни в сироватці крові активності ензимів маркерів цитолізу. Зокрема, активність АСТ достовірно (на 25 та 32 %) перевищувала показник контролю у тварин, яким відповідно вводили 50 та 100 мг/кг нано-ZnO. Активність АЛТ перевищувала показник норми у всіх досліджуваних групах та максимально (на 43 %) збільшилась у тварин, яким вводили нано-ZnO у дозі 100 мг/кг. Подібно підвищувалася

активність ЛФ. Результати досліджень активності цитозольних ензимів у плазмі крові вказують на порушення структури і функцій клітинних мембран у тварин, яким вводили наночастинки ZnO.

Внутрішньошлункове тривале введення тваринам наноксиду цинку призводить до підвищен-

ня амінотрансферазної активності і активності лужної фосфатази в крові, що, очевидно, зумовлено збільшенням проникності клітинних мембран гепатоцитів і надходженням внутрішньоклітинних ензимів у кров. Із збільшенням концентрації наночастинок посилюється їх токсична дія.

THE LONG-TERM CONSEQUENCES OF ANTIBIOTIC THERAPY: ROLE OF COLONIC SHORT-CHAIN FATTY ACIDS (SCFA) SYSTEM AND INTESTINAL BARRIER INTEGRITY

HOLOTA Yu.¹, DOVBYNCHUK T.¹, IZUMI KAJI², VARENIUK I.¹, DZYUBENKO N.¹, CHERVINSKA T.¹, ZAKORDONETS L.³, STETSKA V.¹, OSTAPCHENKO L.¹, SERHIYCHUK T.¹, TOLSTANOVA G.¹

¹TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV, UKRAINE;

²UCLA/CURE WEST LA VA MEDICAL CENTER, LOS ANGELES, USA;

³BOGOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV, UKRAINE;

e-mail: ganna.tolstanova@knu.ua

Epidemiological studies revealed that antibiotics exposure increases a risk of inflammatory bowel diseases (IBD) development. Remained largely unknown how antibiotic-induced dysbiosis confers the risk for enhanced inflammatory response. The aim of the present study was to test the hypothesis that SCFAs, their receptors and transporters mediate the antibiotic long-term effects on the functional state of colonic mucosa and susceptibility to the experimental colitis. Male Wistar rats were treated daily for 14 days with antibiotic ceftriaxone (300 mg/kg, i.m.) or vehicle; euthanized by CO₂ inhalation followed by cervical dislocation in 1, 14 or 56 days after antibiotic withdrawal. We found increased cecum weight and sustained changes in microbiota composition after ceftriaxone treatment with increased number of conditionally pathogenic enterobacteria, *E. coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus spp.* and hemolytic bacteria even at 56 days after antibiotic withdrawal. The concentration of SCFAs was decreased after ceftriaxone withdrawal. We found decreased immunoreactivity of

the FFA2, FFA3 receptors, SMCT1 and increased MCT1 & MCT4 transporters of SCFAs in colon mucosa. These changes evoked a significant shift in colonic mucosal homeostasis: the disturbance of oxidant-antioxidant balance; activation of redox-sensitive transcription factor HIF1 α and ERK1/2 MAP kinase; increased colonic epithelial permeability and bacterial translocation to blood; morphological remodeling of the colonic tissue. Ceftriaxone pretreatment significantly reinforced inflammation during experimental colitis 56 days after ceftriaxone withdrawal, which was confirmed by increased histopathology of colitis, Goblet cell dysfunction, colonic dilatation and wall thickening, and increased serum levels of inflammatory cytokines (TNF- α and IL-10). Since the recognition of the importance of microbiota metabolic activity rather than their composition in the development of inflammatory disorders, e.g. IBD, the present study is the first report on the role of the SCFA system in the long lasting side effects of antibiotic treatment and its implication in IBD development.

BIOCHEMICAL MANIFESTATIONS IN OBESE WOMEN DEPENDS ON AGE AND CONCOMITANT PATHOLOGY

HORYN O.I., GNATYSHYNA L.L., POZNANSKI D.V., KALUHIN Ya.I., CHERNIK I.V., FALFUSHYNSKA H.I.

TERNOPIIL VOLODYMYR HNATYUK NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: falfushynska@tnpu.edu.ua

Overweight is the sixth most important risk factor contributing to the overall burden of disease worldwide. Overweight and obesity are in a good correlation with a higher incidence of numerous diseases, including

cardiovascular disease, type 2 diabetes and several cancers. This type of pathology is multifactor and reflects environmental and genetic interactions. Thus, the understanding of early signs of obesity and suitable

biomarkers is urgently needed for developing of an adequate strategy of the obesity prevention and a decrease in its growth rate. The parameters of the lipids' metabolism, stress-response system and rate of molecular lesions have investigated in blood samples of young (19–22 years) and old (50–60 years) obese women ($32 < \text{Body Mass Index (BMI)} < 37$) with and without concomitant cardiovascular pathology. The level of reactive oxygen species was determined using a ROS-sensitive fluorescent dye dihydrorhodamine, DNA fragmentation was detected with Hoescht 33342 fluorescent dye and caspase-3 was assessed in terms of acetyl-Asp-Glu-Val-Asp p-nitroanilide. All other studied indices were determined by standard spectrometric methods.

Obesity accompanied on the one side by the increase in cholesterol and lower density lipoproteins and on the other by the decrease in high-density lipoproteins and ratio of HDL/LDL, particularly in patients with concomitant cardiovascular pathology. The concentration of triglycerides and glycosylated hemoglobin were relatively stable and didn't vary significantly among studied groups of patients.

Obese women had higher catalase activity, intensity of reactive oxygen species formation, level of oxidized glutathione, lipid peroxidation and protein carbonyls in the blood when compared with the correspondent control. The obesity was accompanied by

an increase in metallothioneins concentration in young women, but a decrease in these stress-related proteins in elder one. The obese women had the signs of cytotoxicity namely higher lactate dehydrogenase activity and DNA fragmentation, which have tended to go up with age. Moreover, the alteration of cytotoxicity and oxidative stress parameters were group-predicted with deeper manifestation in obese women with cardiovascular pathology ($F_{4,24} > 10.4, P < 0.001$).

The most prominent indices for groups splitting include ROS concentration, caspase 3, ratio of HDL/LDL, metallothioneins, concentration of low density lipoproteins and DNA fragmentation. The BMI was in a good correlation with parameters of the lipid metabolism, oxidative injury and cytotoxicity ($r > |0.68|, P < 0.001$). To sum up we can say about exhausting of vicarious capacity of hypertrophic adipocytes in spite of some adaptive changes in stress-response systems, primarily in metallothioneins. They have a partial tread effect on radical processes in young obese women, but not in elder one and reduce manifestations of oxidative damage to biomolecules. The disturbance in the ratio of high-density lipoproteins to low-density lipoproteins have to be modulated in accordance to its significant impact on the progress of concomitant pathology, among them cardiovascular diseases.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (P. # 133B).

NSE ЗМЕНШУЄ ПРОЯВИ НЕЙРОЗАПАЛЕННЯ ТА СПРИЯЄ ВИЖИВАНІСТІ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПА ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАПАЛЕННЯ В ЩУРИВ

ГОРІДЬКО Т.М., ОНОПЧЕНКО О.В., АСМОЛКОВА В.С., ГУЛА Н.М.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: TanGoRi@ukr.net

На сьогодні встановлено, що розвиток нейрозапалення та підвищення проникності гематоенцефалічного бар'єра відіграють значну роль у патогенезі таких нейродегенеративних захворювань, як хвороби Альцгеймера та Паркінсона, розсіяний склероз, бічний аміотрофічний склероз та інші. Тому, пошук та застосування сполук, які б запобігали розвитку нейродегенеративних процесів у структурах мозку та попереджали розвиток нейродегенеративних захворювань є вельми актуальним. З цієї точки зору уваги заслуговує N-стеароїлетаноламін (NSE) – природний компонент біологічних мембран, який здатен запобігати патологічним змінам тканин органів за різними біохімічними механізмами.

Метою роботи було дослідити вплив NSE на вміст прозапального цитокіну TNF α та виживаність нейрональних клітин гіпокампа щурів за експериментального нейрозапалення.

Експериментальне нейрозапалення в щурів викликали шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення ліпополісахариду (ЛПС) бактерій *Escherichia coli* 055:B5, L4005 (Sigma-Aldrich, USA) у дозі 2 мг/кг маси тіла. Формували 3 експериментальні групи тварин: 1 група – контрольна; 2 група – "ЛПС": щури, яким для моделювання нейрозапалення вводили ЛПС у дозі 2 мг/кг маси тіла; 3 група – щури, яким 4 дні перед та 5 днів після ЛПС вводили *per os* водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла. Вміст TNF α в лізатах гіпокампа мозку щурів визначали імуноензимним методом із застосуванням добірки реактивів TNF alpha ELISA Kit, Rat, 96 лунок, Novex, USA. Для виділення нейрональних клітин гіпокампа щурів, використовували метод м'якої ензиматичної обробки зрізів гіпокампа. Виживаність нейрональних клітин визначали за співвідношенням живих клітин до мертвих, які забарвлювались у 0,4 % розчині трипанового синього

го. Кількість клітин підраховували у гематоцитометричній камері Горяєва.

Результати досліджень показали, що за експериментального нейрозапалення відбувається вірогідне зростання більш, ніж на 50 % вмісту TNF α в лізатах гіпокампа мозку щурів як через 3 год, так і через 7 днів після введення ЛПС, що супроводжувалось зниженням виживаності нейрональних клітин гіпокампа. Застосування NSE нормалізува-

ло вміст прозапального цитокіну TNF α в гіпокампі щурів як через 3 год, так і через 7 днів після введення ЛПС та запобігало загибелі нейронів досліджуваної структури мозку.

Отже, при моделюванні експериментального запалення в щурів NSE зменшує прояви запального процесу та сприяє виживаності нейронів у гіпокампі щурів.

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ НЕІНВАЗИВНОЇ ДІАГНОСТИКИ У СТОМАТОЛОГІЇ

ГОРІЛА М.

ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;
e-mail: gorelaya@ukr.net

Діагностика основних стоматологічних захворювань на первинному рівні таких, як карієс, пародонтози, пародонтити та прогнозування їхнього розвитку є актуальною проблемою, особливо в Україні. Спостерігається значний ріст розповсюдженості цих патологій серед населення, та все більш молодшає вік хворих, що свідчить про недосконалість засобів діагностики, які застосовуються. Тому розробка нових доступних методів виявлення та прогнозування перебігу цих захворювань є важливою для хворих та для розвитку прикладної і фундаментальної медицини в цілому, зокрема її стоматологічного напрямку.

У даній роботі досліджено 48 зразків ясеневі рідини від дорослих пацієнтів різних вікових груп обох статей, які звернулися за стоматологічною допомогою, та умовно здорових осіб. Для передбачення імовірності виникнення запальних захворювань, були застосовані швидкі, доступні, біохімічні методи визначення показників ясеневі рідини – тестові набори від фірми ТОВ “Норма” (Київ, Україна). Запропоновані способи тестової діагностики прості у виконанні, вони дозволяють підвищити ефективність прогнозування порушень порожнини рота, що дає можливість своєчасно розпочати лікування. Методи дослідження передбачають мінімум матеріально-технічного забезпечення, доступні для виконання у клінічних, навчальних і наукових лабораторіях, їхнє застосування дозволить обстежити велику кількість людей за малий проміжок часу.

Встановлено, що під час запалення, кількість ясеневі рідини суттєво збільшувалася в області різних груп зубів: різців – у 2,1 раза, премолярів – у 4,5 раза, молярів – у 5 разів. Як свідчать отримані дані, у дорослих віком 45-50 років захворювання зубів на пародонтоз найчастіше зустрічається у молярах нижньої (0,30 \pm 0,07) та верхньої щелепи (0,28 \pm 0,02) (міліграмів ясеневі рідини у перерахунку на сухий залишок). Зміна рівня рН у пародон-

донтальних кишнях також дозволяла судити про інтенсивність запальної реакції, гігієнічний стан порожнини рота та ефективність лікування патологічних процесів. Накопичення ясеневі рідини в ясеневому жолобку корелювало з кількістю зубної нальоту і клінічними проявами запалення ясен. При запальних процесах тканин пародонту збільшувалась об'єм секреції гінгівальної рідини. За наявності запалення і виразкування тканин пародонту кислотність середовища ясеневі рідини у зубних кишнях підвищувалася до рН 4,6–5,1; а при ефективному лікуванні і дотриманні гігієни порожнини рота відбувалося залужування гінгівальної рідини (рН 7,0–8,0). Результати біохімічного дослідження свідчили, що найчастіше пародонтоз виникав у молярах верхньої та нижньої щелепи, де значення рН були у межах від 4,5 до 4,6. З'ясовано також, що зміни біохімічного складу гінгівальної рідини найбільш яскраво були виражені при запальних процесах навколо зубних тканин певних зубів: різців – у 13 % випадків, молярів – у 30 % випадків та премолярів – у 27 % випадків. Слід зазначити, що кількісні і якісні зміни секреції і складу гінгівальної рідини виникали раніше, ніж з'являлися клінічно виражені ознаки запалення. У подальшому планується відстежувати вміст протеїнів, які є маркерами запалення, у гінгівальній рідині. В результаті дослідження дорослих, вдалося оцінити поширеність патології пародонтозу серед постійних зубів. Під час обстеження звертали увагу на локалізацію пародонтозних зубів. Запалення ясен, як один із основних симптомів захворювання пародонту, на останніх етапах розвитку хвороби характеризувалося гіперемією, ціанозом, набряком, кровоточивістю, що могло призвести до цілковитої втрати зуба. Отже, вивчення складу і властивостей гінгівальної рідини може бути об'єктивним критерієм в оцінюванні тяжкості перебігу і прогнозу розвитку захворювань тканин порожнини рота та ефективності їх терапії.

ВПЛИВ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ ТА ГУАНІДИНВІСНИХ СПОЛУК НА РОБОТУ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО ДИХАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА

ГОСПОДАРЬОВ Д.В., БАЛАЦЬКИЙ В.А., БАЙЛЯК М.М.

ДВНЗ “ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА”,
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail: dmytro.gospodaryov@gmail.com

Низкою недавніх досліджень було показано, що альфа-кетоглутарова кислота (АКГ) збільшує тривалість життя. Є припущення, що таке збільшення ґрунтується на здатності АКГ інгібувати АТФ-синтазу, призводячи до пригнічення сигнального шляху TOR (target-of-ramycin). Наші попередні дослідження на мікроорганізмах та комах свідчать про те, що механізми збільшення тривалості життя за дії АКГ спільні для різних організмів.

У цій роботі, ми використали ізольовані мітохондрії з плодових мушок *Drosophila melanogaster* та різних тканин мишей лінії C56BL/6. Мітохондрії виділяли шляхом диференційного центрифугування. Вимірювання поглинання кисню проводили з використанням електроду Кларка.

У концентрації 1,25 мМ АКГ знижував швидкість поглинання кисню мітохондріями з *D. melanogaster* на 81 %, тоді як 3 мМ АКГ практично повністю інгібували дихання. Інгібування спостерігалось для всіх сегментів дихального ланцюга. Практично повне інгібування поглинання кисню мітохондріями з кори мозку мишей спостерігалось при концентраціях АКГ, більших за 5 мМ.

Інший метаболіт – аргінін, який часто використовується в харчових добавках, прискорює розвиток плодової мушки, одночасно спричинюючи оксидативний стрес і скорочення тривалості життя. Ми з'ясували, що аргінін в концентраціях, більших за 10 мМ пригнічував NADH-залежне поглинання кисню мітохондріями, виділеними з плодових мушок та кори мозку мишей. Втім, аргінін не впливав на поглинання кисню мітохондріями при окисленні тетраметилфеніллендіаміну при заінгібованих комплексах I і III дихального ланцюга. Аргінін

прискорював сукцинатзалежне поглинання кисню мітохондріями *D. melanogaster* при заінгібованому комплексі I. При цьому сукцинатзалежне поглинання не інгібувалось антимицином А. Інгібування комплексу I аргініном у *D. melanogaster* не залежало лінійно від концентрації останнього – за дії 5 мМ аргініну залишалось 36 % активності, тоді як за дії 10 мМ – 15 % активності. Подібне інгібування комплексу I було знайдене для мітохондрій з печінки мишей, проте ефект спостерігався за дії 30 мМ аргініну. Здатність пригнічувати активність комплексу I мітохондріального дихального ланцюга мала б уподібнювати аргінін до гуанідинвісної сполуки метформіну, який є протидіабетичним та геропротекторним препаратом. Низкою авторів було показано, що метформін інгібує комплекс I. Тим не менш, в наших поточних дослідженнях метформін не інгібував поглинання кисню мітохондріями. Проте, сукцинат, доданий до препарату мітохондрій в полярографічну камеру після метформіну, перетворювався зі стимулятора дихання в інгібітор. Ми також виявили, що гуанідин сам по собі слабо інгібує NADH-залежне поглинання кисню мітохондріями в концентрації 20 ммоль/л.

Таким чином, показано, що АКГ та аргінін є інгібіторами комплексів дихального ланцюга мітохондрій. Якщо мішенню АКГ є цитохром-с-оксидаза або АТФ-синтаза, то аргінін не впливає на цей сегмент дихального ланцюга. Ймовірною мішенню для дії аргініну є або комплекс III або комплекс I дихального ланцюга. Більш імовірною мішенню для гуанідину та метформіну є комплекс III дихального ланцюга, оскільки після додавання цих сполук не спостерігається стимуляції дихання сукцинатом.

ВИКОРИСТАННЯ ДОДАТКУ “TESTMOZ TEST GENERATOR” ДЛЯ ОН-ЛАЙН ТЕСТОВОГО КОНТРОЛЮ ЗНАТЬ АНГЛОМОВНИХ СТУДЕНТІВ НА ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТТЯХ ІЗ КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ

ГРЕБЕНИК Л.І., ІНШИНА Н.М., ЧОРНА І.В., ПРИМОВА Л.О.

СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;
e-mail: n.inshina@med.sumdu.edu.ua

Сучасні вимоги до підвищення якості медичної освіти потребують впровадження інтерактивних технологій, що забезпечують оптимізацію викори-

стання робочого часу студентів на практичних заняттях. Значна кількість існуючих освітніх інтернет-платформ дозволяє педагогам креативно під-

ходити до організації навчального процесу при викладанні предметів практичного спрямування.

Автори роботи використали відкритий освітній ресурс – додаток “Testmoz test generator” для здійснення он-лайн тестового контролю знань англійських студентів на практичних заняттях із клінічної біохімії.

Додаток “Testmoz test generator” дозволяє створювати базу тестових завдань, проводити он-лайн тестування і одержувати розгорнутий звіт про результати.

Можливості додатку дозволяють створити тести 4-х рівнів:

- завдання з однією правильною відповіддю;
- завдання з декількома правильними відповідями;
- завдання на вибір правильних і неправильних тверджень,
- завдання, в яких студент має написати відповідь у вигляді знаку, слова чи словосполучення.

Додаток “Testmoz test generator” є безкоштовним, має інтуїтивний інтерфейс і не потребує обов’язкової реєстрації викладачів та студентів. Одночасно он-лайн тестування може проходити

необмежена кількість студентів, які використовують власні мобільні пристрої з операційною системою Android. Перед тестуванням викладач повідомляє студентам код доступу до тестових завдань. Після завершення тестування код доступу змінюється. Відповівши на всі завдання тесту, студенти отримують звіт про результати і мають можливість проаналізувати зроблені помилки. Єдиним фактором, необхідним для проведення он-лайн тестування студентів є вільний доступ до інтернету. При використанні додатку “Testmoz test generator” на 40–45 % зменшуються витрати часу на тестування студентів порівняно з використанням комп’ютерного класу. Крім того, електронний звіт після тестування дозволяє провести публічний аналіз результативності роботи всіх студентів у групі, що є додатковим мотивуючим фактором для підготовки до занять.

Автори роботи вважають, що використання відкритих і простих у користуванні електронних ресурсів для тестування студентів на практичних заняттях є сучасним підходом, що враховує новітні тенденції у педагогічному процесі.

THE UKRAINIAN BIOCHEMICAL JOURNAL: КРОК ЗА КРОКОМ НА ШЛЯХУ ІНТЕГРАЦІЇ У СВІТОВИЙ НАУКОВИЙ ПРОСТІР

ГРИГОР’ЄВА М.В., ПЕТРЕНКО Т.М., ТОРХОВА С.Г., ДАНИЛОВА В.М.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: mvgrigorieva@biochem.kiev.ua

Інтеграція наукового видання у світовий науковий простір є тривалим процесом, успішність якого не завжди залежить від самого видання. Утім, без власної ініціативи та власних зусиль цей процес є взагалі неможливим – навіть за підтримки ззовні.

П’ять років тому для покращення “видимості” *The Ukrainian Biochemical Journal* (UBJ) для світової наукової спільноти ми зробили новий сайт журналу (ukrbiochemjournal.org), окремий від сайту видавця – Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАНУ. Новий сайт має дві дзеркальні мовні версії – англійську та українську – і відповідає загальноприйнятим стандартам веб-ресурсу наукового періодичного видання. Сайт регулярно оновлюється разом з виходом нових номерів UBJ, змінами у правилах для авторів, змінами у складі Редколегії та появою важливої інформації щодо стратегії та розвитку журналу.

Впровадження нового сайту відбувалося на тлі переходу журналу на англійську мову – ще одного важливого кроку на шляху інтеграції. Як показав аналіз відвідуваності сайту журналу у 2016–2017 рр., за рік кількість відвідувачів зросла втричі – з трьох тисяч у 2016 р. до майже 10 тисяч у 2017 р.

Одночасно було запроваджено укладання з авторами ліцензійного договору, який забезпечує захист авторських прав, зобов’язує їх дотримуватися етичних норм і підкреслює неприпустимість плагіату. Таким чином, ми виконали основні вимоги міжнародних наукометричних і реферативних баз, і почався етап просування журналу.

У 2017 р. UBJ було зареєстровано в найпопулярнішому міжнародному каталозі журналів відкритого доступу Directory of Open Access Journals (DOAJ). На сайті журналу було розміщено декларацію про підтримку відкритого доступу, якою UBJ дозволив використовувати свій контент із застосуванням ліцензії Creative Commons (CC BY), яка полегшувала його використання для створення похідних наукових продуктів без порушення авторських прав. Це значно збільшило нашу читацьку аудиторію та розширило географію наших авторів.

Поряд з DOAJ, наш журнал реферується та індексується і в інших міжнародних базах даних, таких як Scopus, CABI, CrossRef, Site Factor, Embase, CAS, Google Scholar. У березні 2019 р. компанія Clarivate Analytics повідомила нас, що вибрала UBJ для індексації на своїй престижній

платформі Web of Science. Присутність UBJ у цих базах даних свідчить про відповідність журналу міжнародним видавничим стандартам.

У жовтні 2018 р. розпочалось впровадження проекту, що фінансується за рахунок гранту регіональної мережі RECOOP і має на меті підвищити якісний рівень публікацій UBJ, а також зробити журнал східноєвропейською платформою для публікацій, пов'язаних із науковими дослідженнями закладів – учасників цієї мережі. Зокрема, в рамках проекту запроваджується система автоматизації

процесів роботи з рукописами, до редагування статей залучаються досвідчені редактори, для яких англійська мова є рідною.

Як результат нашої цілеспрямованої роботи, за останні п'ять років рейтинг UBJ, за даними Scopus 2018 р., зріс майже удвічі, сягнувши таких наукометричних показників: Site Score 0.47, SJR 0.195 та SNIP 0.313. Зрозуміло, що ці показники ще далекі від тих, якими можна було б пишатися, але досягнення більш амбітних цілей інтеграції у світовий науковий простір вимагає руху – крок за кроком. Попереду – тривала й кропітка робота.

REGULATION BIOSYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE LIPIDS IN MICROALGAE

GRUBINKO V.V., BODNAR O.I., ANDRUSYSHYN T.V., HALYNIAK O.V.

TERNOPIL VOLODYMYR HNATIUK NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY, TERNOPIL

e-mail: v.grubinko@gmail.com

Based on preliminary data on the adaptive lability of metabolism in microalgae by the response to the changing factors of the culture medium, the aim of the work was established exposure agents capable of directing the metabolism to the way of activating the biosynthesis of lipids of certain classes of pharmacological significance.

The activity of algae was influenced by physical (intensity of illumination, temperature) and chemical (concentration of CO₂, pH, microelement composition) factors in the aquaculture. Then quantitative and qualitative composition of lipids and accumulation by them of non-specific elements (Selenium, Copper, Manganese, Lead, Zinc, Iron and Chromium) were determined using chromatographic and mass-spectrometric methods.

It was established by changing the physical factors it is possible to achieve the activation of biosynthesis of lipids within the norm of reaction (10–15 %) with the preservation of qualitative composition of native algae and to carry out this process by continuous mode of its cultivation. For the first time it is showed that investigated factors contribute to the accumulation of lipids by 15–113 %, including triacylglycerols – by 36–181 %, diacylglycerols – by 6–190 %, phospholipids – by 1.6–10.5 %, non-esterified fatty acids – by 49–257 % compared to control subjects. Herewith, the first there are synthesized polar phospholipids, then tri- and diacylglycerols with residues of unsaturated fatty acids. Ratio of major classes of lipids (TAG:DAG:PL:NEFA, %) in the control was 22:16:47:15, for the actions of: Mn²⁺ – 27:25:28:20, Zn²⁺ – 26:16:33:25, Cu²⁺ – 22:22:39:17, Pb²⁺ – 21:21:37:21.

It was found that under the impact factors was decreased of number and modification of chloroplasts, the content of triacylglycerols and phospholipids was

increased as a result of adaptive change of the localization of lipid biosynthesis from chloroplasts into cytoplasmic structures.

Study of the absorption and influence of sodium selenite in concentrations of 0.5 mg Se(IV)/dm³; 5.0; 10.0; 20.0 mg Se(IV)/dm³ separately and together with Co²⁺ (0.05 mg/dm³), Cu²⁺ (0.002 mg/dm³), Fe³⁺ (0.008 mg/dm³), Mn²⁺ (0.25 mg/dm³), Zn²⁺ (5.0 mg/dm³) within 1-7 days in *Chlorella vulgaris* determined that accumulation of selenium in carbohydrates and proteins was non-linear, and in lipids – directly proportional. Correlation of selenium content in carbohydrates, proteins and lipids was 1.0:1.8:2.2. The highest accumulation of selenium was in lipids (TAG:DAG:PL:NEFA), in samples with 10.0 mg Se (IV)/dm³ acting for 7 days. It was found the lipids comparing to proteins and carbohydrates accumulated the highest amount of selenium and metals in a case of their combined action.

The intensity of selenium incorporation into the lipids of different classes in cases of combined action of selenite with metal ions was increased occurs in the line: LPL<TAG<DAG<PL<NEFA. It was found sodium selenite caused the reduction of content fatty acid 16:0 and increase 18:0 and 18:1.

Isolated from cells seleniumlipid and seleniumzinc lipid complexes were presented with 0.4 µg of selenium, zinc – 2.5 µg and 0.5 mg of lipids in 1 ml of 1 % aqueous starch suspension. When these complexes were introduced into healthy rats, then in their liver and serum was observed the suppressed prooxidative processes, activations of the antioxidant system, succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activity and glutamate dehydrogenase's way of glutamate formation.

In the process of incubation of *Chlorella* culture during 7 days with the sodium selenite (10.0 mg/l) and Cr (III) (5.0 mg/l) in lipids was found a significant in-

crease of the content of selenium and chromium. The seleniumchromiumlipid complex was isolated and then introduced into healthy rats in a dose of 1.85 µg selenium, 1.1 µg of chromium and 0.5 mg of lipids per 1 ml of 1 % water-starch suspension. Herewith, the pro-oxidant processes in the liver and blood serum of animals were suppressed, and also were activated

antioxidant processes, that are used in the formation of components of antioxidant status. The obtained results open the prospect of using seleniumchromium lipid complex as a biologically active additive for the prevention and improvement of metabolic disorders in diabetes type 2.

THE STATE OF SOME INDICES OF GLUTATHIONE SYSTEM OF RATS' LIVER UNDER ALCOHOLIC INTOXICATION ON THE BACKGROUND OF MODIFIED PHOTOPERIOD AND MELATONIN ADMINISTRATION

DAVYDOVA N.V.

*HSEE OF UKRAINE "BUKOVINIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY", CHERNIVTSI;
e-mail: davydova.natalia@bsmu.edu.ua*

The aim of the work was to study the indices of glutathione system in the rats liver under subacute alcohol intoxication, its combination with constant light exposure and melatonin administration.

The experiments were conducted on 32 albino male rats with body weight of 180-230 g. Subacute alcohol intoxication was induced by intragastric administration of 40 % ethanol in a dose of 7 ml/kg of the body weight during 7 days. Constant light exposure was caused by keeping animals under a fluorescent light of 1500 lux intensity for 24 h a day. The content of malonic aldehyde, oxidatively modified proteins, reduced glutathione, the activity of glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase enzymes were measured in post-nuclear supernatant of 5 % liver homogenates. Statistical analysis of the data was evaluated by means of the non-parametric statistical procedure, the Mann-Whitney U test. A probability of $P \leq 0.05$ was considered statistically significant.

The alcohol intoxication along with the constant light exposure were found to cause a significant increase in free radical oxidation of lipids and proteins in the liver, as confirmed by the increase of malonic aldehyde (by 139 %) and oxidatively modified proteins (by 88 %) above the control. These indices were significantly higher than of rats which had been given alcohol under the normal light regime. This fact could result from a decrease in melatonin synthesis and lack of its antioxidant effect under constant light exposure.

Glutathione is one of the main low molecular thiols in the body which is present in the cells at high concentrations. The antioxidant properties of glutathione are determined by its direct interaction with free radi-

cals and hydroperoxides, as well as its ability to be a substrate of antioxidant enzymes.

It was established that alcohol intoxication in combination with light exposure was accompanied by much more significant decrease in the content of reduced glutathione compared to alcoholic animals which were kept under the normal light conditions (by 58 % and 38 % below the control level respectively). The activities of glutathione-S-transferase in the liver of alcoholic rats which were kept at the normal light regime and constant light exposure exceeded the control level by 29 % and 36 %, respectively, which is probably due to increased neutralization of secondary products of lipid peroxidation and other oxidized substances by means of their conjugation with glutathione.

Determination of glutathione peroxidase activity in the liver of rats with alcoholic intoxication and its combination with constant light exposure showed a decrease in its activity by 44 % and 34 % below the control level, which may be due to a deficiency of reduced glutathione observed in cells.

The administration of the melatonin at the dose of 5 mg/kg daily at 20⁰⁰ for 7 days to animals exposed to ethanol intoxication or its combination with constant lighting prevented the increase of malonic aldehyde, contributed to a decrease in the content of oxidatively modified proteins, which, however, remained higher the control level by 21 %. Melatonin contributed to the normalization of reduced activity of the glutathione peroxidase. The activity of glutathione-S-transferase in the liver of alcohol-intoxicated animals and its combination with constant light exposure was significantly lower than of untreated animals, but remained above the control level by 18 %.

ІННОВАЦІЙНІ РОЗРОБКИ В ГАЛУЗІ БІОХІМІЇ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ: НАУКОВА ШКОЛА АКАДЕМІКА В. О. БЕЛІЦЕРА

ДАНИЛОВА В.М., ВІНОГРАДОВА Р.П., ЧЕРНИШ І.Ю.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: valdan@biochem.kiev.ua

Академік АН УРСР Володимир Олександрович Беліцер – всесвітньовідомий вчений, який одним із перших в світі у 30–40 роки ХХ ст. обґрунтував механізм окислювального фосфорилування, працював в Інституті біохімії АН України від 1944 р. до 1988 р. Тут він створив відділ структури і функції білка та заснував потужну наукову школу з вивчення молекулярних механізмів зсідання крові, а саме перетворення фібриногену на фібрин, тобто самозбирання волокон фібрину. Під його керівництвом експериментально було доведено, що для утворення сітки фібрину суттєве значення мають специфічні реакційні центри на молекулі фібриногену (хімічні групи в центрах полімеризації), що перетворення фібриногену на фібрин відбувається в дві стадії: ензиматичну і полімеризаційну; продукт першої фази він назвав “фібрин-мономер”. В.О. Беліцер встановив доменну структуру фібриногену, виявив закономірність самозбирання надмолекулярних біологічних структур, а також запропонував власну концепцію перетворення фібриногену на фібрин та обґрунтував її кінетичний механізм.

Всебічне вивчення під керівництвом В.О. Беліцера організації та функціонування фібриногену і фібрину стало фундаментом для подальших досліджень його учнів і послідовників, а також науковим напрямом, який продовжує успішно розвиватися в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України й дотепер. Значний внесок в дослідження цієї проблеми було зроблено найближчим учнем В.О. Беліцера Е.В. Луговським, який присвятив цій роботі багато років і який очолював відділ структури і функції білка у 2007–2019 рр.

З метою пошуку невідомих центрів полімеризації фібрину за ініціативи і під керівництвом акад. Сергія Васильовича Комісаренка і чл.-кор. НАН України Едуарда Віталійовича Луговського в Інституті біохімії було сформовано новітній напрям –

одержання відповідних моноклональних антитіл для використання їх як молекулярних зондів. З цією метою отримано три моноклональних антитіла, які разом з їхніми Fab-фрагментами були високоспецифічними інгібіторами полімеризації фібрину. Епітопи для цих антитіл співпадають (або знаходяться поблизу) з невідомими раніше центрами полімеризації в Е- і D-доменах фібриногену, які функціонують на різних стадіях його полімеризації. Інші моноклональні антитіла (також власно отримані) дали можливість виявити неоантигенну детермінанту в D-димері. Такий інноваційний підхід допоміг встановити структурні перетворення в суперспіральной ділянці фібриногену за його трансформації у фібрин, а в подальшому розробити імунохімічні методи кількісного визначення фібриногену, розчинного фібрину та D-димеру як порізно, так й одночасно, і на цій основі створити “Тест-системи імуноензиматичні” для діагностики стану системи зсідання крові та фібринолізу, тобто для діагностики загрози тромбоутворення та контролю ефективності антитромботичної терапії. Апробацію цих тест-систем, яка дала позитивні результати, проведено в Інституті серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова, ДУ “Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова”, в Київській і Харківській обласних лікарнях, в Діагностичному центрі Медичної академії, м. Дніпро та інших медичних закладах України.

На основі активатора зсідання крові, іммобілізованого на вітчизняних волокнистих вуглецевих матеріалах медичного призначення, колективом науковців цього ж відділу запропоновано “Комбінований перев’язувальний засіб для зупинки кровотеч та прискорення загоювання ран”. Запропонований гемостатик є ефективним навіть за умов гемофілії або антикоагулянтної терапії, він безпосередньо ініціює утворення кров’яного згустку на заключному етапі зсідання крові.

ЛАБОРАТОРНІ КРИТЕРІЇ ДОЦІЛЬНОСТІ ПРОВЕДЕННЯ ПРЕВЕНТИВНИХ ДЕТОКСИКАЦІЙНИХ ЗАХОДІВ ПРИ СУБКЛІНІЧНИХ ФОРМАХ МЕТАБОЛІЧНОГО АЦИДОЗУ

ДИЧКА Л.В., ЯКОВЕНКО Н.А., ЧАЙКОВСЬКА Т.В., ЛЯХОВА О.Б.
ДУ "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "РЕАБІЛІТАЦІЯ"
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ", УЖГОРОД;
e-mail: rehab_uzh@ukr.net

Хронічна стадія метаболічного ацидозу (МА) при патології органів травлення має тривалий клінічно безсимптомний перебіг і виявляється лише цілеспрямованими лабораторними дослідженнями. При цьому, в першу чергу, відбуваються порушення головних механізмів компенсації МА. Особливо важливою є діагностика МА і своєчасне застосування методів неінтенсивної детоксикаційної олужнюючої терапії в доклінічний період для запобігання розвитку функціональної та соматичної стадії МА.

Метою дослідження є визначення критеріїв раннього виявлення латентних форм МА при хронічній гастроентерологічній патології.

Особливості порушень головних механізмів компенсації МА при хронічній патології органів травлення досліджені у 63 хворих (віком від 30 до 65 років, 12 чоловіків, 51 жінка). Оцінювались частота та характер порушень ацидогенезу шляхом визначення рН сечі, величини титраційної кислотності сечі (ТКС), сечової екскреції амонію та коливання цих показників в різні періоди травлення, у відповідності з методикою комплексного фракційного дослідження сечі натще та в різні періоди після стандартного харчового навантаження. Вираженість ендогенної інтоксикації оцінювали за рівнем фракцій середньомолекулярних пептидів (M_{280} і M_{254}) спектрофотометричним методом. Статистична обробка одержаних результатів проводилась із застосуванням пакета програм "Excel", вірогідність відмінностей показників визначали за критерієм Стьюдента, кореляційний аналіз – із оцінкою достовірності коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена.

Встановлено, що стійко кисла реакція сечі протягом досліджуваного періоду ($<5,8$) та відсутність коливань рН сечі протягом травного циклу виявлена у 41,3 % обстежених, рН в лужному діапазоні – у 10 пацієнтів (15,8 %). Фізіологічний діапазон добових коливань рН (4,0–7,5), що відповідає

ефективній участі нирок у підтриманні кислотно-лужної рівноваги, спостерігався у третини обстежених (31,7 %), однак навіть в цій групі переважали кислі показники сечі. Про активацію амоніогенезу – одного з головних механізмів компенсації МА - свідчать зміни концентрації амонію крові та його сечової екскреції. Навіть в період поза загостренням рівень амонію в крові наближався до верхньої межі норми у 37,5 % пацієнтів, що свідчить про неповну функціональну спроможність детоксикаційної функції печінки та елімінаційної функції нирок і підтверджується лінійною кореляційною залежністю між рівнем амонію крові та маркерів ендогенної інтоксикації – ароматичної і гідрофобної фракцій середньомолекулярних пептидів M_{280} і M_{254} ($r=+0,43$ та $+0,31$ відповідно). У третини пацієнтів (30,6 %) виявлено посилення сечової екскреції амонію ($>60,0$ ммоль/л), а також чіткий кореляційний зв'язок ($\rho=+0,9$) між концентрацією амонію і рН сечі: рівень амонію становив $57,6\pm 4,8$ ммоль/л при переважно кислих значеннях рН та $33,6\pm 3,9$ ммоль/л – при коливаннях рН в межах лужних значень ($P<0,05$). Така ж залежність виявлена між рівнем екскреції амонію та величиною ТКС – високі та наближені до верхньої межі норми значення ТКС ($>0,75$ ммоль/л), які свідчать про порушення рівноваги кислого (шлунковий сік) та лужних травних секретів (жовч, панкреатичний та кишковий секрет) в бік переважання кислого секрету, спостерігались у 54,5 % пацієнтів.

При хронічній патології органів травлення спостерігаються різні рівні порушень механізмів компенсації МА. Розроблені лабораторні показники є важливими критеріями раннього виявлення субклінічних форм МА та оцінки ефективності олужнюючої терапії. Методики неінвазивні, прості у виконанні, не потребують високовартісного обладнання та реактивів, можуть виконуватись в умовах лабораторій різних рівнів.

IMPACT OF 2-OXOGLUTARATE ON THE GLIAL FIBRILLARY ACIDIC PROTEIN LEVELS IN THE RAT'S BRAIN UNDER DIFFERENT STRESS EXPOSURES

DOVBAN O.O.¹, SKLYAROV O.Y.², USHAKOVA G.O.¹

¹OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

²DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: dovbanelena@gmail.com

Plenty of physical and mental disorders are induced after effects of stress conditions. The brain is the central organ that involved in the processes of perception and adaptation to psychological and physical stress factors. The restraint water-immersion stress (RWIS), a compound stress model that includes both psychological and physical stimulations. Primary changes in the reaction of the nervous system to stress are widely studied in neurons. However, the functional state of neurons is directly dependent on astrocytes. The aim of the study was to compare the sensitivity of astrocytes to different stress conditions (acute and modified) in different brain areas and evaluated the impact of 2-oxoglutarate on the brain after stress.

We used for investigation 36 Wistar rats divided into 6 groups (n=6): 1 – control for acute stress; 2 – control for modified stress; 3 – rats subjected to acute RWIS for 5 hours (water temperature 23 °C); 4 – rats subjected to modified RWIS for 3 days with changed temperature and permanent light stressors; 5 – animals treated with 2-oxoglutarate (SGPlus, Sweden) 2 % in drinking water for 14 days after subjection to acute RWIS for 5 hours; 6 – animals treated with 2-oxoglutarate (SGPlus, Sweden) 2 % in drinking water for 14 days after subjection to modified RWIS for 3 days. All procedures were conducted according to the guidelines established by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. After the experiment, all animals were decapitated under mild anesthesia. The different areas (hippocampus, thalamus, cerebellum, visual cortex) isolated from the rat's brains were used for differential ultracentrifugation,

and fractions with cytoskeletal proteins were obtained. The level of filamentous GFAP was determined by competitive ELISA using monospecific polyclonal antibody (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA). Statistics were provided using the one-way analysis of variance (ANOVA). Values with P<0.05 were considered reliable.

Restraint water-immersion conditions for 5 hours with food deprivation for 24 hours before the stress procedure led to ulcers formation. Restraint water-immersion conditions for 3 days without food deprivation between the procedures were not accompanied by ulcers formation but led to aggressive behavior in rats.

Acute restraint water immersion stress exposure for 5 hours showed a reduction of glial fibrillary acid protein (GFAP) in the thalamus by 45 %, in the cerebellum by 40 %, in the visual cortex by 26 % compared to the control rats. No changes of GFAP levels in the hippocampus were observed under acute RWIS. We found a 31 % deficit in glial fibrillary acid protein (GFAP) in the hippocampus, an 18 % increase in the thalamus, and a 23 % increase in the visual cortex after modified restraint water immersion 3-days stress exposure. No changes of GFAP levels in the cerebellum were observed under modified RWIS.

Treatment for 14-days with 2 % 2-oxoglutarate dissolved in drinking water post-stress induction had a positive impact on astroglial cells and showed GFAP levels comparable to the control amounts after both acute and modified stress exposures.

As a natural substance, 2-oxoglutarate could potentially be used as a protector against the negative impacts of stress on the brain.

NE-100 AND BD-1047, SIGMA-1 RECEPTOR ANTAGONISTS, MODULATE Γ -AMINO BUTYRIC ACID (GABA) UPTAKE, THE AMBIENT LEVEL AND EXOCYTOSIS IN CORTEX NERVE TERMINALS

DUDARENKO M.V.¹, POZDNYAKOVA N.G.¹, VAVERS E.², ZVEJNIECE L.², DAMBROVA M.², BORISOVA T.O.¹

¹PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: tborisov@biochem.kiev.ua;

²LATVIAN INSTITUTE OF ORGANIC SYNTHESIS, RIGA, LATVIA

Sigma receptor was considered as a ligand-regulated non-opioid intracellular receptor by the International Union of Basic and Clinical Pharmacology.

Sigma-1 receptor, a ligand-regulated protein, has been implicated in many neurological and psychiatric disorders and is a novel potential target to treat neuro-

logical disorders and its role as a chaperone is suggested. Sigma-1 receptor antagonist NE-100 induces seizures *in vivo* in mice. Here, the effects of selective Sigma-1 receptor antagonists NE-100 and BD-1047 on key characteristics of GABAergic neurotransmission were assessed in presynaptic nerve terminals (synaptosomes) isolated from rat cortex. The antagonist NE-100 at a concentration of 100 μM decreased synaptosomal uptake of [^3H]GABA and increased the ambient level of the neurotransmitter in the synaptosomal preparations. Whereas BD-1047 exhibited lesser effects on these parameters. Both antagonists at concentration of 10 μM did not change the membrane potential of nerve terminals, whereas an increase in the antagonists' concentration up to 100 μM was accompanied by a dose-dependent membrane depolarization that was shown using potential-sensi-

tive fluorescent dye rhodamine 6G. NE-100 and BD-1047 provoked dose-dependent step-like changes in synaptic vesicle acidification that was shown using pH-sensitive fluorescent dye acridine orange. Stimulated by depolarization exocytotic release of [^3H]GABA decreased in the presence of 100 μM NE-100 by 70 % and in the presence of BD-1047 at the same concentration by 30 %. Therefore, Sigma-1 receptor antagonists can act at the presynaptic level through modulation of uptake, the ambient level and exocytotic release of GABA in presynaptic nerve terminals.

Acknowledgement. We thank the State Education Development Agency of Latvia (Joint Ukraine-Latvia R&D Project Nr. LV-UA/2018/1) and the Ministry of Education and Science of Ukraine (Bilateral Latvian-Ukrainian research grant 2019–2020) for financial support.

ДИНАМІКА ЗМІН БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ПРОТИЗАПАЛЬНІЙ ТЕРАПІЇ ЕКСТРАКТОМ ІМБИРУ

ЕБЕРЛЕ Л.В.¹, КОБЕРНІК А.О.^{1,3}, КРАВЧЕНКО І.А.^{1,2}, БОЙКО Ю.А.³, ПРИСТУПА Б.В.³

¹ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА НАН УКРАЇНИ;

²ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ НАН УКРАЇНИ;

³ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ НАН УКРАЇНИ;

e-mail: lidaeberle@gmail.com

В сучасній медичній практиці для терапії запального процесу різного ґенезу, больових відчуттів, лихоманки та захворювання сполучних тканин широко застосовують нестероїдні протизапальні препарати та глюкокортикостероїди. Однак всі препарати даних класів при застосуванні дають ряд побічних ефектів, а особливо зі сторони шлунково-кишкового тракту. Тому однією з головних задач фармацевтичної хімії, фармакології та медицини в цілому є розробка нових більш ефективних лікарських препаратів, а також розширення кола інформації про фармакологічний спектр нових лікарських препаратів, а особливо фітопрепаратів, які за ступенем ефективності не поступаються синтетичним засобам та мають менш виражений побічний вплив на організм.

До числа потенційних лікарських засобів можна віднести і кореневище імбиру (*Zingiber officinale*), яке містить цілий ряд фармакологічно активних компонентів, зокрема, вітаміни С, В1, В2, і В3, всі незамінні амінокислоти і насичений мінеральний комплекс (кремній, алюміній, цинк, натрій, фосфор, залізо, марганець, калій, магній і ін.), а також багатий ефірною олією.

Метою даної роботи було вивчення динаміки зміни сіалових кислот та сіромукоїдів в сироватці крові щурів за умов протизапальної терапії маззю з екстрактом імбиру при трансдермальному введенні.

Експеримент проводили на білих безпородних щурах вагою 240 г згідно з умовами біоетики та правилами "Європейської Конвенції захисту тварин використаних для експериментів", які утримувались на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до води та їжі.

Запальну реакцію у щурів викликали субплантарним введенням в задню кінцівку тварин 0,1 мл 1 % розчину каррагінану. Тварини були розділені на дві групи: контрольну (не отримували лікування) та дослідну (отримували апікації 6 % мазі з екстрактом імбиру). Апікації мазі в дослідній групі щурів проводили через один день після ін'єкції флогогену та щодобово впродовж всього експерименту. Рівень вмісту сіалових кислот та сіромукоїдів досліджували до початку експерименту та впродовж 10 діб після введення запального агенту за допомогою наборів тест-систем "Філісіт-Діагностика". Достовірність відмінностей показників дослідних груп в порівнянні з контрольними були розраховані за допомогою *t*-критерію Стьюдента.

За результатами дослідження встановлено, що субплантарне введення запального агента сприяло збільшенню вмісту сіалових кислот в перші три доби в середньому в 1,2–1,5 раза та сіромукоїдів в середньому в 2,5–3 рази порівняно з вихідними показниками.

Збільшення концентрації сіалових кислот у сироватці крові щурів за умов гострого ексудатив-

ного запалення, згідно літературних джерел, пов'язане з порушенням тканинного метаболізму та деполімеризацією глікопротеїнових комплексів, у зв'язку з чим, у сироватці крові з'являються продукти розпаду білково-вуглеводних комплексів. Проте, починаючи з 4 доби експерименту в дослідній групі тварин відзначалась тенденція зменшення вмісту сіалових кислот з поверненням їх до меж вихідних значень на 8 день дослідження. У тварин контрольної групи, яких не піддавали лікуванню, рівень сіалових кислот знаходився за межами діапазону фізіологічної норми та на 8 добу становив $2,84 \pm 0,17$ ммоль/л, що є свідченням наявності запального процесу.

Схожа динаміка відзначалась і при дослідженні вмісту сіромукоїдів в сироватці крові, де терапев-

втичні заходи з використанням мазі на основі густого екстракту імбиру дозволили знизити кількість сіромукоїдів в сироватці крові на 8 день експерименту до початкових показників ($0,97 \pm 0,06$ од. мутності), тоді як в контрольній групі тварин рівень сіромукоїдів перевищував вихідні показники більш, ніж в 2 рази.

Таким чином, згідно проведених досліджень показано, що трансдермальне введення м'якої лікарської форми на основі екстракту імбиру сприяло ефективному пригніченню запального процесу та відновленню дисбалансу біохімічних показників в сироватці крові щурів із поверненням їх до меж фізіологічної норми, на відміну від тварин контрольної групи.

CASPASE-9 ACTIVITY IN EXTREMELY PREMATURE NEW-BORNS IN THE NEONATAL PERIOD FOLLOW-UP

YEVSTAFEVA O.Y., BRAZALUK O.Z.
DNIPRO MEDICAL ACADEMY, UKRAINE;
e-mail: reines_gewissen@ukr.net

The introduction of the newest technologies of nursing extremely premature new-borns is one of the priorities of health care issues in Ukraine. Owing to the morphofunctional immaturity of the nervous system in premature babies, hypoxia almost always accompanies the neonatal period and has severe long-term effects. In hypoxic-ischemic encephalopathy, a neuron specific enolase (NSE) from the affected neurons enters the cerebrospinal fluid and blood, therefore NSE is a promising marker of how profound destructive disorders of the CNS cytomembranes are. Hypoxia-ischemia is a significant apoptosis activator. The cysteine protease family of caspase, which cleaves proteins exclusively after aspartate, plays a critical part in the processes of cell death. Effector caspase-9 is a factor in the terminal stage of apoptotic neuronal death. Besides its apoptotic functions, caspase-9 is involved in the regulation of the cell cycle and plastic rearrangements of neurons.

The goal of research was to determine the role of caspase-9 in the pathogenesis of hypoxic-ischemic injury of the central nervous system of premature new-borns in the neonatal period follow-up.

The study involved 114 premature new-borns with a birth body weight of less than 1,500 g with hypoxic-ischemic brain injury and 55 healthy full-term new-borns. Studies of blood serum were performed on the

5–7 day of life and at the end of the neonatal period of these children. The content of NSE and caspase-9 was determined by ELISA method. The activity of aspartate aminotransferase (AST) was determined by the kinetic method.

A reliable increase in the level of caspase-9 in extremely premature new-borns with extremely low birth body weight (less than 1,000 g) and low body weight (from 1,000 g to 1,500 g) was established during the first month of life as 72.2 % and 63.2 %, respectively. According to the study, the level of caspase-9 correlates with the degree of gestational immaturity of new-borns and the NSE level. A reliable direct connection between caspase-9 level and AST activity was detected in premature new-borns only at the beginning of the new-born period, at the end of this period, statistically significant connection between these two indicators is absent. Activation of caspase-9 in extremely premature new-borns can be caused both by the normal plasticity of the brain, providing a dynamic balance of signal and protein-modifying stimuli, and by the mechanisms of pathological changes in hypoxic-ischemic encephalopathy.

The dynamics of caspase-9 content in the blood depends on the severity of the perinatal central nervous system injury and the gestational age of premature new-borns.

АГРЕГАЦІЯ ТРОМБОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

ЄФІМЕНКО Н.В., СИБІРНА Н.О.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;

e-mail: nataliya.yefimenko.lnu@gmail.com

Загальна картина симптомокомплексу за умов алкогольної інтоксикації (AI) залежить від ступеня важкості патологічного процесу, стадії алкоголізму, кількості спожитого алкоголю тощо. З плином часу за умов тривалого споживання EtOH деструктивні зміни клітин прогресують, що посилює розвиток ендогенної інтоксикації.

Одне з найчастіших ускладнень за умов AI є порушення системи гемостазу. У патогенезі порушень реологічних властивостей крові за захворювань різного ґенезу вирішальна роль належить тромбоцитам. Однак, щодо кількісних змін тромбоцитів периферичної крові, які спостерігали за умов AI, літературні дані досить суперечливі.

Метою наших досліджень було виявлення морфо-функціональних особливостей, які відбуваються у тромбоцитах за умов хронічної алкогольної інтоксикації на тлі введення основного субстрату NO-синтази (NOS) – L-аргініну чи інгібітора NOS – L-NAME (N ω -nitro-L-arginine methyl ester).

Експериментальну AI спричинювали щоденним введенням тваринам EtOH *per os* протягом 14 днів, з розрахунку 6 г/кг маси тіла. Контрольним щурам вводили еквівалентний за калорійністю розчин глюкози (10,2 г/кг), для збереження енергетичної цінності раціону. У експериментах *in vivo* з моменту індукції EXAI окремо виділяли ще чотири групи тварин: контрольні і алкоголізовані щури, які споживали щоденно з питною водою L-аргінін ("Reanal", Угорщина) у концентрації 1,25 г/л та L-NAME ("Sigma", США) у концентрації 70 мг/л впродовж 14 днів. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали з допомогою програми пакета аналізу Microsoft Excel.

У наших дослідженнях за AI у дослідних щурів спостерігали помітно виражену тромбоцитопенію. Введення щурам етанолу супроводжувалося зниженням кількості тромбоцитів на 63,7 % щодо контролю. При споживанні контрольними групами тварин L-аргініну або L-NAME суттєвих відміннос-

тей у зміні кількості тромбоцитів не виявляли. Натомість у групах алкоголізованих тварин при введенні досліджуваних чинників відмічено збільшення кількості тромбоцитів: за споживання L-аргініну – на 84 %, а за споживання L-NAME – на 43,6 %.

Оскільки, за AI спостерігалась тромбоцитопенія, можна припустити, що цієї патології відбувається або пришвидшене руйнування тромбоцитів, або сповільнене утворення нових. Найбільш важливим показником за умов AI, який залежить від морфофункціонального стану тромбоцитів є порушення їхньої адгезивної та агрегаційної здатності. Функціональна активність тромбоцитів алкоголь-залежних людей коливається від кровотечі й до тромбозів, і навіть до крововиливів у різних органах. Відомо, що етанол є потужним дезагрегантом і може пригнічувати агрегацію тромбоцитів, що у свою чергу може призводити до порушення процесів зсідання крові та частих крововиливів.

Було перевірено ступінь агрегації тромбоцитів за AI і встановлено, що за цієї патології агрегаційна здатність кров'яних пластинок зменшується на 45,3 % порівняно із контролем, однак початок агрегації настає раніше на 24,8 %. Повільний агрегуючий вплив етанолу або ацетальдегіду на кров'яні пластинки за умов AI *in vivo* може бути зумовлений специфічною взаємодією цих речовин із структурами поверхні мембран тромбоцитів. У контрольній групі тварин додаткове споживання L-аргініну сприяло зниженню агрегаційної здатності тромбоцитів і збільшенню часу агрегації. Споживання L-аргініну за умов AI викликає незначне збільшення агрегаційної здатності тромбоцитів із зростанням тривалості лаг-періоду.

Споживання інгібітора NO-синтази L-NAME як контрольними, так і алкоголізованими тваринами пригнічувало синтез NO і, як результат, спостерігали підвищення агрегаційної здатності тромбоцитів.

EFFECTS OF ZINC SULFATE, SODIUM THIOSULFATE AND ALPHA-KETOGLUTARATE ON HYDROGEN SULFIDE PRODUCTION IN THE KIDNEY OF OBESE RATS

ZAICHKO N.V., BLAZHCENKO V.V., BOBETSKA O.P., FILCHUKOV D.O.
NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY, VINNYTSYA, UKRAINE;
e-mail: biochem.vnmu.edu.ua

The kidneys are one of the main target organs that are affected by obesity. The trigger factors for the development of renal dysfunction are renal hemodynamic disorders associated with an imbalance in the production of vasoconstrictors/vasodilators. Recently it has been shown that in alimentary obesity in kidney reduces the level of hydrogen sulfide (H_2S) – powerful vasodilator, antioxidant and cytoprotector. H_2S is produced with the participation of cystathionine gamma-lyase (CSE), cystathionine beta-synthase (CBS), cysteine aminotransferase (CAT) and 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3-MST). Therefore, activators, substrates and co-substrates of these H_2S -synthesizing enzymes can act as potentially promising means of correcting the hydrogen sulfide level in the kidney.

The aim of the study was to determine the influence of zinc sulfate, sodium thiosulfate and alpha-ketoglutarate on the production of hydrogen sulfide in the kidney of rats with experimental obesity.

Experiments were carried out on 50 white, mature male rats weighing 150–190 g with respect to the principles of bioethics (Strasbourg, 1986; Kyiv, 2001). The model of alimentary obesity was caused in 40 animals by feeding a high-fat diet (267.1 kcal/100 g of feed) for 8 weeks. In the next 2 weeks, animals of 3 experimental groups intragastrically received potential modulators of H_2S exchange – zinc sulfate (124 mg/kg of mass), sodium thiosulfate (300 mg/kg), and alpha-ketoglutarate (500 mg/kg). Doses of substances were borrowed from literature and did not cause animals death. The control group ($n=10$) received a standard

diet (163.8 kcal/100 g feed). Body mass index, obesity index were evaluated. The activity of CSE, CBS, CAT, and 3-MST were determined in kidney homogenates, at the rate of H_2S formation in the reactions of L-cysteine desulfurization and the reduction of the thiosulfate anion.

In rats received a high-fat diet after 8 weeks, the body mass index and obesity index were in 1.2-1.4 times higher ($P<0.05$) than in the control group. On alimentary obesity model was detected decrease H_2S production in the reactions of cysteine desulfurization by CSE (in 2.0 times) and the reduction of thiosulfate anion by 3-MST; however, an increase in CBS activity was observed in the cysteine condensation reaction with homocysteine (in 1.3 times) in the rats renal tissue. Introduction of zinc sulfate increased the activity of CSE and 3-MST (in 1.3–1.4 times) and contributed to the normalization of CBS activity. The introduction of sodium thiosulfate increased 3-MST activity (in 1.2 times), and the introduction of alpha-ketoglutarate caused the suppression of H_2S products from cysteine with the participation of CAT in the kidney of obese rats. The activity of CBS did not change significantly in this case.

Thus, high-fat diet causes a decrease in the activity of CSE and 3-MST and an increase in the activity of CBS in the kidney of obese rats. Zinc sulfate most effectively corrects the production of H_2S (with the participation of CSE and 3-MST), but alpha-ketoglutarate aggravates metabolic disorders of H_2S associated with alimentary obesity.

THE INFLUENCE OF HYDROGEN SULFIDE METABOLISM MODULATORS ON VISFATIN PRODUCTION IN RATS WITH EXPERIMENTAL OBESITY

ZAICHKO N.V., BOBETSKA O.P., SHTATKO O.I.
NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY, VINNYTSYA, UKRAINE;
e-mail: biochem.vnmu.edu.ua

Visfatin (Nicotinamide phosphoribosyltransferase, Nampt) is a multifunctional protein that catalyzes the biosynthesis of NAD as an enzyme and is involved as adipokine in the regulation of carbohydrate and lipid metabolism, also exhibiting immunomodulatory effects. There is an opinion that the biological effect of visfatin is realized through insulin receptors like

tyrosine kinases, via activation of signaling systems that depend on the nuclear factor-kappa B (NF- κ B). Visfatin expression was detected not only in the cells of adipose tissue but also in fibroblasts, hepatocytes, cardiomyocytes. However, the role of this protein in the damage of the cardiovascular system has not been completely established. In particular, the question

about possible relationship between visfatin production and the hydrogen sulfide system in obesity has not been studied. Hydrogen sulfide is a biologically active molecule that is produced in the cardiovascular system and is involved in the regulation of vascular tone and cytoprotection.

The aim of our work was to establish the effect of hydrogen sulphide metabolism modulators – propargylglycine and NaHS on visfatin production in rats with experimental obesity.

The experiments were conducted on 40 white male rats (160-210 g body weight) in compliance with general bioethical principles (Strasburg, 1986, Kyiv, 2001). Obesity was created in 30 animals by feeding a high-fat diet (267.1 kcal/100 g feed) during 8 weeks. The hydrogen sulfide synthesis inhibitor – D,L-propargylglycine (50 mg/kg) and the H₂S donor – NaHS (3 mg/kg) were administered intraperitoneally during the next 7 days. The control group (*n*=10) received a standard diet (163.8 kcal/100 g feed), balanced by macro- and micronutrients. Body mass index and obesity index were estimated. In blood serum and myocardial homogenates, visfatin content was determined by ELISA (RayBiotech, USA); H₂S level was determined by reaction with N,N-dimethyl-p-phenylenediamine in the presence of FeCl₃. Statistical analysis of the results was performed in MS Excel and SPSS 22.

In rats received a high-fat diet after 8 weeks, the body mass index, visceral fat mass and obesity index were in 1.2–1.4 times higher (*P*<0.05) than in the control group. In rats with alimentary obesity was observed reduction of hydrogen sulfide level in the myocardium (1.3-fold), but increased visfatin level in blood serum and myocardium (1.8–2.1-fold, *P*<0.05). Inhibition of cystathionine-gamma-lyase pathway of hydrogen sulfide synthesis significantly potentiated the increase of visfatin level in blood serum and myocardium of rats, but administration of NaHS reduced biochemical disturbances. Visfatin level positively correlated with body mass index and obesity index (*r*=0.62–0.65) and negatively correlated with the level of hydrogen sulfide in the myocardium (*r*=0.48) in rats with obesity.

We observed that long-term high-fat diet consumption causes an increase in visfatin production and development of hydrogen sulfide deficiency in rats' myocardium. Inhibition of cystathionine-gamma-lyase/H₂S pathway enhances the production of visfatin in the myocardium and adipose tissue. Application of NaHS has the opposite effect. Thus, hydrogen sulfide system is involved in the regulation of visfatin production in tissues and can influence on cardiovascular system injury in alimentary obesity.

AGE-RELATED CHANGES IN HYDROGEN SULFIDE METABOLISM IN RATS' ORGANS: CONNECTION WITH MEDIATORS OF ANGIOGENESIS

ZAICHKO N.V., PALAMARCHUK I.V., BLAZHCENKO V.V., OSTRENYUK R.S., BOBETSKA O.P.
NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY, VINNYTSYA, UKRAINE;
e-mail: zaichkonv@gmail.com

Hydrogen sulfide (H₂S) is a biologically active poly-functional mediator that is synthesized in tissues by cystathionine-γ-lyase (CSE), cystathionine β-synthase (CBS), cysteine aminotransferase/3 mercaptopyruvate sulfotransferase (SAT/3-MST). The involvement of H₂S in the regulation of angiogenesis, in particular the ability to increase the expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF), has been analyzed. It is known that endogenous H₂S production is suppressed with age. Age related changes in H₂S metabolism in tissues and their association with the expression of angiogenic mediators require more detailed study.

Aims: to analyze the age-specific changes of hydrogen sulfide metabolism in the organs of rats and to evaluate the association with the expression of angiogenic mediators.

Experiments were conducted on 60 non-linear male rats (*Rattus norvegicus*) of two age groups: adults (6-8 months) and old (24-26 months). The rats of each

age group were divided into 3 subgroups (*n*=10): 1 – control (0.15 M NaCl solution), 2 – administration of D, L-propargylglycine (the inhibitor of cystathionine-γ-lyase) 50 mg/kg *i/p* etc., 3 – administration of H₂S donor – NaHS (3 mg kg *i/p*). Modulators of H₂S metabolism were injected for 14 days. The activity of H₂S-synthesizing enzymes (CSE, CBS, CAT/3-MST), expression of mRNA CSE were determined in homogenates of myocardium, thoracic aorta, kidney and liver. The levels of angiogenic mediators – eNOS, VEGF-A, sVCAM and galectin-3 were determined by ELISA in blood serum.

In the myocardium, aorta and kidneys of rats aged 24–26 months there was a decrease in the desulfurization activity of CSE and SAT/3-MST; the expression of mRNA CSE was reduced compared to rats aged 6-8 months. The activity of enzymes of H₂S synthesis in the liver of rats in different age groups did not differ significantly. Administration of propargylglycine caused a significant decrease in the H₂S content and

CSE activity in the animal organs of both age groups, but the major changes were found in myocardium and kidneys of rats 24–26 months old. The administration of NaHS increased the H₂S content, the activity of the desulfurization processes, and expression of mRNA CSE in the myocardium, aorta, and kidneys of the elderly and adult rats. In rats aged 24–26 months there were higher levels of sVCAM and galectin-3, but lower levels of eNOS and VEGF-A than in rats aged 6–8 months. Administration of propargylglycine resulted in an increase in the levels of sVCAM and galectin-3, a decrease in serum VEGF-A levels in rats in both age groups, but the effect was higher in rats 24–26 months old. Administration of NaHS caused an increase in the

levels of eNOS and VEGF-A and a decrease in serum sVCAM and galectin-3 levels in rats 24–26 months old.

In the process of aging, the production of H₂S with the participation of CSE and CAT/3-MST in the cardiovascular system and kidneys is reduced; an imbalance in the expression of angiogenic mediators appears. The inhibition of the H₂S / CSE pathway exacerbates the changes in the expression of angiogenic mediators, while the administration of H₂S donors reduces their severity. The regulation of metabolism of H₂S in tissues is a promising strategy for correction age-associated pathologies associated with angiogenesis disorders.

ЛІПІДИ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ЛЕГЕНЕВІЙ ПАТОЛОГІЇ ПРОФЕСІЙНОГО ГЕНЕЗУ

ІВЧУК В.В.

УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ПРОМИСЛОВОЇ МЕДИЦИНИ МОЗ УКРАЇНИ,
КРИВИЙ РІГ;
e-mail: vitaliy.ivchuk@gmail.com

Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) – поширене захворювання, що характеризується не повністю зворотною бронхіальною обструкцією і повільно прогресуючим перебігом. Одним із провідних факторів ризику бронхообструкції є виробничі фактори, тому проблема розвитку ХОЗЛ особливо актуальна для осіб, які працюють на промислових підприємствах. Розвиток бронхолегеневих захворювань характеризується дисліпопротеїнемією, що проявляється комплексом змін, як у вмісті сироваткових ліпідів так і у перерозподілі складу ліпідів клітинної мембрани.

Метою дослідження було встановити особливості ліпідного спектра сироватки крові та жирнокислотного складу мембран еритроцитів при ХОЗЛ професійної етіології різного ступеня тяжкості.

Було проаналізовано 186 результатів лабораторних досліджень хворих на ХОЗЛ працівників гірничодобувної промисловості з різним ступенем тяжкості перебігу захворювання. Ліпідний спектр сироватки крові оцінювали із застосуванням фотокolorиметричного та імунотурбідиметричного методів дослідження. Аналіз складу жирних кислот (ЖК) мембран еритроцитів проводили із застосуванням методу газорідинної хроматографії. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакета програм Statistica 6.0 (StatSoft, США). Достовірність відмінностей середніх величин визначали за *t*-критерієм Стьюдента. Відмінності вважалися статистично значимим при $P < 0,05$.

При перебігу ХОЗЛ професійної етіології спостерігаються метаболічні порушення, зокрема зниження концентрації ліпопротеїнів високої густини (ЛПВГ). До зниження рівня ЛПВГ може призводити зростання вмісту тригліцеридів (ТГ). Це впливає на обмін ЛПВГ за допомогою посилення їх катаболізму із залученням транспортного протеїну холестеринових ефірів (СЕТР). Даний протеїн опосередковує більш інтенсивне перенесення ТГ із ліпопротеїнів дуже низької густини (ЛПДНГ) і хіломікронів на ЛПВГ. Посилення катаболізму ЛПВГ може також бути обумовленим іншими опосередкованими механізмами – посиленням активності печінкової ліпази та СЕТР. Висока активність цього ензиму асоційована зі зниженням концентрації ЛПВГ-2 внаслідок гідролізу їх поверхневих ТГ. Це знижує стабільність даних часток та посилює кліренс ЛПВГ. Аналіз результатів досліджень вказує на виражені порушення у метаболізмі ЖК, біосинтезі ейкозаноїдів при ХОЗЛ професійної етіології тяжкої стадії перебігу хвороби. Виникають метаболічні порушення, які обумовлені пригніченням активності ензимів початкового та останнього етапу метаболізму есенціальних ЖК, реципрокним пригніченням синтезу циклооксигеназних і ліпоксигеназних метаболітів (n-3) поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Збільшення співвідношення 20:4(n-6)/20:5(n-3) свідчить про порушення в ейкозаноїдному циклі та переважанні синтезу прозапальних медіаторів. Це є значним фактором підвищеного ризику розвитку та обтяження бронхолегеневої патології.

Таким чином, дисбаланс у ліпідному обміні при ХОЗЛ професійної етіології може бути пов'язаний з метаболічними розладами, що виникають на тлі хронічного запального процесу. Порушення обміну ЖК, яке розгортається на тлі конкурентного інгібі-

ювання біосинтезу (n-3) ПНЖК із перевагою в утворенні (n-6) полієнових кислот та ейкозаноїдів із вираженими прозапальними і бронхоконстрикторними властивостями, можна вважати патогенетичним підґрунтям даної бронхолегеневої патології.

EFFECT OF BIOPROTECTORS IN EXPERIMENTAL ALCOHOL-INDUCED HEPATOSIS

KALACHNIUK L.H.¹, AL-BADU L.-E.N.¹, SMIRNOV O.O.², ARNAUTA O.V.¹, SPIVAK Y.V.¹

¹NATIONAL UNIVERSITY OF LIFE AND ENVIRONMENTAL SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSITUTE OF ANIMAL SCIENCES, NATIONAL AGRARIAN ACADEMY OF SCIENCES, LVIV;

e-mail: lilkalachnyuk@gmail.com

It is known that under the conditions of alcoholic intoxication both in the human body and animals there are destructive changes that are caused by metabolic disorders, especially lipid and protein metabolism processes, resulting in multiple injuries, primarily the failure of the liver. Metabolic processes (especially lipid and protein metabolism) undergo destructive changes that are caused by alcohol. In addition, a number of publications on the effect on the body of biological protectors containing Sulfur have been published, and the experimental data presented are ambiguous and controversial. Hence, the search for preparations with bio-protective properties is always relevant.

Therefore, the purpose of this work was to study the changes in lipid-protein exchange rates under the development of hepatitis and their correction in laboratory studies in rats.

Experiments were carried out on male rats weighing 180–220 g, which were divided into 4 groups of 7 animals in each. For 28 days, rats of 1–3 and the 4th groups received standard food "Purina rodent chow" and mineral-protein additives with standard food, respectively. Animals got *per os* water *ad libitum* (the 1st group), aqueous solutions of ethanol A (30% v/v, by 8 g/kg live weight, the 2nd and 4th groups), B (A + Sulfur-containing bio-protector betaine in the final concentration of 1 %, the 3rd group).

In the blood serum of the rats, the content of bilirubin, the concentration of triacylglycerols (TAG) and cholesterol (Cho), low (LDL) and high (HDL) density lipoproteins and the activity of γ -glutamyltransferase (GGT) were determined using the biochemical MICROBLAB 300 analyzer and the corresponding standard sets "PLIVA - Lachema Diagnostika" (Czech Republic). Blood serum was used for amino acid analysis on the T-339 amino acid analyzer, manufactured by the Czech Republic, Prague. Student's t-test was used in statistical analysis.

The experimental data obtained indicate that in blood serum of rats of group 2, the activity of GGT

increased approximately in 3 times compared to animals of group 1 (control), and decreased in animals of groups 3 and 4, going to the level of control. Changes in GGT activity were in direct correlation with changes in levels of bilirubin, triacylglycerol, and cholesterol.

The detected increase in the amount of LDL in the blood serum of rats consuming ethanol is probably due to an increase in the amount of TAG. High concentrations of TAG induce the synthesis of apolipoprotein B-100 (apoV) in liver cells. In turn, in combination with TAG, forms very low-density lipoproteins (VLDL), which secrete into the blood. Increasing the amount of TAG in the blood of rats due to the development of alcohol-induced hepatitis leads not only to increase the level of LDL, but also to reduce the amount of HDL.

Reducing the content of branched-chain amino acids in the serum of rats in the 2nd group is an additional indication of pathological structural and functional changes in liver cells. Differences between methionine and methionine metabolites in control and the 2nd groups of rats were of a different nature. The amount of cystine in the blood of both groups of rats remained almost unchanged, while in the 2nd group of animals, the methionine content increased by 33 % and taurine and serine decreased by 21 and 15 %, respectively. At the same time, the content of the above-mentioned amino acids changed reciprocally in the 3rd and 4th groups, approaching control, especially in animals of the 3rd group, where there was a greater protective effect of betaine. The S-containing substances are involved in the metabolism of methionine (which is a donor of methyl groups) and cysteine that is a component of glutathione (an important antioxidant).

Thus, the study of the biological effect of Sulfur-containing protectors and mineral-protein additives requires a more detailed study of the metabolic processes in the animal organism, especially the lipid-protein metabolism, to correct pathological abnormalities caused by alcohol-induced hepatitis.

АНТИДІАБЕТИЧНИЙ ЕФЕКТ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОЇ СВІТЛОВОЇ ТЕРАПІЇ

КАРМАШ О.І., ЛЮТА М.Я., КОРОБОВ А.М., СИБІРНА Н.О.
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗИНА, УКРАЇНА;
e-mail: lyutam@gmail.com

Низькоінтенсивна світлова терапія (НІСТ) з використанням лазерів або світлодіодів має доведену клінічну ефективність та практично не виявляє негативних побічних дій. НІСТ застосовується для пришвидшення загоєння ран, має анальгезуючу та протизапальну дію. Є дані про її застосування як одного з додаткових способів лікування синдрому діабетичної стопи, а також для зменшення болю при діабетичній нейропатії.

Метою роботи було дослідити вплив НІСТ на глікемічний профіль, гематологічні показники та рівень маркерів оксидативного стресу у плазмі крові щурів за умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету (ЦД).

Щурів піддавали дії низькоінтенсивного світлового випромінювання з довжиною хвилі 630 нм, потужністю 150 мВт (тривалість опромінення 5 хв впродовж 10 днів). Концентрацію глюкози визначали у цільній крові глюкозооксидазним методом. Вміст глікозильованого гемоглобіну в гемолізатах еритроцитів визначали спектрофотометричним методом. Кількість еритроцитів, лейкоцитів підраховували в камері Горяєва, вміст загального гемоглобіну визначали ціанметгемоглобіновим методом, кількість ретикулоцитів – за методикою Гейльмейєра у модифікації Сибірної. У плазмі крові визначали вміст окисно-модифікованих протеїнів нейтрального та основного характеру, кінцевих продуктів оксидації та глікації протеїнів, ТБК-позитивних продуктів. Аналіз та статистичну обробку резуль-

татів проводили за допомогою програмних пакетів Excel 2007 (Microsoft Office). Для перевірки статистичних гіпотез ($P < 0,05$) використовували критерій t Стьюдента.

Виявлено, що у тварин з ЦД за опромінення знижувалася концентрація глюкози у цільній крові та вміст глікозильованого гемоглобіну в еритроцитах порівняно з такими ж показниками у неопромінених щурів. За цих же умов НІСТ викликала підвищення кількості еритроцитів, концентрації гемоглобіну та зниження вмісту ретикулоцитів порівняно зі значеннями у неопромінених тварин, кількість лейкоцитів залишалася без змін. У тварин з ЦД опромінення зумовлювало зниження у плазмі крові щурів вмісту окисно-модифікованих протеїнів нейтрального та основного характеру, кінцевих продуктів оксидації та глікації, ТБК-позитивних продуктів.

Таким чином, НІСТ викликала зниження показників глікемії, деякі зміни у гематологічних показниках, зниження рівня маркерів оксидативного стресу у плазмі крові тварин з ЦД. Отримані результати свідчать про антидіабетичну здатність НІСТ червоним світлом. Використання низькоінтенсивного світлового випромінювання може бути додатковим засобом терапії у хворих на ЦД та інших захворювань, що супроводжуються розвитком оксидативного стресу. Проте, виявлені позитивні ефекти потребують подальших досліджень.

СТАН СИСТЕМИ ЗГОРТАННЯ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ У РІЗНИХ ЧАСОВИХ ПАРАМЕТРАХ

КЕЦА О.В., БОДНАРЮК Н.І., БОРЩОВЕЦЬКА В.Л., МАРЧЕНКО М.М.
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА, УКРАЇНА;
e-mail: o.ketsa@chnu.edu.ua

Основні функції системи гемостазу реалізуються за наявності в організмі гемостатичного балансу, що підтримується згортальною та протизгортальною системами крові. Залежно від рівня порушення балансу розвивається гіпер- або гіпокоагуляція. При критичних та невідкладних станах спостерігається третій вид патології – дискоагуляція, що завжди має набутий характер. Пусковими механізмами таких змін можуть бути різноманітні чинники, одним із яких є лазерне опромінення. Сьогодні залишаються актуальними та до кінця не

зрозумілими питання механізмів впливу лазерного опромінення на організм.

Метою роботи було дослідження клініко-біохімічних показників системи згортання крові щурів за умов впливу лазерного опромінення у різних часових параметрах.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 120–150 г, яких утримували на звичайному харчовому раціоні. Щурів опромінювали лазерним діодом в червоному діапазоні спектра (довжина хвилі 650 нм) потужністю 50 мВт через

шкіру в анатомічній ділянці черевної порожнини. Залежно від тривалості безперервного щоденного опромінення щурів поділили на дві групи: I група – щурі, яких щоденно опромінювали протягом 2 хвилин; II група – щурі, яких щоденно опромінювали протягом 4 хвилин. Декапітацію тварин проводили під ефірним наркозом на 7-му та 14-ту добу після початку опромінення. Для дослідження стану згортальної системи крові щурів використовували біохімічну коагулограму з аналізом наступних показників – кількості тромбоцитів, рівня протромбіну та фібриногену.

Результати дослідження тромбоцитарної ланки згортання крові показали, що при щоденній двохвилинній дії на організм лазерного опромінення у крові спостерігається незначне зниження кількості тромбоцитів лише на 14-у добу експерименту. Водночас щоденне чотирихвилинне опромінення призводить до зниження вмісту тромбоцитів у 2 та 4 рази на 7-му та 14-ту добу його дії відповідно. Виявлена тромбоцитопенія може бути зумовлена підвищенням руйнуванням тромбоцитів або недостатнім їх утворенням у результаті дисфункціонування гемопоетичних органів. Імовірно, тривала дія лазерного опромінення пригнічує тромбоцитопоез і, як наслідок, судинно-тромбо-

цитарний гемостаз, що необхідно враховувати під час застосування лазеротерапії в медицині.

Другий механізм гемостазу – вторинний гемостаз або коагуляційний, який спрямований на утворення фібрину. Цей механізм забезпечують 12 факторів, важливе значення серед яких мають фактор I – фібриноген та фактор II – протромбін. Аналіз результатів досліджень показав суттєве зниження у крові рівня фібриногену (у 8 разів) та протромбіну (у 6 разів) після двотижневого чотирихвилинного опромінення щурів лазерним діодом. Водночас двохвилинне опромінення не впливало на зміну досліджуваних показників. Наслідком зниження рівня протромбіну буде зниження його активної форми – тромбіну, необхідного для трансформації фібриногену в фібрин, який складає основу фібринового згустка або тромбу.

Отже, щоденне чотирихвилинне лазерне опромінення призводить до зниження судинно-тромбоцитарної та коагуляційної ланок згортання крові, що проявлятиметься підвищеною кровоточивістю. В той же час, двохвилинне застосування лазерного опромінення не впливає на клініко-біохімічні показники системи згортання крові, тому може бути застосоване у медицині для корекції різних патологічних станів.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ МІЖ АКТИВНІСТЮ γ-ГЛУТАМІЛТРАНСФЕРАЗИ ТА ПОКАЗНИКАМИ РЕДОКС-СИСТЕМИ В ТИМУСІ ПРИ МІАСТЕНІЇ

КЛІМОВА О.М.^{1,2}, БОЖКОВ А.І.¹, КАЛАШНІКОВА Ю.²,
БІЛОШЕНКО К.С.¹, МЕРЕЖКО О.С.², РЯБЕНКО Ю.А.¹

¹НДІ БІОЛОГІЇ ХАРКІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;
²ДУ "ІНСТИТУТ ЗАГАЛЬНОЇ ТА НЕВІДКЛАДНОЇ ХІРУРГІЇ ІМ. В. Т. ЗАЙЦЕВА НАМН УКРАЇНИ", ХАРКІВ;
e-mail: bozhkov@univer.kharkov.ua

Пошук критеріїв функціональних станів біологічних систем, зокрема, розвиток різноманітних патологій, є актуальним завданням сучасної біохімії. Міастенія – автоімунне захворювання, при якому блокується синаптична передача та спостерігаються структурно-функціональні зміни тимуса. Немає однозначних уявлень про етіологічні фактори цього захворювання. Лікування даної патології недостатньо ефективно. У зв'язку з цим, підбір біохімічних маркерів, що відображають функціональний стан тимуса, є актуальним завданням. Як потенційний маркер використовували зміни активності γ-глутамілтрансферази (ГГТ) в тканині тимуса, оскільки цей ензим присутній в різних тканинах і є поліфункціональним.

Тканину тимуса забирали інтєроопераційно у пацієнтів із міастенією. Активність ГГТ визначали в постмітохондріальній фракції тимуса кінетичним

методом. Ідентифікацію низькомолекулярних цитотоксичних факторів проводили з використанням Раманівської спектроскопії.

Виявили взаємозв'язок між активністю ГГТ у тимусі і різними морфофункціональними змінами тканини тимуса, які асоційовані з різними клінічними фенотипами міастенії. Так, в трансформованій тканині тимуса (тимоммах) активність ГГТ була в кілька разів вище (більше 10 разів), в порівнянні з нормальною тканиною залози. При цьому активність цього ензиму була вищою у хворих із міастенією, асоційованою з тимоммами у порівнянні з гіперплазованим тимусом в іншій групі хворих. Необхідно відзначити, що активність каталази в тимомі була в 2 рази нижче в порівнянні з морфологічно незміненим тимусом. Виявили взаємозв'язок між активністю ГГТ і показниками редокс-системи організму. Раніше було показано, що ГГТ бере

участь в регуляції редокс-системи організму, забезпечує посттрансляційну модифікацію білків шляхом їх S-глутатіонування та S-нітросилування. Така посттрансляційна модифікація протеїнів може впливати на властивості протеїнів.

Отримані результати дозволяють вважати, що ГТТ може брати участь в метаболічних процесах при канцерогенезі і може бути використаний в якості біохімічного маркера функціонального стану тимуса.

Раніше в нашій лабораторії було показано, що у пацієнтів з міастенією присутні низькомолекулярні цитотоксичні сполуки. Встановити природу цих сполук традиційними методами біохімії не є мож-

ливим. Для вирішення цього важливого завдання була використана Рамановська спектроскопія, яка дозволяє ідентифікувати окремі молекули в малих концентраціях. Виявлено, що у пацієнтів із міастенією, яка супроводжується злоякісним новоутворенням тимуса – тимомою був присутній протеїн з бутило-подібною структурою, який проявляє високотоксичну, міастогенну дію, і який може служити тонким біохімічним маркером патології цієї групи хворих.

Наразі в нашій лабораторії розробляється біосенсор для діагностики клінічних фенотипів вибору тактики та оцінки ефективності лікування міастенії.

ПОХІДНІ N-БЕНЗИЛІДЕН-N'-ТІАЗОЛ-2-ІЛ-ГІДРАЗИНУ ЯК ІНГІБІТОРИ ПОДВІЙНОЇ ДІЇ ПРОТИ АМІНОАЦИЛ-ТРНК СИНТЕТАЗ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

КОВАЛЕНКО О.П., ВОЛИНЕЦЬ Г.П., РИБАК М.Ю., СТАРОСИЛА С.А., ГУДЗЕРА О.Й.,
ЛУКАШОВ С.С., БДЖОЛА В.Г., ЯРМОЛЮК С.М., ТУКАЛО М.А.
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: o.p.kovalenko@imbg.org.ua

Туберкульоз – одне з найпоширеніших смертельних захворювань людини. Головною проблемою в лікуванні туберкульозу стало виникнення нових штамів *Mycobacterium tuberculosis*, стійких до наявних ліків, що спонукало до пошуку препаратів із новими механізмами дії, зокрема інгібування декількох мішеней одночасно. Аміноацил-ТРНК синтетази, ензими, які відіграють суттєву роль у процесі біосинтезу протеїну, розглядаються як перспективні мішені для таких препаратів. Нашою метою було віднайти серед похідних N-бензиліден-N'-тіазол-2-іл-гідразину інгібітори для одночасної дії на лейцил-ТРНК синтетазу і метіоніл-ТРНК синтетазу *M. tuberculosis* (*MtbLeuRS* і *MtbMetRS*, відповідно), зважаючи на значну структурну подібність активних центрів цих ензимів. Було проведено молекулярний докінг 344 сполук, за результатами якого відібрано 38 сполук для подальшого тестування їхньої інгібіторної сили щодо *MtbLeuRS* і *MtbMetRS*. Скринінг інгібіторів проводили *in vitro* в реакції аміноацилювання, використовуючи реа-

гент BIOMOL Green®. Виявлено 28 потенційних інгібіторів метіоніл-ТРНК синтетази і 11-лейцил-ТРНК синтетази, причому всі інгібітори *MtbLeuRS* пригнічували активність *MtbMetRS*. Сполуки-лідери **1** і **3** були визначені як інгібітори подвійної дії за значеннями IC_{50} у реакції аміноацилювання. Сполука **1** пригнічувала активність *MtbLeuRS* і *MtbMetRS*, демонструючи $IC_{50}=5,1 \mu M$ і $3,4 \mu M$, відповідно. Для сполуки **3** ці значення склали $20 \mu M$ і $8,5 \mu M$.

Антимікробну дію найбільш активних сполук вивчали *in vitro* на клітинах *M. tuberculosis* штаму H37Rv, визначаючи мінімальну інгібувальну концентрацію (MIC) через 7 і 14 днів культивування у чотирьох варіантах Middlebrook 7H9 середовища. Ріст клітин оцінювали візуально, використовуючи AlamarBlue як індикатор. Обидві сполуки продемонстрували антимікробну дію, хоча й із різною ефективністю. В подальшому буде вивчатись активність отриманих похідних відповідно до резистентних штамів *M. tuberculosis*.

THE CHANGES OF NEURONAL CELL ADHESION MOLECULE LEVEL IN RAT HEART INDUCED BY HYPERGLYCEMIA AND PREVENTED WITH MELATONIN

KOVALCHUK Y.P.¹, KYRYCHENKO S.V.¹, ZHYLIUK V.I.², USHAKOVA G.A.¹.

¹OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

²SI DNIPROPETROVSK MEDICAL ACADEMY OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE, UKRAINE;

e-mail: yulka.kovalchuk.5868152@ukr.net

Hyperglycemia is one of the most common etiological factors that induce internal diseases, including disorders in the functioning of the central nervous system (CNS) and innervation of vitally important organs. Neuronal cell adhesion molecules (NCAMs) are the members of the large immunoglobulin sub-family, which mainly participates in the formation of intercellular contacts of adhesive type. Changes in NCAM levels are known to be the key factor contributing to neuronal plasticity. Chemically, NCAMs are glycoproteins, which provide homophilic communication between cells. NCAMs are abundantly synthesized on the surface of nerve cells, and to the less extent, on the gliocytes of the brain and peripheral nervous system (PNS). The smallest amount of NCAMs is detected in skeletal muscles, activated T-lymphocytes, zero or NK-lymphocytes, and cells of neuroendocrinal tissue. NCAM provides not only cell-cell or cell-matrix communication but also greatly determines the rate of cell proliferation, activation of the certain genes, morphology and structure of cells. Ca-binding protein S-100b is also one of the most important regulatory molecular components. It acts as a neurite growth factor, stimulates Ca release, inhibits protein-kinase C-dependent phosphorylation, stimulates proliferation of astrocytes and axonal growth, and inhibits assembly of microfilaments. Up-regulation of S-100b is observed as a result of injury to mature nervous system. Investigation of these proteins may provide new insights into their functional significance beyond CNS, but also in other organs under chronic diseases as possible pathogenetic factors for dementia development. Thus, the present study was aimed to evaluate changes in NCAM and S-100b levels in the heart of rats with the experimental II type of diabetes mellitus (DM-II).

Adult males of Wistar rats 230–250 g of weight were used for the experiment. The animals were divided into three groups ($n=7$ per group): 1 – control, 2 – rats with the induced DM-II, animals were once

injected with the water solution of nicotinamide (Sigma-Aldrich, USA) in a dose of 230 mg/kg b.w. i.p., and then after 15 min, rats were injected with streptozotocin (Sigma-Aldrich, USA) dissolved in citrate buffer (pH 4.5) in a dose of 65 mg/kg b.w.; animals, which developed blood glucose concentration 8–14 mmol/L were selected for the experiment, 3 – animals with induced DM-II treated with melatonin in a dose of 10 mg/kg b.w. All experimental procedures were conducted in accordance with ethical standards on the care and use of laboratory animals. After termination of the experiment, fractions of water-soluble (cytosolic) proteins and membrane proteins were isolated from the heart tissue by homogenization and differential ultracentrifugation. Total protein was measured by Bradford method. Quantitative analysis of NCAM and S-100b was performed by concurrent ELISA. Results were measured with the use of ELISA reader Anthos 2010 (Finland) at 492 nm. Statistical analysis of the obtained results was fulfilled by one-way analysis of variances (ANOVA). The P-values less than 0.05 were considered statistically significant.

It was shown that experimental DM-II induces significant elevation of total membrane proteins up to 155.3 ± 4.4 mg/g in the heart tissue compared to that from control animals (119.7 ± 16.2 mg/g tissue). However, there was only tendency in increasing of membrane form of NCAM in the heart of rats with experimental DM-II, but this parameter varied greatly (from 72 to 82 μ g/g tissue) and the difference did not reach the level of statistical significance. Also, there was no statistically significant difference between the amounts of S-100b in control and DM-II groups. Melatonin treatment prevented alterations of total membrane protein and NCAM levels in the heart of rats with experimental DM-II. Obtained data suggest that melatonin could display positive effects through alleviating changes in membrane adhesive protein levels in rat hearts disturbed by hyperglycemia.

ПОРІВНЯННЯ ІМУНОЛОГІЧНОЇ ДІЇ КЛАСИЧНОГО, СИНТЕТИЧНОГО І ПРИРОДНОГО АД'ЮВАНТІВ

КОЗАК М.Р., ВЛІЗЛО В.В.

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;
e-mail: mariya_kozak@yahoo.com

Вакцинація є надійним засобом для попередження розвитку інфекційних захворювань. Недоліками вакцин є наявність живого і недостатньо ослабленого збудника, часті алергічні реакції, параліч та ін. За допомогою рекомбінантних технологій можна одержати необхідні безпечні антигени. Проте завдяки своєму невеликому розміру вони не здатні спричинити необхідної для захисту організму імунної реакції. Тому для одержання високого титру антитіл до відповідного антигену застосовують ад'юванти. Найбільш широко застосовуваними ад'ювантами у вакцинах протягом останніх 80 років залишаються сполуки алюмінію. Не зважаючи на те, що ці сполуки є найбільш безпечними, вони мають ряд недоліків. Це еозинофілія, абсцеси, міофасциліт, формування гранульом та алергія, а також є окремі дані про зв'язок із хворобою Альцгеймера. У лабораторіях усього світу ведеться пошук ефективних і безпечних ад'ювантних сполук для створення безпечних вакцин.

Метою нашого дослідження було порівняти ад'ювантні властивості гідроксиду алюмінію, аніонактивного електроліту на основі акрилової кислоти та хітозану.

Дослідження проводили на білих мишах лінії BALB/c віком 5 місяців із дотриманням вимог щодо поводження з лабораторними тваринами. Бичачий сироватковий альбумін (БСА) було обрано модельним антигеном для вивчення рівня продукції специфічних антитіл за допомогою імуноензимного аналізу. Тварин було поділено на дві контрольні і три дослідні групи, по 5 мишей у кожній групі. Імунізацію здійснювали підшкірно в область спини тричі з інтервалом 7 днів. Першій контрольній

групі вводили фізіологічний розчин, а другій розчин антигену. Першу дослідну групу мишей імунізували розчином гідроксиду алюмінію і БСА; другу – БСА з аніонактивним електролітом, який було синтезовано кафедрою органічної хімії Національного університету "Львівська Політехніка"; третю – БСА з низькомолекулярним хітозаном. Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2010.

Найкращі ад'ювантні властивості проявив аніонактивний поліелектроліт (640 нм). Завдяки застосуванню цього полімеру ми одержали двократне зростання титру антитіл до модельного антигену, порівняно до контролю ($P < 0,01$). Застосування для імунізації лише БСА не викликало зростання титру специфічних до нього антитіл. Імунізація із застосуванням гідроксиду алюмінію спричиняла зростання титру специфічних антитіл на 50% ($P < 0,05$) порівняно до контролю. Імунна реакція була у цьому випадку вдвічі нижчою, ніж за застосування аніонактивного поліелектроліту. Застосування хітозану як ад'юванта призводило до утворення анти-БСА антитіл на тому ж рівні, що і гідроксид алюмінію ($P < 0,01$). Під час досліджень жодних летальних випадків не виникло. Ми не спостерігали побічних ефектів таких як параліч, алергічні реакції, почервоніння/набряк у місці введення вакцини, випадіння шерсті та ін. у піддослідних тварин. Вага тварин була стабільною.

Одержані результати дозволяють зробити висновок про те, що аніонактивний електроліт є перспективним ад'ювантом і потребує детальних досліджень з метою створення безпечної вакцини нового покоління.

МІТОХОНДРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ КОМОРБІДНОСТІ ПАТОЛОГІЙ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРЕПАРАТІВ "КОРВІТИН", "ІНСПРА" ТА АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ

КОЛОДА М.І., ДЬОМШИНА О.О., УШАКОВА Г.О.

ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О. ГОНЧАРА, УКРАЇНА;
e-mail: marishakoloda@gmail.com

Печінка є органом, який один із перших підпадає під дію речовин, що потрапляють в організм із їжею та лікарськими засобами. Деякі речовини мають негативний вплив на мітохондрії гепатоцитів, що може викликати виникнення дисфункцій орга-

нел та їх руйнування. Останнім часом усе частіше зустрічається таке поняття як коморбідність, тобто поєднання двох патологій, наприклад серцево-судинної системи та печінки. Вплив такого поєднання патологій на мітохондрії печінки вивчено недо-

статньо. Однак мітохондрії відіграють важливу роль під час ішемічних процесів та може сприяти пошкодженню та загибелі клітин. Тому, мета роботи полягала в визначенні змін активності цитозольних та мітохондріальних ензимів печінки за умов пітуетрин-ізадринного ушкодження міокарду та корекції даного патологічного стану лікарськими засобами “Корвітин”, “Інспра” та препаратом α -Кетоглутарат.

Матеріалом дослідження були цитозольна та мітохондріальна фракція печінки щурів, яких утримували в стандартних умовах віварію. Усі маніпуляції зі тваринами проводили згідно конвенції захисту тварин, яких використовують у експериментах. Ішемічну хворобу серця моделювали за допомогою введення пітуетрину та ізадрину (кардіотоксикантів). Визначення загальної кількості протеїну та активності аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1) проводили з використанням стандартних лабораторних тест-наборів (Фелісіт, Україна, м. Дніпро) за методами згідно протоколу фірми виробника. Активність каталази (КТ, КФ 1.11.1.6) за методом (Kogoluk et al., 1988), супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) за методом (Kostuk et al., 1990), ТБК-активних продуктів за методом (Andreeva et al., 1988), сукцинатдегідрогенази (СДГ, КФ 1.3.99.1) за методом (Munujos et al., 1993), цитохрому С за методом (Choi et al., 1995). Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за *t*-критерієм Стьюдента та Манна-Уїтні у програмі Microsoft Excel.

Висока концентрація маркерів окисного стресу у клітинах печінки та їх мітохондріях за умов пошкодження міокарда значно зменшувалася за дії препарату α -Кетоглутарат, а також після застосу-

вання лікарського засобу “Корвітин”. Проте дія лікарського препарату “Інспра” була менш ефективною, хоча кількість ТБК-активних речовин помітно зменшувалася. Зменшення окисного стресу у печінці та, особливо, в мітохондріях печінки підтверджує зниження активності ензимів антиоксидантної системи за умов застосування дослідних препаратів. Як результат застосування препарату α -Кетоглутарат – поступове зниження активності супероксиддисмутази та каталази, як у мітохондріальній фракції так і цитозольній фракції печінки. Використання лікарських препаратів “Інспра” та “Корвітин” призводить до зменшення активності ензимів до рівня контрольної групи дослідних тварин. Також, про покращення стану мітохондріальних мембран свідчить відновлення кількості цитохрому С і активності сукцинатдегідрогенази у мітохондріальній фракції печінки за умов застосування дослідних препаратів. Прослідковано найбільш значне зниження активності аспартатамінотрансферази за умов застосування лікарського засобу “Корвітин”, що додатково свідчить про зменшення токсичного впливу патологій серця на печінку. Подібний ефект спостерігали за умов застосування α -Кетоглутарату.

Отже, кожен із дослідних препаратів має різний механізм дії, що відображається на ефективності та результатах їх застосування. Також, здатність кожного з препаратів опосередковано знижувати токсичний вплив патології на мітохондрії печінки є підставою до рекомендації їхнього використання у лікарській практиці. Саме це визначає доцільність застосування кожного з препаратів, як допоміжних у комплексному лікуванні серцево-судинної патології.

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ОЖИРІННЯ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

КОНОПЕЛЬНЮК В.В., КОМПАНЕНЬ І.В., ГОЛОБОРОДЬКО Є.Є., ОСТАПЧЕНКО Л.І.
ННЦ “ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ”, КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: vskonopelnyuk@gmail.com

Незважаючи на значний прогрес у дослідженні ожиріння, механізми розвитку прогестерон індукованого ожиріння та ожиріння, спричиненого висококалорійною дієтою, залишаються не повністю з'ясованими і потребують подальшого вивчення. Лікування ожиріння потребує декількох терапевтичних стратегій, таких як, обмеження споживання калорій і підвищення фізичної активності, блокування всмоктування поживних речовин в кишечнику, модуляції метаболізму жирів, регулювання внутрішньоклітинної передачі сигналу в жировій тканині і контроль центру насичення. При цьому

численні терапевтичні агенти, які роками використовувалися у клініці, на сьогодні обмежені у застосуванні чи навіть заборонені через їх серйозні побічні ефекти. Хімічні сполуки – складові натуральних рослинних продуктів – широко застосовуються як діючі компоненти лікарських препаратів або харчових додатків. Внаслідок великого різноманіття цих складових та їх здатності діяти на численні біологічні мішені, рослини можна вважати неоціненним джерелом для відкриття нових терапевтичних агентів для підтримки здоров'я, і, у тому числі, для протидії ожирінню.

Метою дослідження було вивчення ключових біохімічних показників за умов розвитку ожиріння індукованого висококалорійною дієтою та проведення порівняльного дослідження ефективності лікування біонаноккомпозитом на основі пажитника (БНК) проти орлістату; а також дослідження впливу меланіну з антарктичних дріжджів *Nadsoniella nigra* на біохімічні показники у тварин з ожирінням, індукованим введенням прогестерону.

Дослідження на тваринах проведені з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист тварин. У роботі використано висококалорійну модель розвитку ожиріння (для лікування використовували БНК) та модель ожиріння індуковану введенням прогестерону (для лікування використовували меланін). У всіх досліджуваних групах щурів масу тіла реєстрували 1 раз на тиждень, споживання корму реєстрували щоденно. Проводили біохімічний аналіз крові, визначали концентрацію вільних амінокислот в крові, визначали вміст та активність ключових показників серотонінергічної та антиоксидантної системи. Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою методів варіаційної статисти-

ки та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерних програм OriginLab Origin® Pro 9.1 та Statsoft Statistica® 10.

Результати досліджень свідчать про інгібуючу дію БНК на ключові біохімічні показники у щурів із ожирінням індукованим ВКД. Лікування БНК призвело до значного зниження приросту маси тіла, індексу маси тіла, маси жирової тканини, глюкози в крові, сироваткового інсуліну, ліпідів. БНК покращив рівні АСТ, АЛТ та ЛДГ. Крім того, показники серотонінергічної системи були відновлені до фізіологічних рівнів. Ці дані продемонстрували превентивний ефект БНК на накопичення жиру і дисліпідемію, внаслідок пригнічення порушення ліпідного травлення і абсорбції, на додаток до поліпшення метаболізму глюкози і ліпідів, підвищення чутливості до інсуліну, підвищення антиоксидантного захисту. Вплив меланіну на ключові біохімічні показники при індукованому прогестероном ожирінні потребує детального роз'яснення і може бути дуже цінним у розробці заходів для запобігання розвитку ожиріння, пов'язаного з жіночою замісною терапією.

ВМІСТ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ У КРОВІ ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ТОНЗИЛІТ

КОПЧА Ю.В.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: kopcha_julia@ukr.net

Мета роботи – дослідити концентрацію прозапальних інтерлейкінів (ІЛ) – фактора некрозу пухлин альфа (ФНП- α), ІЛ-1 β , ІЛ-6 і протизапальних цитокінів – ІЛ-4 та ІЛ-10 у сироватці крові з урахуванням стадії, клінічних форм і ступеня тяжкості гострого тонзиліту.

Під спостереженням перебувало 65 хворих на гострий тонзиліт (29 чоловіків і 36 жінок), які отримували тільки традиційну терапію (антибактерійні, дезінтоксикаційні та місцеві засоби) в умовах клініки інфекційних хвороб. З них у 51 особи захворювання перебігало із середнім, у решти 14 – з тяжким ступенем. Супутніх захворювань, які могли б вплинути на рівень досліджуваних цитокінів, пацієнти не мали. У 7 хворих діагностовано катаральний тонзиліт, у 48 – фолікулярний та/або лакунарний і в 10 – флегмонозний або флегмонозно-некротичний тонзиліт. Однобічне ураження встановили у 12 хворих, двобічне – у 53.

Пацієнти обстежені в період розпалу недуги (1–4 доба хвороби), згасання клінічних симптомів (5–6 доба), ранньої реконвалесценції (7–10 доба), тобто перед виписуванням, а частина з них – через

1 міс. після вибуття зі стаціонару. Групу порівняння склали 20 здорових людей.

В усіх хворих встановлено значне підвищення вмісту досліджуваних прозапальних цитокінів у плазмі крові з максимальним значенням у розпал гострого періоду: ФНП- α – (12,77 \pm 1,30), ІЛ-1 β – (7,93 \pm 1,12), ІЛ-6 – (7,99 \pm 1,04) пг/мл (порівняно зі здоровими $P < 0,01$ – $0,001$). При згасанні клінічних симптомів простежувалося поступове зниження рівня зазначених інтерлейкінів, концентрація яких була нижча порівняно з попереднім періодом ($P < 0,05$ – $0,01$). У ранню реконвалесценцію рівень прозапальних цитокінів у плазмі крові мав схильність до зниження, однак в усіх хворих демонстрував ще суттєво вищі значення від нормальних.

Вміст ФНП- α , ІЛ-1 β у плазмі крові мав вищі значення при фолікулярній і лакунарній формі, ніж при катаральній ($P < 0,05$ – $0,01$). При флегмонозно-некротичній формі встановили найвищі зрушення у зміні концентрації цих цитокінів ($P < 0,05$ – $0,001$). Вищі значення досліджуваних показників простежувались у хворих із тяжким ступенем тонзиліту, ніж при середньотяжкій формі недуги ($P < 0,05$ – $0,01$).

У період пізньої реконвалесценції концентрація зазначених інтерлейкінів нормалізувалася.

У розпал гострого тонзиліту встановили зниження рівня протизапальних цитокінів: ІЛ-4 – (1,64±0,23) та ІЛ-10 – (2,84±0,32) пг/мл (порівняно зі здоровими людьми $P < 0,01-0,001$). У період згасання клінічних симптомів паралельно з поліпшенням загального стану та стиханням запалення піднебінних мигдаликів встановили поступове підвищення рівнів цих цитокінів з поверненням до норми в період ранньої реконвалесценції в усіх пацієнтів при катаральній, фолікулярній та лакунарній формі. При флегмонозно-некротичній формі ураження нормалізація концентрації ІЛ-4 та ІЛ-10 наставала тільки в період пізньої реконвалесценції, тобто через 1 міс. після стаціонарного лікування.

Показано, що у розпал гострого тонзиліту зростає вміст прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6) та падає – протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10), а при

згасанні клінічних симптомів простежується поступове зниження рівня прозапальних і підвищення протизапальних ІЛ у сироватці крові. У ранню реконвалесценцію рівень прозапальних цитокінів у плазмі крові має схильність до зниження, а протизапальних – до підвищення, однак в усіх хворих суттєво відрізняється від показників здорових осіб. У період пізньої реконвалесценції концентрація усіх досліджуваних інтерлейкінів нормалізується. При всіх клінічних формах гострого тонзиліту з тяжким перебігом мають місце найвищі зрушення вмісту ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-6 у плазмі крові, а при фолікулярній або лакунарній формі їх значення вищі, ніж при катаральній. Концентрація ІЛ-4 та ІЛ-10 у пацієнтів з флегмонозно-некротичною формою хвороби нижча, ніж при катаральній формі, а також менша в осіб з тяжким ступенем хвороби, ніж при середньому ступені тяжкості.

ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ТРАНСМІСИВНИХ ІНФЕКЦІЙ У ЖИТЕЛІВ ТЕРНОПІЛЬЩИНИ

КОРДА М.М., ШКІЛЬНА М.І., АНДРЕЙЧИН М.А., БОЙЧУК А.В., ЯКИМЧУК Ю.Б., ГУК М.Т.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;
e-mail: shkilnami@tdmu.edu.ua

Трансмисивні захворювання – це група хвороб, біологічними переносниками збудників яких є кровосисні членистоногі (іксодові кліщі, блохи, комарі, мошки, москіти). Найпоширенішими і клінічно значимими із зазначених вище інфекцій, є Лайм-бореліоз, анаплазмоз, бабезіоз та ін.

Хвороба Лайма (бореліоз, Лайм-бореліоз, системний кліщовий бореліоз) – поліетіологічний, природно-вогнищевий зооноз із трансмісивним механізмом передачі, що характеризується поліморфізмом клінічних проявів. Натепер відомо близько 22 генотипів *B. burgdorferi s. l.*

Анаплазмоз – хвороба тварин і людей, викликана одноклітинними організмами з роду *Rickettsiales*, родини *Anaplasmatacea*. З 1990-х років в США почали діагностувати гранулоцитарний анаплазмоз людини, коли вперше описали випадки гарячки в пацієнтів, що зазнали укусу кліща. В Європі перше захворювання зареєстровано у 1998 році в Словаччині. На сьогодні анаплазмоз діагностується у всьому світі.

Метою роботи було встановити частоту інфікування *B. burgdorferi s. l.* та *A. phagocytophilum* мешканців Тернопільської області, з використанням методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі.

Методом ПЛР обстежено 330 пацієнтів віком від 18 до 77 років, які лікувались амбулаторно та стаціонарно в Тернопільських обласних клінічних шкірно-венерологічному, психоневрологічному, протитуберкульозному диспансерах, гінекологічному відділенні Тернопільської комунальної міської лікарні № 2 та університетській лікарні. Чоловіків було 103 (31,2 %), жінок – 227 (68,8 %).

Слід зазначити, що до 1 групи ввійшли пацієнти, в крові яких ДНК *A. phagocytophilum* та *B. burgdorferi* шукали з 1-го по 7-ий день після нападу кліща. В 2-ій групі досліджували кров, за потреби ліквор, синовіальну рідину, а в 3-ій групі – лише кров.

У 2 пацієнтів першої групи було виявлено ДНК *A. phagocytophilum* та *B. burgdorferi s. l.* ДНК *B. burgdorferi s. l.* виявлено в 14 (4,5 %) пацієнтів 2-ої групи. З них 2 лікувались з приводу саркоїдозу легень, 3 – мігруючої еритеми, 7 – ураження суглобів (артралгії), 2 – ураження серцево-судинної системи (міокардит із порушенням ритму за типом миготливої аритмії), 2 хворих – неврологічних проявів (менінгіт). ДНК *A. phagocytophilum* виявлено в 13 (4,2 %) пацієнтів цієї групи, з них 4 лікувались з приводу саркоїдозу легень, 4 – мігруючої еритеми, 3 – ураження суглобів (артралгії), 1 – ураження

серцево-судинної системи (міокардит з порушенням ритму за типом миготливої аритмії), 2 хворих – менінгіту неясної етіології з цефалгічним і церебрастенічним синдромами. Слід зазначити, що у 2 пацієнтів нуклеїнову кислоту *A. phagocytophilum* виявлено в лікворі, за відсутності її у крові.

Одночасне дослідження сироваток вагітних (третя група) на наявність ДНК *A. phagocytophilum* та *B. burgdorferi* s. l. виявило позитивний результат у 2-х (16,7 %) із 12 обстежених. Відомо, що немовлята вагітних можуть бути заражені борелією трансплацентарно на будь-якій стадії вагітності або через грудне молоко матері. З гестаційним бореліозом можуть бути асоційовані: повторні викидні,

загибель ембріону на ранніх і пізніх термінах, внутрішньоутробна смерть доношеної дитини (мертвонародження), гідроцефалія, серцево-судинні аномалії, затримка внутрішньоутробного росту плода, асфіксія новонародженого, “сепсис” і гіпербілірубінемія у новонародженого, сліпота, синдром раптової дитячої смерті.

Скринінгово збудник Лайм-бореліозу діагностовано у 4,5 %, анаплазмозу – у 4,2 % пацієнтів різних лікарень м. Тернополя та в 10 % в осіб, що зазнали нападу кліщів, а також у двох з 10 практично здорових осіб. Вперше на території Тернопільської області було виявлено ДНК *A. phagocytophilum* у вагітних.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ПРО/АНТИОКСИДАНТНИХ ПАРАМЕТРІВ КРОВІ З РІВНЕМ РЕЗИДУАЛЬНОГО ДІУРЕЗУ ТА АДЕКВАТНІСТЮ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДІАЛІЗУ

КОРОЛЬ Л.В.¹, СТЕПАНОВА Н.М.¹, ВАСИЛЬЧЕНКО В.С.^{1,2}, СНІСАР Л.М.¹, РАМАЗАНОВА С.В.¹

¹ДУ “ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ”, КИЇВ;

²НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ “КИЄВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ”, УКРАЇНА;

e-mail: lesyakorol@meta.ua

Відомо, що причиною розвитку оксидативного стресу (ОС) у хворих на хронічну хворобу нирок (ХХН) є зростання продукції активних метаболітів кисню (АМК) на тлі порушення метаболізму фізіологічно активних речовин, які тісно пов'язані з фізіологічними функціями нирок. Епідеміологічними дослідженнями продемонстровано, що зменшення резидуального діурезу (РД) у хворих на ХХН VД стадії, які лікуються методом перитонеального діалізу (ПД) є ключовою складовою зниження адекватності діалізу та прогностично несприятливим фактором кардіоваскулярних ускладнень.

Метою роботи було дослідити взаємозв'язок між інтенсивністю оксидативного стресу (ОС) та РД і адекватністю перитонеального діалізу (ПД) у хворих на ХХН VД.

До обсерваційного когортного дослідження випадок-контроль залучено 64 хворих на ХХН VД, які лікувались ПД: I групу склали пацієнти з адекватним ПД ($Kt/V \geq 1,7$, $n=46$), до II групи увійшли хворі з $Kt/V < 1,7$ ($n=18$). Контрольна група – 30 здорових осіб, співставлених за статтю та віком. Визначали концентрацію малонового діальдегіду в сироватці (МДАс) та еритроцитах (МДАе), трансферину сироватки (ТРС), церулоплазмину (ЦПС), SH-груп у сироватці крові та еритроцитах, сумарної пероксидазної активності еритроцитів (СПАе) та резистентності еритроцитів до пероксидів, індекс оксидативного стресу (ІОС). Статистичну обробку отриманих результатів проведено за допомогою програми “MedCalc”. За умов нормального розпо-

ділу оцінювали середні значення показників (M) та середнє квадратичне відхилення (SD); для їх порівняння використовували критерій Стьюдента (tS).

Встановлено, що для групи I порівняно з групою II характерно майже вдвічі вищі показники ЦПС та в тричі – СПАе і на 33 % показники концентрації SH-груп в еритроцитах. Також, для групи II ($Kt/V \geq 1,7$) характерні на 25 % вищі показники МДАс та на 38 % – МДАе. Розрахунок ІОС в еритроцитах показав, що у групі I інтенсивність ОС майже вдвічі нижча за показники групи II ($Kt/V \leq 1,7$). Встановлено негативний кореляційний взаємозв'язок між величинами Kt/V та ІОС ($r=-0,439$, $p<0,05$). Тобто чим нижчі величини Kt/V , тим вища інтенсивність ОС в клітинах (за даними ІОС). Також був встановлений позитивний кореляційний взаємозв'язок між величинами Kt/V та концентраціями ЦПС ($r=0,325$, $p<0,05$), SH-груп ($r=0,556$, $p<0,05$) і СПАе ($r=0,568$, $p<0,05$). Тобто чим вища концентрація ЦПС, SH-груп та СПАе, тим краща адекватність ПД.

Встановлено, що для ПД пацієнтів характерно зростання в крові концентрації МДАс ($p<0,01$) та МДАе ($p<0,05$) на тлі зниження концентрації в крові SH-груп ($p<0,02$) та ТРС ($p<0,01$), проте зміни цих показників залежали від рівня РД. Так, для пацієнтів з діурезом < 200 мл/добу характерно зростання в крові концентрації МДАс ($p<0,05$, ЦПС ($p<0,02$), ІОСс ($p<0,02$) порівняно з хворими з добовим діурезом ≥ 250 мл/добу. Показники концентрації МДАе, SH-груп, ТРС, СПАе і резистентності клітин

до перекисного ушкодження достовірно не відрізнялися між групами.

Встановлено взаємозв'язок між інтенсивністю ОС та адекватністю ПД, визначеного за рівнем загального тижневого Кі/В, що може бути одним із чинників зниження виживаності методу ПД у хворих на ХХН ВД стадії. Стан РД прямо впливає на інтен-

сивність ОС, що корелює зі зростанням продукції МДА та зниженням системи АОЗ. Отже, фізіологічні функції нирки, що пов'язані з регуляцією водного балансу, осмотичного тиску та утворенням фізіологічно активних речовин впливають на інтенсивність оксидативного стресу.

DETECTION OF ANTI-CITRULLINATED CHEMOKINE ANTIBODIES AND THEIR ROLE IN PATHOPHYSIOLOGY, DIAGNOSTICS AND PROGNOSIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS

KORCHYNSKYI O.^{1,2}, CZARNIK-KWAŚNIAK J.², MALYSHEVA Ch., KOCH A.E.

¹INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, LVIV;

²RZESZÓW UNIVERSITY MEDICAL FACULTY, RZESZÓW, POLAND;

e-mail: olexkor@hotmail.com

Rheumatoid arthritis (RA) is a severe autoimmune disease that affects up to 1.8% of adult population. During RA development synovial fibroblasts start to overgrow and invade surrounding tissues in the joint thus forming a pannus and leading to severe destruction of articular cartilage and frequently to bone erosions. Strikingly, highly elevated levels of several chemokines (Ch) were detected in joints of RA patients. A main function of chemokines is controlling cell trafficking, namely being chemoattractants for monocytes, neutrophils, endothelial and other cells. Anti-citrullinated peptide antibodies (ACPA) were shown to be associated with some autoimmune diseases, including RA. In some patients ACPA can be observed up to ten years before the development of RA onset. In spite of the strong correlation between the presence of ACPA in patient's serum and RA development and progression, a molecular mechanism that leads to accumulation of citrullinated protein targets (and consequently ACPA) remains unclear. Protein citrullination *in vivo* is carried out by peptidylarginine deiminases (PAD). Moreover: increased *PAD4* expression is associated with RA. Recently we found that citrullination of epithelial neutrophil activating peptide-78 (ENA-78/CXCL5) strongly changed its properties: non-citrullinated ENA-78 (ncENA-78) is well known to be inefficient in monocyte recruitment, while citrullination converted ENA-78 (citrENA-78) into efficient chemoattractant for monocytes that efficiently induced experimental arthritis upon injection into knees of experimental animals.

A main goal of our work is to understand the functional impact of chemokines citrullination in RA as a potential key event in RA pathogenesis and to

validate, if the presense of ACPA directed against anti-citrullinated chemokines (especially anti-citrENA-78) could serve as a basis for bad disease prognosis.

Real-time RT-PCR was used to detect the expression levels of Ch mRNAs and ELISA and immunoblot assays for protein levels detection. A molecular cloning and luciferase reporter assays were used to investigate the molecular mechanism of promoter regulation.

The studies we performed suggest a presence of anti-citrullinated chemokines-specific ACPA in biological fluids of RA patients versus unrelated diseases. In a parallel we found that tumor necrosis factor (TNF)alpha and interleukin(IL)-1beta stimulate the expression of *PADI4* mRNA. We further analyzed *in silico* the sequence of human *PADI4* gene and found in it four cryptic Nuclear Factor (NF)kappaB and one C-Rel binding site. Therefore we cloned a human *PADI4* promoter region into a reporter vector and performed a set of luciferase reporter assays on the way to understand the molecular mechanism of *PADI4* gene regulation in RA. Surprisingly, TNFalpha and IL-1beta inhibit *PADI4* promoter activation in a model of heterologous mouse fibroblasts on NIH-3T3 line. The sequential experimental mutagenesis of both NF-kappaB and C-Rel binding sites releases the activation of *PADI4* promoter from inhibition by TNFalpha and IL-1beta, thus suggesting synovial fibroblasts-specific effects.

Thus, evaluation of ACPA specific to citrullinated chemokines and proper understanding of a molecular mechanisms underlying protein citrullination, especially into inflamed joint, potentially can have a crucial role in RA disease diagnostics and prognosis.

УЧАСТЬ ЯДЕРНИХ РЕЦЕПТОРІВ (PPAR-GAMMA) У РЕАЛІЗАЦІЇ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОГО СТАНУ В ЩУРІВ

КОСЯКОВА Г.В.¹, БЕРДИШЕВ А.Г.¹, ТКАЧЕНКО О.С.¹, ДОСЕНКО В.Є.², ГУЛА Н.М.¹

¹ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О. О. БОГОМОЛЬЦЯ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: kosiakova@hotmail.com

Резистентність до інсуліну є однією з основних патогенетичних ланок розвитку цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому. Сьогодні доведена роль хронічного запального процесу, спричиненого зростанням пулу вільних жирних кислот, у формуванні інсулінорезистентного стану в організмі. Раніше на моделі експериментальної інсулінорезистентності у щурів, індукованої аліментарним ожирінням, нами була показана протизапальна дія N-стеароїлетаноламіну (NSE) – представника класу мінорних ліпідів N-ацилетаноламінів з канабіміметичними властивостями. Із застосуванням методу конфокальної мікроскопії було встановлено, що протизапальний ефект NSE пов'язаний із блокуванням транслокації транскрипційного фактора каппа В у ядро перитонеальних макрофагів щурів. Ми припустили, що у механізмах реалізації протизапальної дії NSE можуть бути залучені ядерні рецептори (PPAR), для яких показана участь у регулюванні експресії прозапальних медіаторів через інгібувальний вплив на транслокацію фактора каппа В у ядро. Відтворення експериментів із застосуванням специфічних агоністів та антагоністів PPAR-гамма показало, що протизапальна дія NSE може бути опосередкована його взаємодією із цим підтипом рецепторів. Метою даної роботи було дослідити вплив NSE на експресію PPAR-гамма – таргетних генів, а саме *fatp* та *il1ra* в печінці щурів з експериментальним інсулінорезистентним станом (IP).

Інсулінорезистентний стан у щурів викликали тривалою високожировою дієтою з вмістом жиру 58 %. Розвиток інсулінорезистентності контролювали за зростанням вмісту глюкози в крові щурів, рівнем інсуліну та збільшенням маси тіла тварин. Наявність інсулінорезистентності встановлювали за результатами глюкозотолерантного тесту та значенням індексу HOMA. Тварин із IP розділяли на 2 групи: перша слугувала контролем на IP, щури другої групи перорально отримували водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг, щоденно, протягом 10 днів. Відповідно контрольних щурів також було розділено на 2 групи, одній з них вводили NSE за описаною вище схемою, інша слугувала інтактним контролем. У дослідженнях використовували печінку тварин, у якій визначали відносний рівень експресії mRNA досліджуваних генів. Результати досліджень показали, що застосування NSE тваринам з IP спричиняло зростання рівня експресії гена *fatp1* в печінці як відносно групи "Контроль" (у 2,19 раза), так і відносно групи "IP" (у 1,77 раза). В той же час, застосування NSE контрольним тваринам не викликало вірогідних змін експресії досліджуваного гену. Введення IP тваринам NSE сприяло вірогідному (у 2,41 раза) зростанню експресії гена *il1ra* в печінці. Тоді як застосування NSE контрольним тваринам призводило до вірогідного зниження експресії *il1ra*. Отримані результати свідчать про активацію за дії NSE експресії як *fatp1*, так й *il1ra*, в печінці щурів з IP, що може вказувати на залучення PPAR-гамма в реалізації протизапальної дії NSE.

ВПЛИВ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ФЕЙХОА НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ НА ТЛІ ГІПОТИРЕОЗУ У ЩУРІВ

КРАВЧЕНКО В.М., КОНОНЕНКО А.Г.

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ, УКРАЇНА;

e-mail: kvn5135@gmail.com

Літературні дані свідчать про те, що порушення функціональної активності ЩЗ призводить до зміни метаболічних процесів і, як наслідок, дисбалансу в системі гомеостазу. Корекція біохімічних показників при дисфункції ЩЗ може бути пов'язана як з надходженням тиреоїдних гормонів, так і біологічно активних речовин у кровоток із засобів, що

використовуються для лікування порушень метаболічних процесів. Найбільш перспективним джерелом біологічно активних речовин є лікарські рослини. Тому, метою нашого дослідження стало вивчення впливу водного екстракту листя фейхоа (ВЕЛФ) на біохімічні параметри у сироватці крові щурів в умовах експериментального гіпотиреозу.

Експериментальний гіпотиреоз відтворювали у щурів масою 120-150 г щоденним введенням водного розчину мерказолілу (500 мг в 1 л) замість питної води протягом 30 днів. Експериментальні тварини були поділені на 4 групи по 10 щурів у кожній: 1 – інтактний контроль (ІК), 2 – контрольна патологія (КП) – щури, що отримували тиреостатик мерказоліл, 3 – щури, що на тлі мерказолілу отримували йодомарин. Після закінчення терміну експерименту у сироватці крові оцінювали вміст трийодтироніну (T_3) і тироксину (T_4) методом імуноензимного аналізу з використанням тест-систем (ТОВ “Хема”, Росія). Серед біохімічних показників у сироватці крові визначали вміст аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), креатинкінази (КК), лактатдегідрогенази (ЛДГ), загального протеїну, альбуміну, сечовини, креатиніну, холестерину, тригліцеридів (ТГ) з використанням тест наборів Biosystems (Іспанія). Вміст глюкози визначали за допомогою глюкометра One Touch Ultra. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою стандартного пакета статистичних програм “Statistica 6,0”. Відмінності між групами вважали вірогідними при прийнятому рівні статистичної значущості $P < 0,05$.

Результати нашого дослідження показали, що вживання мерказолілу призводило до зменшення рівня тиреоїдних гормонів. У групі тварин із гіпотиреозом не відбувалося значних змін рівня загального протеїну, альбуміну, ЛДГ та АсАТ, зростав рівень креатиніну, сечовини, АЛТ, КК, ТГ та холестерину, зменшувався вміст глюкози. Застосування ВЕЛФ сприяло відновленню функціонального стану ЩЗ у щурів із експериментальним гіпотиреозом до рівня цих показників у тварин групи інтактного контролю. Також, було встановлено, що введення ВЕЛФ призводило до відновлення усіх змінених біохімічних показників. Досліджуваний екстракт за впливом на усі показники не поступався препаратом порівняння йодомарину, і навіть був більш ефективним.

Таким чином, було встановлено, що застосування ВЕЛФ на тлі експериментального гіпотиреозу сприяло відновленню біохімічних показників у сироватці крові, а також рівня гормонів ЩЗ. У дослідній групі, що отримувала досліджуваний екстракт на тлі гіпотиреозу, підвищувався рівень тироксину та трийодтироніну. Відбувалися позитивні зміни в біохімічних показниках, що можна розцінювати як ознаку відновлення обмінних процесів. ВЕЛФ є перспективним для подальшого вивчення в якості коректора гіпотиреоїдних станів та метаболічних змін.

ВПЛИВ КОМПЛЕКСІВ ОЛІГОРИБОНУКЛЕОТИДІВ З D-МАНІТОЛОМ НА ПУХЛИНОУТВОРЕННЯ У МИШАЧІЙ МОДЕЛІ МЕЛАНОМИ В16

КРАЄВСЬКА І.М., ВАГІНА І.М., ГЕРАЩЕНКО Г.В., ЯКОВЕНКО Т.Г., КАШУБА В.І., ТКАЧУК З.Ю.
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: ivannakraievska@gmail.com

Злоякісна меланома вважається однією з найбільш агресивних форм раку шкіри – з цим захворюванням пов'язують близько 80 % смертних випадків від пухлин шкіри. Оскільки меланома є імуногенною пухлиною, ефективне лікування базується на стратегіях посилення імунної відповіді організму. За останніми дослідженнями відомо, що олігорибонуклеотиди тотальної дріжджової РНК у комплексі з D-манітолом (ОРН-D-M) проявляють зокрема протівірусну, протизапальну та імуномодулюючу дії за рахунок активації імунних реакцій. Враховуючи широкий спектр біологічного впливу, метою нашої роботи було дослідження дії ОРН-D-M на розвиток меланоми В16 у мишей шляхом контролю росту пухлини та генетичного аналізу маркерних генів.

Дослідження проводили на мишах лінії С57BL/6J віком 2,5–3 місяці. Модель росту первинної пухлини меланоми була індукована інюкуляцією клітин мишачої меланоми В16 підшкірно в область правого стегна кожної миші. Для дослідних груп

ін'єкційним шляхом одноразово вводили розчин ОРН-D-M (у PBS) в концентраціях 1,4; 0,7; 0,35; 0,175 мг/тварину. Контрольна група отримувала 100 мкл PBS. Протягом експерименту здійснювали контроль за розмірами пухлини. Для аналізу розмірів пухлини використовували непараметричний U-тест Манна-Уїтні. Експресію маркерів Т-клітин (CD3, CD4, CD8, CD247), макрофагальних маркерів (CD68, CD163, NOS2), імунотерапевтичних цільових генів (PDCD1, CD274, CTLA4, CTLA4/del) та цитокіну (IFN γ) оцінювали за допомогою кількісної ПЛР у периферичній крові мишей, інюкульованих клітинами меланоми миші В16, дослідних із введенням препарату та контрольних здорових. Для визначення відмінностей між групами були використані тести Краскела–Уолліса і Фішера з корекцією на множинні порівняння методом Бенд-жаміна–Хохберга з ФДР=0,2.

Показано, що різні концентрації ОРН-D-M можуть проявляти прямопротилежну дію на ріст пухлини меланоми В16. У групі, де тварини отримували

мували 1,4 мг ОРН-D-M, утворення солідної пухлини не спостерігалось; при цьому у групі з дозуванням 0,7 мг середній об'єм пухлин був на 97 % менший, в порівнянні з групою без введення препарату. У випадку застосування нижчих концентрацій даний показник був у 2–3 рази вищий за такий у групі без препарату. Зареєстровано зміни і у експресії основних маркерних генів. Рівень мРНК CD4 та CD8, маркерів кількості Т-клітин, у групах з високими концентраціями ОРН-D-M наближався до показників здорових тварин; при цьому у пухлиноносіїв зафіксовано зниження цього показника. Також відмічено значне зниження рівня мРНК па-

нмакрофагального маркера CD68, низькі показники якого використовують як індикатор ефективності лікування ракових захворювань. При дії ОРН-D-M відбувається посилення імунної відповіді на рак та загальне зниження рівня імуносупресії, що відображається на підвищенні експресії CD274, PDCD1 та IFNB1.

ОРН-D-M у концентрації 1,4 мг ефективно інгібує пухлиноутворення у мишачій моделі меланоми В16. При цьому спостерігається нормалізація кількості Т-клітин, зниження пухлиноіндукованої надекспресії макрофагального маркера та зменшення імуносупресивного стану організму тварини.

SIGMA-1 RECEPTOR ACTIVITY DEFICIT SUBSTANTIALLY DYSREGULATES GLUTAMATE TRANSPORT IN PRESYNAPTIC CORTEX NERVE TERMINALS

KRISANOVA N.¹, VAVERS E.², ZVEJNIECE L.², DAMBROVA M.², BORISOVA T.¹

¹PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²LATVIAN INSTITUTE OF ORGANIC SYNTHESIS, RIGA, LATVIA;

e-mail: kryanova@biochem.kiev.ua

Sigma-1receptors are widely expressed in the brain, being concentrated in the areas related to memory, emotion, sensory and motor functions. Sigma-1receptors mediate trafficking of NMDARs to the cell surface and play an important role in NMDAR-mediated functions, e.g. learning and memory, and can be associated with pathological conditions in which NMDARs are involved, such as schizophrenia, dementia, and stroke. Sigma-1 receptor antagonist NE-100 induces seizures *in vivo* in mice. Glutamate is a key excitatory neurotransmitter in the central nervous system. Effects of selectiveSigma-1 receptor antagonists NE-100 and BD-1047 on key characteristics of glutamatergic neurotransmission were analyzed in presynaptic nerve terminals (synaptosomes) isolated from rat cortex. The antagonist NE-100 at a concentration of 100 μ M decreased synaptosomal uptake of L-[¹⁴C]glutamate by 30 %, and increased the ambient

level of the neurotransmitter by 5 % in the synaptosomal preparations. In contrast, BD-1047 at a concentration of 100 μ M had an insignificant effect on uptake and the ambient level of L-[¹⁴C]glutamate in synaptosomal preparations. Stimulated by depolarization exocytotic release of L-[¹⁴C]glutamate was almost abolished in the presence of 100 μ M NE-100 and decreased by appx 60 % in the presence of BD-1047 at the same concentration. Therefore, Sigma-1 receptor activity deficit at the presynaptic site dysregulates glutamate homeostasis affecting its uptake, the ambient level and exocytotic release.

Acknowledgement. We thank the State Education Development Agency of Latvia (Joint Ukraine-Latvia R&D Project Nr. LV-UA/2018/1) and the Ministry of Education and Science of Ukraine (Bilateral Latvian-Ukrainian research grant 2019–2020) for financial support.

NEW INSIGHTS IN NICOTINAMIDE AND NICOTINOYL-GABA ACTION ON DIABETES ASSOCIATED NERVOUS SYSTEM DISORDERS

KUCHMEROVSKA T., TYKHONENKO T., TYKHOMYROV A., GUZYK M.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Nervous system tissues are highly susceptible to development of multiple imbalances as a consequence of diabetes (D) and its the late complications diabetic neuropathies (DN) are associated with impairments

in CNS and peripheral nervous system. Nevertheless, little is known concerning the molecular mechanisms, underlying DN. We examined the effects of nicotinamide (NAM) and nicotinoyl-GABA (N-GABA) on the key

brain functional protein-targets under DN. Studies were carried out after 8 weeks of D (STZ, 60 mg/kg, i. p.) in male *Wistar* rats treated two weeks with or without NAm (100 mg/kg, i. p.) or N-GABA (55 mg/kg, i. p.). The levels of studied proteins in a brain tissue were evaluated by immunoblotting. It was shown that expression of transcriptional factor NF- κ B was increased by 3,5 time in brain of diabetic rats compared to control, $P < 0.05$. Chronic NAm treatment of diabetic rats slightly decreased of NF- κ B expression in 1.31 time, while N-GABA – in 1.73 time. These changes were accompanied by 2.02 times increase in level of expression the pro-apoptotic protein BAX in brain of diabetic rats compared to the control group of animals. Administration of NAm or N-GABA led to decrease in the expression of BAX protein in 1.19 and 1, 96 times, respectively, as compared to diabetic group. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression was reduced by 52 % compared to control. The chronic treatment by NAm or N-GABA accompanied by increase VEGF expression in 3.13 or 4.53 times respectively as compared to diabetic rats. Diabetes led to decrease of level nNOS protein expression by 1.38 times, whereas NAm or N-GABA administration elevated nNOS protein expression by 1.85 and 1.32 times respectively, $P < 0.05$. DN can lead to changes of cytoskeletal protein profile both in astrocytes and neurons. Indeed, it was shown that the level of GFAP protein expression in diabetic rat brain, but not vimentin, was increased in 1.7 time, suggesting of impairments of structural integrity in this organ. NAm administration didn't affect on this parameter, but

N-GABA increase it in 1,7 times, as result of reactive astrocytosis development. Moreover, treatment by N-GABA led to modulation gliosis by increasing vimentin protein expression level. Confirmation of this is decreased expression of neurofilaments light chain (NF-L) in 1,8 time and heavy chain (NF-H) in 1,66 time in brain of diabetic rats, while expression of neurofilaments of medium chain (NF-M) was increased in 2,66 time compared to control animals. NAm treatment caused increase expression of NF-H in 1.91, NF-M in 1.89 and NF-L in 1.63 time compared to diabetic group. Under the same conditions, the effect of N-GABA was more profound, since the expression of NF-H was increased in 6.14 times in rat brain, but its effect on the expression of NF-L and NF-M proteins was insignificant compared with the diabetic group. We also performed the histological studies of longitudinal sections of the sciatic nerves of diabetic rats. Morphological alterations in sciatic nerves of diabetic animals were as follow: lost the characteristic contour of nerve fibers, partial nerve demyelination, slight Ranvier nodes differentiation, thickness reduction of the nerve fibers in different nerve segments. Administration of NAm or N-GABA accompanied with their partial recovering influence on sciatic nerves structural changes. Thus, NAm or N-GABA treatment could be used as a strategy for improving nervous cells function under diabetes through attenuating pro-apoptotic pathways, improving angiogenic factors expression, modulating cytoskeletal and morphological rearrangements of injured neural cells.

THE ROLE OF MELATONIN IN CORY CYCLE OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

KUSHNIR O.Yu., YAREMII I.M.

HSEE OF UKRAINE "BUKOVINIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY", CHERNIVTSI;
e-mail: kushnir@bsmu.edu.ua

The aim was to determine the influence of melatonin on basal levels of glucose (BG) in blood, activities of glucose-6-phosphatase (G-6-Ph, EC 3.1.3.9) in liver, pyruvate kinase (PK, EC 2.7.1.40) in muscles of streptozotocin (STZ) diabetic rats.

Wistar rats weighing 180 ± 50 g were made diabetic by injection with a single intraperitoneally (i.p.) dose of STZ (65 mg/kg b.w.). After 5 and 12 days was carried out to determine the level of glucose *in vivo*. Four days after diabetes induction, rats were divided into diabetic (untreated) and melatonin-diabetic group (10 mg/kg Sigma USA, daily and orally for 7 days starting from the 5th day). Rats with diabetes mellitus (DM1T) characterize by $BG \geq 8.0$ mmol/l. Animals were sacrificed at the 12th day from the beginning of the

experiment accordance with the ethical treatment of animals. The rectus femoris muscle tissue and liver were quickly removed, rinsed in saline, blotted, weighed and homogenized. Determinations of the enzymes activities were by standard methods. Statistical analysis was performed using Statistica 10 Stat-Soft Inc.

Melatonin injections caused a sharp decrease by 50 % (on 12th day) means normalization in the elevated serum glucose level in DM1T group of rats compared with BG level before treatment. Accordance to results obtained in liver of diabetic rats, the activity of G-6-Ph-ase was increased on average by 135 % compared with the control value. Reduced activity of G-6-Ph-ase in alloxan diabetic rats under melatonin

action is probably due to the fact that melatonin is in the physiological counteraction with cortisone and catecholamines.

We have established reduction of pyruvate kinase activity in skeleton muscles of diabetic animals on average by 38 % compared with the control. According to our research, 1 week daily administration of melatonin to diabetic rats at 10 mg/kg of b.w. resulted in normalization of pyruvate kinase activity. The

improvement of Cory cycle by melatonin probably mediated by improved glucose utilization due to increased capture of tissues.

These findings suggest that melatonin reverses the catabolic consequences of total lack of insulin, potentially by decreasing of basal glucose level in the blood, activating of pyruvate kinase activity in skeleton muscles and suppressing of glucose-6-phosphatase activity in liver of streptozotocin diabetic rats.

INHIBITORY EFFECTS OF NOVEL PYRAZOLE-DERIVED BISPSPHONATES IN VITRO ON RAW264.7 CELL LINE

LABUDZYNSKYI D.O.¹, IVONIN S.P.², PASICHNA E.P.¹, VOLOCHNYUK D.M.², VELIKY M.M.¹

¹PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: ellapasich@gmail.com

Osteoporosis, as a metabolic bone disease, is accompanied by a disbalance in the remodeling process, with the predominance of osteoclast-dependent bone resorption over its osteoblast-mediated formation and mineralization, leading to the loss of mineral density, microarchitecture disturbances and, eventually, increased risk of fractures. First priority substances using for osteoporosis treatment are bisphosphonates synthetic stable analogs of inorganic pyrophosphate. Nitrogen-containing bisphosphonates, due to their structural similarity to the substrate, inhibit the activity of farnesyl pyrophosphate synthase (FPPS), which significantly reduces the formation of farnesyl-pyrophosphate and geranyl-geranyl-pyrophosphate – compounds, that are necessary for the prenylation of small signaling G proteins (Rho, Ras, Rac, cdc 42) and effectively inhibits the growth of target bone cells.

In view of the lack of pyrazole-containing analogs among known nitrogen-containing bisphosphonates, the aim of the work was to investigate the ability of synthesized pyrazole-containing bisphosphonates to suppress the functional activity and viability of monocyte / macrophage cells of the RAW264.7 lines, which are precursors of osteoclasts.

Cells of the macrophage line RAW 264.7 were cultured with pyrazole-containing bisphosphonates in DMEM medium (4.5 g/L glucose). The inhibitory effect of the four synthesized pyrazole-containing bisphosphonates (I-12, I-40, ISP-30 and ISP-11N40) was compared with the action of the zoledronic acid at concentrations of 0.1–1.0 mM. Apoptotic cell death was evaluated by the accumulation of Sytox Green postvital dye added to the environment. The proliferative

and apoptotic activity was investigated and visualized with the help of the multifunctional IncuCyte ZOO-Minstrument. Metabolic activity of cells was studied by MTT-test.

Using the cell line of murine macrophages RAW264.7, the ability of promising bisphosphonates to inhibit the differentiation of precursor cells into osteoclasts induced by the RANKL cytokine receptor activator of NF- κ B ligand) was demonstrated. Screening has shown that among all of the bisphosphonates studied, the highest pro-apoptotic activity was detected by the pyrazole-containing bisphosphonate ISP-11N40 at the concentration of $1 \cdot 10^{-3}$ M, compared to zoledronic acid (the number of cells with apoptosis increases by 2 and 2.5 times respectively), as well as bisphosphonate ISP-41, which had a less pronounced apoptotic effect. It is important that the most pronounced inhibitory effect on the rate of growth of the RAW264.7 cell colony is demonstrated by the pyrazole-containing bisphosphonate ISP-11N40, that is the same with a zoledronic acid at a concentration of $1 \cdot 10^{-3}$ M (both substances reduced the colony growth by 1.8 times), in that time as ISP-41 did not cause any significant changes. Finally, the effect of the pyrazole-containing bisphosphonate ISP-11N40, compared with zoledronic acid, results in highly effective inhibition of RAW264.7 line cell metabolic activity at a concentration of $1 \cdot 10^{-3}$ M, detected by the MTT test.

It was found that among the investigated novel pyrazole-containing bisphosphonates, the most effective inhibitory effect on the proliferation and metabolic activity of macrophage cells of the RAW 264.7 line had the ISP-11N40.

ЛІПОПОЛІСАХАРИД ПОРУШУЄ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ ПРИ ДИСБІОЗИ

ЛЕВИЦЬКИЙ А.П.¹, ХРОМАГІНА Л.М.¹, МАКАРЕНКО О.А.²

¹ДУ "ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ ТА ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ХІРУРГІЇ НАМН УКРАЇНИ", ОДЕСА;

²ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;

e-mail: flavan.ua@gmail.com

Однією з надзвичайно важливих печінкових функцій є здатність знешкоджувати токсичні речовини, як ендо- так і екзотоксини. Ця функція печінки, відіграє важливу роль у перетворенні ліків, руйнуванні гормонів та інших біологічно активних речовин. У наших попередніх роботах показано негативний вплив різних антибіотиків на функціональні показники печінки, а також зроблено припущення, що в розвитку дисбіозу після прийому антибіотиків певну роль грає зниження активності антимікробного ензиму лізоциму в печінці і товстій кишці. В даний час не з'ясовано питання, які фактори крім самих антибіотиків можуть порушувати функцію печінки при дисбіозі. У зв'язку з цим метою нашої роботи стало порівняльне дослідження впливу антибіотика лінкоміцину і ендотоксину ліпополісахариду з *Salmonella typhi* на функціональні показники печінки щурів.

Дослідження проведено на 24 самцях щурів лінії Вістар віком 4 місяці і масою 153±12 г, яких поділили на 3 групи: інтактна; щури, яким вводили лінкоміцин 50 мг/кг з питною водою протягом 5 днів; щури, яким вводили ліпополісахарид з *Salmonella typhi* 10 мкг/кг, внутрішньом'язово один раз в день протягом 5 днів. Евтаназію щурів здійснювали під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) на 8 день після закінчення введення лікарських речовин, збирали кров для отримання сироватки, відокремлювали ділянку печінки і товстої кишки. Товсту кишку промивали дистильованою водою і виділяли слизову оболонку. У слизовій оболонці товстої кишки визначали активність уреазу, лізоциму та ступень дисбіозу, у печінці – активність еластази і лужної фосфатази, у сироватці крові – активність аланінамінотрансферази, лужної фосфатази і вмісту білірубину. Статистичну обробку результатів про-

дили за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента і програми "Statistica".

Проведені дослідження показали різке (в 8 разів) підвищення ступеня дисбіозу в слизовій оболонці товстої кишки щурів після введення лінкоміцину або ліпополісахариду. Поряд із розвитком кишкового дисбіозу лінкоміцину або ліпополісахарид викликає пошкодження гепатоцитів, про що свідчить суттєве підвищення рівня біохімічних "печінкових" маркерів (аланінамінотрансферази, лужної фосфатази і білірубину) в сироватці крові експериментальних тварин. Підтвердженням цього є збільшення маркерів запалення в тканини печінки – активності еластази та лужної фосфатази. У нашому попередньому експерименті після антибіотикотерапії підвищення активності уреазу і ступеня дисбіозу в товстій кишці сталося внаслідок зниження синтезу лізоциму печінкою. Ймовірно, лінкоміцин і ліпополісахарид ушкоджують гепатоцити і вони не можуть повноцінно синтезувати лізоцим. Внаслідок цього в слизовій оболонці товстої кишки розвивається і росте переважно умовно-патогенна мікробіота. Доказом цього є підвищення активності уреазу в слизовій оболонці товстої кишки, як після введення лінкоміцину, так і після введення ліпополісахариду. Умовно-патогенна мікробіота, а саме грамнегативні бактерії, продукує надлишкові кількості ендотоксину ліпополісахариду, який по ворітній вені надходить в печінку. Гепатоцити печінки, що частково зруйновані антибіотиком, не здатні знешкодити велику кількість ендотоксину і під його впливом ініціюється додаткове руйнування гепатоцитів. Встановлені факти дають вагомі підстави застосування гепатопротекторів для лікування хворих із кишковим дисбіозом, а в якості етіотропних чинників гепатобілярної патології – рекомендувати прийом антидисбіотичних препаратів.

МАНІФЕСТАЦІЯ ЛАТЕНТНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО АЦИДОЗУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ПАТОЛОГІЇ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ У ХВОРИХ ІЗ ВИСОКИМ РИЗИКОМ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ЛЕМКО І.С., ГОЛУБКА О.П., ГАЙСАК М.О., МАЛИНОВСЬКА В.Г., ГІТТЕР Л.М.

ДУ "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "РЕАБІЛІТАЦІЯ" МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ", УЖГОРОД;

e-mail: rehab_uzh@ukr.net

Латентний метаболічний ацидоз (МА) відіграє важливу роль у перебігу цукрового діабету (ЦД),

особливо на фоні поліморбідної патології. Латентні форми МА при хронічній патології органів трав-

лення мають тривалий безсимптомний перебіг і виявляються лише лабораторними дослідженнями, в першу чергу, на рівні змін головних механізмів компенсації МА. Ці механізми реалізуються, головним чином, нирками, за участю буферних систем кісткової тканини, печінки і шлунка через активацію амоніогенезу, ацидогенезу, секреції фосфатів та екскреції кальцію. Завдяки цим механізмам МА може бути компенсований протягом тривалого часу. Водночас прогресування безсимптомних форм МА може бути одним із ранніх проявів формування переддіабетичних станів та вторинного ЦД, що зумовлює доцільність раннього проведення превентивних заходів, перш за все сервісної олузнюючої терапії, при гастроентерологічній патології хронічного перебігу.

Метою роботи була оцінка ниркових порушень механізмів компенсації МА у хворих з поєднаною патологією органів травлення на тлі підвищеного ризику ЦД.

Обстежено 30 пацієнтів (віком від 32 до 68 років, середній вік $52,1 \pm 2,6$ років, 17 жінок, 13 чоловіків) з коморбідною гастроентерологічною патологією та різним рівнем ризику ЦД, який визначався за опитувальником FINDRISC. Досліджені рівні сечової екскреції амонію, магнію, кальцію, фосфору і хлоридів, рН та титраційної кислотності сечі (ТКС). Статистична обробка одержаних результатів проводилась за допомогою стандартних методів варіаційної статистики із застосуванням пакета програм "Excel", вірогідність відмінностей показників визначали за критерієм Стьюдента, кореляційний аналіз – із оцінкою достовірності коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена, парної

кореляції Пірсона, коефіцієнта асоціації Пірсона для виявлення взаємозв'язку між якісними показниками, згрупованими в чотирипольну таблицю.

За результатами опитування у 7 пацієнтів виявлено відсутність ризику або низький ризик ЦД, середній – у 13, високий та дуже високий – у 10 пацієнтів. Більш високі показники екскреції титрованих кислот за величиною ТКС ($0,62 \pm 0,09$ мл Na_2CO_3) та екскреції амонію ($51,01 \pm 6,12$ ммоль/л) спостерігалися у хворих із більш високим ризиком ЦД, дещо менші – у групі з низьким ризиком захворювання ($0,39 \pm 0,12$ мл Na_2CO_3 та $42,47 \pm 7,89$ ммоль/л відповідно). Кореляційний аналіз виявив сильну ступінь кореляції ($r = -0,85$) між рівнем рН та екскрецією амонію, кореляцію середнього ступеня ($r = +0,55$) – між рівнем екскреції амонію та ТКС, при цьому зв'язок між рівнем рН і екскрецією титрованих кислот був практично відсутній. У всіх пацієнтів в межах нормальних коливань виявлено певне зниження рівня екскреції хлоридів та кальцію, а також підвищення екскреції магнію. При цьому підвищення ризику ЦД супроводжувалось збільшенням швидкості діурезу до $1,13 \pm 0,24$ мл/хв та зниженням майже у 2 рази екскреції фосфору ($46,0 \pm 5,02$ – при відсутності ризику та $28,9 \pm 6,67$ ммоль/л – при дуже високому ризику ЦД, $P < 0,05$).

Проведені дослідження свідчать про наявність субклінічних форм МА, лабораторні прояви порушень механізмів їх компенсації та певний дисбаланс екскреції електролітів у хворих із патологією органів травлення на фоні підвищеного ризику ЦД. Виявлені зміни не супроводжуються клінічною маніфестацією, водночас вже на цьому етапі визначають доцільність проведення ранньої корекції цих порушень.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ, ЩО МІСТИТЬ ПАНКРЕАТИН НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ

ЛЕОНТЬЄВА Т.Л., КОТЛЯР В.О., СОМОВА Я.В., НІКІТИНА Н.С.

ДП "ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТА МЕДИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ",
ХАРКІВ, УКРАЇНА;
e-mail: leo_tania@ukr.net

Порушення процесів травлення є доволі поширеними синдромами багатьох гастроентерологічних захворювань. Їх розвиток може бути зумовлений недостатньою продукцією травних ензимів або зниженням їх активності. При цьому основним напрямом у лікуванні хворих є замісна терапія ензимами. Золотим стандартом ензимотерапії вважається препарат Креон[®], що містить панкреатин (Німеччина, Abbott Laboratories GmbH).

Мета роботи – дослідження впливу препарату, що містить панкреатин, на функціонування травної системи свиней і щурів і виявлення потенційних

неочікуваних ефектів на фізіологічні функції та активність ензимів травної системи у діапазоні терапевтичних доз та вище.

Вплив ензимного препарату було вивчено при багаторазовому застосуванні на свинях у дозах приблизно 10 мг/кг і 30 мг/кг за лікарською формою протягом 1 місяця та на щурах у дозах 30, 90 і 300 мг/кг за лікарською формою протягом 6 місяців. Такий діапазон доз було обрано на підставі результатів вивчення специфічної фармакологічної дії препарату: у цьому діапазоні доз на моделі харчового навантаження свиней було виявлено очікува-

ну ліполітичну активність, спостерігалась тенденція до протеолітичної та амілолітичної активності; на моделі хронічного панкреатиту у щурів спостерігався дозозалежний ліполітичний, амілолітичний та протеолітичний ензимкомпенсуючий ефект.

Виявлення та оцінку можливих побічних ефектів ензимного препарату проводили за клінічними, фізіологічними, гематологічними, біохімічними показниками. Після тривалого застосування ензимного препарату можна припустити виникнення такого ефекту як пригнічення власної активності травних ензимів, тому було визначено активність травних ензимів α -амілази, протеази та ліпази у дуоденальному вмісті свиней після застосування препарату протягом 1 місяця та щурів після застосування препарату протягом 6 місяців.

Було встановлено, що ензимний препарат при пероральному введенні свиням та внутрішньошлунковому введенні щурам не викликає загибелі тварин та не впливає на їх загальний стан. Маса тіла свиней усіх груп не змінювалась протягом експерименту. У щурів спостерігалось вірогідне збільшення маси тіла порівняно з вихідними даними. Також у деякі терміни спостереження відзначалось вірогідне збільшення маси тіла порівняно з контрольною групою, що можливо пояснюється оптимізацією процесів травлення за рахунок екзо-

генних травних ферментів. Застосування ферментного препарату не чинило впливу на основні фізіологічні функції усіх дослідних тварин та біохімічні показники, що характеризують функціональний стан печінки та нирок тварин усіх експериментальних груп.

Після застосування ензимного препарату протягом 1 місяця активність α -амілази та протеази дуоденального вмісту свиней дозозалежно підвищувалась, активність ліпази не змінювалась. Активність α -амілази, протеази та ліпази дуоденального вмісту щурів після застосування ензимного препарату протягом 6 місяців залишалась на рівні контрольних показників. Таким чином, тривале застосування ензимного препарату не викликало пригнічення власної активності травних ферментів (α -амілази, протеази, ліпази) дуоденального вмісту свиней та щурів.

За результатами дослідження можна зробити висновок про відсутність побічних ефектів на фізіологічні функції та активність ферментів травної системи при застосуванні ензимного препарату протягом 1 місяця у свиней та 6 місяців у щурів у діапазоні терапевтичних доз (в якому спостерігався дозозалежний фармакологічний ефект), а також у субтоксичній дозі.

ОКИСЛЮВАЛЬНИЙ ТА НІТРООКИСЛЮВАЛЬНИЙ СТРЕС В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТЮТЮНОВИМ ДИМОМ

ЛИХАЦЬКИЙ П.Г., ФІРА Л.С.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;

e-mail: luhatsky@ukr.net

На сьогодні все більша увага науковців-дослідників приділяється поєднаним патологіям, що можуть бути зумовлені дією декількох токсичних чинників. Вважають, що вплив тютюнового диму здійснюється за рахунок синергічної дії його компонентів, що призводить до утворення значної кількості активних форм кисню (АФО) – пероксиду гідрогену, епоксидів, нітроген оксиду, двоокису нітрогену, пероксинітриту. Значною екологічною та медико-біологічною проблемою є проблема токсичного впливу на організм людини та тварин неорганічних нітросполук. Внаслідок сумарної дії факторів ризику навколишнього середовища в організмі виникає окислювальний та нітроокислювальний стрес.

Метою роботи було дослідити вміст активних форм кисню та активність NO-системи в організмі щурів різного віку за умов нітритно-тютюнової інтоксикації.

В експериментах використані статевонезрілі, статевозрілі та щури старечого віку, які піддавались дії натрію нітриту на тлі попереднього ураження впродовж 45-ти днів тютюновим димом. Модель залежності від хронічної дії тютюнового диму створювали за допомогою герметичної камери, через отвори до якої подавався тютюновий дим, що утворювався від горіння 6 сигарет "Прима срібна". Через 15, 30 та 45 днів від початку ураження тварин, їх виводили із експерименту шляхом евтаназії під тіопенталовим наркозом. Натрію нітрит тварини отримували одноразово інтрагастрально дозою 45 мг/кг маси тіла за 24 та 72 год до закінчення експерименту. Рівень продукції АФО нейтрофільними гранулоцитами аналізували на проточному цитофлюориметрі за інтенсивністю світіння дихлорфлюоресцеїну діацетату. Визначення активності iNOS та eNOS у сироватці крові проводили методом імуноензимного аналізу. Вміст нітрит-іону визнача-

ли в реакції з реактивом Гріса. Різниця між групами проаналізована відповідно до *t*-критерію Стьюдента та непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Під час кореляційного аналізу застосовували метод параметричної кореляції з визначенням коефіцієнта кореляції Пірсона (*r*).

Вміст АФО у нейтрофілах крові статевонезрілих щурів після ураження зростав у залежності від тривалості експерименту та терміну застосування обох токсикантів (з 2,5 раза на початку дослідження до 3,3 раза до кінця експерименту). Підвищення вмісту АФО у крові статевозрілих та старечого віку щурів було менш вираженим. У сироватці крові статевонезрілих щурів після ураження токсикантами в останній термін дослідження вміст нітрит-йону підвищився у 2,3 раза, у статевозрілих та старечих – в 2 рази. Найбільш чутливими до токсикантів були статевонезрілі щури, у яких активність eNOS до кінця експерименту знизилась у сироватці крові на 56 % від норми. При проведенні кореляційного аналізу між активністю eNOS та вмістом АФО у крові щурів встановлено, що між даними

показниками існує зворотній негативний зв'язок, на що вказує коефіцієнт кореляції середньої сили (від $r=-0,37$ до $r=-0,49$ в залежності від віку). Відмічено, що після ураження щурів нітритом натрію на тлі тютюнової інтоксикації у сироватці крові прогресуюче зростала активність iNOS у всіх вікових групах. Найактивнішою була iNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів, яка до кінця експерименту підвищилась у 3,3 раза. В умовах нітритно-тютюнового токсикозу встановлена позитивна прямопорційна кореляція середньої сили між активністю iNOS та АФО в усіх вікових групах щурів. Найбільш виражені зміни виявлені в статевонезрілих щурів, у яких коефіцієнт кореляції був найвищим ($r=0,64$). У двох інших вікових групах кореляційний зв'язок був слабшим, хоча спостерігалась однонапрямлена залежність між даними показниками.

Проведені дослідження вказують на розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресу в організмі щурів, уражених нітритом натрію на тлі тютюнової інтоксикації, які найбільш вираженими були у статевонезрілих тварин.

АКТИВАЦІЯ АЛЬФА 7 НІКОТИНОВИХ АЦЕТИЛХОЛІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ ПОКРАЩУЄ ПАМ'ЯТЬ ТА ЗАПОБИГАЄ РОЗВИТКУ ЛПС-ІНДУКОВАНОГО НЕЙРОЗАПАЛЕННЯ В МОЗКУ МИШЕЙ

ЛИХМУС О.Ю., КАЛАШНИК О.М., УСПЕНСЬКА К.Р., СКОК М.В.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: olenalykhmus@gmail.com

$\alpha 7$ -Вмісні нікотинові ацетилхолінові рецептори ($\alpha 7$ nAChR) залучені у регулюванні когнітивних процесів у мозку, виживанні клітин, проліферації та продукції прозапальних цитокінів. Раніше ми показали, що нейрозапалення, індуковане ін'єкцією бактерійного ліпополісахариду (ЛПС) мишам C57Bl/6, викликало зменшення рівня $\alpha 7$ nAChR в мозку та супроводжувалося погіршенням епізодичної пам'яті, зростанням рівня ІЛ-6 в крові та зниженням стійкості мітохондрій головного мозку до дії апоптогенних чинників. Участь $\alpha 7$ -вмісних nAChR у нейрозапаленні та процесах клітинного виживання породила ідею дослідити терапевтичні ефекти специфічного стимулювання цих рецепторів ортостеричним агоністом PNU282987 або позитивним алостеричним модулятором 2-го типу PNU120596, які вводились мишам за різними схемами і на різних стадіях ЛПС-індукованого запалення.

Терапевтичні ефекти PNU282987 і PNU120596 виявляли за їх впливом на стан епізодичної пам'яті (розпізнавання нового і відомого об'єктів), рівень nAChR в мозку та ІЛ-6 в крові мишей (сендвіч-ІФА з використанням специфічних антитіл) та на стійкість мітохондрій до впливу апоптогенних факторів (ви-

значення рівня вивільненого Цит с методом сендвіч-ІФА). Статистичний аналіз достовірності експериментальних даних обчислювали за методом one-way ANOVA (Origin Pro 9.0). Експерименти повторювали 3-5 разів, значення при $P<0,05$ розглядалися як достовірні.

Отримані результати демонструють позитивний ефект від введення PNU282987 ЛПС-ін'єктованим мишам: покращення епізодичної пам'яті, зниження рівня ІЛ-6 в крові, стабілізацію мітохондрій мозку і підвищення експресії мозкових $\alpha 7$ -, $\alpha 3$ - і $\alpha 4$ -вмісних nAChR. Така терапія була ефективною як при одночасному введенні ЛПС і PNU282987, так і при введенні цього $\alpha 7$ -специфічного агоніста через тиждень після ін'єкції ЛПС. Однак у випадку довготривалої (2 місяці) дії ЛПС, позитивного ефекту від $\alpha 7$ -специфічної терапії виявлено не було. Застосування алостеричного модулятора PNU120596 за обома описаними схемами також призвело до певного покращення епізодичної пам'яті, зниження ІЛ-6 в крові мишей, стабілізації мітохондрій та підвищення рівня $\alpha 7$ nAChR в мозку. Проте позитивний ефект був короткотривалим і зникав після закінчення циклу ін'єкцій PNU120596.

Крім того, припинення введення PNU120596 призвело до різкого збільшення рівнів ІЛ-1 β і ІЛ-6 у крові мишей. Одночасне використання PNU120596 та PNU282987 не покращило ефект останнього.

Зроблено висновок, що активація $\alpha 7$ nAHP захищає мозок мишей від патогенного ефекту ЛПС на ранніх стадіях запалення, але не є ефективною,

коли в мозку вже відбулися незворотні зміни. Використання позитивного алостеричного модулятора PNU120596 не покращує ефект агоністу PNU282987, а лише, можливо, потенціює ефект ендogenous агоніста(ів), викликаючи небажані ефекти після припинення терапії.

БІОСИНТЕЗ ПОЛІЄНОВИХ АНТИБІОТИКІВ ТА ЦИТОКІНІНІВ ЗА ВПЛИВУ ЕКЗОГЕННОГО ІЗОПЕНТИНІЛАДЕНОЗИНУ ШТАМОМ *STREPTOMYCES NETROPSIS* IMB AC-5025

ЛОБОДА М.І., БІЛЯВСЬКА Л.О.

ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д. К. ЗАБОЛОТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: marichka20loboda@gmail.com

Відомо, що ґрунтові стрептоміцети є активними продуцентами біологічно активних речовин, в тому числі антибіотиків. Їх первинний метаболізм тісно пов'язаний із вторинним, оскільки з нього надходять речовини-попередники для синтезу широкого кола метаболітів. Крім цього, шляхи синтезу вторинних метаболітів можуть перетинатись між собою в певних ланках, що опосередковано впливає на синтез конкретної сполуки. На сьогодні актуальним і малодослідженим є розуміння питань взаємозв'язків синтезу антибіотиків із іншими біологічно активними речовинами. У відділі загальної і ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології НАН України із ґрунту було виділено стрептоміцет *Streptomyces netropsis* IMB Ac-5025, який проявляє антагоністичну активність проти фітопатогенів, продукує антибіотики полієнової природи та широкий спектр біологічно активних речовин, серед яких і цитокініни. За допомогою факторного аналізу теоретично було з'ясовано, що синтез цих антибіотиків корелює із синтезом фітогормонів, зокрема з ізопентиніладенозином (ІРА), продуктом трансформації цитокінінів. Тому метою дослідження було з'ясувати вплив екзогенного ІРА на біосинтез полієнових антибіотиків і цитокінінів штамом *S. netropsis* IMB Ac-5025.

S. netropsis IMB Ac-5025 вирощували глибинним способом на рідких поживних середовищах: органічному (соєво-дріжджовому) і синтетичному (крохмало-аміачному агарі) без екзогенного ІРА та за його дії. Впродовж культивування вимірювали накопичення біомаси гравіметричним методом, визначали синтез полієнових антибіотиків і цитокінінів методом кількісної спектроденситометричної тонкошарової хроматографії. Статистично результати проаналізовано в програмі Statistica v.10.0.

Виявлено, що *S. netropsis* IMB Ac-5025 продукує найбільшу кількість полієнових антибіотиків і накопичує біомасу у стаціонарну фазу росту (7-ма

доба) за умов глибинного культивування як на синтетичному, так і на органічному середовищах. За впливу екзогенного ІРА знижується накопичення комплексу полієнових антибіотиків у біомасі продуцента, при цьому зменшується синтез тетраєнового антибіотика (до 92 % на синтетичному і до 23 % на органічному середовищах в порівнянні з контролем без додавання ІРА) і практично не змінюється накопичення пентаєнового антибіотика кандидину. Тобто спостерігається негативна кореляційна залежність: зі збільшенням концентрації екзогенного ІРА – накопичення полієнових антибіотиків у біомасі продуцента зменшується. Загальний вміст цитокінінів, а саме зеатину, зеатин-рибозиду, ізопентиладеніну та ендogenous ізопентиніладенозину у біомасі зменшується в порівнянні з контролем без додавання ІРА. Це свідчить про те, що *S. netropsis* IMB Ac-5025 для своїх потреб використовує екзогенний ІРА, а сам його не синтезує.

На етапі синтезу ізопреноїдів в первинному метаболізмі задіяні алкілюючі агенти, які також направляються на синтез полієнових антибіотиків, а ізопентиніладенозин, в свою чергу, використовується також в синтезі інших вторинних метаболітів. Коли *S. netropsis* IMB Ac-5025 використовує екзогенний ІРА то, ймовірно, що шлях синтезу цитокінінів блокується, а відповідно і зменшується кількість алкілюючих агентів, задіяних у синтезі полієнових антибіотиків. Таким чином, в цьому місці відбувається перетинання метаболічних шляхів, і внесення екзогенного ізопентиніладенозину може перенаправляти біосинтез, за якого синтез полієнових антибіотиків зменшується, а інших вторинних метаболітів збільшується. Розуміння взаємозв'язків синтезу біологічно активних речовин допоможе підібрати оптимальні умови культивування продуцента з метою збільшення виходу цільового продукту.

КАРДІОПРОТЕКТИВНІ ЕФЕКТИ ПРЕПАРАТУ МЕТФОРМІН В УМОВАХ МЕТАБОЛІЧНОГО СТРЕСУ ТА ГІПОКСІЇ

ЛОЙ Г.Я., ОЛЕЩУК О.М.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

МОЗ УКРАЇНИ;

e-mail: loy@tdmu.edu.ua

Діабетична кардіоміопатія (ДК) – провідна причина смертності при цукровому діабеті 2 типу (ЦД2). ДКМ характеризується апоптозом, гіпертрофією і фіброзом та кардіальною дисфункцією, що виникають незалежно від судинних чи серцевих захворювань. Метформін є препаратом вибору з точки зору ефективності та безпеки для монотерапії ЦД 2 типу з доведеною антигіперглікемічною ефективністю та високим профілем серцево-судинної безпеки. Мета роботи – вивчити вплив метформіну на гіпертрофію та апоптоз кардіоміобластів *in vitro* в умовах метаболічного стресу і гіпоксії.

Дослідження проводили на кардіоміоцитах ембріонів щурів (H_9C_2 клітинах). За 24 год до експерименту клітини були депривовані шляхом заміни поживного середовища із сироваткою (DMEM medium, Life Technologies+10%FBS) на 0 % DMEM medium (без сироватки). За 30 хв до моделювання стресу клітини були проліковані 5 мМ розчином метформіну. Метаболічний стрес був викликаний 2-деокси-D-глюкозою (2 мМ) із подальшою 24-годинною інкубацією. З метою моделювання гіпоксії клітини H_9C_2 протягом 24 год утримувалися в гіпоксичному боксі (5 % CO_2 , 1 % O_2 , balance N_2) при 37 °С. Площу клітин визначали за допомогою програми Image J. Щоб виявити апоптотичні клітини, було використано DeadEnd Fluorometric TUNEL system відповідно до інструкції виробника (Promega). Підрахунки загальної кількості клітин та апоптотичних клітин було проведено за допомогою імуофлюоресцентного мікроскопа. Дані представлені у вигляді $M \pm SEM$. Однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з попарним порівнянням груп за критерієм Бонфероні проведений для статистичної обробки.

Культикування H_9C_2 клітин у присутності 2 мМ 2-деоксиглюкози протягом 24 год спричинило значне збільшення розмірів клітин: $2494 \pm 47,43 \mu m^2$ у 2 DG (метаболічний стрес) групі проти $1322 \pm 17,13 \mu m^2$ у С (контрольній групі), $P < 0,001$. Лікування метформіном достовірно запобігало клітинній гіпертрофії в умовах метаболічного стресу порівняно з нелікованими клітинами H_9C_2 : $1238 \pm 20,74 \mu m^2$ у 2 DG+M (метаболічний стрес + метформін) групі проти $2494 \pm 47,43 \mu m^2$ у 2 DG групі, $P < 0,001$. В умовах гіпоксичного стресу достовірно збільшення розмірів кардіоміобластів спостерігалось через 24 год: $2880 \pm 46,14 \mu m^2$ у Н (гіпоксія) групі проти $1321 \pm 17,14 \mu m^2$ у N (нормоксія) групі, $P < 0,001$. Проте в присутності метформіну (5 мМ) індукована гіпоксією гіпертрофія H_9C_2 клітин була попереджена: $1459 \pm 13,42 \mu m^2$ у Н+М групі проти $2880 \pm 46,14 \mu m^2$ у Н групі, $P < 0,001$.

Культикування H_9C_2 клітин у присутності 2 мМ 2-деоксиглюкози впродовж 24 годин спричинило значне збільшення кількості апоптотичних клітин: $12,88 \pm 1,969 \%$ у 2 DG групі проти $1,546 \pm 0,3074 \%$ у С групі, $P < 0,001$. Лікування метформіном достовірно запобігало клітинному апоптозу в умовах метаболічного стресу порівняно з нелікованими клітинами H_9C_2 : $1,095 \pm 0,2486 \%$ у 2 DG+M групі проти $12,88 \pm 1,969 \%$ у 2 DG групі, $P < 0,001$. В умовах гіпоксичного стресу достовірно збільшення кількості апоптотичних клітин спостерігалось через 24 год: $8,542 \pm 0,7341 \%$ у Н групі проти $1,546 \pm 0,3074 \%$ у N групі, $P < 0,001$. Проте в присутності метформіну (5 мМ) індукована гіпоксією гіпертрофія H_9C_2 клітин була попереджена: $3,350 \pm 0,5041 \%$ у Н+М групі проти $8,542 \pm 0,7341 \%$ у Н групі, $P < 0,001$.

Метформін достовірно захищає кардіоміоцити від гіпертрофії та апоптозу в умовах метаболічного стресу та гіпоксії.

EXCEPTIONAL DETERMINATION OF D-DIMER IS INSUFFICIENT FOR DIAGNOSTICS OF THROMBOTIC COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH DEEP VEIN THROMBOSIS

LUGOVSKA N.E.¹, KOLESNIKOVA I.M.¹, CHERNUKHA L.M.², KOVALCHUK V.M.²,
KOSTIUCHENKO O.P.¹, PLATONOVA T.M.¹, CHERNYSHENKO V.O.¹, KOMISARENKO S.V.¹
¹PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
²O.O. SHALIMOV NATIONAL INSTITUTE OF SURGERY AND TRANSPLANTOLOGY,
NAMS OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: NLug@ukr.net

In recent years the determination of D-dimer concentration in human blood plasma became a laboratory test used widely for the evaluation of the risk of intravascular coagulation at numerous pathologies. Some other useful tests that testify to the generation of thrombin in the bloodstream and the risk of thrombosis have been neglected and not included in the diagnostic protocols. The aim of present work was the characterization of hemostasis of patients with deep vein thrombosis using the quantification of D-dimer, SF, fibrinogen and protein C to evaluate the diagnostic value of these tests.

22 patients with deep vein thrombosis of different origin were selected for the study. We analyzed blood plasma samples before the surgery, on the 1st and 14th day after surgery. Patients before surgery possessed the level of D-dimer in the range of 39–800 ng/mL. The level of D-dimer after surgery ranged 115–1700 ng/mL, average values were not statistically different from that before surgery. Control values in the case of the developed test were 70±20 ng/mL.

In the same time, 45 % of patients possessed increased fibrinogen level (3.5–6.2 mg/ml against 2.5±0.5 mg/mL in control). Average protein C level was 80±17 (100±15 % in control) and decreased below 70 % in 1/4 of patients. Determination of SF level allowed us to select the group of patients with the highest risk of thrombotic complications: those patients had SF concentration in blood plasma up to 60 ug/mL (control value was up to 3.0 ug/ml). Surgery caused further accumulation of SF in 60 % of patients.

The average level of protein C in blood plasma of patients after surgery decreased and was 75±9 % on the 14th day after surgery that was statistically different from the values before the surgery (80±17 %).

The most prominent evidence of thrombin generation proved to be SF test. Accumulation of SF in concentrations above 3.0 ug/mL detected in the blood plasma of 75 % of patients after surgery was direct evidence of the risk of thrombotic complication. Thus, the quantity of SF increased after the surgery and decreased on 14th day of treatment with statistical evidence. In contrast, D-dimer level did not change during 14 days of study and cannot be assumed as the main factor that detects the threat of thrombus formation

Complex diagnostics of the risk of thrombotic complications in blood plasma of patients with deep vein thrombosis is necessary. Determination of D-dimer alone could be false positive or false negative. Determination of D-dimer is necessary laboratory test but it can be useful only when paired with SF determination. Immunological test of SF determination is recommended to be added to the list of obligatory laboratory diagnostic tests for the determination of the risk of thrombus formation.

Study was funded in the frame of Ukrainian Government order scientific program according to the Agreement № DZ/59-2019 'Development of test-system for simultaneous determination of three molecular markers of intravascular blood coagulation'.

КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ СИНДРОМИ ПРИ РІЗНИХ ТИПІХ ПАТОЛОГІЇ ПЕЧІНКИ

ЛЯХ О.І., РОСТОКА Л.М., МИРЕНКО А.А., КУЗЬМАК М.В., СІТКАР А.Д.
ДВНЗ "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", УКРАЇНА;
e-mail: siti0095@mail.com

За даними ВООЗ, вірусними гепатитами інфіковані або перенесли їх у минулому до 2 млрд. населення Землі. Більшість смертей від інфекційного гепатиту були зумовлені кінцевим етапом його

розвитку – цирозом (720 тис.). Алкогольна хвороба печінки за поширеністю і соціальною значимістю посідає друге місце після захворювань печінки вірусної етіології. Алкогольний цироз розвивається

приблизно у 15–20 % осіб, які зловживають алкогольними напоями впродовж 5–20 років, частіше у чоловіків. Крім того, цироз печінки розвивається швидше і має злоякісний характер при сполученні алкоголізму і вірусного гепатиту в минулому. В основі ураження печінки (незалежно від ґенезу) лежить цитоліз гепатоцитів із порушенням їх численних функцій (гепатит). Надалі відбувається розростання сполучної тканини (фіброз/ гепатоз) зі зміною нормальної архітеконики печінки та зменшенням кількості функціонуючих клітин (цироз). Даний прогресуючий процес потребує обов'язкового лікування та профілактики на будь-якому етапі розвитку для досягнення тривалої ремісії.

Метою роботи було проведення аналізу клініко-лабораторних параметрів у пацієнтів із ураженням печінки різної етіології та стадії прогресування процесу (гепатит, гепатоз, цироз).

Проведено ретроспективний аналіз історій хвороб пацієнтів з різними типами патології печінки ($n=103$, частка чоловіків – 43,7 %, жінок – 56,3 %, середній вік – $54,4 \pm 2,2$ років). Їх було розподілено на три групи: хворі з гепатитом – 18,4 %, стеатозом печінки – 22,3 %, цирозом – 59,2 %. Статистичний аналіз проводили за допомогою програми IBM SPSS Statistics 23.0. з використанням однофакторного дисперсійного аналізу та критерію χ^2 -Пірсона: довірливі таблиці спряження.

Встановлено достовірну різницю серед досліджуваних груп щодо рівня наступних лабораторних параметрів: гемоглобін ($p=0,009$), еритроцити ($p<0,001$), тромбоцити ($p<0,001$), лімфоцити ($p=0,029$), білірубін прямиий ($p=0,001$), лужна фос-

фатаза ($p=0,001$), гамаглутамілтрансфераза ($p=0,003$), аланінамінотрансфераза (АлАТ) ($p=0,001$), аспартатамінотрансфераза (АсАТ) ($p<0,001$), амілаза сечі ($p=0,046$). При попарному порівнянні груп виявлено, що у пацієнтів із гепатозом вищевказані показники, здебільшого, були в межах норми. Це може свідчити про затухання запального процесу (удаване благополуччя), але із подальшим фіброзуванням печінки, оскільки у пацієнтів із цирозом дані параметри виходили за нормовані значення. Єдиним виключенням були рівні АЛТ, АСТ (їх рівні були достовірно більші в пацієнтів із гепатитом), що свідчить про активний запальний процес) та амілази сечі. Найвищий рівень амілази спостерігався в пацієнтів зі стеатогепатозом, що може бути зумовлено наявністю в пацієнтів хронічного/ реактивного панкреатиту, і як наслідок, ймовірним порушенням екзо- та ендокринної функції підшлункової залози, дезінтеграцією вуглеводно-ліпідного обміну та жировим переродженням печінки (стеатозом). Подібна нерівнозначність показників спостерігалась щодо частоти портальної гіпертензії ($p<0,001$), коагулопатій ($p<0,001$), гепато-целюлярної недостатності ($p<0,001$), зокрема найбільша частота в пацієнтів з цирозом, найменша із гепатозом.

Встановлено, що гепатопатії, не залежно від ґенезу, протікають із нормалізацією клініко-лабораторних показників (в стадії гепатозу) з обов'язковим прогресуванням процесу та переходом у цироз. Це визначає необхідність проведення профілактичних заходів та диспансерний облік таких пацієнтів із періодичним їх обстеженням.

COMPARISON OF THE VITAMIN D₃ AND NF-κB INHIBITOR EFFECT ON DIABETES-INDUCED DISORDERS IN THE RANK/RANKL/OPG SYSTEM OF BONE TISSUE

MAZANOVA A.O., MAKAROVA O.O., LOTOTSKA O.Yu., VASYLEVSKA V.M., SHYMANSKYI I.O.
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: ann.mazanova@gmail.com

Type 1 diabetes (T1D) is an endocrine disease that has a number of side effects. Along with diabetes-induced nephropathy, neuropathy, and hepatopathy, that have already been well characterized, in the last decade, diabetes-induced osteoporosis attracts more attention. The development of osteoporosis (including secondary) is directly related to the disturbance of osteoblast/osteoclast equilibrium in the bone tissue. In the progression of this disorder, the cytokine system Receptor Activator of Nuclear Factor κB (RANK)/Ligand for RANK (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) takes one of the leading roles. This system is able to regulate the activity of the nuclear factor κB (NF-κB), and increase or decrease the resorptive properties of osteo-

clasts. Thus, one of the therapeutic strategies for osteoporosis treatment is the search for substances that can inhibit NF-κB signaling. In recent years, vitamin D₃ (cholecalciferol) is considered not only as a regulator of calcium homeostasis, but also as strong modulator of the genome's transcriptional activity. At present time, the molecular mechanisms of vitamin D₃ action in diabetes-induced osteoporosis are not fully understood. The aim of this work was to compare the effects of the NF-κB inhibitor BAY 11-7082 and cholecalciferol on diabetes-induced disorders in the cytokine system RANK/RANKL/OPG in bone tissue.

Diabetes was induced by single i.p. injection of streptozotocin (STZ) at a dose of 55 mg/kg b.w. After

2 weeks, diabetic animals were divided into three groups: 1. diabetes group; 2. diabetic rats treated with D₃ (600 IU/kg b.w., per os) for 30 days; 3. diabetic rats treated with BAY 11-7082 (1 mg/kg b.w., i.p.) for 10 days. Vitamin D level was assessed by measurement of 25OHD in blood with in-house ELISA system. The levels of RANK, RANKL, total and phosphorylated NF-κB were detected by Western-blot analysis. *Osteoprotegerin* mRNA level was detected by RT-qPCR. Statistical differences between the various groups were compared by using ANOVA-test. Differences were considered significant when $P < 0.05$.

It was shown that blood 25OHD content in T1D decreased by 40 %. Reducing the availability of vitamin D₃ was accompanied by a disturbance of the RANK/RANKL/OPG system components synthesis in bone tissue. We showed a significant increase in the RANK protein level (1.34-fold vs. control), total and phosphorylated NF-κB protein levels (1.4 and 1.5-fold respectively vs. control) in bone tissue of diabetic animals. In contrast, the level of RANKL protein did not change, and level of *Opg* mRNA was significantly lower vs. control. Treatment with vitamin D₃ contributed to a partial increase in 25OHD level in the blood of diabetic animals (1.3-fold vs. T1D). This was ac-

companied by a decrease in the protein levels of the RANK, total and phosphorylated NF-κB. In contrast, there was an increase in the RANKL protein synthesis (1.5-fold vs. T1D) and an insignificant increase in the *Opg* mRNA level. BAY 11-7082 administration during resulted in a significant reduction in the protein synthesis of the RANK (10-fold vs. T1D) and the total NF-κB (2.4-fold vs. T1D), and contributed to the return of the pNF-κB protein phosphonate level to the control values. The level of RANKL protein was significantly increased in the bone tissue of animals treated by and BAY 11-7082 vs. T1D. Instead, administration of the inhibitor did not affect the synthesis of *osteoprotegerin* mRNA.

We have shown that the development of T1D is accompanied by a decrease in the vitamin D₃ availability. This leads to the disturbance of the synthesis of RANK/RANKL/OPG system components in bone tissue, which may further contribute to the development of secondary osteoporosis. Inhibition of signaling via NF-κB, both directly (using a direct inhibitor) and indirectly (using cholecalciferol), results in correction of the studied parameters and the restoration of osteoblast/osteoclast equilibrium in the bone tissue of diabetic animals.

НАКОПИЧЕННЯ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ ГЕПАТИТОМ – НАСЛІДОК ПРИГНИЧЕННЯ ПОВЕДІНКИ

МАКАРЕНКО О.А.¹, ГЛАДКІЙ Т.В.¹, СЕВОВЬЯНОВА Т.О.², МУДРИК Л.М.²

¹ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;

²ДУ "ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ ТА ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ХІРУРГІЇ НАМН УКРАЇНИ", ОДЕСА;

e-mail: makolga29@gmail.com

Токсичні, вірусні гепатити та інші патології печінки дуже поширені в теперішній час. Це пов'язано зі станом екології, частим використанням антибіотиків, антимікробних і токсичних речовин. Порушення функцій печінки призводить до зниження її антитоксичної дії, наслідком чого є надмірне накопичення великої кількості токсинів, які впливають на центральну нервову систему і разом із тим на поведінку. Нажаль в теперішній час дані про взаємозв'язок захворювань печінки з поведінковими реакціями практично відсутні. Тому метою роботи стало визначення рівня токсичних речовин у мозку щурів з гепатитом, а також дослідження емоційної, орієнтовно-дослідницької активності та формування рефлексів тварин.

Дослідження проведено на 18 лабораторних щурах, самцях віком 10 місяців, які утримувались в стандартних умовах виварію. 9 тварин склали інтактну групу, 9 щурів відтворювали гепатит шляхом внутрішньочеревного введення гідразину сірчанокислого (50 мг/кг) двічі на тиждень протягом 5

тижнів. Дослідження поведінкових реакцій щурів проводили на тестах "Відкрите поле" та Т-лабіринт 1 раз на тиждень. Тварин виводили з експерименту на 60 добу під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг). Виділяли головний мозок, у гомогенатах (50 мг/мл 0,05М трис-НСІ-буфера рН 7,5) якого проводили визначення активності уреазі, еластази, каталази, лізоциму та вмісту малонового діальдегіду. Статистичну обробку даних проводили за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента і програми "Statistica".

Дослідження поведінки щурів на тесті "Відкрите поле" встановили, що розвиток гепатиту призводить до зниження показників моторно-рухової (горизонтальна і вертикальна) та емоційної (дослідницька активність, частота грумінгу) активності щурів. Рівень дефекацій (емоційна реактивність) вкінці експерименту у щурів із гепатитом був майже удвічі більшим за контрольну групу, що можна пояснити відчуттям стресу у тварин. Підвищення рівня дефекації у тварин з гепатитом також може

бути пов'язано з порушенням роботи шлунково-кишкового тракту. Тестування процесів пам'яті та вчення щурів на тесті "Т-лабіринт" показало, що розвиток гепатиту збільшив час на пошук їжі та кількість допущених помилок. Це свідчить про пригнічення формування пам'яті та вчення тварин на тлі моделювання гепатиту.

Підвищення активності уреаз в мозку щурів із гепатитом (на 100 %) призводить до накопичення аміаку, який впливає на функціонування клітин мозку. Наслідком зниження активності каталази (на 37 %) в головному мозку щурів із гепатитом є накопичення токсичного пероксиду водню, який руйнує нервові структури. Про пригнічення імунітету при гепатиті свідчить низька активність лізо-

циму (на 22 %). Підвищення кінцевого продукту пероксидації (малонового діальдегіду на 39%) відповідає важкому ступеню ендогенної інтоксикації, що і спостерігалось в головному мозку щурів з гепатитом. Наслідок гепатиту у щурів – гострі запальні процеси, а саме підвищення активності еластази на 44 %.

Зниження моторної та дослідницької активності тварин поряд із гальмуванням пасивно-оборонної поведінки і пригніченням формування пам'яті та вчення при гепатиті можна пояснити накопиченням токсичних речовин (уреаза, аміак, пероксид водню, малоновий діальдегід) в головному мозку з одночасним зниженням неспецифічної резистентності піддослідних тварин.

ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ПРИ КОМОРБІДНОСТІ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ ІЗ ГІПЕРТОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ

МАКСІВ Х.Я., МАРУЩАК М.І., КЛІЩ І.М., КРИНИЦЬКА І.Я., ГАБОР Г.Г.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ
marushchak@tdmu.edu.ua

Артеріальна гіпертензія (АГ) та хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) часто співіснують в одного і того ж пацієнта, особливо старшого віку. Відповідно до статистичних даних, поєднання цих двох захворювань зустрічається у 2,5 % пацієнтів. У біохімічному аспекті, механізм розвитку і прогресування як ХОЗЛ, так і АГ, тісно пов'язаний з оксидативним стресом.

Тому, метою нашого дослідження було вивчити показники вільнорадикального окиснення й системи антиоксидантного захисту у пацієнтів при поєднаному перебігу ХОЗЛ і АГ.

Обстежено 96 хворих: 1 група – хворі на ХОЗЛ (25 пацієнтів), 2 група – хворі на ХОЗЛ з АГ (28 пацієнтів), а також 20 практично здорових осіб, що склали контрольну групу.

Рівень 8-ізопростану в сироватці крові вимірювали за допомогою імуноферментного методу з використанням набору реагентів 8-Isoprostane ELISA Kit. Стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ) оцінювали за активністю ензимів первинного захисту – супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ).

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за загальноновизнаними методами варіаційної статистики з використанням програми STATISTICA 7.

Встановлено вірогідне зростання рівня 8-ізопростану в сироватці крові хворих на ХОЗЛ (в 4,1 раза) та ХОЗЛ+АГ (в 5,4 раза), стосовно контролю. При аналізі показників системи антиоксидантного захисту відмічено порушення антиоксидантних резервів у пацієнтів з ХОЗЛ та при коморбідності ХОЗЛ і АГ. Так, активність СОД у 1 дослідній групі була нижча на 20,8 %, а в 2 групі – на 31,4 %, стосовно контрольних значень. Спрямованість змін активності каталази у дослідних групах також мала схожу динаміку. Варто відмітити, що при коморбідному перебігу ХОЗЛ та АГ активність ензимів первинного захисту була вірогідно нижча, стосовно даних у групі хворих на ХОЗЛ.

Висновок. У механізмах коморбідності ХОЗЛ і АГ оксидативний стрес відіграє важливу роль, оскільки зростання рівня 8-ізопростану на фоні зниження показників антиоксидантного захисту свідчить про руйнування клітинної мембрани.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF SER-PRO-CYS PEPTIDE AND ITS CONJUGATES WITH SYNTHETIC FUNCTIONAL POLYMERS

MANKO N.¹, STARYKOVYCH M.¹, ZAICHENKO O.², MITINA N.², PAIUK O.², STOIKA R.¹, KIT Y.¹

¹INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE OF UKRAINE, LVIV;

²LVIV NATIONAL POLYTECHNIC UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: kit@cellbiol.lviv.ua

Biologically active peptides are widely expressed spread in human body. They have a variety of biological activities, such as effects on brain function, hormone secretion, cardiovascular system, cell proliferation, and others. Earlier, used TCA-acetone extraction procedure in the combination with HPLC- and TLC – chromatography followed by MALDY TOF/TOF mass-spectrometry, we firstly identified in blood serum of multiple sclerosis patients the peptides that contained Ser-Pro-Cys sequence and was denoted as “Prosercine” (Myronovky S at al., 2016). The biological activity of Prosercine remains poorly studied. To clarify this issue a Ser-Pro-Cys peptide (SPC-peptide) was synthesized and further used for investigation. Here we studied cytotoxic, anti-microbial and anti-coagulating activities of SPC-peptide and its conju-

gates with nanoscale synthetic polymers. These conjugates were obtained using radical polymerization in the presence of functional epoxide-containing agent ((polyN-polyvinylpyrrolidone(NVP))-cumylglycidylether(CGE), M_n 20kDa) for the polymeric chain transfer. To detect cytotoxic and anti-microbial activities of SPC-peptide and its conjugates we used trypan blue exclusion test and MTT-assay. Anti-coagulating action was evaluated using a peripheral blood samples obtained from human volunteers. Our results demonstrate that the SPC-peptide possessed anti-microbial, and anticoagulant effects while its cytotoxic effect was not detected. In contrast to this, SPC-peptide covalently conjugated with the polymer possesses ability to induce apoptosis in human leukemia Jurkat T-cells in vitro.

ВПЛИВ КОМПЛЕКСІВ ОЛІГОРИБОНУКЛЕОТИДІВ З D-МАНІТОЛОМ НА ЕКСПРЕСІЮ ПРОЗАПАЛЬНИХ ТА ПРОФІБРОЗНИХ ГЕНІВ ПРИ ТІОАЦЕТАМІДІНДУКОВАНОМУ ПЕЧІНКОВОМУ ФІБРОЗІ

МАРЧИШАК Т.В., ЯКОВЕНКО Т.Г., ТКАЧУК З.Ю.

ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: biochem.imbg@gmail.com

Печінковий фіброз є результатом хронічного пошкодження печінки в поєднанні з накопиченням компонентів позаклітинного матриксу. Стимулами для розвитку фіброзу є некроз/апоптоз гепатоцитів, оксидативний стрес та інфільтрація паренхіми клітинами імунної системи. Комплекси олігорибонуклеотидів з D-манітолом (ОРН-D-M) являють собою сполуки, що містять у своєму складі тотальну дріжджову РНК з домінуючою фракцією 5-8 нуклеотидів та D-манітол. Раніше нами було показано, що ОРН-D-M володіють протизапальною, мембраностабілізуючою та антиоксидантною активностями. Враховуючи широкий спектр біологічної активності ОРН-D-M, а також розглядаючи печінку як орган-мішень у корекції фіброзу, метою даної роботи було дослідити потенційний гепатопротекторний ефект ОРН-D-M при тіоацетамід (ТАА)-індукованому фіброзі печінки.

Дослідження проводили на мишах лінії C57BL6/J віком 2–2,5 місяці. Фіброз печінки індукували інтраперитонеальним введенням ТАА у дозі 150 мг/кг маси тіла мишей протягом 8 тижнів. Тва-

рини дослідної групи отримували перорально ОРН-D-M (200 мг/кг маси тіла) щоденно на протяженні всього експерименту. Ступінь ураження паренхіми печінки контролювали за ензиматичною активністю аланін- (АлАТ) та аспартат-амінотрансфераз (АсАТ), гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ). Оцінку оксидативної деструкції біомолекул проводили на основі визначення рівня відновленого глутатіону, вмісту ТБК-активних сполук, протеїнових карбонільних похідних та протеїнових тіолових груп у тканині печінки. Експресію прозапальних (інтерлейкін-6 (IL-6), фактор некрозу пухлин альфа (TNF- α)), профіброзних (трансформуючий фактор росту бета 1 (TGF- β 1), альфа-актин м'язових волокон (α -SMA), колаген I типу (COL1A1)) генів, а також транскрипційного фактора NF κ B1 здійснювали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми GraphPad Prism 7.0 з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з подальшим тестом Tukey post hoc.

Результати проведеного дослідження показали, що застосування ОРН-D-M призводить до атенуації ТАА-індукованого фіброзу печінки. ОРН-D-M сприяли зниженню підвищених активностей АЛАТ, АсАТ та ГГТ в сироватці крові. Крім того, ОРН-D-M зменшували оксидативне пошкодження біополімерів печінки. Це проявлялось у зниженні рівнів ТБК-активних сполук, карбонільних похідних на 60,6 та 35 % відповідно з одночасним підвищенням рівня протеїнових тіолових груп та відновленого глутатіону у 2,7 та 3,2 раза відповідно порівняно з тваринами, що отримували лише ТАА. Відомо, що оксидативний стрес стимулює прозапальні реакції в паренхімі печінки, тому було досліджено експресію мРНК генів IL-6 і TNF- α . Було виявлено, що комплекси ОРН-D-M пригнічують збільшення цих цитокінів в 2,28 та 2,66 раза порівняно з групою тварин, яка отримувала лише ТАА. Генетичний аналіз також показав, що комплекси здатні ефективно знижувати експресію транскрипційного

фактору NF κ B1, який залучений у розвитку запальної відповіді. Крім цього, комплекси ОРН-D-M пригнічують активацію стелатних клітин печінки, про що свідчать низькі рівні мРНК α -SMA (маркер активованих зірчастих клітин). Також, комплекси знижують експресію основного профіброзного цитокіну – TGF- β 1. Під час ТАА-індукованого фіброзу також було виявлено, що комплекси зменшують експресію мРНК COL1A1 (компоненту позаклітинного матриксу).

ОРН-D-M можуть зменшити ТАА-індукований фіброз печінки у мишей, шляхом інгібування оксидативного стресу, експресії прозапальних цитокінів та профіброзних факторів. Ми припускаємо, що основні механізми комплексів за допомогою яких вони захищають печінку від дії ТАА пов'язані з їх протизапальними властивостями та здатністю модулювати деякі сигнальні шляхи (включаючи NF κ B сигналізацію), що залучені у розвитку фіброзу.

ПРОТЕАЗНА АКТИВНІСТЬ СЛИНИ ПРИ ПАРАДОНТИТІ З СУПУТНІМ ОСТЕОПОРОЗОМ

МАШЕЙКО І.В., ПЕЛШЕНКО Г.Б., БРАЗЛУК О.З.

ДЗ "ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ МОЗ ДНІПРО, УКРАЇНИ", ДНІПРО;
e-mail: mashteching@gmail.com

Мета дослідження – дослідити показники протеазної та антипротеазної систем ротової рідини у хворих із хронічним генералізованим парадонтитом (ХГП) II–III ступенів тяжкості (СТ) з/без віковим остеопорозом.

При парадонтиті з супутнім остеопорозом (ОП) системні порушення метаболізму кісткової тканини обтяжуються активацією локальних процесів резорбції опосередкованих прозапальними цитокінами в осередках запалення з подальшим порушенням метаболізму матриксних протеїнів кісткової тканини, вивільненням протеолітичних ензимів й зміною протеазно-антипротеазного балансу. Специфічні маркери є найбільш об'єктивними в оцінці стану кісткової тканини (Masheiko I.V., 2017), проте активність протеолітичних ензимів зумовлює основну спрямованість метаболічних процесів в кістковій тканині та є додатковим прогностичним критерієм розвитку деструктивних процесів у парадонті.

У дослідження включені 86 хворих із ХГП II-III ступеня тяжкості (СТ), нарівно чоловіків та жінок, середній вік яких склав 59,7 \pm 5,6 років. Серед зазначених хворих 42 мали нормальну мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ), а 44 – вікові остеопоротичні зміни в кістковій тканині. Контрольна група 30 осіб без остеопорозу. Група порівняння 30 осіб із віковим остеопорозом. Патологія сечови-

дільної системи, порушення фізичної активності, прийом препаратів впливаючих на метаболізм кісткової тканини було виключено. У дослідних визначали трипсиноподібну (ТПА), еластазоподібну (ЕПА) та антитрипсинову (АТА) активність ротової рідини (Veremeenko KN, 1985). Діагностування остеопорозу проводилось згідно критеріям ВООЗ за МЩКТ у поперековому відділі хребта при значенні T-бал<-2,5 SD (Siris ES, et al., 2014). Отримані дані були представлені як середнє \pm SD. Статистичну значимість різниці показників між двома групами визначали за t-критерієм Стьюдента, значення $P < 0,05$ вважали значимим. Статистичний аналіз проводили з використанням Statistica 8.0 (Statsoft Inc., США).

Було встановлено, що, порівняно з контрольною групою, у обстежених з ХГП II та III СТ на фоні остеопорозу ТПА була підвищена в 1,83 та 2,44 раза відповідно. В групах з ХГП II та III СТ без остеопорозу ТПА була підвищена у 1,52 та 1,88 раза ($P < 0,05$). Статистично значиме збільшення ЕПА спостерігалось у групах з ХГП III СТ на фоні остеопорозу у 2,35 та без остеопоротичних змін у 1,92 раза ($P < 0,01$).

Щодо стану антипротеїназної системи нами було встановлено, що АТА підвищена в групі порівняння та в групі з ХГП II СТ без остеопорозу

($P < 0,05$) та різко знижена у групах з ХГП III СТ на фоні остеопорозу у 2,84 та без остеопоротичних змін у 2,57 рази ($P < 0,01$).

В цілому показники ТПА, ЕПА та АТА свідчать про більш агресивний характер перебігу пародонтиту при супутньому остеопорозі.

Таким чином, найвищі показники протеазної активності виявлені в групах з ХГП II–III СТ при

остеопорозі й свідчать про швидке прогресування пародонтиту. На початкових стадіях розвитку пародонтиту без супутнього остеопорозу має місце компенсаторна активація антипротеїназної системи. Виявлення порушень балансу антипротеазної і протеазної систем є необхідним в прогнозуванні перебігу та своєчасній корекції лікування генералізованого пародонтиту з супутнім остеопорозом.

COMPLEXES OF OLIGORIBONUCLEOTIDES WITH D-MANNITOL NORMALIZE TOLL-LIKE RECEPTORS-ASSOCIATED INNATE IMMUNE RESPONSE TO INFLUENZA A VIRUS

MELNICHUK N.S., KASHUBA V.I., RYBALKO S.L., TKACHUK Z.Yu.
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: natalia.melnichuk8@gmail.com

Rapid replication of the influenza A virus and lung tissue damage caused by exaggerated pro-inflammatory host immune responses lead to numerous deaths. Therefore, using a therapeutic drug to impair the innate immune response in combination with antiviral action has the potential to diminish symptoms and tissue damage caused by the influenza A virus infection. Complexes of natural oligoribonucleotides with D-mannitol (ORNs-D-M) is known to have a wide range of biological activities playing a key role in the antiviral activity and can be used as an anti-influenza drug. Mechanisms of anti-influenza activity of the ORNs-D-M are to inhibit the hemagglutinin (HA)-glycan interaction and neuraminidase (NA) activity of the influenza virus. In our previous studies, we suggested that, besides inhibiting the activity of viral surface proteins (NA, HA), the ORNs-D-M can have another mechanism responsible for anti-influenza activity of these complexes.

The current research was aimed at studying the ORNs-D-M effects on up-expression of the innate immune genes induced by the influenza virus infection in mice lungs.

The BALB/c mice were intranasally infected with influenza A virus H1N1 FM147, 4.0 lg LD₅₀. For prevention and treatment, each virus-infected mouse was intraperitoneally injected with the ORNs-D-M at concentration of 15 mg/kg. Expression of genes was determined by RT-qPCR and Western blot assays. The influenza virus infectious titer was investigated using the TCID₅₀ assay. The data were presented as mean ±SD for three independent experiments.

In the present studies, the overexpression of Toll-like receptors (TLRs) (*Tlr3*, *Tlr7*, *Tlr8*), nuclear factor NF-κB (*Nfkb1a*, *Nfkb1*), cytokines (*Ifne*, *Ifnk*, *Ifna2*, *Ifnb1*, *Ifny*, *Il6*, *Il1b*, *Il12a*, *Tnf*), chemokines (*Ccl3*, *Ccl4*, *Ccl5*, *Cxcl9*, *Cxcl10*, *Cxcl11*), interferon-stimulated genes (ISGs) (*Oas1a*, *Oas2*, *Oas3*, *Mx1*) and pro-oxidation (*Nos2*, *Xdh*) genes was detected in mice lungs 48 h after infection with the influenza virus compared to the control. Conversely, the ORNs-D-M injection for prevention and treatment of the influenza infection reduced the mRNA level of these genes in comparison with the virus-infected mice. Furthermore, the mRNA expression levels of these investigated genes remained unchanged in the ORNs-D-M-injected mice as an ORNs-D-M positive control in comparison with the healthy ones. Both the ORNs-D-M injection for prevention and treatment also reduced the infectious titer of influenza virus by 1.4 and 2.2 lgTCID₅₀ in lungs of influenza-infected mice compared to the virus-infected mice without ORNs-D-M.

Thus, the ORNs-D-M reduce the influenza-induced up-expression of *Tlr3*, *Tlr7*, *Tlr8*, *Nfkb1a*, *Nfkb1*, *Ifne*, *Ifnk*, *Ifna2*, *Ifnb1*, *Ifny*, *Il6*, *Il1b*, *Il12a*, *Tnf*, *Ccl3*, *Ccl4*, *Ccl5*, *Cxcl9*, *Cxcl10*, *Cxcl11*, *Oas1a*, *Oas2*, *Oas3*, *Mx1*, *Nos2*, *Arg2*, *Xdh* genes. The ORNs-D-M-inhibited mRNA overexpression of *Tlr3*, *Tlr7* and *Tlr8* suggests that the ORNs-D-M impair the influenza-induced upregulation of NF-κB, cytokines, chemokines, ISGs, and pro-oxidation genes by inhibiting activation of the TLR-3, TLR-7 and TLR-8 signaling pathways. By impairing activation of the TLR-3, TLR-7 and TLR-8 signaling pathways, the ORNs-D-M can normalize the innate immune response to an influenza virus infection.

ПОРІВНЯЛЬНЕ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОАМОНІЄМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ L-АРГІНІНУ-L-ГЛУТАМАТУ І L-ОРНІТИНУ-L-АСПАРТАТУ

МЕРКУЛОВА Ю.В., ЧайКА Л.О.

ДП "ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ І МЕДИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ",
ХАРКІВ, УКРАЇНА;
e-mail: yumerkulova@ukr.net

Амінокислоти аргінін, глутамінова кислота, орнітин та аспартат володіють гіпоамоніємічною дією, яка реалізується за рахунок нормалізації аміакнейтралізуючих функцій печінки з активацією процесів детоксикації аміаку завдяки метаболічним і регуляторним властивостям даних амінокислот як субстратів та активаторів ензимів реакцій знешкодження аміаку в організмі.

Метою роботи було порівняльне вивчення біохімічних показників первинної фармакодинаміки гіпоамоніємічних і гепатопротекторних засобів L-аргініну-L-глутамату (L-A-L-Г) і L-орнітину-L-аспартату (L-O-L-A).

Аміакнейтралізуючі ефекти L-A-L-Г і L-O-L-A оцінювали на моделі гострої аміачної інтоксикації щурів за вмістом вільного аміаку в крові і мозку та вмістом сечовини в крові. Вміст аміаку визначали ензиматичним методом за зниженням НАДФ·Н, вміст сечовини – за накопиченням продукту уреазної реакції. Достовірність відмінностей між середніми визначали за критерієм Стьюдента. Імовірність отриманих результатів оцінювали на рівні значущості не менше 95 % ($P \leq 0.05$).

У щурів контрольної нелікованої групи амонію ацетат (внутрішньочеревно, 630 мг/кг \approx середній летальній дозі / LD_{50} / у щурів) викликав підвищення рівня аміаку в крові в 9,3 раза (до $25,1 \pm 2,34$ ммоль/л), в мозку – в 2,6 раза (до $0,251 \pm 0,048$ мкг/мг протеїну) порівняно з інтактними щурами (відповідно $2,7 \pm 0,59$ ммоль/л та $0,098 \pm 0,026$ мкг/мг протеїну) і зростання в крові вмісту сечовини до $5,9 \pm 0,28$ ммоль/л (інтактні щури – $4,2 \pm 0,27$ ммоль/л), що супроводжувалось клінічними проявами важкої аміачної інтоксикації: пригнічення рухової активності аж до повної адинамії, часті клонічні судоми, висока летальність тварин.

У щурів дослідних груп L-A-L-Г і L-O-L-A (внутрішньочеревно, 400 мг/кг, за 1 год. до відтворення

гіперамоніємії) чинили суттєвий позитивний вплив на біохімічні показники, які свідчать про активацію процесів нейтралізації аміаку в організмі щурів: достовірно, порівняно з нелікованими щурами, знижували рівень аміаку в крові відповідно до $10,7 \pm 1,64$ ммоль/л та $11,6 \pm 1,64$ ммоль/л, в мозку – в 8 разів до $0,064 \pm 0,017$ мкг/мг протеїну та в 1,6 раза до $0,155 \pm 0,015$ мкг/мг протеїну; сприяли зростанню в крові вмісту кінцевого продукту орнітинового циклу утилізації аміаку – сечовини до $8,50 \pm 0,99$ ммоль/л (достовірно, порівняно з нелікованими щурами) та $6,60 \pm 0,33$ ммоль/л (на рівні тенденції). Водночас у тварин дослідних груп зареєстроване послаблення, більш суттєве за умов введення L-A-L-Г, зазначених якісних і кількісних клінічних показників аміачної інтоксикації зі зниженням летальності щурів.

Таким чином, L-A-L-Г і L-O-L-A за гострої аміачної інтоксикації у щурів виявляли значну антигіперамоніємічну активність, ефективно знижуючи вміст аміаку в крові і мозку тварин. Аміакзнешкодуючий ефект L-A-L-Г зумовлений, головним чином, підсиленням процесів сечовиноутворення з одночасною активацією глутамінсинтетазної реакції утворення нетоксичного еквіваленту аміаку – глутаміну. Можна припустити, що високий гіпоамоніємічний ефект L-A-L-Г щодо рівня аміаку в мозку пов'язаний також із пригніченням активності глутамінази мозку, що запобігає підвищенню рівня аміаку в реакції дезамідування. Орнітин і аспартат поступаються глутаміновій кислоті і аргініну за амікнейтралізуючою активністю в мозку і за активним впливом на інтенсивність процесів уреогенезу, про що свідчить менш виразний підйом рівня сечовини в крові тварин, та за антитоксичною активністю, про що свідчить дещо менш виразне послаблення клінічних проявів аміачної інтоксикації у тварин.

URINARY ENZYMES AS MARKERS IN DIAGNOSTICS OF THE CONCEALED DYSFUNCTIONING OF TUBULAR NEPHROTHELIUM IN CHILDREN WITH CONGENITAL VESICoureTERIC REFLUX

MYGAL L.Ya., NIKULINA G.G., PETERBURGSKY V.F., SERBINA I.E., KALISHCHUK O.A.
SI "INSTITUTE OF UROLOGY, NAMS OF UKRAINE", KYIV
e-mail: irinaserbina@gmail.com

The pathologic changes in children with congenital vesicoureteric reflux embrace not only the urinary tract but also renal parenchyma that is reflux-nephropathy can develop. It was stated that 40–60 % of patients with vesicoureteric reflux have nephrosclerotic changes. The latter testifies to the imperfection in timely detection in children with vesicoureteric reflux even early, initial changes in functional state of renal parenchyma, particularly in tubular part of nephron, and, accordingly, to the dissatisfied results of diagnostics and treatment of these children. To estimate the functional state of tubular renal epithelium, the most informative are the urinary enzymes. The most diagnostically important are tests of urinary activity of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) and its isoenzyme NAG B of lysosomic origin, which have the expressed renospecific features.

The aim of the work was to assess the possibility to define the NAG and NAG B activity in urine as markers in diagnostics of the concealed dysfunction of tubular nephrothelium in children with congenital vesicoureteric reflux.

The study included 103 children (87 girls and 16 boys) aged from 1 to 15 years with the verified diagnosis – vesicoureteric reflux, and 25 conditionally healthy children with normal urinalysis and without renal diseases in anamnesis (control group).

The total NAG activity and activity of its thermostable isoenzyme NAG B in urine were expressed in units – in p-nitrophenol micromoles appeared during an hour of incubation at a rate of 1 mmol of urinary creatinine ($\mu\text{mol}/\text{hour}/\text{mmol}$ of creatinine).

The final results showed that in urine of healthy children the total NAG activity was $11.64 \pm 0.72 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{mol}$ of creatinine ($6.2\text{--}7.1 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{mmol}$ of creatinine taking into account the formula $M \pm 1.5\sigma$); the activity

of its thermostable isoenzyme NAG B was 1.56 ± 0.096 ($0.8\text{--}2.3 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{mmol}$ of creatinine, respectively). The cases, when the total NAG activity is between 6.2 and $17.1 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{mmol}$ of creatinine but the NAG B activity in the same patients is constantly higher $2.3 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{mmol}$ of creatinine, are considered as dysfunction of tubular apparatus of renal parenchyma.

The individual analysis of a group of children with congenital vesicoureteric reflux showed that the total NAG activity out of 103 patients 57 (~55 %) were within normal values (33 – with unilateral pathology, 24 – with bilateral). The individual analysis made in children with congenital vesicoureteric reflux with unilateral pathology (the exclusion of the influence of contralateral kidney on the readings of enzymatic activity in urine from urinary bladder), whose total NAG activity was registered within readings of the control group, showed that out of 33 patients 23 (~70 %) (group 1) had considerable elevation of urinary NAG B activity ($4.29 \pm 0.44 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{mmol}$ of creatinine) in comparison both with control group (group 3, $n=25$, $P < 0.001$) and with the group of children in whom the activity of this isoenzyme was registered within the interval of normal values, that is in the range from 0.8 to $2.3 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{mmol}$ of creatinine (group 2, $n=10$, $P < 0.001$).

The performed studies testify to the expediency in definition of the activity levels of N-acetyl- β -D-glucosaminidase B as an enzyme with more expressed renospecific features in children with congenital vesicoureteric reflux in relation to the timely made diagnostics of a concealed dysfunction of tubular nephrothelium, and to the necessity to administer for such patients the corresponding corrective therapy to prevent the development and progression in them of reflux-nephropathy.

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ПОКАЗНИКІВ ПРО/АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ПАТОГЕНЕЗІ ЗАПАЛЬНИХ ТА ДЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ОРГАНІВ ЗОРУ

МИХЕЙЦЕВА І.М., КОЛОМІЙЧУК С.Г., СІРОШТАНЕНКО Т.І., АБДУЛХАДІ МОХАММАД,
БОНДАРЕНКО Н.В., АЛЬДАХДУХ В.А.Р. МОТАСІМ, ЗАГРОДСЬКА Л.В.
ДУ "ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ ІМ. В.П. ФІЛАТОВА НАМН УКРАЇНИ",
ОДЕСА;
e-mail: filatovbiochem@ukr.net

За останні роки при вивченні патогенезу запальних та дегенеративних захворювань органів зору велика увага надавалась дослідженню пускових метаболічних механізмів, які призводять до порушення трофіки, структурних та функціональних властивостей тканин ока. Вивчення розвитку дисбалансу в про/антиоксидантній системі та порушень енергетичного обміну при офтальмологічних захворюваннях, особливо при поєднанні різних патологічних станів ока, являється актуальним завданням сьогодення.

Метою дослідження було визначення ролі показників про/антиоксидантної системи та енергетичного обміну в розвитку запальних та дегенеративних захворювань ока в експерименті.

У першій серії експериментів у кролів моделювали неінфекційний передній увеїт (введення альбуміну в передню камеру ока), світлову катаракту (в спектральному діапазоні від 350 до 1150 нм) без та на тлі підвищеного внутрішньоочного тиску (в передню камеру очей одноразово вводили 0,1 мл 0,3 % розчину карбомеру). У другій серії у щурів двотижневого віку відтворювали вісьову міопію шляхом блефарорафії обох очей і їх утриманні протягом 14 днів в умовах зниженого освітлення (Михейцева І.М. та ін., 2017), після чого через 2 тижні у частини тварин моделювали стрептозотоциновий діабет II типу (внутрішньоочеревинно 15,0 мг/кг маси протягом 5 днів). Стан переднього і заднього відділу ока контролювали за допомогою офтальмологічних методів. Результати були статистично оброблені, використовуючи параметричний метод аналізу *t*-критерій Стьюдента та непараметричний Манна–Уїтні.

У кришталику тварин із світловою катарактою суттєво підвищувався рівень продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), окисленого глутатіону, дисульфідних груп і знижувався вміст відновленого глутатіону, сульфгідрильних груп, а також

була знижена активність ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази). Максимальні порушення рівноваги в про/антиоксидантній системі з формуванням стану оксидативного стресу відзначали в кришталику та камерній волозі в групі світлової катаракти на тлі офтальмогіпертензії. При неінфекційному передньому увеїті, особливо в умовах підвищеного внутрішньоочного тиску, встановлена виражена активація в камерній волозі та в тканинах увеального тракту супероксидпродукуючих ензимів (НАДН-оксидази та ксантиноксидази), процесів перекисного окислення ліпідів на фоні зниження активності ензимної антиоксидантної системи, що свідчить про більш інтенсивний розвиток оксидативного стресу в тканинах переднього відділу ока. Експериментально підтверджена активація процесів пероксидації ліпідів (підвищення рівня дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду) в сітківці ока щурів при стрептозотоциновому діабеті без та з міопією. Вірогідної різниці між показниками ПОЛ, а також глікірованого гемоглобіну в групах діабет та діабет на фоні міопії нами не виявлено. У всіх групах в тканинах ока (увеальний тракт, кришталік, сітківка, камерна волога) відзначали порушення вмісту показників енергетичного обміну (лактату, пірувату, аденілових нуклеотидів та піридиннуклеотидів), накопичення цитотоксичних продуктів метилглюксалю та карбонільних груп протеїнів.

При поєднанні увеїту або катаракти з фактором, що сприяє дегенерації очних тканин (високий внутрішньоочний тиск), так і при дегенеративному діабетичному процесі на тлі міопії, оксидативні порушення макромолекул були максимальними. При цьому суттєву роль в патогенезі цих захворювань відіграло порушення показників про/антиоксидантної системи та енергетичного обміну, особливо за їх поєднаної дії.

ЗМІНИ РІВНЯ КОРТИКОСТЕРОНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПІД ВПЛИВОМ КОФЕЇНОГО НАВАНТАЖЕННЯ

МІЗІН В.В.¹, ЛЯШЕНКО В.П.², ЛУКАШОВ С.М.³

¹ПРИДНІПРОВСЬКА ДЕРЖАВНА АКАДЕМІЯ ФІЗИЧНОЇ КУЛЬТУРИ І СПОРТУ, ДНІПРО, УКРАЇНА;

²ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;

³ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНИЙ НАУКОВО-КОНСУЛЬТАТИВНИЙ ЦЕНТР "ГОЛОВНИЙ БІЛЬ", ДНІПРО, УКРАЇНА;

e-mail: valeriyamv@gmail.com

Понад 90 % дорослих людей щодня споживають кофеїн у складі продуктів харчування, напоїв та лікарських препаратів, що входять до їх звичайного раціону. Вживання кофеїну має різноманітні системні наслідки, включаючи вплив на всі системи органів та особливо гуморальну систему регуляції. Одним із найбільш чутливих до дії зовнішніх та внутрішніх чинників є стероїдний гормон – кортикостерон. Крім того, при дослідженні впливу хімічної речовини на стан здоров'я треба враховувати такий важливий чинник, як вік, оскільки одні й ті самі впливи у тварин різних вікових груп викликають не тільки кількісно, але й якісно різні реакції. Тому, метою даної роботи було встановити вплив аліментарного кофеїнового навантаження на рівень кортикостерону у сироватці крові щурів різного віку.

Експерименти були проведені на нелінійних безпородних білих щурах самцях. Тварин розподіляли на 2 групи: контрольну та експериментальну. Кожна з груп за віком поділялись на тварин ювенільного, молодого, зрілого, передстаречого та старечого віку. Щурам експериментальних груп до раціону годування щоденно протягом місяця додавали кофеїн в дозуванні 150 мг/кг ($LD_{50}=192$ мг/кг). Визначення рівня кортикостерону проводилися електро-хемілюмінесцентним методом на аналізаторі Elecsys 2010 від компанії Roche (виробник Швейцарія).

У процесі досліджень встановлено, що рівень кортикостерону у сироватці крові самців контрольної групи ювенільного віку періоду статевого дозрівання складав $264,8 \pm 21,9$ нмоль/л, під впливом кофеїну рівень гормону вірогідно знизився в 1,5 раза. В молодому віці репродуктивного періоду у щурів контрольної групи рівень гормону вірогідно знизився до $105 \pm 2,8$ нмоль/л відносно попередньої вікової групи, а в експериментальній групі вміст кортикостерону складав $108,6 \pm 0,5$ нмоль/л. В кон-

трольній групі щурів зрілого віку репродуктивного періоду спостерігалось вірогідне зниження в 5,9 раза вмісту кортикостерону відносно значень рівня гормону у щурів ювенільного віку. Під впливом кофеїну у щурів зрілого віку вміст гормону у сироватці крові мав тенденцію до збільшення в 1,4 раза відносно контрольної групи. У самців щурів контрольної групи передстаречого віку періоду виражених старечих змін рівень кортикостерону складав $118,2 \pm 2,6$ нмоль/л, що свідчило про хвилеподібність вікових змін. Під впливом 30-денного аліментарного кофеїнового навантаження у щурів передстаречого віку вірогідно збільшився вміст гормону у сироватці крові у 1,3 раза та складав $153,4 \pm 4,87$ нмоль/л. В старечому віці періоду виражених старечих змін у щурів самців контрольної групи вміст кортикостерону вірогідно знижується у 5,8 та 2,6 раза відносно самців ювенільного та передстаречого віку, а також був близьким до значень щурів зрілого віку. У самців експериментальної групи старечого віку спостерігали вірогідне підвищення рівня гормону в 1,2 та 3,9 раза відносно результатів самців даного віку контрольної групи та експериментальної групи передстаречого віку.

Таким чином, встановлено, що з віком вміст кортикостерону знижувався до найнижчих значень у щурів зрілого та старечого віку. Натомість в передстаречому віці кофеїн навпаки призводив до вірогідного збільшення вмісту гормону. Можемо припустити, що під дією 30-денного впливу кофеїну, вірогідне зменшення синтезу стероїдних гормонів у щурів може бути пов'язане з перерозподілом синтезу холестеролу. Ці зміни можуть призвести до зниження рівня адаптаційних реакцій до дії внутрішніх та зовнішніх чинників, до погіршення метаболічних процесів, зниження репродуктивної функції та передчасному старінню щурів навіть молодого та зрілого віку.

ВІКОВІ ЗМІНИ РІВНЯ ДЕГІДРОЕПІАНДРОСТЕРОН-СУЛЬФАТУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ САМЦІВ ЩУРІВ

МУКВИЧ В.В.¹, ЛЯШЕНКО В.П.², ЛУКАШОВ С.М.³

¹ПРИДНІПРОВСЬКА ДЕРЖАВНА АКАДЕМІЯ ФІЗИЧНОЇ КУЛЬТУРИ І СПОРТУ, ДНІПРО, УКРАЇНА;

²ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;

³ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНИЙ НАУКОВО-КОНСУЛЬТАТИВНИЙ ЦЕНТР "ГОЛОВНИЙ БІЛЬ", ДНІПРО, УКРАЇНА;

e-mail: mukvichv@ukr.net

Найбільш вразливими та чутливими до різних аспектів вікових змін, що протікають в організмі є системи, які забезпечують обмін речовин на клітинному рівні, а саме транспортні (кровоносна й лімфатична) та регуляторні (ендокринна, нервова, імунна). Погіршення ефективності фізіологічних функцій ендокринних залоз внутрішньої секреції розглядають як невід'ємну складову процесу старіння. Оскільки гормони приймають участь у регулюванні багатьох фізіологічних систем в організмі, тому в основі більшості онтогенетичних досліджень науковці значну увагу приділяють саме вивченню гормонів. Одним із таких гормонів, що характеризується надзвичайною чутливістю до вікових змін в організмі та іменується, як "гормон молодості", є дегідроепіандростерон-сульфат (ДГЕА-С).

Метою представленої роботи було визначення вікових змін рівня дегідроепіандростерон-сульфату в сироватці крові самців щурів.

Експерименти були проведені на нелінійних безпородних білих щурах самцях. Для розподілу тварин на досліджувані групи використано вікову класифікацію лабораторних тварин Західнока І.П. Згідно якої щури за віком були розподілені на III групи: I група (2,5 міс.) – щури ювенільного віку періоду статевого дозрівання; II група (8 міс.) – щури молодого віку репродуктивного періоду; III група (14 міс.) – щури зрілого віку репродуктивного періоду. Для щурів, які входили в досліджувані групи, перед початком проведення експериментальної частини нашої роботи був проведений карантин відповідно до всіх правил зоогієни.

Визначення рівня ДГЕА-С здійснювали електрорезонансним методом на аналізаторі Elecsys 2010 від компанії Roche (виробник Швей-

царія). Загальна тривалість аналізу: 18 хвилин. Статистичну обробку результатів, отриманих під час проведення експериментальної частини досліджень на нелінійних безпородних білих щурах самцях різних вікових груп, проводили за допомогою програми Origin 6.0 Professional методом парних порівнянь. Розраховували середню арифметичну та її помилку для кожної досліджуваної групи тварин. Достовірність визначали за *t*-критерієм Стьюдента. Зміни рахувалися вірогідними при рівні значимості $P < 0,05$.

У самців щурів ювенільного віку рівень дегідроепіандростерон-сульфату в сироватці крові становив $12,05 \pm 0,5$ мкг/дл. З віком у самців щурів, а саме в молодому віці простежували тенденцію до зниження відповідного гормону в сироватці крові. Початок зрілого віку в самців щурів характеризується різким вірогідним зниженням рівня даного гормону в 12 та 8,2 раза порівнюючи з відповідними показниками в самців ювенільного та молодого віку. Слід відзначити, що за результатами дослідження тварин представлених трьох вікових груп, найвищий рівень ДГЕА-С зафіксовано в самців ювенільного віку, а найнижчий – у самців зрілого віку. На підставі отриманих даних в ході експерименту, можемо зробити висновки, що з віком у самців щурів рівень ДГЕА-С в сироватці крові знижується. Ймовірно, це пов'язано із зменшенням синтезу анаболічних гормонів на фоні підвищення катаболічних процесів в організмі щурів. Оскільки відомо, що всі стероїдні гормони синтезуються з холестеролу, напевно пригнічується ланка синтезу ДГЕА-С, натомість активується синтез прогестерону з якого в подальшому синтезуються катаболічні гормони.

ВПЛИВ АДЕМЕТІОНІНУ І КОГНІФЕНУ НА АДГЕЗИВНІ ПРОТЕЇНИ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ХРОНІЧНОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ

МУРАВЙОВА Д. В.¹, УШАКОВА Г. О.¹, ЖИЛЮК В. І.²

¹ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;

²ДЗ "ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ МОЗ УКРАЇНИ", УКРАЇНА;

e-mail: dimuraviova@gmail.com

Останніми роками дедалі більша увага приділяється медикаментозноіндукованим ураженням

печінки, які складають до 10% від загального числа побічних реакцій, пов'язаних з використанням лі-

карських засобів. За умов сумісного застосування ізоніазиду та рифампіцину спостерігається ефект потенціювання, у тому числі і токсичності, що збільшує ризик ушкодження печінки, що може провокувати помітні зміни в різних органах, включаючи мозок. Так як, мішенню негативного впливу ендотоксинів у головному мозку в першу чергу є мембранозв'язані протеїни, в тому числі нейрональні молекули клітинної адгезії (НМКА), дослідження саме цих протеїнів за вказаних умов, а також ймовірні шляхи їх фармакологічної корекції, може бути актуальним, і розкрити нові ланки у патогенезі розвитку когнітивних порушень. Виконана робота присвячена дослідженню адгезивних протеїнів у гіпокампі та таламусі мозку щурів за умов тривалого введення рифампіцину та ізоніазидату корекції патологічного стану гепатопротектором Адеметіоніном та комбінованим ноотропним засобом – Когніфеном.

Експеримент проводили на статевозрілих щурах лінії Wistar відповідно до етичних положень роботи з тваринами. Щури були поділені на 4 групи (n=6): 1 – експериментальна група, для моделювання хронічного медикаментозного гепатиту (ХМГ) щурам інтрагастрально вводили рифампіцин в дозі 86 мг/кг і ізоніазид в дозі 50 мг/кг з використанням полісорбату (LAUROPAN T/80, Італія) і дистильованої води, тричі на тиждень протягом 28 днів. 2 – контрольна група – тваринам вводили аналогічний обсяг розчинника. Щурам 3 групи вводили Адеметіонін (Гептрал®, Abbott Laboratories GmbH) в дозі 35 мг/кг. Щури 4 групи отримували комбінований засіб, що містить іпідакрин гідрохлорид/фенібут ("Когніфен®", Olainfarm, Латвія) в дозі 75 мг/кг. Через 24 год після останнього введення препаратів тварин виводили з експерименту згідно дотримання етичних правил поводження з лабо-

раторними тваринами. Виділяли гіпокамп і таламус, з яких отримували цитозольну та мембранну фракції протеїнів за допомогою диференційного ультрацентрифугування. Кількісне визначення НМКА визначали за допомогою конкурентного твердофазного імуноензимного аналізу. Статистичну обробку результатів проводили за однофакторним дисперсійним аналізом ANOVA. Вірогідними зміними вважали дані за $P < 0,05$.

Після моделювання хронічного впливу рифампіцину та ізоніазиду спостерігали зниження вмісту водорозчинної форми НМКА у гіпокампі на 26 % та у таламусі на 13 % у порівнянні з контрольною групою. Вміст мембранної НМКА у таламусі знизився також на 13 %, що вказує на вплив рифампіцину та ізоніазидату на силу адгезивних контактів, що призводить до послаблення синаптичної пластичності в досліджуваних відділах мозку.

За умов застосування Адеметіоніну під час дії рифампіцину та ізоніазиду не визначено вірогідної різниці між експериментальними групами, знижений вміст як водорозчинної, так і мембранної НМКА залишався в середньому на 19 % менше, ніж у контрольних тварин. За умов дії рифампіцину і ізоніазидату застосування Когніфена, вміст обох форм НМКА у таламусі та мембранної у гіпокампі залишався на рівні контрольних значень. Більш того, водорозчинна НМКА у гіпокампі перевищила показники контрольної групи на 21 %.

Можна припустити, що доза та термін застосування Адеметіоніну були недостатні для відновлення печінки та зниження токсичного впливу на мозок. А цілеспрямована дія Когніфена саме на нервову тканину – швидше корегує її стан та підтримує функціональну сталість адгезивних контактів, запобігаючи негативному впливу рифампіцину та ізоніазиду на вказані відділи мозку щурів.

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ НА ПОКАЗНИКИ МЕТАБОЛІЗМУ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ У РІЗНИХ ОРГАНАХ

НЕЧИПОРУК В.М.¹, КОРДА М.М.², СТРУТИНСЬКА О.Б.¹

¹ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;

²ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО, УКРАЇНА;

e-mail: nechiporuk@vnm.edu.ua

Гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) вважається незалежним фактором ризику серцевих захворювань (атеросклерозу, гіпертонії, венозного тромбозу). Відомо, що до розвитку ГГЦ призводить гіпотиреоз. З іншого боку, порушення функції щитоподібної залози також асоціюється з кардіоваскулярними розладами. Метою дослідження було оцінити вплив тиреоїдних гормонів на показники метаболізму сірковмісних амінокислот у різних органах тварин із гіпер- та гіпотиреозом.

У роботі використано 40 щурів-самців масою 150-180 г. Для моделювання гіпер- і гіпотиреоїдизму щурам щоденно ентерально вводили розчин L-тироксину (200 мкг/добу на 1 кг маси) або мерказолілу (10 мкг/добу на 1 кг маси) протягом 14 та 21 доби. У тканині печінки та нирок визначали активність ензимів, що забезпечують процеси реметилювання – S-аденозилметіонінсинтети (S-АМС), S-аденозилгомоцистеїнгідролази (S-АГГ), бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (БГМТ), а також

активність ензимів які забезпечують процеси обміну цистеїну – цистеїнамінотрансферази (ЦАТ), цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ), цистатіонін-β-синтази (ЦБС). В сироватці крові визначали загальний вміст гомоцистеїну (ГЦ) та цистеїну.

Нами встановлено, що експериментальний гіпертиреоз призводив до зростання активності S-АМС на 21-шу добу в печінці на 34 %, а в нирках – на 63 %. Водночас гіпотиреоз знижував активність S-АМС в печінці (на 27 та 31 % на 14-ту і 21-шу доби) і нирках (на 33 та 40 % на 14-ту і 21-шу доби). Під впливом L-тироксину зазнавав змін функціональний стан наступного ензиму циклу метилювання – S-АГГ (на 21-шу добу його активність зросла на 35 % у печінці та на 59 % у нирках). При введенні мерказолілу активність S-АГГ зазнавала пригнічення у печінці на 24 % на 21-шу добу, в нирках - на 39 та 46 %. Активність БГМТ підвищувалася при введенні L-тироксину в обидва терміни дослідження як у печінці (на 38 та 45 %), так і в нирках (на 35 та 47 %). Моделювання гіпотиреодизму викликало пригнічення активності БГМТ в обидва терміни дослідження (у печінці – на 33 та 36 %, у нирках – на 35 та 47 %). У тварин із гіпотиреозом спостерігали зниження активності ЦБС в печінці на 33 % (на 21-шу добу), в нирках – на 18 та 28 %, активності ЦГЛ в печінці на 33 % (на

21-шу добу), в нирках – на 37 та 39 %, активності ЦАТ в печінці на 36 та 38 %, в нирках тільки на 19 % (на 21-шу добу). Тривале введення L-тироксину призводило до підвищення активності ензимів в нирках (активність ЦБС зросла на 21 %, а ЦГЛ на 100 %). Встановлено зниження на 17 та 24 % концентрації H₂S в крові при гіпотиреозі. Як на 14-й, так і на 21-й день після введення L-тироксину рівень ГЦ в сироватці знижувався (на 19 та 23 %) і, навпаки, при застосуванні мерказолілу вміст ГЦ підвищувався (на 98 та 160 %).

Отже, як при гіпер-, так і при гіпотиреозі порушується функціонування ензимів циклу реметилювання в печінці та нирках, при цьому активність S-АМС, S-АГГ та БГМТ за гіпофункції щитовидної залози знижується, а у разі гіперфункції – підвищується. Нестача тиреоїдних гормонів в організмі дослідних тварин супроводжується пригніченням десульфуразної активності трьох основних ензимів – ЦБС, ЦГЛ і ЦАТ, що призводить до зниження концентрації H₂S в крові. Можливо, що одним із важливих патогенетичних факторів розвитку гіпертензії, гіперкоагуляції та ряду серцево-судинних ускладнень у пацієнтів із розладами функції щитоподібної залози є порушення метаболізму сірковмісних амінокислот в органах.

ЕЕF1A ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ МАРКЕР ДІАБЕТУ ПЕРШОГО ТИПУ

НОВОСИЛЬНА О.В.¹, ПОХОЛЕНКО Я.О.¹, ТОПОРОВА О.К.¹, АКОПЯН Г.Р.^{2,3}, ТАБАРКЕВИЧ Я.³, НЕГРУЦЬКИЙ Б.С.¹

¹ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ДУ “ІНСТИТУТ СПАДКОВОЇ ПАТОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ”, ЛЬВІВ;

³УНІВЕРСИТЕТ М. ЖЕШУВ, ПОЛЬЩА;

e-mail: aleksnova@yahoo.com

Цукровий діабет першого типу (ЦД1) є наслідком автоімунного руйнування бета-клітин острівків Лангерганса підшлункової залози. Оскільки основна маса бета-клітин гине раніше, ніж з'являються ознаки діабету, вкрай важливим є проводити діагностику і лікування на доклінічному етапі хвороби, коли ще можливо запобігти деструкції бета-клітин і розвитку важких ускладнень.

Нещодавно майже у 30 % хворих на ЦД1 із популяції Кореї були виявлені автоантитіла до фактора елонгації трансляції eEF1A1, що дало змогу запропонувати їх як новий маркер ЦД1 (Koo et al., 2014). Важливо, що автоантитіла до протеїну eEF1A1 виявлялися у хворих, у яких не працював найбільш розповсюджений на сьогодні маркер ЦД1 GADA. До того ж, наявність в сироватці антитіл до білка eEF1A1 дозволяла виключити латентний автоімунний діабет дорослих. Зважаючи на перспективність даного маркера, а також відмінності

української і корейської популяцій, було вирішено проаналізувати наявність таких автоантитіл у слов'янській популяції хворих на ЦД1.

Важливо, що в острівках Лангерганса підшлункової залози присутня не ізоформа eEF1A1, а інша ізоформа цього протеїну, eEF1A2 (Newbery et al., 2007). Зважаючи на це, було перевірено, чи не може бути вибірково автоантигеном, до якого напрацьовуються автоантитіла, саме ізоформа eEF1A2. Для цього були використані модель стрептозотозинного діабету мишей та індивідуальні протеїни eEF1A1 і eEF1A2 в якості антигенів. Показано, що автоантитіла, що продукуються у сироватці хворих на діабет мишей, впізнають обидві ізоформи протеїну eEF1A, тобто цілком вірогідно, що саме eEF1A2, а не eEF1A1, запропонований як маркер раніше (Koo et al., 2014), є справжнім автоантигеном при ЦД1. Аналогічні результати були отримані із використанням сироваток хворих на

ЦД1 людей. Крім того, використовуючи окремі домени eEF1A1, було встановлено, що епітоп розташований на домені 2 цього протеїну, що в подальшому може бути використано для розробки тест-систем та, можливо, стратегії лікування ЦД1.

Наступним етапом була перевірка рівня аутоантитіл до eEF1A в українській та польській попу-

ляціях хворих на ЦД1. Були використані сироватки дорослих пацієнтів і дітей із ЦД1 з України і Польщі та індивідуальний протеїн eEF1A1 як антиген. Показано статистично достовірне перевищення рівня анти-eEF1A антитіл у хворих на ЦД1 пацієнтів у порівнянні із контрольними сироватками здорових людей.

ХРОНІЧНЕ ЗАПАЛЕННЯ ЯК АКТУАЛЬНИЙ НАПРЯМ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗАСАД РОЗВИТКУ КОМОРБІДНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

НОСАЧ О.В., САРКІСОВА Е.О., АЛЬОХІНА С.М., ОВСЯННІКОВА Л.М., ЧУМАК А.А.
ДУ "НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ НАМН УКРАЇНИ", КИЇВ;
e-mail: elenanosach@ukr.net

Мета роботи: окреслення перспективних напрямів наукових досліджень щодо метаболічного підґрунтя розвитку хронічних неінфекційних захворювань з коморбідним перебігом в осіб, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії.

Методи дослідження: ретроспективний аналіз результатів власних 20-річних досліджень з визначення показників, що характеризують процеси окислювальної модифікації протеїнів і ліпідів та стан антиоксидантної системи; аналіз актуальної наукової інформації щодо результатів досліджень з питань діагностики хронічних коморбідних захворювань.

Встановлено, що характерною особливістю стану здоров'я постраждалих внаслідок Чорнобильської аварії є наявність кількох хронічних неінфекційних соматичних захворювань із взаємообтяжуючим перебігом. При цьому спостерігається стійка тенденція до збільшення поширеності нозологічних форм, патогенетичною основою яких вважають системну запальну реакцію з альтерацією судин мікроциркуляторного русла на тлі окислювального стресу, імунопатологічних та деструктивно-дистрофічних змін. Протягом всього після-аварійного періоду реєструвалися різноманітні порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у хворих з коморбідним перебігом захворювань гепатобілярної зони, серцево-судинної системи та/або дисциркуляторної патології головного мозку. Аналіз даних літератури щодо змін в основних системах організму постраждалих свідчить про те, що вони частіше мають полісиндромний характер із розвитком синдромів окислювальної деструкції, інсуліно- та лептинорезистентності, порушень вуглеводного та ліпідного обміну, змін гормонально-ліпідного спектра та фібропластичних процесів.

Дотепер опубліковані численні дані щодо того, що в основі хронічного запалення лежить системна альтерація, яка провокує генералізацію базових механізмів програми запального процесу поза межами локусу запалення та розвиток феномену вторинного пошкодження. Високотоксичні продукти вільнорадикального окислення накопичуються в організмі та спричиняють деполімеризацію матриксу сполучної тканини безпосередньо або шляхом активації протеолітичних ензимів і матриксних металопротеїназ, активують лейкоцитарну колагеназу, сприяють розвитку апоптозу та некрозу ендотеліоцитів і подальшій інтенсифікації запально-деструктивних процесів. В окремих випадках можна виділити ключові тригери, в інших – змінюються декілька параметрів гомеостазу без ознак домінуючої ланки. Сучасні статистичні підходи дозволяють виявляти плейотропні генетичні впливи при коморбідній патології та конструювати метаболічні мережі. Проте роль системного запалення низького рівня у розвитку коморбідних хронічних патологічних процесів і його взаємозв'язок із іншими патогенетичними механізмами остаточно нез'ясовані, що стримує впровадження відповідних діагностичних маркерів у клінічну практику.

Хронічна соматична коморбідна патологія формується на тлі патологічних станів, що набувають системного характеру внаслідок дискоординації інтеграційних систем забезпечення гомеостазу. Це визначає особливості клініко-функціонального статусу хворих, поліморфізм клінічних проявів і тяжкість метаболічних порушень. Актуальною є розробка системи лабораторної оцінки (з урахуванням маркерів запальної реакції), придатної для клінічного застосування з метою вирізнення пацієнтів, перебіг захворювань у яких підвищує імовірність летальних наслідків.

РОЗРОБКА НОВИХ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК З ІНГІБУВАЛЬНОЮ ДІЄЮ ЩОДО РЕПАРАТИВНОГО ЕНЗИМУ О6-МЕТИЛГУАНІН-ДНК МЕТИЛТРАНСФЕРАЗИ

НІДОЄВА З.М., ЯЦИШИНА А.П., ВОЛИНЕЦЬ Г.П., РУБАН Т.П., МАЦЕВИЧ Л.,
БАЛАНДА А.О., БДЖОЛА В.Г., ЯРМОЛЮК С.М., ЛУКАШ Л.Л.
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: a.p.iatsyshyna@imbg.org.ua

О6-метилгуанін-ДНК метилтрансфераза (MGMT) є репаративним ферментом, який видаляє алкільні групи з О6-позиції гуаніну в ДНК і відіграє важливу роль у підтриманні геномної стабільності клітин. Однак, MGMT може спричиняти стійкість пухлинних клітин до алкілювальних сполук хіміотерапії і знижувати ефективність лікування. На сьогодні розроблено різні інгібітори MGMT, які є аналогами відомого інгібітора MGMT – О6-бензилгуаніна (О6-БГ). Недоліком цих інгібіторів є висока токсичність щодо клітин кісткового мозку та інших нормальних клітин, які швидко діляться, а систематичне використання таких неселективних інгібіторів MGMT в комбінації з алкілювальними сполуками спричиняє мієлосупресію і виникнення вторинних пухлин. Тому метою нашої роботи була розробка нових низькомолекулярних нуклеозидних високоактивних і нетоксичних інгібіторів MGMT.

У роботі використовували такі методи: віртуальний скринінг із використанням програми AutoDock, флуоресцентний MGMT метод у двох модифікаціях (із стоп-реакцією та без неї), методи культивування клітин ссавців *in vitro*, МТТ-тест, клоногенний тест, Вестерн-блот аналіз, експерименти на модельних тваринах *in vivo*, методи статистичного аналізу отриманих даних.

За результатами віртуального скринінга колекції сполук, що налічувала більше 100000 лігандів, відібрали 99 сполук для дослідження їх інгібувальної активності щодо MGMT *in vitro*. Дію потенційних інгібіторів на метаболічну активність клітин вивчали в широкому діапазоні концентрацій порівняно з інгібітором О6-БГ. Після пілотного тестування для подальшого аналізу відібрали 15 сполук, 12 із яких не відрізнялись суттєво за цитотоксичністю або були менш токсичними, ніж О6-БГ. Також, МТТ-тест використали для швидкого відбору сполук, здатних інгібувати MGMT в пухлинних клітинах людини

НЕР-2 та посилювати цитотоксичний ефект алкілятора N-нітрозогуанідину. В результаті проведеного аналізу ідентифіковано 6 таких речовин.

За результатами флуоресцентного MGMT методу виявили, що близько двадцять сполук інгібують рекомбінантний MGMT *in vitro* на ≥ 30 % відносно стандартного інгібітора О6-БГ. У результаті клоногенного тесту, проведеного на клітинах карциноми миші ЕМТ6hAGT18, виявили, що 5 із відібраних активних сполук здатні інгібувати MGMT у пухлинних клітинах *in cellulo* та збільшувати цитотоксичність алкілятора 90CE (1,2-біс(метилсульфоніл)-1-(2-хлороетил)гідразин). Найефективнішими інгібіторами були сполуки під присвоєними номерами № 41 та № 63. При використанні клітин НЕР-2 і нітрозогуанідину знайдено дві ефективні сполуки – № 41 і № 59. Також, методом Вестерн-блот аналізу показали значне зниження кількості MGMT у клітинах людини після обробки стандартним інгібітором О6-БГ і сполукою № 41. У результаті проведення експериментів на модельних тваринах виявили, що сполуки № 41 і № 59 у концентраціях 10 і 2 мМ, відповідно, не спричиняють подразнення шкіри. При інтраперитонеальному введенні 5 мг/кг даних сполук не виявили жодних змін у загальному стані мишей, соматомоторній активності, а також патологічних проявів із боку серцево-судинної, респіраторної та нервової систем протягом 14 днів. Також не спостерігали смертності, жодних змін внутрішніх органів при некропсії.

Таким чином, серед відібраних за результатами віртуального скринінгу сполук знайдено два нуклеозидні інгібітори MGMT, що не виявляють цитотоксичності у пухлинних клітинах людини *in vitro*, здатні посилювати цитотоксичний ефект алкілювальних сполук *in vitro* та не виявляють гострої токсичності в організмі піддослідних тварин *in vivo*.

CORRELATION BETWEEN CYTOPROTECTIVE ACTION OF GERMANIUM COORDINATION COMPOUNDS AND SULFHYDRYL GROUP CONTENT IN INTOXICATION WITH DOXORUBICIN

NIZHENKOVSKA I.V., NAROKHA V.P.
BOGOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV, UKRAINE;
e-mail: v.narokha.nmu@gmail.com

An important direction in the development of new promising chemical compounds includes the studies of biochemical mechanisms of their established pharmacological activity.

The purpose of this work was to investigate the correlation between the cytoprotective properties of the coordination compounds of germanium with organic bioligands and the content of sulfhydryl groups in the myocardium and the liver of experimental animals in intoxication with doxorubicin and to compare the results with data on cardioprotective and hepatoprotective effects of these compounds.

Biologically active substances represented by coordination compounds of germanium with nicotinic acid were used in the experiments. The experiments were conducted on rats of both sexes weighing 180–220 g. The cytoprotective effects of the compounds were studied after daily *i/p* administration for 35 days in chronic intoxication with doxorubicin. The levels of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl (SH)-groups were determined in the myocardium and the liver using the Ellman's reagent on the 36th day of the experiment. The study results were statistically processed using generally accepted methods of variation statistics. The probability of the differences

between the control and test parameters was estimated using the Student's t-test.

During the study of the sulfhydryl group content in a pathology model, a significant decrease in the total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups was observed (1.54, 1.33 and 1.77 times in the myocardium and 1.28, 1.27 and 1.37 times in the liver, respectively ($P<0.05$)) compared to the control group, which was consistent with the literature data on the key role of doxorubicin in the development of oxidative stress. Administration of biologically active compounds affected the parameters of thiol groups, depending on the target organ and dose, but the corrective effects were observed both in the myocardium and in the liver ($P<0.05$).

The obtained data on the restoration of the content of sulfhydryl groups in the rat myocardium and liver after administration of coordination compounds of germanium in doxorubicin toxic action is consistent with the literature data on the cardioprotective and hepatoprotective activity of the studied compounds established based on their antioxidant activity. The obtained results will be used in the future studies of biochemical mechanisms of the pharmacological activity of a number of coordination combinations of metals with organic bioligands.

SPECTROSCOPY AND THERMODYNAMIC STUDIES OF AN INTERACTION BETWEEN INTERFERON A2B, OLIGORIBONUCLEOTIDES AND RIBONUCLEOTIDES

NIKOLAIEV R.O., CHERNYKH S.I., TKACHUK Z.Yu.
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: romanfromukrain@gmail.com

Interactions protein-nucleic acids play a decisive role in many biological processes. From previous studies in our laboratory, it is known that acidic forms of oligoribonucleotides (ORNs) have immunomodulatory and anti-inflammatory effects, saline forms only immunomodulatory, and the complex of acidic forms of ORN with mannitol, besides anti-inflammatory and immunomodulatory activity, also has antiviral activity. However, the mechanism of this process remains unclear. We studied the ability of yeast oligoribonucleotides RNA (ORNs), oligoribonucleotides RNANa

salt (ORNsNa), oligoribonucleotides-D-mannitol complex (ORNs-D-M) and RNANa salt with mannitol (ORNsNa-D-M) to affect fluorescence quenching, thermodynamic parameters of interaction and conformational changes of Interferon $\alpha 2b$ – a key protein of the antiviral cell defence mechanism. We also conducted research with ribonucleotides.

To investigate the interaction and conformational changes of IFN protein, the fluorescence, CD (circular dichroism) spectroscopies and isothermal titration calorimetry (ITC) were used. The analysis of IFN

secondary structure changes made by service Bestsel.

The dissociation constant $K_d=1.11\pm 0.09 \mu\text{M}$ was observed in the fluorescence quenching interaction between INF and ORNs-D-M. The dissociation constant between INF and ORNs is $K_d=2.36\pm 0.47 \mu\text{M}$, between INF and ORNsNa – $K_d=2.15\pm 0.16 \mu\text{M}$ and INF and ORNsNa-D-M $K_d=3.13\pm 0.46 \mu\text{M}$. The dissociation constant $K_d=1.74\pm 0.09 \mu\text{M}$ was observed in the fluorescence quenching interaction between INF and AMP-D-M. The dissociation constant between INF and AMP is $K_d=7.95\pm 0.41 \mu\text{M}$, between INF and AMPNa – $K_d=12.1\pm 0.19 \mu\text{M}$ and INF and AMPNa-D-M $K_d=9.4\pm 0.73 \mu\text{M}$. The results obtained for quenching the INF- $\alpha 2b$ fluorescence intensity with the addition of ORN and AMF show that ligands of nucleic nature in acid form, and especially in combination with mannitol, are more strongly bound to interferon $\alpha 2b$ in comparison with saline analogs. That served as an impetus for further research.

The analysis of INF secondary structure shows that ORNs and AMP in acid form, and especially in combination with mannitol, lead to changes in conformational mobility due to the increased content of

disordered sites. At the same time, salt analogs increase the number of structured secondary elements and significantly increase the conformational stiffness of interferon.

To determine the energy parameters of protein-ligand interactions, we used ITC. The curves of titration of INF with ORN indicate that the reaction of the interaction between protein and acidic ligands is exothermic and with saline endothermically. It is known that in the exothermic protein-ligand interaction, there is an increase in the activity of the protein and an endothermic – inhibition, due to changes in protein confinement. Thus, the same compound in various forms may act as an inhibitor and activator for the protein. To test this assumption in the case of nucleotide ligands, we plan to conduct studies with the interferon receptor.

The ORNs and ribonucleotides have the advantage of interacting with proteins, unlike salt ORNs and AMP, because they have a stronger binding. Different effects of different forms of ORNs and AMP on the secondary structure of the INF can be explained by various binding sites.

ЕНЗИМО ЦИТОКІНОВІ ІНДИКАТОРИ ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КАНАЛЬЦЕВОГО НЕФРОТЕЛІУ ПІСЛЯ ЧЕРЕЗМІХУРОВОЇ КОРЕКЦІЇ ВАД УРЕТЕРО-ВЕЗИКАЛЬНОГО СЕКМЕНТА У ДІТЕЙ

НИКУЛІНА Г.Г., ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ В.Ф., МИГАЛЬ Л.Я., ДРАННІК Г.М.,
КАЛІНІНА Н.А., СЕРБІНА І.Є., КАЛІЩУК О.А., САВЧЕНКО В.С.
ДУ "ІНСТИТУТ УРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", КИЇВ;
e-mail: irinaserbina@gmail.com

На сьогодні черезміхурова уретероцистонеостомія в арсеналі лікувальних заходів є однією з перевірених часом та високоефективних методик корекції вад уретеро-везикального сегмента (УВС) у дітей. Однак хірургічне втручання на відкритому сечовому міхурі є одночасно як лікувальною, так і травматичною дією. Відомо, що у дітей після проведення корекцій вад УВС та відновлення сечовипускання впродовж перших 3–4 тижнів має місце суттєве погіршення уродинаміки нижніх сечових шляхів за гіперрефлекторним типом. В літературі наводяться дані, що наявність гіперактивної дисфункції сечового міхура може зумовлювати підвищення екскреції прозапальних та просклеротичних цитокінів, а також підвищення активності умовно-реноспецифічних ензимів в сечі, що є ознаками порушень функції нирки, розвитку запального процесу в паренхімі нирки та її нефросклерозу.

Метою роботи було вивчення впливу черезміхурової корекції вад УВС у дітей на відновлення

функціонального стану паренхіми нирки за рівнем активності ензиму щіткової облямівки каналця нефрону гама-глутамілтранспептидази (ГГТ) та рівнями екскреції цитокінів – фактора некрозу пухлин альфа (ФНП) і трансформуючого фактора росту бета-1 (ТФР) в різні терміни після операції.

Обстежено 45 дітей віком від 4 до 15 років (22 хлопчики, 23 дівчинки) з вадами УВС до та після реконструктивних операцій: через 3-4 тижні та через 6 місяців. До операції у всіх дітей клінічні прояви нейрогенної дисфункції сечового міхура були відсутні. Контроль – 25 практично здорових дітей аналогічного віку та статі з нормальними аналізами сечі (без протеїн-, лейкоцит-, еритроцит- та кристалурії, слизу та бактерій). Активність ГГТ в сечі визначали колориметричним методом та виражали в мкмоль/год/ммоль креатиніну сечі. Визначення вмісту ФНП та ТФР в сечі проводили імуноензимним методом у відповідності з інструкцією виробника, результати виражали в пг/мл сечі.

Встановлено, що активність ГГТ у сечі дітей до операції становила $122,8 \pm 13,3$ мкмоль/год/ммоль креатиніну, у контролі – $22,9 \pm 2,0$ ($P < 0,001$). Рівень ФНП у сечі дітей до операції складав $64,8 \pm 9,4$ пг/мл ($9,7 \pm 2,1$ пг/мл у контролі), рівень ТФР – $16,3 \pm 2,9$ пг/мл ($3,85 \pm 1,7$ пг/мл у контролі), що вірогідно більше відносно аналогічних показників контролю ($P < 0,001$) і свідчить про високий ризик розвитку запальних та профібротичних процесів у нирках дітей з вадами УВС. Через 3–4 тижні після реконструктивних операцій активність ГГТ та рівні ТФР сечі практично не знижувалась, а рівні ФНП, навпаки, навіть підвищилися, що вказує на загострення запальних та профібротичних процесів у паренхімі нирки дітей. Через 6 місяців після оперативного лікування лише у 34 % хворих констатована практично нормалізація активності ГГТ в сечі ($P < 0,001$), норма-

лізація рівнів ТФР, а також суттєве зниження рівнів ФНП ($P < 0,05$); в решті випадків, незважаючи на відновлення уродинаміки верхніх сечових шляхів, рівні активності ГГТ, вмісту ФНП та ТФР продовжували залишатися доволі високими, тобто активність процесів запалення та тубулоінтерстиціального фіброзу нирки на боці операції зберігається, ймовірність відновлюваних процесів у цих хворих є доволі низькою і потребує ренопротекторної терапії.

Отже, одержані результати свідчать, що рівні активності умовно реноспецифічного ензиму ГГТ, а також прозапального цитокіну ФНП та профібrogenного цитокіну ТФР у сечі дітей є неінвазивними та діагностично інформативними індикаторами ступеня відновлення функціонального стану канальцевого нефротелію після реконструктивних операцій з приводу вроджених вад УВС.

МОДУЛЯЦІЯ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ РІЗНИХ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНАХ

ОЛЕЩУК О.М.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ;
e-mail: loy@tdmu.edu.ua

Унікальні біологічні властивості оксиду азоту (NO) і його участь у різноманітних фізіологічних і патологічних процесах пояснюють значимість спеціальних засобів для впливу на захворювання опосередкованих NO. Відомо, що NO може проявляти як гепатотоксичну, так і гепатозахисну дію (J.D. Laskin, 2003). Тому цікавим є вивчення ефективності речовин-модуляторів синтезу оксиду азоту за умов експериментального ураження печінки різного генезу, а саме при гострому токсичному гепатиті, холестатичному, циротичному ураженні та ішемії-реперфузії печінки.

Як попередники синтезу NO використали амінокислоту L-аргінін (25 мг/кг) та лікарський засіб Глутаргін (L-аргінину L-глутамат) (45 мг/кг). Як неселективний блокатор NOS вводили N-нітро-L-аргінін метиловий ефір (L-NAME) (10 мг/кг), в якості селективних блокаторів iNOS використовували аміногуанідин (10 мг/кг) та мелатонін (10 мг/кг). Гострий токсичний гепатит у безпородних білих щурів-самців моделювали шляхом введення 50 % олійного розчину CCl_4 (2 г/кг). Холестатичне ураження печінки моделювали введенням α -нафтилізотіоціанату (АНІТ) одноразово (100 мг/кг). Циротичне ураження печінки моделювали шляхом введення експериментальним тваринам 50 % розчин CCl_4 перорально двічі на тиждень протягом 3 місяців із розрахунку 2 мл/кг маси тварини. При

ішемічно-реперфузійному пошкодженні (ІРП) накладали лігатуру на судинну ніжку лівої і середньої часток печінки на 30 хвилин. Час реперфузії становив 30 хв.

У результаті проведених досліджень встановлено, що прекурсори оксиду азоту L-аргінін та L-аргінину L-глутамат, незалежно від виду ураження, спричиняють гепатопротекторний вплив, що проявляється в пригніченні процесів цитолізу та холестази, покращенні мітохондріального дихання та детоксикаючої функції печінки, зменшенні ознак метаболічного ацидозу, усуненню дисбалансу в системі про/антиоксиданти, зниження вмісту iNOS та зростання eNOS, зменшення рівня прозапальних цитокінів, зумовлює відновлення морфологічної структури печінки. Неселективний блокатор NO-синтази L-NAME, незважаючи на тип патологічного процесу, викликає подальше порушення структури печінки, наростання явищ цитолізу та холестази, виснаження захисних компонентів антиоксидантної системи, активацію процесів ліпопероксидації, порушення функції електрон-транспортної системи мітохондрій та процесів детоксикації в печінці, наростання явищ метаболічного ацидозу та ендотоксикозу на тлі зниженого рівня нітрит- та нітратаніонів, вмісту eNOS, iNOS та зростання кількості прозапальних цитокінів. Застосування аміногуанідину та мелатоніну при гепати-

ті, холестази та цирозі призводить до часткового покращення функціонального стану та метаболічних процесів у печінці. Встановлено негативний вплив аміногуанідину на стан печінки при її ішемії-реперфузії, що вказує на протективну дію iNOS-індукованого синтезу оксиду азоту в ранні періоди реперфузії. Отже, покращення мор-

фо-функціонального стану печінки при її токсичному, холестатичному, ішемічно-реперфузійному та циротичному ураженні під впливом попередників синтезу NO та досліджуваних селективних інгібіторів iNOS сприятиме пошуку нових гепатопротекторних засобів-модуляторів синтезу оксиду азоту.

INFLUENCE OF CALCITRIOL ON DESULFURATION PROCESSES IN MYOCARDIUM OF RATS

OSTRENYUK R.S., ZAICHKO N.V., KACHULA S.O.

*NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY, VINNYTSA, UKRAINE;
e-mail: ostrenyuk.r@gmail.com*

Vitamin D₃ is a precursor of calcitriol (1.25(OH)₂D₃), a multifunctional hormone that regulates calcium-phosphorus metabolism, cell differentiation and proliferation, and has an immunomodulatory effect. Vitamin D₃ deficiency is a factor in the development of many pathological conditions, including diseases of the cardiovascular system. A close association was found between hypovitaminosis D₃ and cardiovascular risk factor – hyperhomocysteinemia. Vasotoxicity of hyperhomocysteinemia can be realized due to disturbances in the production of hydrogen sulfide (H₂S) – biologically active molecule, vasodilator and anti-agregant. Therefore, the influence of vitamin D₃ on the H₂S system in different organs and systems requires a more detailed study.

The aim of this work was to determine the influence of calcitriol on desulfuration processes in rat's myocardium.

Experiments were conducted on 30 white laboratory male rats (130–180 g). All stages of the experiment were conducted in accordance with the general principles of bioethics when working with experimental animals (Strasbourg, 1986). Two experimental groups

(n=10) received calcitriol at doses of 0.1-1 µg/kg orally for 4 weeks. We analyzed the content of H₂S by the reaction of N, N-dimethyl-para-phenylenediamine; the activity of cystathionine-γ-lyase (CSE, EC 4.4.1.1); cysteine aminotransferase (CAT, EC 2.6.1.3) and 3-mercaptopyruvate-sulfurtransferase (3-MST, EC 2.8.1.2); expression of CSE/β-actin mRNA (Real-time PCR) in myocardium homogenates.

The administration of calcitriol resulted in a dose-dependent increase in H₂S, increased activity of PLP-dependent L-cysteine desulfuration involving CSE (α, β-elimination), increase of relative expression level of CSE/β-actin mRNA in the myocardium. The administration of calcitriol in high doses caused an increase in desulfurase activity of CAT/3-MST.

Thus, calcitriol causes the increase in H₂S production in cysteine desulfuration reaction involving CSE and CAT/3-MST, the increases in the expression of CSE in the myocardium of rats. Deficiency of vitamin D₃ can cause disturbances in desulfuration processes in the myocardium and the development of cardiovascular diseases.

METFORMIN AND ITS COMBINATION WITH SODIUM HYDROSULFIDE INFLUENCES CSE/H₂S SYSTEM IN AORTA OF DIABETIC RATS

PALAMARCHUK I.V., ZAICHKO N.V.

*NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY, VINNYTSA, UKRAINE;
e-mail: ikynchik00@gmail.com*

H₂S is a gaseous transmitter and a metabolite of sulfur-containing amino acids that participates in vascular tone, myocardial contractility and endothelial cell angiogenesis. The role of changes in H₂S production and physiological effects on rat's cardiovascular sys-

tem, in particular on aortic contractility, in case of diabetes mellitus (DM) remains unclear.

This study was designed to investigate whether metformin and its combination with NaHS can influence cystathionine-γ-lyase/hydrogen sulfide (CSE/

H₂S) system and aortic contractility in the aorta of diabetic rats.

32 healthy male rats (180-250 g) were divided into 4 groups. To induct diabetes, rats (group 2–4) were injected with streptozotocin (STZ, 40 mg/kg/i.p). Diabetic rats from 3rd and 4th groups received metformin (500 mg/kg/day) orally and rats from 4th group received NaHS, 3 mg/kg/i.p. once per day starting from 3 to 28 day after streptozotocin injection. Rats of the first group (control) were administered the equivalent volumes of 0.9 % NaCl. Rats' aortas were sampled for determination of H₂S by reaction with N,N-Dimethyl-p-phenylene-diamine. Cystathionine gamma-lyase (CSE) activity in aorta and sensitivity of rats' aortic rings to H₂S was analyzed.

It was found that induction of streptozotocin diabetes (STZ-diabetes, group 2) was followed by low H₂S concentration and CSE activity (by 27.9 %, $P < 0.05$

and 38 %, $P < 0.05$ respectively) in aorta of STZ-DM rats, than that in controls. Administration of metformin (group 3) resulted in significantly higher H₂S concentration (by 26 %, $P < 0.05$) and CSE activity (by 33 %) than that in STZ-diabetic group. NaHS administration additionally to metformin reversed changes caused by the STZ-DM. Aortic ring sensitivity to H₂S was lower in STZ-DM group compared to control (in 1.3-1.4 times, $EC_{50}H_2S - 158 \pm 6.45 \mu M$ vs $- 94.1 \pm 4.0 \mu M$ in control, $P < 0.05$). Metformin reduced the negative effect of diabetes on H₂S-induced relaxation of the aorta. The administration of NaHS to diabetic rats potentiated the vasoprotective effect of metformin.

Vasoprotective activity of metformin can be partially realized through CSE/H₂S system and this effect was significantly intensified in the presence of H₂S donor.

ВПЛИВ ФУКОКСАНТИНУ НА РІВЕНЬ УШКОДЖЕННЯ ДНК, ЩО ЙОГО СПРИЧИНЮЄ ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС, ТА НА РЕПАРАЦІЙНУ ЗДАТНІСТЬ МОЛОДИХ І СТАРІЮЧИХ КЛІТИН

ПАПУРИНА Т.Б.

*ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ ІМ. Д. Ф. ЧЕБОТАРЬОВА НАМН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: tatyana_papurina@ukr.net*

Метою роботи було дослідити здатність фукоксантину зменшувати кількість двониткових розривів за умов попереднього профілактичного використання та його вплив на ефективність репарації за умов постстресового використання у проліферативно активних і сенілізованих фібробластів дерми.

У дослідженні використовували проліферативно активна і сенілізована культури фібробластів дерми. Підбір оптимальної концентрації фукоксантину для подальших досліджень на здатність до генопротекції і підвищення ефективності репарації проводили за допомогою МТТ-тесту. Для оцінки ефективності фукоксантину в якості генопротектора від двониткових розривів ДНК і вплив даної сполуки на репаративну здатність фібробластів дерми використовували метод нейтрального кометного гель-електрофорезу. Подальший аналіз знімків здійснювався за допомогою програми CASP Lab 1.2.3. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програм Microsoft Excel і STATISTICA.

В ході експерименту були встановлені концентрації фукоксантину, що не мали негативного впливу, але проявляли виражений стимулюючий ефект, і використовувались для подальшого вивчення його генопротекторного ефекту при оксидативних пошкодженнях. Під час дослідження генопротекторної здатності фукоксантину був виявлений його виражений позитивний вплив на проліферативно активні фібробласти дерми, а також менш виражений, але також достовірний ефект на сенільні фібробласти дерми. За умов застосування фукоксантину після оксидативного стресу достовірного впливу на зміни репараційної здатності не було виявлено ні для проліферативно активних, ні для сенільних фібробластів.

У ході дослідження виявлено, що фукоксантин проявляє виражений і достовірний профілактично-превентивний генопротекторний ефект, що виражається у зменшенні кількості двониткових розривів ДНК після оксидативного стресу, але не має вираженого позитивного впливу на ефективність репарації.

DO OXIDIZED DERIVATIVES OF THIAMINE PARTICIPATE IN REGULATION OF ITS METABOLISM?

PARKHOMENKO Yu.M., PAVLOVA O.S., MEZHENSKA O.O.,
STEPANENKO S.P., CHEHIVSKA L.I.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: yupark@biochem.kiev.ua

The long-term studies of vitamin B₁ (thiamine) metabolism in living cells have demonstrated the ability of this compound to turn into thiol form under physiological conditions, which, in the presence of an excess of oxidants, can further oxidise with the formation of thiochrome or disulfide. With the development of oxidative stress (OS) in cells, which is observed when the organism is affected by adverse factors, there is accumulation of oxidized forms of thiamine (Parkhomenko et al., 2015). The content of free thiamine in the pool of cellular thiamine derivatives is very low (up to 5 %), but ThDP predominates in all cells (from 80 to 90 % of total thiamine). Converting ThDP to an oxidized form is confirmed in studies not only under model conditions (Stepuro et al., 2012), but also *in vivo* (Parkhomenko et al., 2012). In particular, it has been shown that under the conditions of radiation exposure on the body, accompanied by the development of the OS, a critical reduction in the content of the active form of ThDP in the blood and brain tissue occurs due to ThDP oxidation into a disulfide and its accumulation in this form (Parkhomenko et al. 2015). Inevitably, the question arises: what effect can cause oxidized derivatives of thiamine, which able to interact with cell structures, in particular, with amino acid residues of proteins (Stepuro et al., 2008)

Considering all the above, the purpose of this study was to investigate the effect of different supply of organism with thiamine on the oxidative stress development, the oxidized ThDP (ThDPox) formation and on the activity and content of thiamine pyrophosphokinase (TPK, an enzyme responsible for the ThDP synthesis) in cells of three brain regions, namely cortex, cerebellum, hippocampus. The expression level of TPK mRNA was also analyzed under these conditions. Two models of thiamine deficit (TD), specifically, alimentary B₁-avitaminosis and hypovitaminosis were used in this work. Simultaneously with

the determination of the ThDP (enzymatic method with yeast apopyruvate decarboxylase was used) and ThDPox content, general parameters characterizing the oxidative-reducing state of metabolism were determined in the brain homogenates for both TD models in order to identify the relationship between the two factors in the brain tissue: insufficient supply of vitamin B₁ and oxidative stress development. As such, the content of free SH-groups (corresponds to the content of reduced glutathione) and the level of reactive oxygen species (ROS) were measured. The last one was determined using a specific molecular reagent-2',7'-dichlorofluorescein diacetate (H₂DCF-DA). In order to find out whether the oxidation of ThDP and changes in other investigated parameters under TD conditions were reversible, thiamine at a dose of 200 µg per animal or a drug Metovitane (25 mg/100 g of mass) was administered to separate groups of rats a day before decapitation.

The obtained results showed that under the conditions of chronic limitation of thiamine intake in the absence of oxidative stress (hypovitaminosis model), the ThDP synthesis by TPK enzyme in cells of various brain regions is regulated by the level of ThDP. The formation of the ThDP oxidized form in brain cells correlates with the level of reactive forms of oxygen. Under the conditions of severe B₁-avitaminosis, which is accompanied by the oxidative stress development, almost 75 % of ThDP is detected in an oxidized form, and the decrease in the TPK activity observed already at the level of *TPK* gene expression. Since, under these conditions, oxidized form of ThDP predominates in its intracellular pool, and taking into account the data that *in vitro* disulphide thiamine derivatives are capable to inhibit the production of HIV-1 progeny in acute and chronic HIV-infected cells (*Shoji et al., 1994*) it may well be, that ThDPox is a selective factor in the negative effect on the *TPK* gene expression.

USING OF DETERMINATION OF BLOOD HORMONE LEVELS AND PERSONALITY TRAITS FOR THE INVESTIGATION OF AGGRESSIVENESS DEVELOPMENT MECHANISMS IN HUMAN: OPPORTUNITIES AND RESTRICTIONS

POPOVA L., VASYLYEVA I.M., NAKONECHNA O. A.
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: popova_ld@ukr.net

Aggression is a significant problem in contemporary society, but the mechanisms of aggression development are insufficiently studied. Most studies were carried out on animals. Research in humans is limited to conducting psychological tests, blood plasma analysis, magnetic resonance imaging of the brain. Since the personality traits of a person is a reflection of its neurohumoral status, the study of the interrelationships between hormones and personality traits in men and women of different age groups and different populations is very important for understanding the mechanisms of the development of aggression. The purpose of our work was to identify the relationship between anxiety, neuroticism, physical aggressiveness, aggressiveness index and catecholamines, sexual and thyroid hormones. The study involved 132 students of the Kharkiv National Medical University from 18 to 22 years old (113 participants were Ukrainians and 13 subjects were citizens of India). All procedures performed in the study were in accordance with the ethical standards of the Medical Ethics and Bioethics Commission of the Kharkiv National Medical University and with the 1964 Helsinki Declaration and subsequent amendments. Anxiety, physical aggressiveness, neuroticism and extraversion were assessed using the Spielberger State-Trait Anxiety Inventory, the Buss-Durkee Hostility Inventory and the Eysenck Personality Questionnaire, respectively. Blood serum levels of hormones were determined using ELISA kits (Italy) for testosterone, estradiol, T3, T4 and cortisol; ELISA kits (China) for norepinephrine and adrenaline. The analysis of the received data was carried out using non-parametric approaches with the software Statistica 6.0. Nonparametric analogues of the dispersion analysis – Kruskal–Wallis test and median tests – were used to detect the dependence of parameters on the group. To compare the groups in pairs, Mann–

Whitney's U-criterion and Spearman's correlation analysis were used. At the first stage of the study involving 113 young Ukrainian men, the personality traits of participants were assessed and analyzed. The analysis of the results showed a significant positive correlation between anxiety and neuroticism, a moderate positive correlation between neuroticism and physical aggression, and a significant negative correlation between anxiety and extraversion. By dividing participants into subgroups according to the levels of extraversion, neuroticism and anxiety, we have identified the peculiarities of these relationships within each group. In particular, men with high anxiety had a high positive significant correlation between aggressiveness index and anxiety, and in persons with low anxiety, there was a negative almost statistically significant ($p=0.052$) correlation between anxiety and neuroticism, as well as a significant positive correlation between neuroticism and aggressiveness index. At the second stage of the study, involving 19 Ukrainian and 13 Indian young men, the personality traits of participants were assessed and blood hormone levels were studied. A significant negative correlation between physical aggressiveness and cortisol to testosterone ratios was found in Ukrainian men, while in the Indian ones, there was a strong negative correlation between physical aggressiveness and norepinephrine levels. In men of Indian population, in comparison with Ukrainian one, a higher level of norepinephrine was found, that may provide powerful control of the expression of physical aggressiveness. Thus, the results of the conducted research indicate the possibility of using this approach to study the mechanisms of development of aggressiveness, but it is necessary to distribute participants to the subgroups, depending on the personality traits; to conduct research in different populations and various social strata of the population.

THE SYNTHESIS AND EVALUATION OF 5-AMINO-3-PHENYLINDAZOLE AS INHIBITORS OF PROTEIN KINASE CK2

PROTOPOPOV M.V., LUKASHOV S.S., OSTRYNSKA O.V., STAROSYLA S.A.,
VDOVIN V.S., KUKHARENKO O.P., BDZHOLA V.G., YARMOLUK S.M.
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: mykola.protopopov@gmail.com

CK2 is a serine/threonine protein kinase, which is reviewed as the most pleiotropic protein kinase in the human kinome. CK2 is presented in all compartments of the cell from the nuclear to the plasma membrane, where it interacts with a large number of substrates. Many studies showed the involvement of CK2 in the development of a number of pathologies, in particular cancer, Alzheimer's disease and viral infections. Therefore, CK2 may be a potential therapeutic target.

The aim of this work was to synthesize and evaluate 5-amino-3-phenylindazole derivatives as CK2 inhibitors. 5-amino-3-phenylindazole has been used as a core structure in view of literature data that some of its derivatives inhibited several protein kinases.

A series of 5-amino-3-phenylindazole derivatives were synthesized and evaluated as CK2 inhibitors.

Biochemical tests showed that 6 compounds inhibit CK2 with IC_{50} in the range from 8 to 0.003 μ M. Molecular docking was conducted into the CK2 ATP-binding site to suggest their possible binding mode. According to molecular docking the 5-amino-3-phenylindazole fragment located in adenine binding pocket and formed hydrophobic interactions with Val66, Val53 and Met163 and hydrogen bond with hinge amino acid residue Val116.

Therefore, our research has demonstrated that 5-amino-3-phenylindazole is a perspective class of compound for the development of CK2 inhibitors. The most active compound [3-(3,4-dichlorophenyl)-1H-indazol-5-yl]-2-trifluoromethyl-quinazoline-4-yl-amine inhibits CK2 with IC_{50} =3 nM and can be interesting candidate for further biological research.

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕІНВАЗИВНОЇ ДІАГНОСТИКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ

СІРЧАК Є.С., ФАБРИ З.Й., ГРИГА В.І.
ДВНЗ "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", УКРАЇНА;
e-mail: sirchakliza777@gmail.com

Мета роботи – оцінити ефективність використання неінвазивних методів діагностики ураження печінки на основі сурогатних маркерів фіброзу (СМФ) у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки (НАЖХП).

Під нашим спостереженням знаходилось 63 хворих на (НАЖХП), які лікувались в ЗОКЛ ім. А. Новака м. Ужгорода. Серед обстежених хворих чоловіків було 40, віком $45,6 \pm 3,2$ р., жінок було – 23, віком $47,8 \pm 5,4$ р. Контрольну групу складало 20 фактично здорових осіб. Діагноз виставлявся з урахуванням скарг, анамнестичних, лабораторно-інструментальних методів дослідження, керуючись рекомендаціями EASL–EASD–EASO щодо діагностики НАЖХП. Ступінь ураження печінки визначали за допомогою проведення еластометрії печінки (ЕП), а також з використанням сурогатних маркерів фіброзу за допомогою онлайн-калькуляторів:

1. NAFLD fibrosis score (NFS) – враховуючи вік хворих (роки), показник індексу маси тіла ($\text{кг}/\text{м}^2$), наявність порушення толерантності до глюкози чи цукрового діабету, рівень аланінамінотрансферази (АЛТ – U/L), аспаргатамінотрансферази (АСТ – U/L),

альбуміну (г/л) та кількість тромбоцитів ($\times 10^9/\text{л}$). При цьому показник відповідає: <-1.455 – предиктор відсутності значного фіброзу (F0-F2 фіброз); ≤ -1.455 до ≤ 0.675 : невизначений бал; > 0.675 : предиктор наявності значного фіброзу (фіброз F3-F4).

2. Fibrosis 4 calculator (FIB-4) – в формулі враховується вік пацієнта (роки), рівень АЛТ (U/L), АСТ (U/L) та кількість тромбоцитів ($\times 10^9/\text{л}$). При цьому: – значення менше 1,45 – вірогідність наявності фіброзу мала (близько 90 %), – значення більше 3,25 – вірогідність наявності фіброзу велика (близько 90 %).

3. Фібротест – враховується вік (роки), стать хворого, рівень γ -глутамілтрансферази (од/л), загального білірубину (мкмоль/л), аполіпопротеїну (г/л), гаптоглобіну (г/л), α_2 -макроглобуліну (г/л).

У обстежених хворих на НАЖХП встановлено неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) переважно мінімальної та середньої ступені активності. Також виявлено інсулінорезистентність (ІР), що проявлялось підвищенням рівня інсуліну у сироватці крові до $36,82 \pm 5,42$ од/л (норма $9,20 \pm 1,14$ од/л), С-пеп-

тиду – до $16,67 \pm 1,92$ нг/мл (норма $4,54 \pm 0,97$ нг/мл) та індексом НОМА – до $10,67 \pm 2,72$ (норма $1,71 \pm 0,32$). Аналіз результатів неінвазивних тестів (НТ) вказує на ураження печінки переважно F2 ступені за даними вище наведених тестів, а саме: NFS ($-1,238 \pm 0,34$), FIB-4 ($2,34 \pm 0,25$), Фібротест ($0,34 \pm 0,07$). Результати ЕП також вказують на ступінь ураження печінки переважно F2 ($4,78 \pm 0,1$) і

корелюють зі ступенем фіброзу за даними НТ у обстежених пацієнтів на НАСГ. Отже, отримані дані вказують на формування фібротичних змін у пацієнтів на НАСГ.

Зроблено висновок, що неінвазивні тести на основі сурогатних маркерів фіброзу є інформативним методом визначення ступеня ураження печінки у хворих на НАЖХП.

ВИКОРИСТАННЯ ЛОГІСТИЧНОЇ РЕГРЕСІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КРИТЕРІЇВ ПОСТАНОВКИ ДІАГНОЗУ РЕАКТИВНОГО АБО ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ

СІТКАР А.Д., РОСТОКА Л.М., НЕМЕШ І.М., ЛИГИРДА О.В.
ДВНЗ “УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ”, УКРАЇНА;
e-mail: siti0095@mail.com

Гострий панкреатит є одним з найважчих захворювань органів черевної порожнини (ОЧП), яке у 15–20 % хворих характеризується фульмінантним перебігом. За частотою звернення хворих по медичну допомогу, він посідає 3-тє місце серед гострих захворювань ОЧП. Також не менш важливою є його інша сторона – процес хронізації. Хронічний панкреатит (ХП) – одне з найпоширеніших гастроентерологічних захворювань, на частку якого припадає близько 8–10 %. Важливо відмітити, що протягом останніх років показники захворюваності на хронічні хвороби підшлункової залози (ПЗ) в Україні значно зросли. Так, поширеність цієї патології за 2010-2016 рр. зросла майже вдвічі і в 2016 р. становила 2504,5 випадків на 100 тис. дорослого населення. Слід також зазначити, що захворювання ПЗ, зазвичай, важко діагностувати, і відповідно, лікувати.

Метою роботи було визначення найбільш важливих предикторів, які пов'язані з реактивним та хронічним панкреатитом і визначення можливості їх використання як діагностичних критеріїв під час постановки діагнозу (як попереднього, так і заключного) на основі прогностичної моделі.

Проведено ретроспективний аналіз історій хвороб пацієнтів із основним діагнозом панкреатит ($n=73$, частка чоловіків – 40 %, жінок – 60 %, середній вік – $53,5 \pm 3,3$ років). Пацієнтів було розподілено на 2 групи: I – реактивний панкреатит (РП) (81 %), II – хронічний (19 %). Проаналізовані анамнестичні дані пацієнтів, показники клінічного та біохімічного аналізу крові, загального аналізу сечі, коагулограми, дані інструментальних методів обстежень. Слід зазначити, що пацієнти не мали в анамнезі супутньої гепатопатії, щоб це не вплинуло на зміщення оцінюваних лабораторних показників.

Статистичний аналіз даних проводився з використанням комп'ютерної програми IBM SPSS Statistics 23.0. Побудова прогностичної моделі проводилася з використанням бінарної логістичної регресії за прямим покроковим методом (критерій LR).

За t-критерієм Стьюдента було виявлено достовірну різницю між досліджуваними групами пацієнтів щодо наступних лабораторних показників: білірубін прямий (БП) ($p=0,04$), тригліцериди (ТГ) ($p=0,006$), протромбіновий час плазми (ПЧП) ($p=0,007$), протромбіновий індекс (ПІ) ($p=0,048$) та амілаза сечі (АС) ($p=0,051$). Крім того, знайдено достовірну різницю (за точним критерієм Фішера) в частоті патології жовчовидільних шляхів (ЖВШ) ($p<0,001$), наявності кальцифікатів ($p=0,03$) та підвищеної ехогенності ПЗ ($p=0,01$) за даними УЗД, а також частоті артропатій ($p=0,026$). Було вибрано наступні предиктори, які найбільш адекватно описують модель регресії: БП, ТГ, АС та стать. Коефіцієнти регресії були достовірними (за критерієм Вальда, при $p<0,05$), а коефіцієнт детермінації Нейджелкерка становив $R^2=0,601$, що свідчить про задовільну апроксимацію. Після пробної перевірки формули були обчислені наступні показники: діагностична чутливість, яка становила 91,3 % і свідчить про досить високу ймовірність виявити реактивний панкреатит, коли він є; діагностична специфічність, яка становила 58,33 % і свідчить про середній рівень ймовірності виявити хронічний панкреатит; валідність становила 84,483 %, що свідчить про високу міру довіри до результатів обчислень за допомогою створеної прогностичної моделі.

Таким чином, побудована прогностична модель дає змогу проводити диференційну діагностику між ХП та РП, а також із більшою вірогідністю виявля-

ти реактивний (вторинний) панкреатит на основі рутинних лабораторних досліджень, що створює передумови для подальшого (вчасного) діагнос-

тичного пошуку основної патології, профілактики ускладнень та лікування, що і буде визначати її перебіг.

РОЛЬ ГАЗОВИХ МЕДІАТОРІВ (НІТРОГЕНУ ОКСИД ТА ГІДРОГЕНУ СУЛЬФІД) ПРИ ДІЇ СТРЕСУ ТА БЛОКУВАННІ ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ У ОРГАНАХ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ

СКЛЯРОВ О.Я., ФОМЕНКО І.С., ДЕНИСЕНКО Н.В., СКЛЯРОВ П.О., ЛОЗИНСЬКА І.І.
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: o.y.sklayrov@gmail.com

Дія стресу та блокування нестероїдними протизапальними препаратами (НПЗП) циклооксигенази викликають розвиток нітрузо-оксидативного стресу у слизовій оболонці органів травлення. Ключову роль у цих процесах відіграють нітроген оксиду (NO) та гідроген сульфїду (H_2S). Визначення біохімічних процесів, що викликають ульцерогенні ушкодження у слизовій оболонці та оцінка ролі NO та H_2S є важливим аспектом сьогодення. Метою дослідження було вивчення показників нітрузо-оксидативних процесів, вмісту H_2S у слизових оболонках органів травлення за дії стресу, блокаторів циклооксигенази (ЦОГ) різного механізму дії та H_2S вміщуючих похідних 4-тіазолїдинону.

Щурів було розділено на 5 груп: 1 – контрольна група; 2 – тварини, які піддавались дії водно-іммобілізаційного стресу (ВІС); 3 – тварини, яким вводили блокатори ЦОГ з різним механізмом дії (ЦОГ-1/ЦОГ-2, ЦОГ-2, ЦОГ-2/5-ЛОГ) у дозі 10 мг/кг; 4 – тварини, яким на тлі стресу вводили блокатори ЦОГ-1/ЦОГ-2, ЦОГ-2, ЦОГ-2/5-ЛОГ; 5 – тварини, яким на тлі стресу вводили H_2S -вміщуючі похідні 4-тіазолїдинону (10 мг/кг). У гомогенаті слизової оболонки шлунка (СОШ), тонкої кишки (СОТнК) та товстої кишки (СОТвК) визначали активність NO-синтаз, вміст нітрит-аніону та ТБК-активних продуктів, активність ензимів антиоксидантного захисту, мієлопероксидази (МПО), у плазмі крові концентрацію H_2S та L-аргініну. Статистичну обробку даних проводили з використанням програмного пакета Microsoft Excel.

Встановлено, що самостійна дія ВІС та блокування ЦОГ-1/ЦОГ-2 призводить до значних ульцерогенних ушкоджень СОШ та гістологічних змін

структури СОТнК та СОТвК, що супроводжувалось різким зростанням експресії гена *Nos2* та активності iNOS, МПО, вмісту нітрит-аніону, ТБК-активних продуктів та зниження вмісту H_2S . Введення на тлі ВІС блокаторів ЦОГ-1/ЦОГ-2, ЦОГ-2/5-ЛОГ виявило їх особливості дії у регуляції NO-синтазної системи, про/антиоксидантних процесів, регуляції продукції H_2S . Блокування ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксеном на тлі ВІС спричиняло зниження активності iNOS (на 18 %, $P<0,05$), вмісту H_2S та зростання вмісту L-аргініну у плазмі крові (в 1,7 раза, $P<0,01$) порівняно з впливом ВІС. Дія АТВ-346 знижувала активність iNOS на 21 % ($P<0,05$), підвищувала активність аргінази на 57 % ($P<0,05$) у СОТнК і концентрацію L-аргініну та H_2S у плазмі крові. Введення АТВ-напроксену (АТВ-346) значно знижувало активність мієлопероксидази ($P<0,01$). У СОТвК введення АТВ-346 на тлі дії ВІС зумовлював зростання вмісту H_2S у плазмі крові та не впливав на активність iNOS, cNOS, аргінази, вмісту нітрит-аніона.

Введення H_2S -вміщуючих похідних 4-тіазолїдинону як на тлі дії ВІС, так і блокування ЦОГ виявила їх цитопротекторний та антиоксидантний вплив, що супроводжувалось зниженням активності iNOS, МПО, вмісту нітрит-аніону, ТБК-активних продуктів та зростанням вмісту H_2S у слизових оболонках органів травлення.

Визначено особливості функціонувань систем NO- та H_2S -продукуючих систем за умов дії блокаторів ЦОГ різного механізму дії. H_2S вміщуючі сполуки (АТВ-346 та похідні 4-тіазолїдинону) проявляють цитопротекторний ефект у слизових оболонках органів травлення щурів.

ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСНОГО СТРЕСУ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА ОБМІН ЛІПІДІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

СКОРИК О.Д.

ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА, УКРАЇНА;

e-mail: l_d_skorik@ukr.net

Ішемічна хвороба серця (ІХС) – є однією з найбільших проблем сучасної медицини, яка може призводити до значних ускладнень, погіршувати якість життя людини, бути однією з причин смерті. У світлі сучасних уявлень, патогенез ішемічного ушкодження складається з кількох етапів: дисфункція мітохондрій та енергетичний дефіцит, шокове відкриття кальцієвих каналів, підвищення активності NO-синтази і гіперпродукція оксиду азоту, розвиток нітрозуючого стресу, підвищене утворення активних форм кисню (АФК), тобто розвиток оксидативного стресу. Отже, саме інтенсифікації процесів ПОЛ та пригніченню роботи системи АОЗ приділяють велике значення в патогенезі даної патології. Більшість серцево-судинних ускладнень, які виникають у хворих ІХС, пов'язані з розвитком артеріальних тромбозів, чому, в свою чергу, сприяє порушення ліпідного обміну.

Отже, метою роботи було дослідити інтенсивність процесу пероксидного окислення ліпідів, вивчити вміст загальних ліпідів у крові людей при ішемічній хворобі серця.

Робота проведена сумісно з біохімічною лабораторією лікарні СБЛ № 1 м. Дніпро. Всього було обстежено 16 чоловік віком від 30 до 45 років, які поділені на 2 групи: К – контрольна група відносно здорових людей, n=8, ІХС – пацієнти з діагнозом ішемічна хвороба серця, n=8. Кров брали у пацієнтів вранці, натще. Застосовували метод визначення ТБК – активних продуктів у плазмі та еритроцитах крові за Л.І. Андреевою. Вміст загальних ліпідів у плазмі крові досліджували з використанням сульфосфосфорнованілінового реактиву. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Excel, використовуючи t-критерій Стьюдента.

Показано достовірне підвищення вмісту кінцевих продуктів ПОЛ у крові хворих на ІХС на 34 % порівняно з контрольною групою відносно здорових людей. Таким чином у хворих на ІХС спостерігається оксидативний стрес. З аналізу літературних джерел відомо, що це є скоріш наслідком тяжкості стану пацієнта, ніж механізмом виникнення патологічних змін в організмі.

Оскільки у наш час добре відомо, що ризик виникнення та прогресування ішемічної хвороби серця обумовлений порушенням ліпідного обміну, було досліджено вміст загальних ліпідів у плазмі крові.

Показано, що концентрація загальних ліпідів у плазмі крові у середньому підвищувалася на 13 % у хворих на дану патологію у порівнянні з контрольною групою. Вірогідно це обумовлено тим, що порушення ліпідного обміну пов'язано з дисліпідемією, яка проявляється у зміні рівня тригліцеридів, зростання вмісту ліпопротеїдів низької щільності, зміною рівня холестерину, тобто у даному випадку вміст загальних ліпідів у плазмі крові не достатньо повно відображає весь спектр змін ліпідного обміну та потребує додаткових досліджень. Деякі автори вважають, що підвищений вміст ЛПНЩ сприяє акумуляції холестеролу у клітинах макрофагального типу шляхом прямого, не опосередкованого ендцитозного транспорту холестеролу у клітину. У подальшому це індукує формування атеросклеротичної бляшки та посилення і подовження ПОЛ.

Отже, перебіг ішемічної хвороби серця супроводжується зростанням активності процесів регенерації вільних радикалів. Дослідження ТБК-активних продуктів має певну діагностичну цінність, оскільки може відображати ефективність терапевтичних заходів та глибину пошкодження клітин та тканин.

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ В РОТОВІЙ РІДИНІ ТА ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ОСІБ МОЛОДОГО ВІКУ З ОЖИРІННЯМ

СКРИПНИК М.¹, ПЕТРУШАНКО Т.¹, СПІВАК М.², КРИВОРУЧКО Т.¹, НЕПОРАДА К.¹

¹УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д. К. ЗАБОЛІТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: neporadaks@gmail.com

Ожиріння є глобальною проблемою сучасного суспільства (Faroogi S.I., 2011; Phillips C.M., 2012). За даними ВООЗ (WHO Fact sheet, 2018) 1,9 мільярда людей у віці 18 років і старше страждають

на надмірну вагу, з них 600 мільйонів хворі на ожиріння.

Метою дослідження було оцінити деякі показники ротової рідини молодих осіб із ожирінням до

та після використання нанокристалічного діоксиду церію "Церера".

Клінічне обстеження проведено 154-ох осіб молодого віку (18–20 років) різної статі згідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи медичних досліджень, що проводяться на людях. Пацієнти були розділені на 4 групи відповідно до значення індексу маси тіла (ІМТ). 1 група – особи із нормальною вагою (ІМТ від 18,0–24,99 кг/см²) n=31; 2 група – особи із надлишковою масою тіла (ІМТ від 25–29,99 кг/см²) n=49; 3 група – особи із ожирінням I ступеня ІМТ (30–34,99 кг/см²) n=34; 4 група – особи із ожирінням II ступеня (ІМТ 35–39,9 кг/см²) n=40. Оцінювання стоматологічного здоров'я проводилося за загальноприйнятною методикою, що включала об'єктивні та суб'єктивні методи обстеження. Рівень гігієни порожнини рота визначали за допомогою гігієнічного індексу Grenn–Vermilion (ОHI-S) та індексу зубної бляшки міжзубних проміжків за Lange PI (API). Індексну оцінку поширеності запального процесу у яснах визначали за допомогою папілярно-маргінально-альвеолярного індексу (РМА) за С. Parma, індексу кровоточивості сосочків Saxe-Muhlemann (РВІ), ступінь ураження тканин пародонта оцінювали за комплексним періодонтальним індексом (КПІ) за Леусом. У ротовій рідині визначали вміст вільної фукози (Шараев П.Н., 1997) та активність каталази (Корольюк М.А., 1988). Лікування проводили із застосуванням "Церера" по 20 крапель на добу упродовж 10 днів. Статистична обробка здійснювалася у програмі Origin 8, аналізувалася шляхом аналізу дисперсії (ANOVA), після чого проводяться post-hoc test Holm-Bonferroni procedure значення $P < 0,05$ вважали статистично достовірним.

У молодих осіб із ожирінням I та II ступеня тяжкості визначалася вірогідно більша інтенсив-

ність та поширеність запальних процесів у слизовій оболонці альвеолярного паростка, про що свідчило вірогідне збільшення показника індексу РМА 14,7±1,64 % та 16,8±1,5 % відповідно, порівняно із особами з надлишковою та нормальною вагою, де значення даних показників було у 1,75 та у 3 рази менше. У ротовій рідині молодих осіб із ожирінням I та II ступеня тяжкості нами визначено достовірне зменшення активності каталази у 1,4 раза, порівняно з особами із нормальним ІМТ та надлишковою вагою. У ротовій рідині осіб III та IV груп визначено вірогідне збільшення вмісту вільної фукози, відповідно 2,02±0,2 та 2,0±0,23 мкмоль/л, порівняно з особами з нормальним значенням ІМТ, де даний показник склав 0,9±0,19 мкмоль/л, що свідчить про підвищення процесів катаболізму фукопротеїнів. У групі молодих осіб після використання "Церера" визначали вірогідне зменшення запального процесу у яснах, вірогідне підвищення активності каталази та зменшення вмісту вільної фукози у ротовій рідині пацієнтів із ожирінням.

Отже, відповідно до результатів дослідження можна зробити висновки, що особи молодого віку з ІМТ > 30 кг/см² є групою ризику виникнення захворювань тканин пародонта. Інтенсивність ураження тканин пародонта є надзвичайно високою серед осіб молодого віку, про що свідчить наявність генералізованих форм гінгівіту та пародонтиту більше, ніж у 60 % обстежених, та наявність середнього та легкого ступеня ураження тканин пародонта у 74,6 % за періодонтальним індексом Леуса. Використання нанокристалічного діоксиду церію "Церера" молодим особам із ожирінням та надмірною вагою зменшувало розвиток оксидативного стресу та деполімеризацію фукопротеїдів, про що свідчить вірогідне зростання активності каталази та зменшення вільної фукози у ротовій рідині.

ЕФЕКТ НАЗАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ ЛІПОСОМАЛЬНОЮ ФОРМОЮ miR-101 ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ХВОРОБІ АЛЬЦГЕЙМЕРА У ЩУРІВ

СОКОЛІК В.В.¹, БЕРЧЕНКО О.Г.¹, ШУЛЬГА С.М.², ЛЕВІЧЕВА Н.О.¹

¹ДУ "ІНСТИТУТ НЕВРОЛОГІЇ, ПСИХІАТРІЇ ТА НАРКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", ХАРКІВ;

²ДУ "ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ І ГЕНОМІКИ НАН УКРАЇНИ", КИЇВ;

e-mail: v.sokolik67@gmail.com

МікроРНК – короткі некодуючі РНК, які беруть участь у посттранскрипційній регуляції експресії генів, впливаючи як на стабільність, так і на трансляцію мРНК, та обумовлюють мовчання відповідних генів. Саме посиленій експресії гену протеїну попередника β-амілоїдного пептиду (АβPP) завдячує локальний надлишок і агрегація β-амілоїдних пептидів (Аβ) у центральній нервовій системі при хворобі Альцгеймера (ХА). MiR-101 є ключовим

оператором функції мРНК^{АβPP} шляхом її деактивації і, у такий спосіб, пригнічує синтезу АβPP. Метою дослідження було визначення антиамілоїдогенної та антизапальної дії miR-101 у відділах головного мозку тварин з експериментальною ХА.

Модель ХА у щурів-самців пізнього зрілого віку (14 міс.) створювали шляхом інтра-гіпокампулярного введення 15 нМ агрегатів Human beta Amyloid 1-40 protein (China Peptides Co., Ltd, China). Контр-

одем слугували інтактні тварини. Через 10 днів після створення моделі починали назальне введення miR-101-3p (ООО "НПФ "Синтол", РФ) у ліпосомах дослідній групі тварин та пустих ліпосом щурам з групи порівняння. За 10 сеансів терапії кожна тварина дослідної групи отримала $2,5 \cdot 10^{14}$ молекул miR-101. Через 10 днів назальної терапії (20-та доба експерименту) усіх тварин ($n=25$) декапітували і в структурах головного мозку (неокортекс, гіпокамп, нюхові цибулини, нюхові бугри) визначали рівень токсичної ендогенної форми $A\beta_{42}$ і активність цитокінової системи (фактор некрозу пухлин α (TNF α), інтерлейкіну-6 (IL-6) та інтерлейкіну-10 (IL-10)) за допомогою наборів реагентів Rat Amyloid beta peptide 1-42 ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory, China β -амілоїдного пептиду 42 та Rat ELISA Kits Invitrogen BCM DIAGNOSTICS, USA для цитокінів. Стереотаксичні операції у тварин проводили під загальним наркозом, використовуючи тіопентал внутрішньочеревно у дозі 50 мг/кг маси тіла.

Встановили, що інтрагіпокампулярного введення агрегатів $A\beta_{40}$ моделює у щурів амілоїдогенне і прозапальне становище через 20 днів лише у неокортексі та гіпокампі (вірогідне збільшення концентрації $A\beta_{42}$ на 36 % і цитокінів на 16–18 % в неокортексі та $A\beta_{42}$ на 27 % і прозапальних цитокінів TNF α , IL-6 на 14% у гіпокампі), тоді як у нюхових цибулинах та нюхових буграх рівень $A\beta_{42}$ і цитокінів не змінювався. 10-ти денний курс назальної терапії ліпосомальною miR-101, який починали через 10 днів після створення експериментальної моделі ХА,

специфічно, тобто вірогідно порівняно з пустими ліпосомами, нормалізував рівень $A\beta_{42}$ та цитокінів у цільових відділах головного мозку щурів. А саме, у неокортексі концентрація ендогенного токсичного $A\beta_{42}$ зменшилася на 33 %; у гіпокампі – на 15 %, а прозапальних цитокінів на 11–20 %. У нюхових цибулинах з'ясувалося несподіване вірогідне, але неспецифічне, зменшення концентрації TNF α у щурів з моделлю ХА після назальної терапії як пустими ліпосомами, так і ліпосомами з miR-101. У нюхових буграх виявили аналогічне зростання рівня $A\beta_{42}$, яке складно пояснити безпосереднім впливом miR-101.

Порівнюючи отримані дані з результатами нашого попереднього дослідження антизапального впливу ліпосомального куркуміну за аналогічної експериментальної постановки маємо наголосити, що цей поліфенол мав більший антицитокіновий потенціал, що пояснюється його безпосередньою пригнічуючою дією на рівні індукції генів цитокінів, та лише опосередкований ефект на рівень $A\beta$ у центральній нервовій системі тварин.

Таким чином, перспективним напрямком подальших досліджень має бути визначення доцільності поєднання miR-101 з куркуміном в одному ліпосомальному препараті для одночасного усунення надлишкового синтезу $A\beta$ PP з утворенням токсичних агрегатів β -амілоїдних пептидів та хронічного нейрозапального становища, яке сприяє перебігу амілоїдогенезу, для його назального застосування за умов хвороби Альцгеймера.

5-FLUOROURACIL: NEW ASPECTS OF ACTION ON PYRIMIDINE METABOLISM

STASHKEVYCH M.

SYNEXUS UKRAINE LTD., KYIV;

e-mail: matviyenko.maryna@gmail.com

The aim of the study was to determine the influence of the load of 5-fluorouracil (5-FU) in high concentrations on the activity of the key enzymes of pyrimidine metabolism and level of pyrimidine nucleosides in gastric adenocarcinoma and normal adjacent tissue.

The activity of thymidine phosphorylase (TP), dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) and thymidine concentration have been measured in tumor and normal adjacent tissue in 2-60 min after 250 mg 5-FU bolus intraarterial load to patients with gastric adenocarcinoma on different stages ($n=33$).

For the verification of the revealed effect of 5-FU on TP activity, additional experiment was performed: 5-FU (15 mg/kg) was injected intraperitoneally to 20 Wistar rats. Control group of rats ($n=8$) did not receive

5-FU. In 1, 3, 6, 12 and 24 h ($n=4$ for each time group) after injection as well in the control group, rats were euthanized and TP activity was determined in liver homogenates.

In model *in vitro* systems containing 5-FU with thymidine or uridine, and homogenates of tumor and normal adjacent tissues, 5-FU, thymidine, uridine, 5-fluorodeoxyuridine (5-FdUd), 5-fluorouridine (5-FUd), thymine and uracil concentrations were measured before and after 45 min of incubation under 37 °C.

The activity of TP and the metabolites concentrations were measured using high-performance liquid chromatography, the activity of DPD – using spectrophotometry.

It was established that 5-FU load is associated with the gradual decrease of TP activity both in tumor

and adjacent tissue during one hour after injection: from 75 ± 35 nmol/min·mg in 2–20 min to 16 ± 8 nmol/min·mg in 41–60 min after injection; in normal tissue from 20 ± 10 in 2–20 min to 6 ± 5 in 41–60 min after injection. No effect of 5-FU load on DPD activity has been found.

The effect of 5-FU on TP was confirmed in the additional model experiment in rat liver: TP activity decreased in 3 hours after 5-FU injection ($P < 0.05$) and was statistically lower than in control group of rats up to 12 hours after injection. In the meanwhile 5-FU load is associated with the 4–5-fold decrease of thymidine concentration in tumor and adjacent normal tissue ($P = 0.004$ and 0.006 by Mann–Whitney criterion correspondingly).

Model *in vitro* experiments also showed the depletion of thymidine level in 5-FU presence. Thus,

in the system containing 5-FU and thymidine, there was a significant equimolar decrease of both substrates and a corresponding decrease of both products of the reaction of pentose phosphate exchange (5-FdUd and thymine) – after 45 min of incubation with tissue homogenate. At the same time, there was no change of metabolites concentration observed in the analogous system containing 5-FU and uridine.

The obtained results testify the TP depression and thymidine pool depletion under the influence of the load with 5-FU in high concentrations in gastric tumor and normal tissues. As TP is the tumor angiogenic factor, and thymidine is the building material for thymidine nucleotides, the effect shown may contribute to the general cytostatic action of 5-FU.

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

СТРУТИНСЬКА О.Б., МЕЛЬНИК А.В., ШТАТЬКО О.І.

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;
e-mail: str.lena@i.ua

Цукровий діабет (ЦД) є актуальною проблемою сьогодення через велику поширеність, ранній розвиток ускладнень, високу смертність та інвалідизацію хворих. Одним із важких ускладнень ЦД є діабетична нефропатія, молекулярні механізми розвитку якої залишаються до кінця невивченими.

Останнім часом показано, що за діабетичної нефропатії реєструється зменшення рівня гідро-генсульфіду (H_2S) в нирках, який є важливим регулятором функції нирок. Однак роль порушень обміну H_2S в розвитку патології нирок за ЦД все ще не доведена. Невивчений також вплив різних модюляторів обміну H_2S на функціональний стан нирок за ЦД.

Метою нашого дослідження було оцінити вплив пропаргілгліцину (інгібітора синтезу H_2S) та натрій гідрогенсульфіду (донор H_2S) на показники функціонування нирок щурів за стрептозотоциніндукованого ЦД.

Досліди проведені на 40 білих нелінійних самцях щурах. ЦД ініціювали у 30 щурів одноразовим введенням стрептозотоцину (40 мг/кг маси, в/оч на 0,1 М цитратному буфері, рН 4,5) після попередньої 24-годинної депривації їжі (при збереженому доступі до води). У 10 тварин з ЦД викликали дефіцит H_2S за допомогою D,L-пропаргілгліцину (50 мг/кг маси в/оч 1 раз на добу протягом 14 діб), а у 10 тварин – надлишок H_2S шляхом введення натрій гідрогенсульфіду (NaHS, 3 мг/кг маси в/оч 1 раз на добу протягом 14 діб). Стан системи H_2S оцінюва-

ли за показниками вмісту H_2S та активністю цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ) в нирках. Фільтраційну функцію нирок досліджували за вмістом креатиніну в сироватці крові й сечі, кліренсом креатиніну. Стан тубулярного апарату визначали за активністю γ-глутаміл-транспептидази (ГГТП) в сечі та рівнем протеїнурії.

Показано, що введення пропаргілгліцину та NaHS має різноспрямований вплив на обмін H_2S в нирках за ЦД. Застосування пропаргілгліцину на тлі ЦД спричиняє вірогідне зменшення рівня H_2S та активності ЦГЛ в нирках (на 40–49 %, $P < 0,05$). Натомість, використання NaHS супроводжується протилежними змінами показників обміну H_2S в нирках.

Введення модюляторів обміну H_2S характеризується різновекторним впливом на показники функціонування нирок у щурів із ЦД. Показано, що інгібітор синтезу H_2S поглиблює тубулярну та гломерулярну дисфункції, ініційовані ЦД. За цих умов реєструється вірогідне збільшення вмісту креатиніну в сироватці крові (на 42 %, $P < 0,05$), зменшення екскреції креатиніну з сечею (на 30 %, $P < 0,05$), зниження кліренсу креатиніну (на 49 %, $P < 0,05$), збільшення протеїнурії та активності ГГТП в сечі (на 70–82 %, $P < 0,05$), порівняно з тваринами, які не отримували пропаргілгліцин. У той же час, донор H_2S достовірно покращує стан гломеруло-тубулярного апарату нирок на тлі ЦД. У групі тварин, які отримували NaHS виявляється достовірне зменшення вмісту креатиніну в сиро-

ватці крові (на 32 %, $P < 0,05$), збільшення екскреції креатиніну з сечею (на 25 %, $P < 0,05$), зростання кліренсу креатиніну (на 40 %, $P < 0,05$), зменшення протеїнурії та активності ГТП в сечі (на 65–74 %, $P < 0,05$), порівняно з тваринами, яким не вводили модулятор.

Проведені дослідження засвідчили, що порушення обміну H_2S в нирках є важливим патогене-

тичним механізмом розвитку діабетичної нефропатії. Використання донорів H_2S покращує фільтрацію в нирках та стан канальцевого апарату при ЦД. Подальші дослідження в цьому напрямі дозволять розширити арсенал фармакологічних засобів для профілактики та лікування діабетичної нефропатії.

ANGIOGENIC REGULATORS AND MMP ACTIVITY IN TROPHIC DIABETIC AND HYPERTONIC ULCERS OF MILD TISSUES

ТЯХОМЫРОВ А.А.¹, ПЕТРЕНКО О.М.², КОЛОСОВИЧ І.В.², БЕЗРОДНИЙ В.Г.²

¹PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²BOGOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV, UKRAINE;

e-mail: artem_tykhomyrov@ukr.net

Chronic wounds are one of the major healthcare problems and represent the highest diagnostic group direct medical cost for the dermatological disease. Chronic ulcers are the common complication of diabetes mellitus and unusual injury in patients with poor-controlled hypertension known as Martorell's syndrome. Diabetic chronic wounds are the result of neuropathies and angiopathies, while Martorell's hypertensive ulcers are ischemic lesions of the skin tissues caused by obstruction of the small arterioles of the medial artery. Wound healing is a complex process that can be divided into a series of stages that include hemostasis, inflammation, proliferation, and remodelling, which are disrupted in diabetes mellitus and contribute to complicated healing. The exact molecular mechanisms of impaired angiogenesis in chronic wounds are still unknown and required detailed investigation. The aim of the present study was to assess levels of two counteracting regulators, angiostatin and vascular endothelial growth factor (VEGF), and matrix metalloproteinases (MMPs) activities in fluids from acute and chronic diabetic wounds of mild tissues and from Martorell's hypertensive ischemic leg ulcer biotates.

The exudates of chronic wounds from patients with diabetes mellitus type II ($n=8$) and fluids of acute surgical wounds ($n=9$) were collected by topical negative pressure (-80–125 mm Hg) (VAC-therapy). The Martorell's ulcer biotates were taken by five biopsies from different regions of ulcer and histologically normal surrounding (granulating) tissue as a control. Informed written consent was obtained from all patients. Gelatin zymography was used for determination of MMPs activity; angiostatin, plasminogen and VEGF levels were evaluated by western blot. Histological staining was used to assess capillary outgrowth in the wound bed.

In exudates of diabetic wounds, the high levels of plasminogen proteolytical fragments (angiostatins)

were determined as compared with the acute wounds-derived fluids. Up-regulation of angiostatin production was also observed in Martorell's ulcer tissue as compared with respective control. Dramatic elevation of MMP-2, -9 activities was observed in exudates of chronic diabetic wounds, unlike that of surgical wounds. Similarly, high levels of MMP-2, -9 and MMP-9 complex activities were detected in Martorell's ulcer tissue. The [angiostatin/plasminogen] ratio in chronic diabetic wounds was 6 times higher compared to that of acute wounds. MMPs are responsible for extracellular matrix degradation and plasminogen cleavage to angiostatins, which specifically inhibit endotheliocyte proliferation, migration, and vessel tube formation. Dramatic elevation of VEGF levels as a compensatory response of ischemic tissues was observed in both ulcer types. However, VEGF overproduction appeared to be unable to provide sufficient reparative angiogenesis in chronic wounds likely due to counteracting action of angiostatins, thus contributing to healing delay. In addition, VEGF up-regulation may have adverse effects on capillary structure, increasing vessel leakage and resulting in haemorrhage and erythematosis. Histological assay demonstrated that evacuation of exudates from the long-term non-healing wounds improved tissue reparation and outgrowth of capillary-like structures at the 10-th day of VAC-therapy.

It has been summarized that chronic wounds of different pathogenesis share common molecular features, such as overactivation of MMP proteolytic activities and imbalance of angiogenesis regulators that could contribute to the restriction of blood vessel recovery and healing delay. Based on the obtained results, elimination of angiogenesis suppressors and inhibition of excessive proteolytic activities in chronic wounds may improve conventional management of skin ulcers for better wound healing outcomes.

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ КЛЮЧОВИХ ПРОТЕЇНІВ МОЗКУ ІНДУКОВАНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 ТИПУ ТА МОЖЛИВІСТЬ ЇХ КОРЕКЦІЇ

ТИХОНЕНКО Т.М., ТИХОМИРОВ А.О., ГУЗИК М.М., ДЯКУН К.О., КУЧМЕРОВСЬКА Т.М.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: tetiana.tykhonenko@gmail.com

Цукровий діабет супроводжується численними ускладненнями, серед яких значна увага приділяється з'ясуванню біохімічних механізмів, які лежать в основі розвитку діабетичної енцефалопатії (ДЕ), асоційованої із структурними, метаболічними змінами та з когнітивними дисфункціями мозку. Численні фактори, які викликають інтенсифікацію оксидативного та нітрозативного стресу, порушення функції судин, апоптоз, пошкодження та втрату нейронів можуть призводити до розвитку ДЕ або посилювати її перебіг.

Метою нашої роботи було з'ясувати, чи фактор росту ендотелію судин (VEGF), NO-синтаза нейронів (nNOS), ядерний фактор каппа В (NF- κ B) та проапоптичний протеїн BAX можуть бути мішенями коригуючої дії нікотинаміду (NAm) та ніктоїноїл-гама-аміномасляної кислоти (N-GABA), кон'югату ніктоїнової кислоти та ГАМК за дисфункцій мозку, індукованих цукровим діабетом.

У дослідженнях використовували щурів-самців лінії Вістар після 6 тижнів розвитку цукрового діабету 1 типу, яким одноразово внутрішньочеревинно вводили стрептозоцин у дозі 60 мг/кг маси тіла за рівня гіперглікемії $23,5 \pm 1,9$ ммоль/л. Діабетичним щурам протягом двох тижнів вводили внутрішньочеревинно NAм (100 мг/кг маси тіла) або N-GABA (55 мг/кг маси тіла). Експресію транскрипційного фактора NF- κ B, проапоптичного протеїну BAX, нейрональної NO-синтази (nNOS), ендотеліального фактора росту судин (VEGF) оцінювали за допомогою Вестер-блот аналізу. Різницю між даними досліджуваних груп вважали статистично достовірною при $P < 0,05$.

Оскільки відомо, що VEGF є ключовим регулятором функціональної активності кровоносних судин, порушення якої є однією із причин когнітивних дисфункцій, доцільно було оцінити рівень його експресії і з'ясувати вплив NAм та N-GABA. Було

виявлено, що у мозку діабетичних щурів рівень експресії VEGF знижувався на 52 % порівняно з контролем. Хронічне введення діабетичним щурам NAм призводило до збільшення експресії VEGF у 3,13 раза, в той час як N-GABA збільшував її у 4,53 раза, що може свідчити про здатність цих сполук коригувати дисфункції судин мозку. За цих індукованих діабетом змін оцінено стан функцій нейронів мозку за рівнем експресії nNOS, експресія якої в основному відбувається в нейронах гіпоталамуса та епіфіза. У мозку діабетичних щурів рівень експресії nNOS знижувався у 1,38 раза, в той час як за впливу NAм або N-GABA експресія nNOS підвищувалася у 1,85 та 1,32 раза відповідно, що може свідчити про принаймні часткове відновлення функцій гіпоталамуса.

Суттєві порушення виявлено нами на рівні експресії регуляторного транскрипційного фактора NF- κ B у мозку діабетичних щурів, експресія якого зростала у 3,5 раза, а введення N-GABA – у 1,73 раза порівняно з діабетичною групою. Рівень експресії проапоптичного протеїну BAX також збільшувався у 2,42 раза за цукрового діабету порівняно з контрольною групою тварин, що може супроводжуватися функціональними змінами внутрішньої мембрани мітохондрій та викликати апоптоз клітин мозку. Застосування NAм та N-GABA призводило до зниження рівня експресії протеїну BAX у 1,19 та 1,96 раза відповідно порівняно з діабетичною групою.

Таким чином отримані результати свідчать про те, що нікотинамід та ніктоїноїл-гама-аміномасляна кислота можуть знайти застосування для лікування дисфункцій мозку, індукованих цукровим діабетом, коригуючи досліджувані нами показники, які залучені до функціонування багатьох метаболічно важливих процесів організму.

COMPARATIVE ANALYSIS OF HSP70 AND HSP90ALPHA EXPRESSION IN NASAL EPITHELIAL CELLS OF PATIENTS WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL POLYPS

TKACHENKO A.S., ONISHCHENKO A.I., GUBINA-VAKULYCK G.I.,
NAKONECHNA O.A., GORBACH T.V., STETSENKO S.O.
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: antontkachenko555@gmail.com

Chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) is characterized by a prolonged inflammation of the sinonasal tract with the development of soft, non-cancerous outgrowths on the nasal and paranasal mucosa. The disease is associated with the high prevalence in European population and has a significant social and economic burden. There is strong evidence that epithelial integrity and mucosal function in upper airways is affected in CRSwNP. Under normal circumstances, the mucosal integrity is maintained by intact nasal epithelial cells (NECs). They create a passive barrier, preventing the penetration of microorganisms deep into the tissue. Furthermore, NECs are able to secrete cytokines, participating in the regulation of inflammation intensity in CRSwNP. Converging lines of evidence indicate that NECs can undergo epithelial-mesenchymal transition, contributing to tissue remodeling in CRSwNP. Thus, the survival of NECs is of crucial importance for protecting nasal and paranasal mucosa in CRSwNP. Heat shock proteins (HSPs) or chaperones are one of the factors that contribute to the survival of cells in unfavorable conditions. This group of proteins is involved in protein folding and re-folding of damaged or misfolded proteins. Expression of inducible chaperones HSP70 and HSP90alpha is observed in response to high temperature, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, etc. Changes in HSP70 and HSP90alpha expression patterns in NECs of patients with CRSwNP are poorly covered in scientific literature.

The aim of our study was to compare HSP70 and HSP90alpha expression in NECs of patients with

CRSwNP and healthy individuals. According to the design of this study, specimens of nasal polyp tissue were collected from 7 patients with CRSwNP during surgery. Control samples of nasal tissue were collected from 7 healthy individuals undergoing surgery due to deviated nasal septum. Paraffin-embedded tissues were used to prepare microslides stained using antibodies to HSP70 and HSP90alpha purchased from *Thermo Fischer Scientific* (the United Kingdom). Visualization was based on 3,3'-diaminobenzidine staining. Brown staining was considered positive.

We observed weak expression of both HSP70 and HSP90alpha in NECs of individuals from the control group. Expression was virtually absent in some NECs. In contrast to control subjects, strong positive HSP70 and HSP90alpha staining was revealed in NECs of patients with CRSwNP. The amount of both HSP70- and HSP90alpha-positive NECs was higher in patients with CRSwNP. Comparative analysis of HSP70 and HSP90alpha expression showed that HSP70 upregulation in NECs was more pronounced in CRSwNP compared with HSP90alpha. We believe that overexpression of the chaperones studied in this research has a compensatory character and aims at re-folding of oxidative modified proteins, whose accumulation is observed in CRSwNP.

HSP70 and HSP90alpha overexpression in NECs is found in CRSwNP. Our finding suggest that HSP70 expression is more pronounced compared with HSP90alpha, indicating a more important role of the former in CRSwNP pathogenesis.

THE IMPACT OF DIFFERENT DRUGS ON PROTEINS MODIFICATION AND THEIR INTERACTION WITH GALECTINE 3 IN RATS WITH MYOCARDIAL ISHEMIA

TKACHENKO V.A., SHAULSKA O.E., SHEVTSOVA A.I.
DNIPROPETROVSK MEDICAL ACADEMY OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE;
e-mail: paronic@ukr.net

Coronary heart disease is one of the most threatening pathological conditions leading to a deterioration in the quality of life and death. Oxidative stress is considered the main pathogenetic factor of acute myocardial infarction and its subsequent

complications. There is increasing evidence that myocardial ischemia (MI), is accompanied by the development of carbonyl-oxidative stress (COS), irreversible oxidative modification of proteins (OMP) and increase of the advanced glycation end products

(AGE). The interaction of these products with the receptors can trigger intracellular signaling and activate inflammation. A special role among these receptors are played complexes AGE-galectin 3. It was proposed that AGE and galectin 3 may have an independent negative effect on the further development of heart failure and mortality in patients with AMI, so their correction is one of the ways to treatment MI. However, information on the impact of some cardioprotective drugs on these indexes is still insufficient.

The aim of our study was to evaluate the influence of antioxidant quercetin (Q), aminoguanidine (A), which has hypoglycemic effect, aldosterone antagonist eplerenone (E), and antibiotic doxycycline (D) on the level of AGEs, OMP products and their interaction with galectin-3 in rats with experimental MI.

Myocardial damage was induced in Wistar male rats by the intraperitoneal injections of pituitrine and isoprenaline (PIMD). The rats were divided into 6 groups (n=10). The group 1 – control, 2 – PIMD, 3 – PIMD+A, 4 – PIMD+Q, 5 – PIMD+E, 6 – PIMD+D. Rats plasma and heart tissue were used for the study. OMP was measured by the reaction of carbonyl groups with 2,4-dinitrophenylhydrazine, AGEs were measured

by quantitative autofluorescence, using wave length of excitation/absorbance – 365/460 nm, content of G3 and its interaction with AGEs were analyzed by ELISA and Western Blot using specific antibodies.

PIMD was confirmed by ECG, histological studies and the determination OMP in rat plasma. AGEs increased from 0.069 ± 0.029 mg/ml in control to 0.091 ± 0.036 mg/ml in PIMD-rats. We showed the forming of oligomeric forms of G3 in rats with PIMD. All tested drugs reduce COS by activating the ways of ROS neutralization and dicarbonyl compounds inactivation, by regulating the activity of enzymes of the antioxidant system, degradation and excretion of OMP. The amount of mono-AGE-R3 decreased tremendously and the level of its oligomeric forms increased after the treatment with Q. In contrast, amount of mono-AGE-R3 forms increased in 5 times and its oligomerization reduced after the treatment with E.

The results expand the understanding of the molecular mechanisms underlying the development of cardiovascular diseases and their complications, and provide important information regarding the ways of their metabolic-based correction.

МЕХАНІЗМИ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

ТРОНЬКО М.Д., ПУШКАРЬОВ В.М., СОКОЛОВА Л.К., ПУШКАРЬОВ В.В., КОВЗУН О.І.
ДУ "ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН ІМ. В.П. КОМІСАРЕНКО
НАМН УКРАЇНИ", М. КИЇВ
pushkarev.vm@gmail.com

Виникнення і розвиток інсулінорезистентності (ІР) пов'язують із порушеннями регуляції декількох важливих факторів: IRS (субстрат інсулінового рецептора), PI3K (фосфоінозитид-3 кіназа), Akt (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase), mTOR (mammalian target of rapamycin – мішень рапаміцину), p70S6K (кіназа рибосомних білків), що входять до складу PI3K-каскаду, який контролює метаболічні та ростові процеси в клітинах. У результаті порушення функції зазначених білків та їх комплексів при гіперінсулінемії, сигнальний каскад IRS/PI3K/Akt/mTOR/p70S6K надмірно активується і кінцеві ланки цього каскаду фосфорилують IRS, що призводить до його інактивації та деградації у протеасомах і до порушення сигналіну інсуліну. Іншим важливим механізмом є секреція цитокінів жировою тканиною, які активують IKK та JNK, а останні фосфорилують IRS. Вільні жирні кислоти також можуть викликати ІР шляхом активації протеїнкінази С.

Тому важливим є порівняльний аналіз змін у ключових ланках месенджерних систем і пошук

закономірностей, що спостерігаються при цукровому діабеті 2 типу (ЦД 2 типу) та застосуванні лікарських препаратів, необхідних як для розуміння механізмів виникнення інсулінорезистентності, так і для пошуку оптимальних комбінацій цукрознижувачів препаратів.

АМР-активована протеїнкіназа (АМРК) – протеїнкіназа, яка контролює енергетичний баланс клітини. При діабеті 2 типу та ожирінні активність її знижується, а активність протеїнкінази mTORC1 зростає, що веде до фосфорилування IRS і інсулінорезистентності. Дія цукрознижувачів препаратів, таких як метформін (МФ), пов'язана з активацією АМРК.

До складу мононуклеарів периферичної крові (РВМС) входять кілька типів клітин, які відіграють істотну роль у розвитку таких патологічних станів, як діабет і його ускладнення. Тому, клітини крові є цінний інструмент для вивчення і розуміння основних механізмів цих захворювань.

Зараз відомо, що дія МФ в основному пов'язана з пригніченням утворення глюкози в печінці за

допомогою активації шляху LKB-AMPK. Отже, вивчення активності ферменту в клітинах крові становить істотний інтерес.

За нашими даними МФ суттєво (більш ніж у 3 рази) підвищує рівень AMPK у РВМС. Цікаво, що інсулінотерапія послаблює ефект МФ. З одного боку, активність AMPK у РВМС може свідчити про універсальну дію бігуанідів на всі тканини організму, в тому числі і на макрофаги, запальний процес

в яких, внаслідок ожиріння, грає важливу роль в посиленні інсулінорезистентності. З іншого – дозволяє досить легко і швидко оцінити лікувальний ефект застосовуваних препаратів, що важливо для прогностичних цілей.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, РІЗК-каскад, AMP-активована протеїнкіназа, метформін, мононуклеари периферичної крові.

СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ПРОПАРГІЛГЛІЦИНУ НА МЕТАБОЛІЗМ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ТА ФІЛЬТРАЦІЙНУ ФУНКЦІЮ НИРОК ЩУРІВ

ТУБУЛКАН К.М., МЕЛЬНИК А.В., ФІЛЬЧУКОВ Д.О.

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, УКРАЇНА;

e-mail: katdoma22@gmail.com

Важливу роль у регуляції функціонального стану нирок відіграє гідроген сульфід (H_2S), який викликає вазодилатацію ниркових артерій, стимулює фільтраційну функцію нирок, виконує роль антиоксиданту та цитопротектора. Дефіцит H_2S є важливою патогенетичною ланкою розвитку хронічної ниркової недостатності.

У самців щурів, порівняно з самками, реєструється вірогідно менший рівень H_2S в нирках, що асоціюється з меншою швидкістю клубочкової фільтрації. Залишається невивченим існування статевих особливостей впливу пропаргілгліцину (інгібітора синтезу H_2S) на функціональний стан нирок.

Тому, метою нашого дослідження було оцінити вплив пропаргілгліцину на метаболізм гідроген сульфідів та показники фільтраційної функції нирок інтактних щурів.

Досліди проведені на 60 білих нелінійних самках та самцях щурах. Дефіцит H_2S у щурів створювали шляхом внутрішньоочеревинного (в/оч) введення D,L-пропаргілгліцину в дозі 50 мг/кг маси тіла, 1 раз на добу протягом 14 діб. Контрольна група тварин отримувала еквівалентну кількість розчинника. Стан системи H_2S оцінювали за показниками вмісту H_2S , активності цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ), цистатіонін-β-синтази (ЦБС) та цистеїнамінотрансферази (ЦАТ) в нирках. Фільтраційну функцію нирок визначали за вмістом креатиніну в сироватці крові й сечі, кліренсом креатиніну.

Встановлено, що введення пропаргілгліцину супроводжується більш виразним депримуєчим впливом на обмін H_2S в нирках у самців, порівняно з самками. В групі тварин, яким вводили цей інгібітор, реєструється вірогідне зменшення рівня гідроген сульфідів (відповідно на 48 та 22 % у самців та самок), активності ЦГЛ (відповідно на 54 та 38 % у самців та самок), тоді як зміни активності ЦБС та ЦАТ в нирках не досягали статистичної достовірності, порівняно з контролем.

Застосування пропаргілгліцину викликає пригнічення фільтраційної функції нирок у тварин обох статей, причому у самців ці зміни достовірно більші. За цих умов відмічається вірогідне збільшення рівня креатиніну в сироватці крові (відповідно на 38 та 24 % у самців та самок), зменшення екскреції креатиніну з сечею (відповідно на 24 та 15 % у самців та самок) та зниження кліренсу креатиніну (відповідно на 43 та 30 % у самців та самок), порівняно з групою контрольних щурів.

Таким чином, у самців щурів введення інгібітора синтезу пропаргілгліцину спричинює більш виразне зниження вмісту H_2S в нирках та пригнічення фільтраційної функції нирок, порівняно з самками. Подальші дослідження в цьому напрямку дозволять розширити молекулярні механізми гендерного диморфізму процесів фільтрації в нирках у нормі та при патології.

АНАЛІЗ СЕКРЕТУ ШКІРНИХ ЗАЛОЗ ЧАСНИЧНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ НА ПРИСУТНІСТЬ ПОТЕНЦІЙНИХ ЕФЕКТОРІВ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ

УДОВИЧЕНКО І.В.¹, ОСКИРКО О.С.¹, МАРУЩАК О.Ю.², ГАЛЕНОВА Т.І.¹, САВЧУК О.М.¹

¹КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ ІМ. І. І. ШМАЛЬГАУЗЕНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: irisha.nikolaeva@gmail.com

Оскільки хімічний синтез нових біологічно активних сполук в наш час є досить складною та кошовною процедурою, серед нагальних потреб сучасної біохімії особливо гостро постає проблема пошуку нових природних джерел як перспективної сировини для отримання різноманітних агентів направленої дії. Секрети залозистих клітин шкірних покривів амфібій є потужним вмістилищем потенційних фармакологічних агентів. На сьогодні детально вивчені їх антимікробна, антивірусна, кардіотонічна та антидіабетична дії, однак майже нічого не відомо про вплив секрету шкірних залоз амфібій на функціонування системи гемостазу.

Метою даної роботи було проаналізувати потенційні ефекти протеїнових фракцій секрету шкірних залоз одного з представників вітчизняної батрахофауни – Часничниці звичайної (*Pelobates fuscus*) на окремі параметри системи гемостазу у експериментах *in vitro*.

У результаті фракціонування загального секрету шкірних залоз із використанням хроматографічного носія Superdex 75 було отримано 4 протеїнові фракції, які містили ряд протеїнів з молекулярними масами у діапазоні від 17 до 150 кДа. Протеолітичну активність компонентів отриманих протеїнових фракцій досліджували методом ензим-електрофорезу з використанням желатину, колагену та фібриногену як субстратів. Поява у площині гелю, із заполімеризованим колагеном, світлих зон гідролізу свідчить про присутність у досліджуваних фракціях активних ензимів з колагеназною активністю. Здатність гідролізувати амідний зв'язок у синтетичних хромогенних субстратах – S_{2238} та S_{2366} (Ренам, РФ) – специфічних до дії тромбіну та протеїну С, відповідно, була показана для загального секрету, а також для трьох отриманих фракцій. Більше того, було показано, що одна з досліджуваних фракцій

мала здатність гідролізувати амідний зв'язок у хромогенних субстратах S_{2251} та S_{2222} , специфічних до дії плазміну та фактора Ха. Також було встановлено, що загальний секрет шкірних залоз *P. fuscus* ініціював утворення активного тромбіну та фактора Ха у плазмі. Серед отриманих фракцій лише одна показала здатність активувати протромбін та фактор Х у плазмі. Час зсідання плазми крові досліджували у хронометричних тестах: “тромбіновий час” (ТЧ), “протромбіновий час” (ПЧ) та “активованний частковий тромбопластиновий час” (АЧТЧ) з використанням готових реактивів відповідних комерційних наборів (Ренам, РФ). Так, нам не вдалося виявити статистично значущих змін часу зсідання плазми крові у тестах ПЧ та ТЧ за умов інкубації плазми як з загальним секретом, так і з окремими фракціями секрету шкірних залоз *P. fuscus*. У той же час було показано, що при інкубації плазми крові кроля з загальним секретом шкірних залоз *P. fuscus* показник АЧТЧ перевищував контрольні значення на 35 %. Властивість подовжувати час, необхідний плазмі на утворення згустку у ході даного тесту була показана для компонентів двох із отриманих фракцій.

Таким чином, ми довели присутність активних ефекторних молекул у складі шкірного секрету *P. fuscus*, що вказує на перспективність подальших досліджень щодо ідентифікації окремих складових, відповідальних за прояв показаних ефектів з метою вивчення структурно-функціональних особливостей та механізму їх дії. Вирішення цих питань буде сприяти більш широкому використанню секретів шкірних залоз земноводних як сировини для розробки нових оригінальних фармацевтичних агентів та/або біотехнологічних продуктів для їх використання у медицині та різних сферах промисловості.

ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ В СЕРЦЕВОМУ М'ЯЗІ ЩУРІВ ЗА ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ

УМАНСЬКА А.О.¹, МЕЛЬНИЧУК Д.О.², МЕЛЬНИЧУК С.Д.³, КАЛАЧНЮК Л.Г.¹

¹НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, КИЇВ;

²РАДНИК ПРЕЗИДІЇ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, КИЇВ;

³Сумський національний аграрний університет, Україна

На сьогоднішній день існує ряд небажаних проблем у питаннях загальної анестезії в хірургічній практиці. Однією з таких є побічні реакції в застосуванні окремих традиційних хімічних методів знеболювання та анестезії. Також, не менш вагомим актуальним питанням є надскладні операції на серці, легенях тощо, які потребують підключення тіла людини до апаратів штучної вентиляції легень та штучного кровообігу. Вирішенням зазначених питань може стати саме стан штучного гіпобіозу. Так, результати багатьох досліджень, в тому числі, проведених на кафедрі біохімії і фізіології тварин ім. акад. М.Ф. Гулого НУБІП України, продемонстрували не тільки можливість зниження серцевої діяльності, а й відсутність больових відчуттів в цьому стані. Проте, для впровадження даного методу в медичну практику необхідно провести широке коло доклінічних досліджень. Тому, метою нашого експерименту було: дослідити гематологічні зміни щурів у стані штучного гіпобіозу та візуалізувати структурно-функціональні зміни в серці щурів за дії гіпобіотичних факторів (вуглекислота, кисень, температура).

Експерименти проводилися відповідно до Закону України "Про захист тварин від жорсткого поводження" (№3447-IV від 21.02.2006) та "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою" (Страсбург, Франція, 1985 р.), за загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими І національним конгресом України з біоетики (2001 р.). У досліді використували білих безпородних щурів-самців масою 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Тварин було поділено на дві групи: 1-ша – контрольна (інтактні тварини), 2-га – стан штучного гіпобіозу (дослідна група). У кожній групі тварин було по 7 щурів. Стан штучно-

го гіпобіозу створювали згідно класичної методики Бахметьєва–Джайя–Анжуса (відомою ще з 1912 року). Згідно з цією методикою, тварин поміщали в герметично закрити камеру об'ємом 3 дм³ при температурі навколишнього середовища 4 °С протягом 3 годин. За таких умов розвивається: гіперкапія, гіпоксія і гіпотермія [Мельничук, С. Д., 2007]. Гематологічні показники вимірювали за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора MINDRAY BC-2800. Статистичну обробку проводили до допомогою t-критерія Стьюдента. Структурно-функціональні зміни серцевого м'яза щурів проводили за допомогою МРТ- та КТ-діагностики. Магнітно-резонансне дослідження серця щурів проводили на магнітно-резонансному томографі Achieva 1.5 T, виробництва Philips Medical Systems Nederland B.V. Коронарографічне дослідження серця щурів проводили на рентгенівському комп'ютерному томографі Brilliance CT 64-зрізової конфігурації, Philips Medical Systems (Cleveland), Inc.

Дослідження показали, що у стані штучного гіпобіозу гематологічні показники змінюються таким чином: зростають тромбоцити та еритроцити, але зменшуються лейкоцити. Структурно-функціональні зміни серцевого м'яза щурів показали: зниження серцевої діяльності з 380 до 70 ударів/хв за дії гіпобіотичних чинників; зменшення амплітуди скорочення серця; зниження об'єму наповнення кров'ю камер серця, що вочевидь пов'язано зі звуженням судин та падінням тиску (до 40 %) в кровотоці щура. Підтвердженням цьому є зниження швидкості судинного русла крові щурів (дослідної групи) в 3 рази порівняно з контрольною.

Проведені дослідження підтверджують доцільність подальшого вивчення вищевказаних питань, вирішення яких в майбутньому може мати застосування в медичній та ветеринарній практиці.

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕНЬ ЗАПЛІДНОВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ІНФЕРТИЛЬНИХ ЧОЛОВІКІВ

ФАФУЛА Р.В., ВОРОБЕЦЬ З.Д.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: roman_fafula@ukr.net; kaf_medicalbiology@meduniv.lviv.ua

Найпоширенішою причиною чоловічого непліддя вважають зниження фертилізаційного потенці-

алу та порушення функцій сперматозоїдів. Одними з найважливіших біохімічних показників є Ca²⁺ та

NO, як внутрішньоклітинні месенджери, які володіють мультифункціональними ефектами та прямо чи опосередковано регулюють більшість фізіолого-біохімічних процесів і клітинних функцій. Важлива роль у клітинній сигналізації належить також активним формам кисню (АФК) та пов'язаними з ними вільнорадикальними процесами.

Мета дослідження – дослідити активність йон-транспортувальних і вільнорадикальних процесів та з'ясувати біохімічні механізми порушень запліднювальної здатності сперматозоїдів інфертильних чоловіків із різними формами патоспермій.

Виявлено, що сперматозоїди чоловіків із олігозооспермією та лейкоцитоспермією мають знижену чутливість до фізіологічних (прогестерону) і фармакологічних (блокаторів K^+ -каналів – 4-амінопіридину та тетраетиламонію) агентів. Встановлено, що патоспермія пов'язана із порушенням АТФ-індукованих $[Ca^{2+}]_i$ -транз'єнтів у патозооспермічних зразках та суттєвим зниженням Ca^{2+} -акмулюючої ємності мітохондрій сперматозоїдів, які можуть негативно впливати на процеси активації сперматозоїдів і призводити до порушення процесів фертилізації.

Виявлено пригнічення тапсигаргін-чутливої та тапсигаргін-резистентної компоненти Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази сперматозоїдів чоловіків із астено-, олігоастенозоо- і лейкоцитоспермією та пригнічення оубаїнчутливої Na^+ , K^+ -АТРази активності сперматозоїдів за всіх форм патоспермії стосовно величин у сперматозоїдах чоловіків із збереженою фертильністю. Показано, що H_2O_2 , один з найбільш токсичних АФК, дозозалежно пригнічував активність убаїнчутливої Na^+ , K^+ - та Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази сперматозоїдів. Вказані АТРази системи сперматозоїдів патозооспермічних зразків були більш сприйнятливі до H_2O_2 -індукованого пошкодження,

ніж нормозооспермічних зразків. З'ясовано, що за умов H_2O_2 -індукованого оксидативного стресу пригнічення активності Na^+ , K^+ -АТРази в сперматозоїдах чоловіків відбувається за рахунок зниження спорідненості ензиму до субстрату та зниження числа обертів ензиму (лише для нормозооспермічних сперматозоїдів), а пригнічення активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази пов'язано зі зниженням максимальної швидкості АТФ гідролазної реакції, без зміни спорідненості ензиму до йонів Ca^{2+} .

Виявлено зростання вмісту продуктів ліпопероксидації та пригнічення активностей ензимів глутатіонової ланки антиоксидантного захисту, зниження вмісту та редокс індекс глутатіону у сперматозоїдах інфертильних чоловіків порівняно з величинами у сперматозоїдах нормозооспермічних чоловіків. Встановлено, що АФК-індуковане зростання вмісту ТБК-активних продуктів у сперматозоїдах інфертильних чоловіків є більш вираженим, ніж у чоловіків з нормозооспермією, а інгібуючий ефект радикальних АФК ($O_2^{\cdot-}$ -генеруючої системи Fe^{3+} /аскорбат) на активність глутатіон-S-трансферази та вміст продуктів ліпопероксидації у сперматозоїдах фертильних та інфертильних чоловіків є вищий порівняно з нерадикальними (H_2O_2) видами АФК.

Виявлено перерозподіл активностей NO-синтазної системи зі зміщенням в сторону Ca^{2+} -незалежної індукційної ізоформи, що вказує на гіперпродукцію NO в сперматозоїдах патозооспермічних чоловіків. Встановлено, що активність аргінази в сперматозоїдах чоловіків з усіма формами патоспермії вірогідно знижується відносно показників у сперматозоїдах нормозооспермічних зразків, що вказує на пригнічення аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, яке суттєво не залежить від типу порушення сперматогенезу.

DIET-INDUCED CHANGE OF MMP LEVEL IN THE HEART OF PRETERM NEWBORN PIGLETS

FOMENKO O.¹, TKACHENKO V.¹, USHAKOVA G.²,
GONCHAROVA-PIERZYNOWSKA K.^{3,4}, PIERZYNOWSKI S.^{3,4,5}

¹SI DNIPROPETROVSK MEDICAL ACADEMY OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE, DNIPRO;

²OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

³ANARA AB & SGPLUS, SWEDEN;

⁴LUND UNIVERSITY, SWEDEN;

⁵INSTITUTE OF RURAL HEALTH, LUBLIN, POLAND;

e-mail: fomenko.oz@dma.dp.ua

The newborn pig model is accepted as a relevant model for human neonates, especially for babies born prematurely. Their diet is very important and influences all organs function and development. It was shown a possible positive effect of infant formula hydrolysis on the digestion of unsaturated fatty acid. Matrix metalloproteinases (MMPs) play an important role in the

development of cardiovascular and neurodegenerative diseases. The aim of our work was to estimate the diet effects on the activity of MMP2 and MMP9 in the piglet heart.

There were three groups of animals – 1st group of full-term newborn piglet was a control group ($n=4$), 2nd and 3rd groups of preterm piglets ($n=6$) were fed infant

formula with and without hydrolysis. They were euthanized after 21 days of the experiment. The fraction containing water-soluble proteins was obtained by ultracentrifugation. The activity of MMP2 and MMP9 were estimated using direct enzyme zymography after vertical electrophoresis of the samples in 7.5 % PAAG containing 0.1 % SDS and 1 % gelatin (Sigma, USA). The zymograms were digitized, and gelatinase activity was calculated using Videodensitometer Sorbfil 2.0 software. This activity was measured in arbitrary units (a.u.) relative to the respective activities of the standard sample taken as 1.0 a.u. Protein concentrations in brain tissues were measured using Bradford method. The specific activity of the studied enzymes was calculated per 1 mg of protein. Statistical processing of the data was performed using Microsoft® Excel 2016 (Microsoft®). Intergroup differences were evaluated by the Mann–Whitney criterion for small samplings; values with $P \leq 0.05$ were considered as significant.

The relative activity of MMP2 in the fraction of soluble heart proteins decreased to 70.3 ± 11 a.u./mg total protein (TP) in piglets receiving hydrolyzed infant formula in comparison with 108.3 ± 5.6 a.u./mg TP in control group. In third group that level remained practically unchanged (103.7 ± 5.8 a.u./mg TP). At the same time, in both experimental groups, relative activity of proMMP2 dramatically decreased (13 ± 8.7 a.u./mg TP and 22.7 ± 6.8 a.u./mg TP respectively in comparison with 105.3 ± 5.5 a.u./mg TP). The activity of MMP9 increased to 159.3 ± 14.7 a.u./mg TP and 161.7 ± 23.3 a.u./mg TP respectively in comparison with 138.5 ± 17.4 a.u./mg TP in control group.

Piglets feed with infant formula had a significant decrease in the activity of gelatinase 2 and a slight increase in the activity of gelatinase 9 in the heart, regardless of hydrolysis. The use of hydrolyzed milk formula for preterm newborn piglets leads to a decrease in the activity of MMP2 in the heart. It can have negative implications of further development of preterm neonates.

СТАН КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ

ХУДАН Р.І., КОРДА М.М.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ
e-mail: romakhudan90@gmail.com

Генералізований пародонтит згідно результатів епідеміологічних досліджень вражає від 92 до 98 % населення різних регіонів України у віці понад 40 років. Високий рівень захворюваності, тяжкість перебігу деяких форм патології пародонту, втрата зубів і як результат значні зміни у зубощелепній системі, зменшення працездатності, зниження якості життя населення – все це дозволяє вважати захворювання пародонту не лише серйозною медичною, а й важливою соціальною проблемою. Водночас рання діагностика захворювань пародонту дозволяє домогтися довгострокових позитивних результатів лікування. Актуальним у цьому напрямку є дослідження широкого спектру біохімічних маркерів для визначення стану кісткового метаболізму.

Мета роботи – оцінити стан кісткового метаболізму за умови експериментального пародонтиту.

Досліди проведено на 24 безпородних білих щурах-самцях. Піддослідних тварин було поділено на такі групи: I – контрольні тварини (n=12); II – тварини з моделлю пародонтиту. Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) E. Coli ("Sigma-Aldrich", США) (n=12). Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу на 15-ту добу від початку досліджу. Для досліджень використовували супернатант гомогенату пародонту. Стан

кісткового метаболізму оцінювали за активністю фосфатаз: лужної (ЛФ), як маркера функціонування остеобластів, та кислої (КФ), як маркера інтенсифікації діяльності остеокластів. Активність ензимів визначали за стандартними тест-наборами на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі "Humalyzer 2000". Результати виражали в мккат/кг.

Встановлено, що у тварин із змодельованим пародонтитом активність КФ у супернатанті гомогенату пародонту вірогідно зросла на 39,0 % відносно контрольної групи тварин. Що стосується активності ЛФ, то даний показник у супернатанті гомогенату пародонту також вірогідно збільшився на 65,4 % відносно контрольної групи тварин. Зростання активності кислої фосфатази у гомогенаті пародонту у тварин дослідної групи свідчить про активацію процесу гідролізу мінеральних складових альвеолярної кістки за умови пародонтиту. При цьому активність лужної фосфатази також збільшилася. Оскільки цей ензим є маркером функціональних можливостей остеобластів, які синтезують нову кісткову тканину, то підвищення його активності при експериментальному пародонтиті можна пояснити компенсаторною реакцією кісткової тканини на підвищені процеси резорбції.

Отже, моделювання пародонтиту супроводжується порушеннями метаболізму кісткової тканини за рахунок підвищення як процесів резорбції, так і процесів кісткоутворення.

ЗАСТОСУВАННЯ БЕЗЗОНДОВОГО СПОСОБУ ДОСЛІДЖЕННЯ В ДІАГНОСТИЦІ ЕКЗОКРИННИХ І ЕНДОКРИННИХ ПОРУШЕНЬ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

ЧАЙКОВСЬКА Т.В., ДИЧКА Л.В., ГАЙСАК М.О., ЛЯХОВА О.Б., ЯКОВЕНКО Н.А., ГОЛУБКА О.П.
ДУ "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "РЕАБІЛІТАЦІЯ" МОЗ УКРАЇНИ", УЖГОРОД;
e-mail: rehab_uzh@ukr.net

Діагностика панкреатичної секреторної недостатності залишається однією з актуальних проблем сучасної функціональної гастроентерології. Особливо це стосується діагностики початкових дисфункціональних станів підшлункової залози (ПЗ), які з часом не тільки призводять до незворотніх змін зовнішньосекреторної функції, але й лежать в основі негативного впливу на ендокринну функцію ПЗ і розвитку порушень вуглеводного обміну. Існуючі на теперішній час зондові методи дослідження панкреатичної екзосекреції складні і мають багато протипоказань, а непрямі беззондові способи (фекальна еластаза 1 та ін.), як правило, чутливі при недостатності ПЗ середнього і важкого ступеню.

Мета роботи – оцінка зовнішньо- і внутрішньосекреторної функції ПЗ у хворих із хронічною патологією органів травлення та високим ризиком розвитку цукрового діабету (ЦД).

Вивчення зовнішньо- і внутрішньосекреторної діяльності ПЗ проведено у 25 хворих із патологією органів травлення з високим ступенем ризику розвитку цукрового діабету та у 30 практично здорових людей віком від 20 до 55 років. Ризик розвитку ЦД визначався бальним методом за опитувальником FINDRISK (FINnish Diabetes Risk Score) і при кількості балів вище 14 ризик виникнення ЦД вважався високим. Середній вік хворих – $54,6 \pm 1,5$ років, (від 48 до 73 років), з них 9 чоловіків, 46 жінок. Оцінка функціонального стану органів травлення проводилась неінвазивним авторським методом із застосуванням фракційного дослідження сечі (патент України №107446). Визначали активність і дебїти α -амілази сечі, розраховані показники панкреатичної секреторної реакції, рівень глюкози крові натще і на протязі 120 хвилин після стандартного харчового навантаження. Концентрація глюкози в крові визначалась ензимним методом набором реактивів фірми "Філісіт-Діагностика". Статистична обробка результатів проводилась із за-

стосуванням пакета програм "Excel", вірогідність відмінностей – за критерієм Стьюдента.

Виявлено, що у хворих із високим ризиком розвитку ЦД спостерігаються певні закономірності секреторних порушень ПЗ. Так, у 52,0 % обстежених виявлені достовірно підвищені, в порівнянні з контролем, показники дебїту α -амілази в міжтравний період за рахунок активації гідрокінетичної функції і зниження екболічної функції ПЗ, що характерно для латентних форм діабету (переддіабету). При оцінці динаміки секреторної реакції ПЗ на харчовий подразник у 60,0 % хворих виявлено гальмівний тип травної секреції ПЗ, що спостерігається як у ранній (30–60 хв), так і пізній (90–120 хв) періоди травлення. У 28,0 % пацієнтів спостерігались ознаки тотальної (у всі періоди травлення) функціональної панкреатичної гіпосекреції. Крім того, у хворих з постпрандіальною панкреатичною гіпосекрецією на фоні підвищеного ризику ЦД виявлені значно нижчі показники дебїту альфа-амілази сечі в травний період, ніж у групі порівняння (відповідно $168,8 \pm 25,9$ і $625,0 \pm 26,8$ г/(год \times л), $P < 0,001$). На фоні дисфункціональних станів зовнішньосекреторної функції ПЗ у 72,0 % хворих виявлені підвищені рівні показників глюкози крові натще з коливаннями від 5,9 до 8,2 ммоль/л, в середньому – $6,5 \pm 0,41$ ммоль/л, а через 120 хв після сніданку показники глюкози крові склали відповідно $6,7 \pm 0,38$ ммоль/л. Це достовірно вище, ніж у групі контролю, і свідчить про наявність порушень внутрішньосекреторної функції ПЗ і переддіабетичний стан.

Проведені дослідження обґрунтовують доцільність цілеспрямованого обстеження хворих гастроентерологічного профілю з застосуванням запропонованого способу в плані оцінки ризику розвитку ЦД, особливо у осіб з функціональною панкреатичною гіпосекрецією, а також необхідність ранньої корекції цих змін.

МЕТАБОЛІЗМ ФАКТОРІВ РИЗИКУ КАЛЬЦІЙ-ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛІТІАЗУ ПІД ВПЛИВОМ МЕТАФІЛАКТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

ЧЕРНЕНКО В.В., НИКУЛІНА Г.Г., МИГАЛЬ Л.Я., ЖЕЛТОВСЬКА Н.І.,
ЧЕРНЕНКО Д.В., СЕРБІНА І.Є., САВЧУК В.Й., ЛАДНЮК Р.Є.
ДУ "ІНСТИТУТ УРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", КИЇВ;
e-mail: irinaserbina@jmail.com

Поширеність кальцій-оксалатного нефролітазу серед усіх видів сечокам'яної хвороби в Україні складає 65,4–70,2 %. Хворіють люди всіх вікових груп, однак значною мірою молодій категорії. Приблизно в 65–70 % випадків хворобу діагностують у віці 20–25 років, тобто в найбільш працездатному періоді життя. Видалення конкременту будь-якого складу, як відомо, не позбавляє хворого від рецидивного каменеутворення. Результати лікування цієї поширеної патології, на жаль, не можна визнати цілком задовільними. Ось чому акцент при наданні медичної допомоги таким хворим на сьогодні повинен бути спрямований, з одного боку, на удосконалення методів метафілактики, з другого – на удосконалення оцінки її ефективності.

Метою роботи було дослідити динаміку змін вмісту щавлевої кислоти, кальцію та сечової кислоти як факторів ризику розвитку кальцій-оксалатного нефролітазу у сечі хворих до та після видалення конкременту протягом року під впливом метафілактичної терапії.

Обстежено 45 хворих на односторонній кальцій-оксалатний нефролітаз (29 чоловіків та 16 жінок) віком від 18 до 57 років, середній вік – 32,3±3,7 років. Контроль – 25 практично здорових осіб із нормальними аналізами сечі та без захворювань нирок в анамнезі. Функція нирок хворих, за показниками креатиніну та сечовини в сироватці крові, збережена. Медикаментозну метафілактику у пацієнтів починали ще до видалення конкременту. Повну комплексну метафілактичну терапію (вітамін В6, цитратну суміш "Ураліт У", фітопрепарат Канефрон Н, дієтотерапію з обмеженням оксалатвмісних продуктів при відсутності обмежень кальцієвмісних продуктів, посилення питного режиму) хворі отримували персоналізовано після видалення конкрементів та всебічного обстеження. Вміст щавлевої кислоти, кальцію та сечової кислоти як факторів ризику розвитку кальцій-оксалатного

нефролітазу у сечі хворих визначали до операції та через 1, 3, 6 та 12 місяців після операції.

Встановлено, що вміст щавлевої кислоти у сечі групи контролю дорівнює 30,1±2,64 мг/л, у хворих до видалення каменю – 49,35±3,89 ($P<0,001$); після його видалення через 1 місяць – 43,74±2,06, через 3 місяці – 36,0±1,22 ($P<0,01$), тобто поступово достовірно зменшується, через 6 та 12 місяців – відповідно 31,0±1,32 та 30,2±2,44 мг/л, тобто практично не відрізняється від даних контролю. Вміст кальцію у сечі групи контролю дорівнює 4,460±1,186 ммоль/л, у хворих до видалення каменю – 7,020±0,421 ($P<0,001$); після його видалення через 1 місяць – 4,906±0,110 ($P<0,001$), тобто достовірно зменшується, через 3, 6 та 12 місяців – відповідно 4,480±0,120; 4,390±0,180 та 4,458±0,146 ммоль/л, тобто також практично не відрізняються від даних контролю. Вміст сечової кислоти у сечі групи контролю дорівнює 4,32±0,42 ммоль/л, у хворих до видалення каменю – 5,84±0,41 ($P<0,001$); після операції через 1 місяць – 6,11±0,38, тобто поступово зростає порівняно з даними контролю, через 3 та 6 місяців – 5,58±0,18 та 5,31±0,11 відповідно, тобто поступово зменшується порівняно з попереднім дослідженням, через 12 місяців після операції – 4,72±0,5 ммоль/л, тобто досягає контрольних значень. Зауважимо, що застосування комплексного протирецидивного лікування дозволило знизити кількість рецидивів каменеутворення з 20 % в літературі до 5,17 % та проти 25 %, встановлених в контрольній групі у відділенні інституту.

Таким чином, одержані результати свідчать, що застосування комплексної метафілактичної терапії у хворих на кальцій-оксалатний нефролітаз практично сприяє нормалізації протягом року метаболізму щавлевої кислоти, кальцію та сечової кислоти як потенційних факторів ризику розвитку рецидивного каменеутворення.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМІНУ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ НИРОК У ЩУРІВ З СУЛЕМОВОЮ НЕФРОПАТІЄЮ

ШЕБЕКО С.К.

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ, УКРАЇНА;
e-mail: shebeko.sk@gmail.com

Терапія хронічної хвороби нирок (ХХН) є важливою проблемою сучасної медицини. Згідно статистичних даних поширеність ХХН становить 10–16 % від загальної чисельності населення і сягає 30 % в осіб похилого віку. Її перебіг призводить до неминучої ниркової недостатності (НН), інвалідизації пацієнта та втрати соціальної активності. Вагоме місце у механізмах розвитку ХХН займає розвиток вільнорадикальних процесів та оксидативного стресу. Тому при пошуку нових нефропротекторів для оптимізації лікування хворих на ХХН необхідним є дослідження їх антиоксидантних (АО) властивостей. Засобом потенційно придатним для лікування ХХН є N-ацетилглюкозамін (НАГ) – біологічно активна форма аміноцукору глюकोзаміну, що входить до складу базальних мембран нирок у вигляді глікозаміногліканів й протеогліканів та, як наслідок, чинить нефропротекторну дію. Виходячи з цього, науковий інтерес представляє дослідження АО властивостей НАГ на тлі розвитку НН.

Мета дослідження – експериментальне вивчення впливу НАГ на стан антиоксидантної системи (АОС) нирок у щурів з НН для обґрунтування доцільності застосування в терапії ХХН.

Дослідження проводили на моделі сулемової нефропатії на 38 щурах. НАГ вводили внутрішньошлунково щоденно у дозі 50 мг/кг протягом 3 тижнів. У якості препарату порівняння використовували Корвітин у дозі 34 мг/кг, який вводили внутрішньоочеревинно. Стан АОС нирок оцінювали по завершенні експерименту за вмістом у гомогенаті ниркової тканини відновленого глутатіону (ВГ), активністю супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КАТ), які визначали спектрофотометрично за допомогою відповідних комерційних наборів (Elabscience Biotechnology Inc., США). Гомогенат стандартизували за вмістом протеїну методом Лоурі й отримані результати перераховували на 1 мг протеїну. Статистичну обробку даних проводили методом ANOVA з використанням post-hoc тесту

Шеффе за допомогою програми IBM SPSS Statistics v. 22 (IBM Corp., США). Відмінності вважали вірогідними при $P < 0,05$.

В ході дослідження було показано, що через 3 тижні після відтворення НН у групі контрольної патології відбувається активація вільнорадикального окислення та порушення балансу АОС нирок. При цьому вміст у нирковій тканині ВГ вірогідно знижувався у 1,5 раза (до 10,8 нмоль/мг протеїну з 16,5 нмоль/мг протеїну у інтактній групі), активність СОД знижувалась у 1,4 раза (до 2,77 од/мг протеїну з 3,93 од/мг протеїну у інтактній групі), а активність КАТ навпаки збільшувалась у 1,4 раза відносно інтактних тварин (39,4 од/мг протеїну проти 27,7 од/мг протеїну). Дана картина свідчить про виснаження захисних можливостей АОС нирок.

При застосуванні для лікування тварин НАГ відбувається вірогідне відносно групи контрольної патології підвищення вмісту у нирковій тканині ВГ у 1,4 раза (до 15,2 нмоль/мг протеїну), збільшення активності СОД у 1,2 раза (до 3,28 од/мг протеїну) та зменшення активності каталази на 13 % (до 34,4 од/мг протеїну). Даний результат свідчить про відновлення АОС нирок та, як наслідок, зменшення активності процесів ліпопероксидації. Слід відмітити, що за ступенем АО дії НАГ невірогідно поступився препарату порівняння Корвітину, який містить кверцетин і є відомим антиоксидантом.

В основі АО дії НАГ лежить протекторний вплив на мембранні структури нирок, який перешкоджає їх ліпопероксидації, виснаженню АОС та сприяє збереженню активності її ферментів. Даний вид фармакодинаміки НАГ має велике значення при лікуванні ХХН, оскільки вільнорадикальне окислення та формування оксидативного стресу є вагомою ланкою патогенезу даної патології.

Таким чином, дослідний препарат НАГ за умов розвитку НН у щурів чинить АО дію, покращує стан АОС нирок та є перспективним засобом лікування ХХН.

ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО ТА НІТРООКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ НА ТЛІ СУБХРОНІЧНОЇ ДОКСОРУБІЦИНОВОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ ФІЛГРАСТИМОМ І ЕНТЕРОСОРБЕНТОМ С2

ШЕВЧУК О.О., ВОЛЬСЬКА А.С., ЯРЕМЧУК О.З., КУРИЛО Х.І.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО,
УКРАЇНА;

e-mail: shevchukoo@tdmu.edu.ua

Відомо, що розвиток оксидативного, нітрооксидативного стресу і надмірна активація процесів пероксидного окислення протеїнів та ліпідів є невід'ємною частиною як протипухлинної активності антрациклінових антибіотиків, так і патогенезу їх побічних ефектів.

Мета роботи – встановити особливості оксидантно-прооксидантної рівноваги на тлі субхронічної доксорубіцинової токсичності та застосування ентеросорбції і препарату гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора – філграстиму.

Експеримент проводили на 40 здорових зрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200 ± 20 г, яких методом сліпої вибірки було рандомізовано у 4 групи (n=10). 1 група – контрольна; тварини усіх решти груп отримували доксорубіцин (DOX); 2 група – тварини, які отримували лише антрацикліновий антибіотик (DOX група); 3 – тварини, які отримували ще і ентеросорбент С2 (DOX+С2); тваринам 4-ї групи вводили обидва чинники корекції (DOX+філграстим+С2). Субхронічну доксорубіцинову токсичність моделювали чотирикратним введенням інтраперитонеально DOX з розрахунку 5 мг/кг один раз на тиждень. Ентеросорбент С2 (насипна вага 0,18 г/см³, розмір гранул 0,15–0,25 мм, площа пор за BET 2162 м²/г) один раз на добу вводили з 2 по 6 день після ін'єкції, щоб уникнути впливу на фармакокінетику та фармакодинаміку антрациклінового антибіотика. Філграстим вводили підшкірно (50 мкг/кг 4 рази) починаючи з наступного дня після останньої ін'єкції DOX. Тварин виводили з експерименту на 29-у добу від першого введення DOX. Для дослідження брали сироватку крові та тканини серця і печінки, у яких визначали рівень ТБК-активних продуктів, активність СОД, каталази, рівень відновленого глутатіону (G-SH), загальної антиокислювальної активності сироватки крові (ЗАА), сумарної активності NO синтази та загального вмісту нітратів і нітритів. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням параметричних та непараметричних критеріїв за допомогою програмного забезпечення Statsoft STATISTICA.

Як свідчать результати наших досліджень, при введенні DOX у кумулятивній дозі 20 мг/кг протягом 4-х тижнів, формується виражений оксидативний та нітрооксидативний стрес, що супроводжується зростанням вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації та метаболітів оксиду азоту, яке максимально було виражене у тканинах серця. Водночас ми спостерігали достовірне зниження активності СОД та рівня G-SH з одночасним зростанням активності каталази у досліджуваних середовищах. Ентеральна сорбційна терапія сприяла зменшенню дисбалансу у системі прооксиданти/антиоксиданти, однак максимально виражений позитивний ефект спостерігався у групі тварин, які окрім ентеросорбенту С2, отримували філграстим.

Таким чином, отримані нами результати можуть бути підґрунтям для подальшого дослідження можливостей комбінованого застосування ентеросорбції з вуглецевим адсорбентом С2 та препаратів гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора для пом'якшення побічних ефектів поліхіміо-терапії на основі антрациклінів.

DYSFUNCTION OF VITAMIN D-ENDO/PARACRINE SYSTEM IS ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL TYPE 1 DIABETES MELLITUS: EFFECT OF CHOLECALCIFEROL TREATMENT

SHYMANSKYI I., MAZANOVA A., LABUDZYNSKYI D., LISAKOVSKA O., VELIKY M.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: ihorshym@gmail.com

Observational studies have associated vitamin D (VD) insufficiency/deficiency with the incidence of both type 1 and type 2 diabetes mellitus, providing the ra-

tional for VD supplementation to manage diabetes. Changes in the tissue expression of cytochromes responsible for the formation of hydroxylated VD de-

rivatives may play a significant role in the disruption of VD bioavailability and VDR-mediated cellular signaling in experimental type 1 diabetes (T1D). The present study was carried out to investigate the impairments of the vitamin D-endo/paracrine system associated with experimental T1D and evaluate the efficacy of vitamin D₃ (cholecalciferol) treatment.

T1D was induced in male Wistar rats by single intraperitoneal injection of streptozotocin at dose 55 mg/kg of b.w. After two weeks of DM1 development, rats were divided into 3 groups: 1 – control group; 2 – diabetes group; 3 – diabetes group administered with 600/kg b.w. of vitamin D₃ orally during 30 days. VD bioavailability was detected by the measurement of calcidiol (25OHD) level in blood serum using the competitive immunoenzyme analysis. The protein levels of VD receptor (VDR) and 1 α -hydroxylase (CYP27B1) were assayed by Western blot analysis. Changes in the mRNA levels of VD binding protein (VDBP), VDR, CYP27A1, CYP2R1, CYP3A11, CYP2J6, CYP27B1, CYP24A1, megalin and cubilin were measured by Real-Time quantitative PCR.

In diabetes, severe hyperglycemia (22.0 \pm 1.8 mmol/L) was accompanied by a more than twofold decrease in serum 25OHD content compared with the control group (to 49.2 \pm 3.0 from 100.5 \pm 5.2 nmol/L respectively, $P < 0.05$). Vitamin D₃ administration led to an almost complete normalization of the 25OHD level without significant hypoglycemic effect. Next, we investigated the link of D-deficient state to changes in the expression of VD enzymes and VDR at transcriptional and translational levels in different tissues. It was shown that T1D-induced 25OHD deficiency correlated with the downregulation of CYP27A1 and CYP2R1 in the liver, which is considered to be the most important 25-hydroxylases. Vitamin D₃ administration caused a more than threefold increase in the hepatic content of CYP2R1 mRNA, without affecting CYP27A1. The mRNA contents of minor cytochromes

CYP3A11 and CYP2J6 were found to be respectively 1.7 and 1.4 times higher in the liver of diabetic animals than in the control. With the supplementation of vitamin D₃, there was a further increase in CYP3A11 mRNA, while the content of CYP2J6 mRNA decreased. These cytochromes seem to be those hepatic isoforms of vitamin D 25-hydroxylase, which may play a compensatory role in T1D, aimed at improving VD bioavailability. VD deficiency was accompanied by elevated synthesis of renal isoform of 1 α -hydroxylase and VDR. Conversely, CYP27B1 and VDR expression decreased in the liver, bone tissue, and bone marrow. Additionally, we revealed a strong increase in the gene expression of the main VD catabolic enzyme CYP24A1 in the liver and kidneys that can be one of the likely mechanisms explaining VD deficiency. Vitamin D₃ treatment was effective in the correction of altered VD-endo/paracrine system in the kidneys and extrarenal tissues of diabetic rats. The development of VD deficiency in T1D may also be due to changes in the expression of VDBP and key components of the renal protein reabsorption system – megalin and cubilin. We found a strong decrease in the expression of VDBP, megalin and cubilin mRNAs in kidney tissue associated with diabetes, and vitamin D₃ partially returned these variables to the control values.

Taken together, our data show that the development of T1D causes VD deficiency and impaired VD-endo/paracrine system in kidneys and extrarenal tissues involved in the metabolism of VD and VDR-mediated cellular signaling. With a general decrease in the biosynthesis of CYP27B1 in extrarenal tissues, a compensatory increase in the expression of this enzyme in the kidneys is most probable. Cholecalciferol as a potential hydroxylation substrate and the precursor of the D-hormone partially or completely normalized diabetes-induced abnormalities in the VD-endo/paracrine system.

GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE INHIBITORS WITH CALIX[4]ARENE AND THIALCALIX[4]ARENE SCAFFOLDS

SHULHA Y.V.¹, KOBZAR O.L.¹, MISCHENKO I.M.¹, DRAPAILO A.B.², KALCHENKO V.I.², VOVK A.I.¹

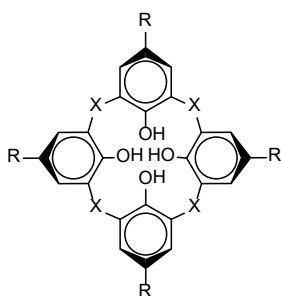
¹V.P. KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: vovk@bpci.kiev.ua

Glutathione-S-transferase (GSTase) belongs to a family of detoxifying enzymes that catalyze the addition of glutathione to the electrophilic center of endogenous and exogenous compounds. The high activity of GSTase in tumor cells increases their resistance to the action of drugs. Inhibitors of GSTase are currently

considered as potential medicines in the treatment of cancer and other diseases. Previously, we have shown that calix[4]arene-bis- α -hydroxymethylphosphonic acid can inhibit the activity of GSTase from human placenta and equine liver.



- $X=CH_2$; $R=CH_2PO(OH)_2$ (**1**);
 $X=S$; $R=CH_2PO(OH)_2$ (**2**);
 $X=CH_2$; $R=CH_2PO(OEt)_2$ (**3**);
 $X=S$; $R=CH_2PO(OEt)_2$ (**4**);
 $X=CH_2$; $R=CH_2PO(OH)Ph$ (**5**);
 $X=S$; $R=CH_2PO(OH)Ph$ (**6**);

The purpose of this work was to study the inhibitory effects of methylphosphonic and methylphosphinic acids derivatives of calix[4]arene and thiacalix[4]arene on the activity of GSTase from the equine liver. The observed inhibitory effects of compounds **1-6** indicate that thiacalix[4]arene platform is more effective in inhibiting the enzyme as compared with calix[4]arene

platform. Compounds **1** and **2** with methylphosphonic acid fragments or its ester derivatives (compounds **3** and **4**) were found to exhibit low inhibitory activities. However, the presence of methylphenylphosphinic acid fragments on the upper rim of the macrocycle (compounds **5** and **6**), significantly improved the inhibition of GSTase. The IC_{50} values of the 5,11,17,23-tetrakis[(hydroxyphenylphosphinoyl)methyl]-25,26,27,28-tetrahydrocalix[4]arene (**5**) and 5,11,17,23-tetrakis[(hydroxyphenylphosphinoyl)methyl]-25,26,27,28-tetrahydrothiacalix[4]arene (**6**) are in the micromolar and submicromolar range, respectively. The docking studies with homology modeled protein structure of GSTase from equine liver suggest that the phosphinic acid substituents and thiacalix[4]arene scaffold can be essential for the enzyme-inhibitor interaction.

ОЦІНКА МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОСТЕОБЛАСТІВ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ТИРЕОЇДНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

ЩЕРБА В.В., КОРДА М.М.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
 МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ
 e-mail: shcherba@tdmu.edu.ua

Кістковий метаболізм підтримується за рахунок рівноваги процесів резорбції та формування кісткової тканини, що відображають зміни "кісткового обороту". Біохімічними маркерами кісткоутворення є протеїни, що відображають активність остеобластів, побічні продукти синтезу колагену, матриксні протеїни або ензими остеобластів, одним із яких є остеокальцин.

Мета роботи – оцінити метаболічну активність остеобластів за рівнем остеокальцину у щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі гіпертиреозу.

Досліди проведено на безпородних білих щурах-самцях. Піддослідних тварин було поділено на такі групи: I – контрольні тварини, яким вводили внутрішньошлунково 1 % розчин крохмалю (n=12); II – тварини з моделлю пародонтиту. Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) E. Coli ("Sigma-Aldrich", США) (n=12); III – щури з пародонтитом на тлі гіпертиреозу. Для моделювання експериментальної гіперфункції щитоподібної залози тваринам щоденно внутрішньошлунково вводили L-тироксин на 1 % розчині крохмалю із розрахунку 10 мкг/добу на 100 г маси протягом 21 доби (n=12). Починаючи з восьмої доби експерименту щурам вводили в тканини ясен ЛПС протягом 2-х тижнів; IV – щури з пародонтитом на тлі гіпотиреозу. З метою моделювання експериментальної гіпофункції щитоподібної залози тваринам щоденно внутрішньошлунково вводили мерказоліл на 1 % розчині крохмалю із розрахунку 1 мг/добу на 100 г маси протягом 21 доби (n=12). Починаючи з восьмої доби експерименту щурам вводили в тканини ясен ЛПС протягом 2-х тижнів. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу на 22-у добу від початку дослідження. Вміст остеокальцину у сироватці крові та супернатанті гомогенату пародонту визначали імуноферментним методом з використанням набору фірми "DRG" (США). Результати виражали у нг/мл (нг/мг).

Встановлено, що у тварин із змодельованим пародонтитом вміст остеокальцину у сироватці крові вірогідно не змінився, а у гомогенаті пародонту зріс на 24,4 % (p<0,01) відносно контрольної групи тварин. У тварин з пародонтитом на тлі гіпертиреозу даний показник у сироватці крові вірогідно збільшився на 22 %, а у гомогенаті пародонту – у 2,5 рази (p<0,001) відносно контрольної групи. У щурів з пародонтитом на тлі гіпотиреозу вміст остеокальцину у сироватці крові вірогідно не змінився, а у супернатанті гомогенату пародонту – збільшився на 49,9 % (p<0,001) відносно контрольної групи. Порівнюючи вміст остеокальцину у сироватці крові між дослідними групами встановлено

його вірогідне переважання у гіпертиреоїдних тварин на 27,3 % відносно групи із пародонтитом без супутньої патології та на 28,2 % відносно групи із пародонтитом на тлі гіпотиреозу. Варто вказати, що вміст остеокальцину у гіпотиреоїдних щурів вірогідно не відрізнявся відносно групи із пародонтитом без супутньої патології. Щодо змін даного показника у гомогенаті пародонту, то встановлено його вірогідне переважання у гіпертиреоїдних тварин у 2,0 рази відносно групи із пародонтитом без

супутньої патології та на 67,6 % відносно групи із пародонтитом на тлі гіпотиреозу. При цьому у щурів із пародонтитом на тлі гіпотиреозу вміст остеокальцину на 20,4 % вірогідно перевищив дані групи із пародонтитом без супутньої патології.

Отже, моделювання пародонтиту на тлі тиреоїдної дисфункції супроводжується підвищенням метаболічної активності остеобластів, що може вказувати на патологічний “кістковий оборот”, особливо за умови гіпертиреозу.

ВПЛИВ НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ (Zn і Fe) НА МЕМБРАННИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЛІМФОЦИТІВ

ЯКОВЕНКО М.Г.¹, РОССІХІН В.В.², ОСИПОВ П.Г.², ЯКОВЕНКО Н.В.¹

¹ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;

²ХАРКІВСЬКА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ, УКРАЇНА;

e-mail: m.yakovenko@gmail.com

Відомо, що мембранний потенціал (МП) приймає участь в регуляції функцій багатьох клітин, в тому числі й лімфоцитів. Відомий також феномен ушкоджуючої дії наночастинок металів на клітини пухлин, в тому числі на лімфоцити. В зв'язку з цим представляє інтерес особливість дії наночастинок на немалігнізовані клітини, а саме на лімфоцити.

Метою цієї роботи було дослідження змін (МП) лімфоцитів крові онкологічних хворих в умовах інкубації з НЧ металів Zn і Fe (розміром 40–300 нм).

Інкубацію лімфоцитів хворих з наночастинками (концентрація 1 мкг на мл) проводили на протязі 30 хвилин при температурі 37 °С, а контрольні зразки – з фізіологічним розчином. Дослідження МП лімфоцитів проводили за допомогою пари потенціалзалежних зондів: аніона АНС (1-амінонафталін-8-сульфонату, Serva) та катіону ДМС (п-толуолсульфанат 4-(п-диметиламіностирил)-1-метилпіридиній, синтезований в НДІФОХ при ЮФУ). Препарати готували на предметному склі зйомку та вимірювання проводили з допомогою люмінесцентного мікроскопу “Axio Imager M2” Zeiss за допомогою програмного забезпечення Axio Vision, rel.4.8. Статистичну обробку даних виконували за

допомогою програми Statistika 6,0 з використанням критерію Уїлкінсона-Уїтні.

В результаті дослідження встановлено, що під дією наночастинок Zn і Fe клітини лімфоцитів зморщувалися, мітохондрії утворювали щільний конгломерат, але при цьому були фізіологічно активними. Інтенсивність їх люмінесценції не змінювалась по відношенню до контрольних показників. Вимірювання мембранного потенціалу лімфоцитів після інкубації з наночастинками Zn показали зниження його рівня в 1,5 рази по відношенню до контрольних значень (p=0,043), а після інкубації з наночастинками Fe його рівень достовірно зростав в 5,2 рази (p=0,006).“

Таким чином, враховуючи дані літератури і результати наших досліджень, можна вважати, що значне підвищення мембранного потенціалу лімфоцитів онкохворих в умовах інкубації з НЧ Fe може бути результатом блокування міжзарядових і, залежних від них, міжклітинних взаємодій, а помірне зниження МП при дії НЧ Zn являється більш щадним до здатності імункомпетентних клітин вступати в подібну взаємодію.

VITAMIN B3 AND ITS DERIVATIVE AS AGENTS IN PREVENTION OF DIABETES-INDUCED PERIPHERAL NEUROPATHY

YANITSKA L.V.¹, TYKHONENKO T.M.², GUZYK M.M.²,
DYAKUN K.O.², PRYVROTSKA I.B.³, KUCHMEROVSKA T.M.²

¹BOGOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV, UKRAINE;

²PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

³HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: yanitskayalesya@gmail.com

The pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy (PDN), which develops in almost 50 % of patients is complex and is characterized both by metabolic and structural alterations. Dysfunctions in sciatic nerve contribute to the peripheral neuropathies and arise after the development of diabetes. Previously we have shown that an increase of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) content in the brain and heart of diabetic rats can protect against neuronal dysfunctions. The purpose of this study was to examine whether vitamin B3 (nicotinamide) or nicotinoyl-GABA (N-GABA) can diminish some metabolic and structural abnormalities in diabetes-induced peripheral neuropathy in the male *Wistar* rats model. Studies were carried out after 8 weeks of D (STZ, 60 mg/kg, i. p.). Diabetic rats were treated two weeks with or without NAm (100 mg/kg i. p.) or N-GABA (55 mg/kg i.p.). The experimental studies were started when the final level of hyperglycemia in rats was 23.5±1.9 mmol/L. Slight hypoglycemic effect was observed only for N-GABA treatment. It has been discovered that an increase in the content of sorbitol level in the sciatic nerve of diabetic rats was in 10.4 times higher than in the control group of animals. Chronic administration of NAm or N-GABA to diabetic rats resulted in a decrease in sorbitol content in 3.6 or 1.5 times, respectively. These data indicate that NAm, as a precursor of the NAD biosynthesis, is able to adjust the polyol pathway of glucose metabolism more effectively compared to N-GABA. Sorbitol accumulation in the sciatic nerve of diabetic rats can be a result of polyol pathway enzymes activation. Indeed, in the sciatic nerve of diabetic rats, the activities of this pathway

enzymes were changed significantly. Indeed, when the activity of aldose reductase, the key enzyme of this pathway was increased by 80%, the activity of sorbitol dehydrogenase, in contrast, was reduced by 54.3% compared to the control group of animals. Administration of NAm or N-GABA led to decrease of the aldose reductase activity by 29.3 % and 24.3 %, respectively, whereas the activity of sorbitol dehydrogenase did not change as compared with diabetic animals. In the sciatic nerve of diabetic rats we observed alterations of nerve structural organization such as: lost the characteristic nerve contour, changes in myelin sheaths accompanied by unmyelinated gaps between the numerous myelin sheaths surrounding the same myelinated axons nodes of Ranvier were slightly differentiated and focal thickening of the fibers, nearby to Ranvier nodes and reduction of the thickness of the nerve fibers at different nerve segments. These changes accompanied by degeneration of the individual nerve fibers and partial fragmentation of the fiber. Therefore, these data point to diffuse (bilinear) changes in the sciatic nerves of diabetic rats. Administration of NAm or N-GABA accompanied by their partial recovering influence on sciatic nerves structural alterations and they also slightly increase the density of fibers. We conclude that NAm, as precursor of NAD biosynthesis, can increase NAD, a critical cofactor for mitochondrial oxidative phosphorylation systems and cellular redox systems, while positive N-GABA action can be realized through its improvement of brain and pancreas functions, therefore both of them are new therapeutic approaches for the treatment of peripheral neuropathies.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ГЛІАЛЬНОГО ФІБРИЛЯРНОГО КИСЛОГО ПРОТЕЇНУ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ МИШЕЙ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АНТИФОСФОЛІПІДНИМ СИНДРОМОМ

ЯРЕМЧУК О.З., КУЗЬМАК І.П., ПОСОХОВА К.А.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, ТЕРНОПІЛЬ

e-mail: yaremchuk@tdmu.edu.ua

Антифосфоліпідний синдром (АФС) – захворювання сполучної тканини, яке характеризується

пошкодженням судин мікроциркуляторного русла внаслідок утворення аутоімунних антитіл до фос-

фоліпідів мембран клітин. Артеріальні тромбози розвиваються в різних органах, найчастіше в артеріях головного мозку, що призводить до виникнення ішемічного інсульту. "Водночас у багатьох хворих з АФС спостерігаються неврологічні порушення зумовлені пошкодженням головного мозку (Калашникова Л.А. 2011).

Мета роботи – дослідити вміст гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP) у мозочку та великих півкулях мозку мишей за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому.

АФС моделювали на мишах лінії Balb/c з використанням кардіоліпіну (Sigma, США), який вводили внутрішньом'язово, чотири рази (30 мкг на 1 ін'єкцію, проміжки між ін'єкціями становили 14 діб) (Зайченко Г.В., 2011). Для підвищення ефективності імунної відповіді кардіоліпін емульгували в 75 мкл повного ад'юванту Фрейнда (перша ін'єкція), наступні ін'єкції проводили з неповним ад'ювантом. АФС формувався через 2 тижні після останньої ін'єкції кардіоліпіну. Піддослідних тварин розділили на 4 групи: 1, 2 – інтактні; 3, 4 – миші з АФС. Через 10 діб з моменту підтвердження АФС тварин 1-ї та 3-ї груп виводили з експерименту, водночас проводили злучку самок 2-ї та 4-ї груп з самцями та виводили з експерименту на 18-й день вагітності.

Електрофорез проводили у поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію. З метою імунохімічної детекції GFAP після закінчення електрофорезу протеїни переносили з гелю на нітроцелюлозні фільтри (GE Healthcare, Amersham Bioscience, RPN 203D, діаметр пор 0,45 мкм) методом електроблоту. Денситометричний аналіз імунореактивних зон проводили із застосуванням програми TotalLab TL120 (Nonlinear Inc, США).

У результаті виконаних досліджень встановлено зростання вмісту GFAP у мозочку та великих півкулях головного мозку мишей лінії Balb/c за умов експериментального АФС. Зокрема, вміст GFAP (total) у зразках великих півкуль мозку зростає на 18 % у групі тварин з АФС, порівняно з інтактними. Водночас спостерігалось зростання GFAP (49-37 kDa) на 55%. На 18-й день вагітності у мишей з АФС встановлено подальше зростання вмісту GFAP (total) у зразках великих півкуль головного мозку на 26 %, порівняно з показниками тварин 2-ї групи. Дослідження також показали збільшення показниками групи вагітних тварин без АФС.

У наших дослідях встановлено зростання вмісту GFAP (total) у мозочку мишей з АФС в 2,8 рази, порівняно із показниками тварин 1-ї групи. Вказані зміни супроводжувались зростанням вмісту GFAP (49-37 kDa) в 6,4 рази, порівняно з показниками інтактних тварин. При проведенні досліджень на 18-й день вагітності у мозочку тварин з АФС спостерігалось зростання вмісту GFAP (total) у 3,2 рази та GFAP (49-37 kDa) у 7 разів, порівняно з аналогічними показниками мишей 2-ї групи.

Отже, зростання вмісту GFAP у досліджуваних відділах головного мозку мишей з АФС порівняно з контрольними тваринами вказує на розвиток реактивного астрогліозу у відповідь на розвиток патології. Зростання вмісту більш низькомолекулярного поліпептиду GFAP (49-37 kDa) у зразках мозку тварин з АФС є ознакою протеолітичної деградації цього протеїну, що свідчить про перебудову проміжних філаментів цитоскелету астроцитів, стабільного в нормі.

Симпозіум 4. БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ

АНТИАДГЕЗИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241, *RHODOCOCCUS* *ERYTHROPOLIS* IMB AC-5017 I *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405

АНТОНЮК С.І., ПИРОГ Т.П., КЛЮЧКА І.В., ПАЛІЙЧУК О.І.
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, КИЇВ, УКРАЇНА;
e-mail: liya.nikityuk@ukr.net

Бактерії здатні адгезуватися на поверхні різних матеріалів і формувати біоплівку, небезпека утворення якої полягає у тому, що прикріплені мікробні клітини набувають резистентності до антимікробних препаратів. Пошук безпечних та ефективних засобів, які б перешкождали адгезії мікроорганізмів до різноманітних поверхонь або ж руйнували архітектуру вже існуючої біоплівки є актуальним, оскільки колонізація бактеріями імплантатів, катетерів та інших медичних поверхонь призводить до інфікування пацієнтів із летальними випадками. Статистичні дані свідчать, що виникнення інфекцій сечовивідної системи пов'язано у 80 % з використанням урогенітальних катетерів. Одним із можливих та альтернативних способів запобігання прикріплення мікроорганізмів до медичних та різних абіотичних поверхонь є їх обробка мікробними поверхнево-активними речовинами (ПАР), яким також притаманна антимікробна, протівірусна та протипухлинна дія.

На кафедрі біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій були виділені і ідентифіковані штами-продуценти ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, *Rhodococcus erythropolis* EK-1 і *Nocardia vaccinii* K-8, депоновані в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного за номерами IMB B-7241, IMB AC-5017 і IMB B-7405 відповідно. У попередніх дослідженнях було встановлено здатність штамів синтезувати метаболіти з поверхнево-активними і емульгуючими властивостями, розроблені підходи до інтенсифікації синтезу ПАР на різних вуглецевих субстратах, в тому числі й промислових відходах.

Мета роботи – дослідити вплив ПАР штамів IMB B-7241, IMB AC-5017, IMB B-7405 на прикріплення клітин деяких бактерій, дріжджів і мікроміцетів до різних поверхонь.

Для досліджень використовували супернатант культуральної рідини та розчин очищених ПАР, виділених екстракцією сумішшю Фолча з супернатанту. Як тест-культури використовували бактерії (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Proteus vulgaris* БТ-1, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas aeruginosa* П-55, *Enterobacter cloacae* AC-22), дріжджі (*Candida albicans* Д-6) і гриби (*Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7) з колекції живих мікроорганізмів кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій. Ступінь адгезії мікроорганізмів до поверхонь визначали спектрофотометричним методом та методом Коха.

Адгезія мікроорганізмів на всіх досліджуваних матеріалах залежала від концентрації і ступеня очищення ПАР, типу поверхні і тест-культур. Зазначимо, що зниження адгезії спостерігали як за використання розчинів ПАР, так і супернатанту. Обробка матеріалів препаратами ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 (0,005–0,05 мг/мл), *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (0,003–0,036 мг/мл), *R. erythropolis* IMB AC-5017 (0,03–0,12 мг/мл) супроводжувалася зниженням адгезії бактерій на 35–75, 60–75, 25–90 %, дріжджів – на 80–85, 55–90, 15–60 %, мікроміцетів – на 40–50, 35–45, 10–20 % відповідно. У порівнянні з літературними даними досліджувані нами ПАР виявилися більш ефективними. Так, зниження на 50-60% адгезії бактеріальних і дріжджових культур спостерігали у разі обробки поверхонь ліпопептидами *Bacillus cereus* NK1 (15 мг/мл) та рамноліпідами *P.aeruginosa* DS10-129 (4 мг/мл) відповідно.

Отже, перевагами досліджуваних ПАР як антиадгезивних агентів є їх використання у вигляді супернатанту та можливість синтезу на промислових відходах, що значно здешевлює технологію одержання ПАР, а також надзвичайно низька ефективна концентрація.

БІОСЕНСОРНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АФЛАТОКСИНУ В1 У ЗРАЗКАХ ЗЕРНОВИХ

АРХИПОВА В.М.¹, ЦИГАНЕНКО К.В.², ДЗЯДЕВИЧ С.В.¹

¹ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д. К. ЗАБОЛОТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: dzyad@yahoo.com

Афлатоксини – це продукти життєдіяльності мікроскопічних грибків *Aspergillus*. Плісняві грибки *Aspergillus* з'являються під час неправильного зберігання в багатьох продуктах. Афлатоксини забруднюють широкий спектр продуктів харчування та кормів, як правило, це плоди рослин із високим вмістом олії. Найбільш схильні до ураження афлатоксинами кукурудза, рис, пшениця та інші зернові, а також горіхи та спеції. Афлатоксин В1 (АФВ1) – найбільш токсичний та канцерогенний серед всіх афлатоксинів. У зв'язку з великою його поширеністю і високою токсичністю багато країн прийняли правила, які регулюють рівень АФВ1 в продуктах, сировині та кормах. До класичних методів визначення АФВ1 відносять тонкошарову хроматографію, високоефективну рідинну хроматографію, різні поєднання рідинної хроматографії з мас-спектрометрією та імуноензимний аналіз. Між тим, сьогодні велика увага приділяється розробці біосенсорних експрес-методів аналізу афлатоксинів.

У роботі оптимізовано характеристики потенціометричних біосенсорів на основі рН-чутливих польових транзисторів та ефекту зворотнього інгібування холінергів для визначення концентра-

цій афлатоксину В1 в зразках зернових. Біологічно активні мембрани формували зшивкою ензимів з бичим сироватковим альбуміном на поверхні перетворювачів в атмосфері насичених парів глутарового альдегіду.

Підібрано оптимальні робочі параметри біосенсорів на основі ацетилхолінергези з електричного вугря (КФ 3.1.1.7), обрано біоселективну мембрану з 1 % вмістом ензиму, підібрано концентрацію ацетилхолінілхлориду як субстрату для подальшого інгібіторного аналізу АФВ1, перевірено операційну стабільність сенсора та стабільність при зберіганні. Також в роботі було вивчено вплив прободіготовки на роботу біосенсора.

Як зразки для тестування розробленого біосенсора були використані пшениця, овес та кукурудза, спеціально інфіковані пліснявим грибом *Aspergillus* в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Як контроль використовували екстракти, отримані за тією ж методикою з тих же субстратів, але не інфіковані грибом *Aspergillus*.

Проведено експерименти по кількісній оцінці змісту АФВ1 в реальних зразках та визначено концентрації АФВ1 в екстрактах пшениці, вівса і кукурудзи.

STUDY OF PENTAMETHINE CYANINE DYES AS FLUORESCENT PROBES FOR ALBUMIN DETECTION

ARISTOVA D.I.¹, VOLYNETS G.P., CHERNII S.V.¹, SLOMINSKII YU.L.², YARMOLUK S.M.¹, KOVALSKA V.B.¹

¹INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: dar.arist@gmail.com

Serum albumins are major transport proteins in blood plasma for many endogenous and exogenous compounds like drugs, hormones, fatty acids and other bioactive small molecules. The concentration of serum albumin in the blood is a diagnostic parameter for many diseases. Consequently, the development of highly sensitive new probes allowing detection of these proteins is of the high research interest.

The aim of the research was to explore fluorescent sensitivity of series of long-wave benzothiazole bases cyanine dyes with bridged group into the pentamethine chain to serum albumins, particularly bovine serum albumin (BSA), human serum albumin (HSA) and

equine serum albumin (ESA) and determine their binding pockets. Research methods included fluorescent spectroscopy and UV-VIS absorption measurements and molecular docking (AutoDockVina program).

For free dyes, excitation wavelengths of the studied dyes reside in the range 661–680 nm, while the fluorescence emission maxima lie between 675 and 690 nm. The addition of serum albumins leads to the significant increase of fluorescence intensity of studied cyanine dyes. Dyes binding to serum albumins resulted in the shift of excitation and emission maxima to the long-wavelength spectral region up to 23 nm.

For dye 1756SI bearing sulfonate group the highest spectral response on albumins was shown, its fluorescence intensity increases by 79 times with BSA, by 161 times with HSA, and by 126 times with ESA. Other studied dyes also were found to be sensitive to serum albumins; they possessed an emission increase of up to 50 times in the presence of these proteins. Moreover, dye non-symmetric cyanine 1550SI had a higher fluorescent response to ESA comparing to HSA and BSA.

The protein detection range of HSA for pentamethine cyanine dye 1756SI monotonically increase from 0.003 to 2 mg/ml, which indicates the high sensitivity of the dye to this protein in low concentration. Quantum yield values of most efficient dyes (1756SI, 1872SI) were obtained. Upon binding to HSA, the increasing of quantum yield value of dye 1756SI was 0.42 compared with 0.002 in a free state. For symmetric methylenedioxybenzothiazole dye 1872SI, the increasing of quantum yield value in the presence BSA was 0.15 compared with 0.0015 in the free state.

According to the literature, for dyes with extended chromophore, the non-specific hydrophobic interaction is suggested to be preferable binding mode with proteins. Since reported dyes possess fluorescent sensitivity mainly to albumins, discriminating them from other globular proteins, we have performed molecular docking of five studied pentamethine cyanine dyes to the entire protein surface of HSA. Due to the high sensitivity of dye 1550SI to ESA, molecular docking of the dye for this albumin was also performed. According to the molecular docking results, HSA has up to five binding sites, two of them are common for all investigated dyes. The most effective dye 1756SI binds up to five binding pockets on HSA. The fluorescent dye 1550SI has a higher affinity to equine serum albumin than to HSA. Concerning this ligand, docking predicted different preferential binding sites in equine and human serum albumins.

We suggested that these pentamethine cyanine dyes as promising high-efficient probes for albumin detection due to their intensive spectral response and ability to recognize specific sites on albumin surface.

КАРДИОМІОГЕННЕ ПЕРЕПРОГРАМУВАННЯ ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ МЕТОД РЕГЕНЕРАЦІЇ МІОКАРДА: ЗАСТОСУВАННЯ CRISPR СИСТЕМИ

БАЛАЦЬКИЙ В.В., МИРОНОВА А.О., РУБАН Т.П., МАЦЕВИЧ Л.Л., ПІВЕНЬ О.О.
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: o.o.piven@imbg.org.ua

Пряме перепрограмування клітин є відносно новим напрямом сучасної біології, але надзвичайно привабливим. Перепрограмування рубцевої тканини у кардіоміоцити безпосередньо в зоні інфаркту або гіпертрофічному серці може змінити наші уявлення щодо регенерації міокарда. Нині для перепрограмування клітин застосовуються різні підходи, проте більшість із них ґрунтуються на застосуванні екзогенних транскрипційних факторів та вірусних систем доставки.

У своїй роботі ми зосередились на застосуванні нового молекулярно-генетичного інструменту, а саме CRISPRa системи для активації ендогенних транскрипційних факторів, для трансфідеренціювання фібробластів у кардіоміоцити. На ґрунті літературних даних кардіальні транскрипційні фактори: GATA4, MyoD, Tbx5, Mef2c та HAND2 здатні спричинити кардіоміогенне перепрограмування фібробластів. Тож, за допомогою біоінформатичних методів досліджень (CRISPR-ERA (<http://crispr-era.stanford.edu/>); CCTop-CRISPR / Cas9 (Stemmer et al., 2015); NCBI blast) ми здійснили аналіз послідовностей зазначених генів та передбачили послідовності gRNA для активації їхньої експресії. Всі отримані послідовності gRNA клонували у вектор

pU6-gRNA за сайтами BbsI для подальшої трансформації клітин E.Coli. Для активації генів-мішеней у фібробластах щура ми застосували SP-Cas9-VPR (Addgene # 68463). Із застосуванням ембріональних фібробластів щура нами було проаналізовано ефективність усіх отриманих gRNA та обрано ті, які ефективно активували експресії відповідних генів (GATA4, MyoD, Tbx5, Mef2c та HAND2) на третю добу після трансфекції. Застосування відібраних та валідованих gRNA до генів GATA4, MyoD, Tbx5, Mef2c та HAND2, спричинило активацію цих транскрипційних факторів і у більш пізні терміни спостережень. Окрім того, спостерігали і експресію генів кардіальних маркерів: ANP, Serca та b-MHC, що свідчить про перемикання генетичної програми у трансфікованих фібробластах. Отже, нами відібрано унікальну колекцію gRNA, що ефективно зв'язуються із ділянками геному перед сайтом старту транскрипції та активують експресію цільових генів. Усе це дає підставу, стверджувати, що застосування CRISPRa системи та відібраних нами gRNA є потенційно ефективним способом перепрограмування фібробластів у кардіоміоцити.

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ЦЕЛЮЛАЗ МАКРОМІЦЕТІВ У БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПІДХОДАХ ОТРИМАННЯ БІОПАЛИВА

БОЙКО С.М., РАДЧЕНКО В.Г.

ІНСТИТУТ ЕВОЛЮЦІЙНОЇ ЕКОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: bsmbio@gmail.com

Конверсія целюлозовмісної сировини в біоетанол у багатьох державах світу є пріоритетним напрямом біотехнології. Процес деструкції деревини грибами полягає у зміні її хімічного складу внаслідок розкладання целюлози та лігніну під впливом ензимів. Система целюлаз містить декілька основних типів гідролітичних ензимів: ендо(екзо)-1,4- β -глюканази, целобіогідролази, β -глюкозидази. Добре дослідженими в цьому плані, з практичним використанням, є представники родів *Penicillium*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, однак їх суттєвим недоліком є значне споруутворення у культурі, що несе небезпеку здоров'ю технічного персоналу та неприпустимі санітарно-гігієнічні показники, пов'язані з біотехнологічним циклом. В той же час, більшість дереворуйнівних макроміцетів позбавлені цього недоліку, оскільки не утворюють спори на цій стадії розвитку і мають ензимну систему з широкою субстратною специфічністю. Біохімічна конверсія зазвичай використовує ензими для переробки целюлози у цукри, які потім за допомогою дріжджів перетворюються в етанол. Основу вартості ензиматичного процесу біоконверсії складають ензими. Саме тому головним моментом зниження собівартості виробництва біопалива є пошук, вивчення та застосування нових продуцентів целюлозолітичних ензимів, здатних більш ефективно проводити біотрансформацію рослинних залишків. Потужна ензимна система дереворуйнівних макроміцетів дозволяє розглядати їх як потенційних продуцентів нових ензимів із іншими, не характерними для мікроорганізмів властивостями. Збільшення вибору ензимів, що трансформують клітковину, дозволить більш пластично змінювати технології отримання біоетанолу в залежності від особливостей субстрату. В цьому напрямі нами проведено скринінг макроміцетів на здатність у культурі синтезувати целюлази та можливість регулювання їх експресії за рахунок хімічних факторів. Досліджувалась загальна целюло-

золітична, ендо- та екзо-1,4- β -D-глюканазна активність. За одиницю активності (IU) приймали кількість ензиму, яка утворює 1 ммоль редукуючих цукрів протягом 1 хвилини за температури 40 °C. Залишки редукуючих вуглеводів визначали спектрофотометрично за методом Шомодї-Нельсона. Електрофоретичні дослідження проводили у 11,25% поліакриламідному гелі з використанням трис-гліцинової буферної системи (pH 8,3). Загалом було відзначено шість культур, що належать до видів *Irpex lacteus* Fr., *Flammulina velutipes* Singer, *Pleurotus eryngii* QuéL., *Meripilus giganteus* P. Karst., *Polyporus sulphureus* Fr., *Schizophyllum commune* Fr., які при 10 денному культивуванні на глюкозо-пептонному середовищі з додаванням Na-карбонсметилцелюлози показали високу активність позаклітинних целюлаз, яка коливалась в межах 24-44 IU/мл для ендо-1,4- β -D-глюканази, 4-47 IU/мл для екзо-1,4- β -D-глюканази та 3-4 IU/мл для загальної целюлази. Треба зазначити, що для культури *S. commune* притаманна і висока активність внутрішньоклітинних ізоформ целюлаз, що значно збільшує вихід ензиматичного продукту за один біотехнологічний цикл. Нова культура *I. lacteus* на стандартному глюкозо-пептоному середовищі протягом перших 24 годин показала значну експресію целюлаз (ендо-1,4- β -D-глюканази – 25 IU/мл; екзо-1,4- β -D-глюканази – 50 IU/мл; загальні целюлази – 4 IU/мл), що доводить її потенційну придатність для біотехнологічного використання та конкурентоспроможність із комерційними штамми. З використанням методу електрофорезу встановлено, що культура *S. commune* синтезує біля восьми ізоензимів ендо-1,4- β -D-глюканази з молекулярними масами від 10 до 95 kDa, тоді як для всіх інших культур макроміцетів були характерні високомолекулярні форми (120–250 kDa), як для промислового препарату *Celluclast*, що виробляється з гриба *Trichoderma reesei*.

ДОСЯГНЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ЩОДО РЕПРОДУКТИВНИХ ТКАНИН У БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНІ

БОНДАРЕНКО Т.П., КИРОШКА В.В., ПАХОМОВ О.В., ТРУТАЄВА І.А.
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ;
e-mail: tbondarenko550@gmail.com

Кріоконсервування і трансплантація оваріальної тканини вважаються найперспективнішими у сучасних репродуктивних технологіях для збереження генофонду рідкісних видів тварин і репродуктивного потенціалу жінок з патологією яєчників. Створення банків гермоплазми необхідне для збереження зникаючих видів, а культивування клітин *in vitro* та їх трансплантація можуть бути використані для отримання зрілих статевих клітин для селекційних і репродуктивних технологій, розведення мутантних і трансгенних ліній тварин із летальним постнатальним фенотипом.

Мета роботи полягала в дослідженні морфологічної трансформації оваріальної тканини та її біохімічних характеристик *in vitro* та динаміки фолікулогенезу та стероїдогенної функції *in vivo*; а також в дослідженні виживаності та функціонування неонатального сім'яника за умов його трансплантації в сім'яник або в надниркову капсулу. У роботі використані наступні методи: програмне заморожування, гетеротопічна і ортотопічна трансплантація, морфометричні, фотоколориметричні, хемілюмінесцентні, цитофлуориметричні, цитологічні методи, імуноензимний аналіз та статистична обробка отриманих результатів.

Розвиток та щільність фолікулів у трансплантах, ендокринна функція та показники ліпідного обміну у оваріоектомованих тварин-реципієнтів

були порівняні з контролем. За результатами отриманих даних обґрунтована можливість оптимізації протоколу кріоконсервування оваріальної тканини на основі комплексного підбору типу та кінцевої концентрації кріопротектора у поєднанні з режимом заморожування. Встановлено відновлення ендокринної функції оваріальної тканини після кріоконсервування під захистом 3М 1.2-пропандіолу або диметилсульфоксиду із додаванням осмотично активних неелектролітів (манітол, сахароза).

Під час дослідження сім'яників за допомогою моделі токсичного гіпогонадизму було встановлено зменшення андрогендефіциту після трансплантації неонатального сім'яника в сім'яник дорослих тварин. На перших етапах (2 тижні) сім'яник надає оточення, яке сприяє диференціації транспланта. Досліджено можливість кріоконсервування сім'яника у середовищі, що містило 1,5 М диметилсульфоксиду, 0,05 М сахарози, 20 мМ Нерес, 5 мг/мл бичачого сироваткового альбуміну, з використанням контрольованих швидкостей охолодження та процедури зменшення переохолодження. Показано, що кріоконсервований орган здатен до розвитку і диференціювання *in vivo* при трансплантації без видалення компонентів кріозахисного середовища на тлі збереження функції органа реципієнта.

ЕНЗИМАТИЧНИЙ ГІДРОЛІЗ РОСЛИННИХ ГЛІКОЗИДІВ АЛЬФА-L-РАМНОЗИДАЗОЮ *EUPENICILLIUM ERUBESCENS*

БОРЗОВА Н.В., ГУДЗЕНКО О.В.
ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д. К. ЗАБОЛІТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: nv_borzova@bigmir.net

О-глікозил-гідролази в останні роки знаходять все більше застосування у сучасних біотехнологічних процесах, особливо у технологіях переробки різноманітної рослинної сировини. Серед цих ензимів важливе місце займає альфа-L-рамнозидаза (альфа-L-рамнозид-рамногідролаза – К.Ф. 3.2.1.40), яка гідролітично відщеплює термінальні невідновлені альфа-1,2-, альфа-1,4- та альфа-1,6-зв'язані залишки L-рамнози, що присутні в природних глікокон'югатах та синтетичних глікозидах. Здатність до модифікації рамнозозв'язаних пектинів та фла-

воноїдів робить альфа-L-рамнозидазу привабливою для використання у харчових та фармацевтичних технологіях, оскільки ензиматичний гідроліз має переваги перед хімічним завдяки високій специфічності дії та екологічності. Більшість сучасних ензимних препаратів для біотрансформації отримують за допомогою мікроміцетів. Ці організми є дуже ефективними деструкторами рослинної сировини і мають широкий ензиматичний апарат, для перетворення полісахаридів у моносахариди для забезпечення своїх харчових потреб. Метою

роботи було дослідити субстратну специфічність альфа-L-рамнозидази *Eupenicillium erubescens* та оцінити потенціал ензиму як агента біотрансформації флавоноїдів та пектинів.

Ензимний препарат альфа-L-рамнозидази отримували з культуральної рідини *E. erubescens* шляхом висолювання з наступною хроматографією на нейтральних та заряджених ТСК-гелях. Для визначення активності та специфічності дії ензиму використовували *p*-нітрофенільні похідні моносахаридів. Здатність гідролізувати природні субстрати оцінювали методами Davis та високоефективної рідинної хроматографії. Гідроліз альфа-L-рамнозидазою пектинів різного ступеня етерифікації проводили на модельних розчинах комерційних пектинів в діапазонах рН 4.0–6.0 та температури 15–60 °С. Здатність до гідролізу оцінювали за зміною відносної в'язкості пектинових розчинів.

Було отримано очищений препарат альфа-L-рамнозидази *E. erubescens* з питомою активністю 120 од/мг протеїну. Отриманий препарат за рівнем активності переважає комерційні препарати альфа-L-рамнозидази – нарингіназу та гесперидиназу *Penicillium decumbens* й *Aspergillus niger* відповідно (Sigma-Aldrich, USA). Ензимний препарат *E. erubescens*, на відміну від промислових аналогів містить тільки альфа-L-рамнозидазну активність, й не проявляє бета-D-глюкозидазну. Була показана здатність ензиму *E. erubescens* гідролізувати природні субстрати: нарингін і неогесперидин, що свід-

чить про його специфічність щодо альфа-1,2-зв'язаної L-рамнози. Альфа-L-рамнозидаза *E. erubescens* характеризувалась більшою спорідненістю до *p*-нітрофеніл-альфа-L-рамнопіранозиду (K_m 1,0 мМ), ніж до нарингину і неогесперидину (K_m 5,0 і 3,0 мМ відповідно). В результаті обробки цитрусових соків (грейпфрутового, помелового, апельсинового та мандаринового) при 40 °С протягом 60 хв відмічено зниження концентрації нарингину, нарингину та гесперидину на 20–95 %, що дозволяє рекомендувати ензимний препарат для використання у харчових технологіях покращення якості соків та отримання біодоступних глюкозидів флавоноїдів. Обробка розчинів яблучного та цитрусового пектинів призводила до зниження їхньої в'язкості. Фракціонування гідролізатів показало наявність двох низькомолекулярних фракцій (5–10 кДа і 15–25 кДа). Ці результати дозволяють припустити наявність ендо-гідролазної активності у альфа-L-рамнозидази *E. erubescens*, що відкриває можливість використання ензиму для отримання пектинових олігосахаридів із пробіотичними властивостями.

Таким чином, із культуральної рідини *E. erubescens* отримано активний препарат з альфа-L-рамнозидазною активністю, що має значну практичну цінність і може скласти конкуренцію імпортованим ензимним композиціям та значно розширити їх використання в промислових процесах отримання біодоступних флавоноїдів та пробіотиків із рослинної сировини.

AMPHIBIAN SKIN SECRETIONS AS A NOVEL SOURCE FOR THE ISOLATION OF HEMOSTATIC SYSTEM EFFECTOR MOLECULES

HALENOVA T.I., SAVCHUK O.M., OSTAPCHENKO L.I.
ESC "INSTITUTE OF BIOLOGY AND MEDICINE", TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV, UKRAINE;
e-mail: galenovatanya@gmail.com

Currently, the natural biologically active compounds are widely used in the pharmacological industry for therapeutic drug development. Over the past decades, numerous studies have focused on the bioactive constituents present in amphibian skin secretions, and a lot of promising pharmacological agents have been identified and characterized. However, the physiological and functional mechanisms of action of some biologically active compounds from amphibian skin secretions remain incompletely understood. Moreover, a few studies have been devoted to the analysis of the effects of amphibian skin secretions on the function of hemostatic system.

The aim of this study was to investigate the effects of skin secretions of ten the most common Ukrainian species of amphibians (*B. bombina*, *B. variegata*, *B. bufo*, *B. viridis*, *R. temporaria*, *P. ridibundus*,

P. esculentus, *P. fuscus*, *S. salamandra*, and the hybrid of *B. bombina* and *B. variegata*) on some parameters of hemostatic system.

Adult specimens of amphibians were collected outdoors in different regions of Ukraine. Crude secretions were obtained by washing of the skin with distilled water after mechanical stimulation of skin glands, then centrifuged to remove debris and lyophilized. The fresh-prepared Tris-HCl buffer solutions of lyophilized skin secretions were used in the study. The protein profile was analyzed by one-dimensional gel electrophoresis technique. SDS-PAGE zymogram experiments using gelatin, fibrinogen and collagen as substrates were carried out to identify active proteolytic enzymes in the secretions. Coagulation tests (PT, TT and aPTT) were conducted to study the anticoagulant effect of skin secretions. Chromogenic substrates such

as S₂₃₆₆, S₂₂₅₁, S₂₂₃₈ and S₂₂₂₂ were used to evaluate the specific proteolytic activity of the skin secretions and to study the ability of their components to activate the corresponding plasma proenzymes. The effect of skin secretions on platelet aggregation was studied on aggregometer. Aggregation assay was performed using rabbit platelet-rich plasma (PRP, 2×10⁵ cells/μL). Size-exclusion chromatography on the Superdex G 200 column was used to separate protein fractions of three studied species crude skin secretions – *B. bombina*, *B. variegata*, and the hybrid *B. bombina* × *B. variegata*. All mentioned above techniques were carried out to analyze the activities in the obtained protein fractions in order to identify active components of the secretions.

The results of electrophoretic protein separation of studied amphibian skin secretions revealed the presence of a wide range of proteins with different molecular weights (from 6 to 149 kDa). The components of the crude skin secretions of *B. bombina*, *B. variegata*, their hybrid, *B. viridis*, *P. esculentus*, and *S. salamandra* had pronounced gelatinolytic activity. The most pronounced collagenolytic and fibrinogenolytic activities were shown for the crude skin secretions of

B. bombina, *S. salamandra*, and the hybrid *B. bombina* × *B. variegata*. The prolongation of aPTT was observed during the incubation of plasma with crude skin secretions of *B. bombina*, *B. variegata*, the hybrid *B. bombina* × *B. variegata*, *R. temporaria*, and *P. ridibundus*. The skin secretions of *B. viridis*, *P. esculentus*, *P. fuscus* and *S. salamandra* prolonged TT clotting time. The PT assay showed no changes in the time of clotting plug formation during incubation of plasma with crude skin secretions of all studied species. The components of *B. bombina*, *B. bufo* and *P. fuscus* crude skin secretions activated prothrombin and protein C in plasma. *B. variegata*, *B. bufo*, *B. viridis*, and *P. fuscus* skin secretions in a dose-dependent manner induced platelet aggregation in rabbit platelet-rich plasma. In the result of separation of *B. bombina*, *B. variegata*, and the hybrid *B. bombina* × *B. variegata* crude skin secretions, six, seven and eight protein fractions, respectively, were obtained. Further experiments confirmed that components responsible for particular activities were located in different fractions.

In this work, we have proved that the amphibian crude skin secretions could be an excellent source of various active molecules that affect different stages of hemostasis.

DEIMINASES IN ENZYMATIC ANALYSIS AND BIOSENSORICS

GONCHAR M.V.

INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, LVIV;
e-mail: mykhailo1952@gmail.com

Deiminases (iminohydrolases) are a broad class of enzymes capable of hydrolyzing organic substrates with the formation of ammonia. Most of these enzymes act on low molecular metabolites, but there are also protein-specific deiminases, e.g., protein-arginine deiminase. Low molecular substrate-specific deiminases are presented, for example, by urease, L-asparaginase, L- (and D-) glutaminase, L-arginine deiminase, creatinine deiminase etc.

Deiminases are essential for the metabolism of all living organisms; some of them are very important biopharmaceuticals (L-asparaginase), a target for the design of new molecular drugs (protein-arginine deiminases) and indispensable analytical tools for the construction of enzymatic kits and biosensors (urease, creatinine deiminase). L-asparaginase is one of the widely used drugs in enzyme therapy of patients with acute lymphoblastic leukemia. Peptidyl arginine deiminases (PADs) convert Arg residues on the surface of proteins into citrulline residues, as a part of post-translational processing. PADs are either upregulated or their catalytic activity is enhanced in certain disease conditions causing hypercitrullination of proteins at different pathologies, including rheumatoid arthritis and neurological diseases. So, PADs are regarded as

potential therapeutic targets for the treatment of some autoimmune and neurodegenerative diseases.

The aim of our work was development of amperometric biosensors for sensitive and selective detection of L-Arg and creatinine using as the biorecognition elements different recombinant enzymes: human arginase I (coupled with commercial urease), arginine deiminase from *Mycoplasma hominis*, and creatinine deiminase from *Corynebacterium glutamicum* which were isolated from the recombinant overproducing cells of the yeast *Ogataea (Hansenula) polymorpha* or the bacterium *Escherichia coli*, constructed in our Institute. The NH₄⁺ ions, generated during the enzymatic transformation of the corresponding substrate/analyte, were monitored amperometrically using ammonium-sensing Nafion/Polyaniline composite placed at a working electrode. The bioanalytical parameters of the constructed biosensors were studied and the created devices were tested for assay of L-Arg and creatinine in biological samples and some commercial pharmaceuticals.

This work was financially supported by NAS of Ukraine (Program "Intelligent" Sensory Devices of a New Generation Based on Modern Materials and Technologies").

OPTIMIZATION OF RENATURATION METHOD OF THE IL7-BAPMUT FUSION PROTEIN, ITS CHARACTERIZATION AND APPLICATION

GORBATIUK O.B.^{1,2}, USENKO M.O.^{1,2}, OKUNEV O.V.², BENTSIONOVA K.I.³, IRODOV D.M.^{1,2}

¹INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

²STATE INSTITUTE OF GENETIC AND REGENERATIVE MEDICINE NAMS OF UKRAINE, KYIV;

³STATE INSTITUTION "SOILS PROTECTION INSTITUTE OF UKRAINE", KYIV;

e-mail: gorbatuyk@ukr.net

Human Interleukin7 (hIL7) plays an important role in the development, regulation and proliferation B and T cells of the immune system. IL7 is a singlechain glycoprotein with molecular weight around 20 kDa, consisting of four α helix stabilized by three disulfide bonds. The IL7 (IL7R) receptor is a heterodimeric protein composed of IL7R α (CD127) and IL2Ry (CD132) chains. The main signaling cascades activated with IL7 and IL7R include JakStat and PI3KAkt pathways. Studies of IL7 and IL7R have shown that their levels vary in such diseases as HIV, hepatitis C, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, type 1 diabetes and others. IL7R α is present in membranebound and soluble isoforms. Soluble interleukin7 (IL7) receptor α (sCD127) is also implicated in the pathogenesis of different autoimmune diseases and other disorders. The monitoring of the concentration of IL7R during therapy of viral and autoimmune diseases is important for the study of the mechanisms of action of this cytokine. The aim of our work was to obtain the recombinant fusion protein based on IL7 and bacterial alkaline phosphatase (BAPmut) in functionally active form.

The DNA sequences encoding rhIL7 and BAPmut were subcloned into the pET24a(+) plasmid vector

containing the 6Histag sequence for further chromatographic purification of the target protein. The cells of E. coli strain BL21(DE3) were transformed with pET24-IL7BAPmut plasmid vector. Protein synthesis was induced by IPTG and by autoinduction. It was shown that the autoinduction protocol provides a significantly higher level of protein synthesis in E. coli compared with IPTG induction.

The target protein was accumulated in the form of bacterial inclusion bodies. IMAX was used for purification of solubilized proteins. Different renaturation methods were applied for obtaining IL7BAPmut in pure and active form. Bifunctional activity of IL7BAPmut after refolding is confirmed immunochemically by binding to specific antibodies. It was shown that application of hIL7BAPmut allows at least three times shortening the time of the screening of immune combinatory libraries of variable genes of IgG and does not require the use of specific primary and secondary antibodies. The rhIL7BAPmut fusion protein also can be used for qualitative and quantitative analysis of IL7 receptors.

ТОКСИЧНА ДІЯ ПОХІДНИХ КАРБАЦИЛАМІДОФОСФАТІВ ЗА КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ З C₆₀ ФУЛЕРЕНОМ НА ЛЕЙКЕМІЧНІ КЛІТИНИ ССRF-СЕМ

ГРИНЮК І.І., ПРИЛУЦЬКА С.В., ГРЕБІНИК А.Г., КОЛЬП Б., СЛИВА Т.Ю., АМІРХАНОВ В.М., МАТИШЕВСЬКА О.П., СЛОБОДЯНИК М.С., ФРОХМЕ М.
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ПРИКЛАДНИХ НАУК ВІЛЬДАУ, НІМЕЧЧИНА;

e-mail: igrynyuk@yahoo.com

На сьогодні актуальним є створення нових, менш токсичних структурних аналогів відомих ефективних протипухлинних препаратів, а також розробка методів посилення їх фармакологічного ефекту, зокрема, внаслідок комбінованого використання з наноструктурами. Перспективним класом біологічно активних речовин є карбаціламідофосфати (КАФ) – структурні аналоги β -дикетонів із функціональним C(O)N(H)P(O)=фрагментом. Похідні карбацілфосфорамідів з етиленімінними замісниками бензотетф та фторбензотетф набули

широкого застосування у терапії злоякісних новоутворень. Наявність у складі КАФ пептидного зв'язку зумовлює їх значну біологічну активність, а варіювання замісників біля фосфорильної та карбоксильної груп створює додаткові умови для цілеспрямованого синтезу нових сполук, зокрема, з протипухлинною дією. C₆₀ фулерен є нанорозмірною, хімічно стабільною вуглецевою структурою, яка здатна проникати через плазматичні мембрани, локалізуватися всередині клітини та взаємодіяти з біомолекулами. Молекула C₆₀ може утворювати

комплекси з відомими хіміотерапевтичними препаратами, такими як доксорубіцин та цисплатин, знижувати їх цитотоксичну дію та посилювати терапевтичну дію.

Метою роботи було оцінити токсичні ефекти похідних КАФ – диморфолідо-N- трихлорацетилфосфориламідів (HL1) та дифеніл-N-(трихлорацетил)-амідофосфату (HL2) за комбінованої дії з C₆₀ фулереном щодо лейкозних клітин ССRF-СЕМ.

ССRF-СЕМ клітини гострої Т-лейкемії людини було отримано з колекції клітинного банку Інституту м. Лейбніц (DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (ACC 240)). Життєздатність клітин оцінювали за МТТ тестом. Морфологічний стан клітин оцінювали за допомогою світлового мікроскопу Olympus "СКХ 41SF" (Японія).

HL1 та HL2 було синтезовано та ідентифіковано методами ІЧ, ¹H та ³¹P ЯМР спектроскопії. Обидві досліджувані сполуки містять у своїй структурі трихлорацетамідну групу, але відрізняються замісниками біля фосфорильної групи, HL1 містить морфолідну групу, тоді як HL2 – фенільну. У експериментах використано водний колоїдний розчин фулерену C₆₀ (10⁻⁴ М, чистота >99,5 %, середній

розмір наночастинок до 50 нм). HL1 або HL2 додавали до контрольних або до оброблених C₆₀ фулереном (10⁻⁵ М) 1 год клітин, після чого інкубували упродовж 72 год.

З використанням МТТ тесту та морфологічного аналізу виявлено цитотоксичну дію похідних КАФ щодо клітин ССRF-СЕМ. Значення ІС₅₀ для HL1 становило 0,98 мМ. За дії HL1 клітини ставали неприкріпленими, спостерігалась зміна їх форми та розміру. Сполука HL2 виявилась більш токсичною порівняно з HL1 – ІС₅₀ становило 8,98 мкМ. За дії HL2 кількість клітин значно знижувалась, спостерігалась їх фрагментація та ушкодження плазматичної мембрани. C₆₀ фулерен посилював токсичну дію сполуки HL2, але не HL1 на лейкозні клітини. За комбінованої дії C₆₀ фулерену та HL2 значення ІС₅₀ знижувалося у 3,9 раза порівняно з таким для HL2 окремо.

Отже, введення фенільної групи у структуру HL2 замість морфолідної групи (у HL1) дозволило зменшити на два порядки його ефективну токсичну концентрацію. Щодо лейкомічних клітин ССRF-СЕМ. У разі обробки клітин C₆₀ фулереном токсична дія HL2 посилювалась.

PROFILE OF CELLULAR FATTY ACIDS AND PHENOL-OXIDIZING ACTIVITY OF BACTERIA OF THE GENUS *BREVIBACILLUS*

GUDZENKO T.V., GORSHKOVA O.G., VOLIUVACH O.V.,
BELYAeva T.O., KONUP I.P., CHABAN M.M.
ODESA NATIONAL I.I. MECHNYKOV UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: tgudzenko@ukr.net

Closely related microorganisms are clearly distinguished by the presence and percentage of fatty acids in the composition of their cellular lipids. Particular attention is paid to the search for new and identification of non-pathogenic microorganisms intended for the treatment of wastewater of production of pharmaceuticals, medical institutions with a predominant content of toxic phenolic and other cyclic aromatic compounds in them.

The aim of this study was to determine the fatty acid profile of a bacterial strain – phenol destructor, isolated from the wastewater of a pharmaceutical plant, and its identification using the automated MIDI Sherlock system.

Fatty acids analysis of strains was carried out using automatic system of microorganisms' identification MIDI Sherlock (MIDI, USA) based on gas chromatograph Agilent 7890. The concentration of phenol in the control and experimental samples before and after treatment was determined by the photocolometric method using 4-aminoantipyrine (pH=10). The significance of differences between the mean values of the residual concentration of phenol in water was

determined by the Student's criterion at a significance level of at least 95 % (P≤0.05). Data processing was carried out using the program "Microsoft Office Excel 2003".

Chromatographic analysis showed that in the profile fatty acids of the test strain dominated saturated fatty acids: i-14:0 (14.9 %), i-15:0 (14.8 %), a-15:0 (34.9 %). The total content of branched saturated fatty acids – i-14:0, i-15:0, a-15:0, i-16:0, i-17:0, a-17:0, was 82.0 % (of the total pool of fatty acids); of the saturated and unsaturated fatty acids of the normal structure – was 6.5 %. Fatty acids of cyclic structure and a number of 2- and 3-hydroxy acids are not fixed. The distinctive biomarkers of the test strain are 1-hexadecanol (16:0 N alcohol; w=0.6 %), (9Z)-9-hexadecen-1-ol (16:1 w7c alcohol; w=7.7 %) and unsaturated fatty acid isomers – 16:1 w11c (3.0 %), i-17:1 w10c (1.3 %), 18:3 w6c (0.4 %). According to the phenotypic characteristics and composition of fatty acids, the test strain belongs to the species *Brevibacillus centrosporus*. The index of the similarity of fatty acid profile with the library is 0.645 for the strain of *Brevibacillus centrosporus* F14.

As a result of research, it was found that with a single injection of free cells of the strain of *Brevibacillus centrosporus* F14 in the amount of 5.5×10^5 CFU/ml in water contaminated with phenol on the 8th day of exposure, the concentration of phenol in water decreased from 200 to 66 ± 4.7 mg/l. On the 8th day of exposure, the degree of excretion of phenol from water increased to 86 %, reaching a maximum of 97% for 15 days. It was experimentally confirmed that the immobilization of cells of bacteria *Brevibacillus centrosporus* F14 on specially selected carriers helps to accelerate the process of purification of water from phenol by 1.5–3 times. It was established that on the

5th day after biotechnological treatment with bacteria *Brevibacillus centrosporus* F14, immobilized on top of peat, the residual concentration of phenol in water is 5.0 ± 0.68 mg/l (98 % purification), and reaches the maximum allowable concentration on the 10th day in case of immobilization of phenol destroying bacteria on mussel doors or on ceramic tubes. Biotechnological method using immobilized non-pathogenic bacteria *Brevibacillus centrosporus* F14-destroyers of phenol is recommended for widespread use in the technology of purification of phenol-containing wastewater, including wastewater from pharmaceutical plants.

RADIATION STABILITY OF CAROTENE IN SOLUTION AND COMPLEXES

KALINKEVICH O.V., KALINKEVICH A.N., TROFIMENKO Ya.V., DANILCHENKO S.N.
INSTITUTE FOR APPLIED PHYSICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, SUMY;
e-mail: kalinkevich@gmail.com

Carotenoids are an important and well-studied class of compounds of lipid nature found in microorganisms, algae, higher plants and animals. The most common carotenoid is beta-carotene, an important precursor of vitamin A and one of the major carotenoids in the human diet. Beta-carotene exhibits antioxidant activity, it is a biologically important neutralizer of free radicals, and also shows activity against serious diseases, such as cardiovascular or oncological. Beta-carotene is widely used in the food industry as a natural dye and vitamin supplement. Carotene can be used for optoelectronics and electrochemical devices, in various model systems, as well as in biomaterials and medical devices. However, poor water solubility, high melting point and chemical instability of carotenoids are currently the problem of their use. In addition, the stability studies of carotenoids are mainly devoted to the conditions of storage or processing of food products. The effect of ionizing radiation, especially not on pure carotene or its solutions, but on carotenoids in natural or artificial molecular complexes, is described in rather few publications. At the same time, sterilization with ionizing radiation of food products, biomaterials or medical devices is now widely adopted.

In the present work, we have studied the stability of beta-carotene in the solution and in the form of complexes with beta-cyclodextrins, chitosan, liposomes and organic-inorganic composites with calcium phosphates under influence of X-ray irradiation. The Ni-filtered CuK α X-ray radiation (wavelength 0.154 nm) was used. The current and the voltage of the X-ray tube were 20 mA and 30 kV, respectively. The absorbed dose was estimated using chemical Fricke (ferrous sulphate) dosimeter. The carotene degradation rate (loss) was estimated spectrophotometrically as $((A_0 - A)/A_0) \cdot 100$, where A_0 is the absorbance of not irradiated samples. Absorbance was measu-

red with a Spekol 1500 spectrophotometer (Analytik Jena AG) at the characteristic wavelength of carotene (450 nm).

The solution of carotene 0.1 mg/ml in 96 % ethyl alcohol was subject to X-ray irradiation with the absorbed dose of from 5 to 50 Gy, and the loss-dose dependence has been built. The loss of carotene in the case of maximum dose is ca. 38 %. For further experiments, the initial concentration of carotene and the absorbed dose were the same. Complexes of beta-carotene with chitosan and beta-cyclodextrins were prepared. After irradiation at the same condition, there has been no loss of carotene vs. initial concentration in case of carotene-chitosan complex and carotene-cyclodextrin complex with 1:1 molar ratio; in carotene-cyclodextrin complex with 2:1 molar ratio the loss of carotene was 10 %. Composites of calcium phosphates with carotene after preparation were irradiated in the form of fine aqueous suspension, after what carotene was extracted for analysis. The loss of carotene, in this case, was ca. 12 %. Beta-carotene loaded liposomes were prepared using a thin film ultrasound method with the utilization of soy phosphatidylcholine. After irradiation of liposomal solution, the carotene loss was 8 %, and in this case, the profile of the absorption spectrum has changed, the peak at 341 nm significantly increased indicating the radiation-induced chemical reactions in the system.

So, the complexes of beta-carotene with beta-cyclodextrin with 1:1 molar ratio, and the complexation of carotene with chitosan totally prevents carotene of being destroyed by factors caused by X-ray irradiation in the investigated dose range (up to 50 Gy) in solution. Moreover, as the dependence of degradation rate of pure carotene in solution was found to be smooth and has a linear section, the carotene solution itself could be used as a chemical dosimeter.

СПІЛЬНЕ КУЛЬТИВУВАННЯ *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405 ІЗ СТОРОННІМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ ЯК ФАКТОР РЕГУЛЯЦІЇ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

КЛЮЧКА Л.В., ПИРОГ Т.П.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, КИЇВ, УКРАЇНА;
e-mail: liya.nikityuk@ukr.net

Наразі антибіотики є одними з найпоширеніших продуктів на фармацевтичному ринку; потужність їх виробництва у світі становить понад 100 тис. т на суму більше 20 млрд. доларів. Їх застосовують в медичній практиці, сільському господарстві, ветеринарії тощо. Проте через таку розповсюдженість антибіотиків у житті сучасної людини постала загроза виникнення полірезистентних штамів, нечутливих до дії цих речовин. Так, проблемою стали внутрішньолікарняні інфекції, спричинені бактеріями, стійкими до впливу поширених антибіотиків: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis*, *Providencia* sp., *Acinetobacter*, *Serratia marcescens* тощо. На сьогодні все ширше використовуються альтернативні антибіотикам антимікробні препарати біологічного походження (пробіотики, бактеріофаги, ензими) та активно досліджуються нові потенційні біоциди (поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження, пептиди, бактеріоцини, лектини та ін.).

З літератури відомо, що антимікробна активність бактеріоцинів може змінюватися у разі присутності в середовищі культивування продуцента конкурентного мікроорганізму (часто патогенного або умовно-патогенного), який може бути індуктором синтезу речовин з антимікробними властивостями.

Раніше було встановлено, що поверхнево-активним речовинам (ПАР) *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 притаманні антимікробні властивості щодо широкого спектра мікроорганізмів.

В зв'язку з цим, мета цієї роботи – дослідження можливості посилення антимікробної активності поверхнево-активних речовин, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 за внесення у середовище *Escherichia coli* ІЕМ-1 і *Bacillus subtilis* БТ-2.

Штам *N. vaccinii* ІМВ В-7405 виділений та ідентифікований на кафедрі біотехнології та мі-

кробіології НУХТ і зареєстрований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України за номером ІМВ В-7405. *N. vaccinii* ІМВ В-7405 вирощували в рідкому мінеральному середовищі з очищеним або технічним гліцерином (2 %, об'ємна частка). Індуктори вносили у середовище на початку процесу у вигляді живих та інактивованих автоклавованих клітин. Антимікробну активність визначали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК).

Встановлено, що внесення як живих, так і інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 супроводжувалося утворенням ПАР з підвищеною антимікробною активністю. Так, МІК щодо *E. coli* ІЕМ-1 та *B. subtilis* БТ-2 ПАР, утворених за присутності живих клітин штаму ІЕМ-1, становила 6–40 мг/мл і 15–80 мг/мл відповідно, та була у 2–8 разів нижчою, ніж МІК ПАР, синтезованих у середовищі без індуктора. На наступному етапі як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405 з посиленою антимікробною дією використовували вегетативні і спорові клітини *B. subtilis* БТ-2. Експерименти показали, що незалежно від фізіологічного стану клітин індуктора (вегетативні, спорові) та їх життєздатності (живі, інактивовані), спостерігали синтез ПАР, мінімальна інгібуюча концентрація яких щодо досліджуваних бактеріальних тест-культур була у 2,4–13 разів нижчою, ніж ПАР, синтезованих у середовищі без індуктора. Аналогічні закономірності були встановлені і під час визначення МІК ПАР, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на середовищі з технічним гліцерином.

Показано посилення антимікробної активності поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405 внесенням у середовище культивування продуцента клітин інших бактерій, зокрема *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2.

СИНЕРГІЗМ АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

КЛЮЧКА І.В., КЛЮЧКА Л.В., ПИРОГ Т.Т.
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, КИЇВ, УКРАЇНА;
e-mail: liya.nikityuk@ukr.net

На сьогодні комерційний ринок антибіотиків представлений понад 6-ма тисячами одиниць, кількість яких щорічно зростає на 4 %. Тим не менше, кількість резистентних до них мікроорганізмів зростає швидше, ніж з'являються нові унікальні антибіотики. Нині для підвищення ефективності антибіотиків застосовують комбіновану терапію, розробляються методи цільової доставки ліків до мішені і досліджуються безпечні для людини рослинні речовини (наприклад, ефірні олії), які здатні посилювати антимікробну дію антибіотиків. Окрім рослинних сполук, продуктами біологічного походження є мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР), яким притаманна висока антимікробна активність. Останніми роками інтенсивно досліджується синергічна антимікробна дія мікробних ПАР та антибіотиків. Раніше на кафедрі біотехнології та мікробіології було встановлено, ПАР штаму *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 є ефективними антимікробними агентами щодо широкого спектра мікроорганізмів.

N. vaccinii ІМВ В-7405 вирощували в рідкому середовищі з очищенням гліцерином (2 % об'ємна частка). Поверхнево-активні речовини, екстрагували з супернатанту культуральної рідини сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1). У роботі використовували такі лікарські препарати: амікацин – антибіотик групи аміноглікозидів, цефтріаксон – напівсинтетичний антибіотик із групи цефалоспоринов III покоління. Антимікробну дію лікарських засобів, поверхнево-активних речовин та їх суміші аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Для дослідження синергічної дії розчини антимікробних препаратів і ПАР однакової концентрації (0,1÷0,5 мг/мл) змішували у різних співвідношеннях, після чого визначали мінімальну інгібуючу концентрацію суміші методом послідовних двократних серійних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ).

Встановлено, що поверхнево-активні речовини *N. vaccinii* ІМВ В-7405 проявляли синергічний ефект у комплексі як з амікацином, так і цефтріаксоном.

Експерименти показали, що МІК суміші ПАР штаму ІМВ В-7405 та антибіотиків щодо *Pseudomonas* sp. MI-2 була нижчою, ніж кожної антимікробної сполуки окремо. Так, мінімальна інгібуюча концентрація ПАР дорівнювала 125 мкг/мл, амікацину – 15,63, а їх суміші – 0,25 мкг/мл, що у 65 та 500 разів нижче, ніж антибіотика та поверхнево-активних речовин відповідно. Мінімальна інгібуюча концентрація суміші ПАР та цефтріаксону щодо *Pseudomonas* sp. MI-2 виявилася у 255 разів нижчою за МІК цих препаратів окремо. Зазначимо, що рівень синергічної активності щодо досліджуваної тест-культури залежав від співвідношення речовин у суміші. Так, за наявності 60 % ПАР у суміші з амікацином мінімальна інгібуюча концентрація щодо штаму MI-2 становила 0,98 мкг/мл, що у 16 разів нижче за МІК самого антибіотика (15,6 мкг/мл). Збільшення об'ємної частки ПАР до 75–80 % у суміші з цефтріаксоном супроводжувалося зниженням на 2–3 порядки МІК як антибіотика, так і ПАР окремо.

Дослідження антимікробної активності суміші ПАР та амікацину щодо *S. aureus* БМС-1 і *E. cloacae* С-8 показали, що антибіотик пригнічував ріст обох тест-культур у концентрації 1,96 мкг/мл, тому не очікували ефекту від додаткового внесення ПАР. Дійсно, за наявності 70–75 % ПАР штаму ІМВ В-7405 у суміші з амікацином МІК щодо *S. aureus* БМС-1 не відрізнялась від такої для антибіотика (1,96 мкг/мл), а мінімальна інгібуюча концентрація щодо *E. cloacae* була всього у 2 рази нижчою порівняно з показником, встановленим для амікацину. Такі дані засвідчують, що використання суміші антибіотиків з ПАР є доцільним лише у разі відносно високої МІК антибіотиків (не менше 10–20 мкг/мл).

Одержані результати показують можливість використання поверхнево-активних речовин мікробного походження (на прикладі ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405) для посилення антимікробної дії антибактеріальних лікарських препаратів.

КОМПЛЕКСУВАННЯ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНУ З ПОЛІМЕРНИМ НАНОРОЗМІРНИМ НОСІЄМ ПОСИЛЮЄ ЇХНЮ ПРОТИПУХЛИННУ АКТИВНІСТЬ *IN VITRO* ТА ЗМЕНШУЄ НЕГАТИВНУ ПОБІЧНУ ДІЮ *IN VIVO*

КОБИЛІНСЬКА Л.¹, СКОРОХІД Н.², ІВАСЕЧКО І.², ПАНЦУК Р.²,
МІТІНА Н.³, ЗАІЧЕНКО О.³, ЛЕСИК Р.¹, ЗІМЕНКОВСЬКИЙ Б.¹, СТОЙКА Р.²

¹ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;

³НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА", УКРАЇНА;

e-mail: lesya8@gmail.com; Kobylynska_Lesya@meduniv.lviv.ua

Мета: 1) вивчити проапоптотичну дію похідних 4-тіазолідинону (Les-3288, Les-3833) та їхніх комплексів із полімерним наноносієм (ПН) *in vitro* на клітинах гліоми С6 щурів 2) оцінити пошкодження ДНК за дії Les-3288, Les-3833 та їхніх комплексів із ПН; 3) дослідити протипухлинну активність Les-3288, Les-3833 і комплексу Les-3833+ПН на моделі пухлини лімфоми NK/Ly, прищепленої мишам BALB/C; 4) визначити цитологічні та ензиматичні показники загальної токсичної дії сполук Les-3288 і Les-3833 у мишей з лімфомою NK/Ly.

Методи. Антинеопластичні ефекти Les-3288, Les-3833 та комплексів Les-3288+ПН, Les-3833+ПН досліджували *in vitro* на клітинах лінії С6 гліоми щурів із використанням методу виключення Трипанового синього. Їхній вплив на клітинний цикл визначали за допомогою протокової цитофлуориметрії, наявність Анексин V(+) апоптичних клітин виявляли, застосовуючи метод FACS-аналізу, пошкодження ДНК оцінювали за допомогою методу аналізу "комет" ДНК. Мишам BALB/C імплантували асцитну лімфому NK/Ly і лікували впродовж 14 діб Les-3833 (2,5 мг/кг ваги), Les-3288 (5 мг/кг ваги), комплексом Les-3833+ПН (2,5 мг/кг ваги), і доксорубіцином (1 мг/кг ваги) (позитивний контроль). Загальний токсичний вплив досліджуваних сполук перевіряли впродовж 35 діб росту пухлини. Для статистичного аналізу використовували метод ANOVA з програмою GraphPad Prism 7.04.

Результати. Цитотоксична дія сполук Les-3288 і Les-3833 реалізується за допомогою механізмів апоптозу, що підтверджене FACS-аналізом, який виявив збільшення фракції клітин С6 гліоми щура у пре-G1 фазі клітинного циклу та появу проапоптичних Анексин V(+) клітин. ДНК-комет аналіз

клітин гліоми С6 за дії вказаних сполук продемонстрував збільшену кількість ДНК комет вищих класів, а також одноланцюгові розриви в ядерній ДНК і відсутність інтеркаляції Les-3288 і Les-3833 у молекулу ДНК.

Похідні Les-3288 та Les-3833 володіють вираженим лікувальним ефектом щодо лімфоми NK/Ly *in vivo*. У мишей з цією пухлиною виявлено достовірне зниження об'єму асцитної рідини з лімфомними клітинами, тоді як у нелікованих мишей об'єм асциту зростав в 1,5 рази. Активність аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази у сироватці крові піддослідних тварин зростала на 14-й день лікування, повертаючись до норми на 21-й день. Доксорубіцин викликав важку анемію зі зменшенням кількості еритроцитів, тоді як похідні 4-тіазолідинону володіли значно меншою токсичністю й кількість еритроцитів залишалася нормальною навіть через 21 день. Ріст лімфоми NK/Ly у мишей призводив до зростання кількості нейтрофілів, тоді як Les-3288 і Les-3833 значно зменшували їхню кількість.

Висновки. Комплексування похідних 4-тіазолідинону Les-3833 і Les-3288 з ПН не лише забезпечувало їхню розчинність у воді, але й посилювало цитотоксичну дію на клітини С6 гліоми щура. Досліджувані похідні знищують пухлинні клітини за участю механізмів апоптозу. Вони є ефективними під час лікування мишей BALB/C із прищепленою лімфомою NK/Ly, а їхнє комплексування з ПН посилює протипухлинний ефект. Разом з тим, дія Les-3833 і Les-3288, порівняно з дією доксорубіцину, призводить до менш виражених негативних побічних ефектів у лікованих мишей з лімфомою NK/Ly.

ВПЛИВ ДЕКСТРАНУ-70 НА АГРЕГАЦІЮ ПРОТИПУХЛИННОГО ЦИТОКІНУ ЕМАР II

КОЛОМІЄЦЬ Л.А.¹, ЛОЖКО Д.М.¹, ЧУНІХІН О.Ю.², ЗАЄЦЬ В.М.¹, ГОРДОВСЬКА Н.В.¹, КОРНЕЛЮК О.І.¹

¹ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: babenko_lesia@ukr.net

Дослідження проблеми агрегації протеїнів є актуальним напрямом сучасної біології. Терапевтичні засоби на основі протеїнів стають все більш важливим класом фармацевтичних препаратів, які мають ряд переваг. При характеристиці біотерапевтичних засобів особлива увага приділяється важливому аспекту якості препаратів – агрегації. Агрегати протеїнів можуть викликати імуногенну реакцію у пацієнтів, а також призводити до зниження ефективності лікарських засобів. Саме тому агрегати протеїнів вважаються найважливішим аспектом якості під час розробки біопрепаратів. В Інституті молекулярної біології і генетики НАН України створено комплекс протипухлинного цитокіну ЕМАР II із декстраном-70, який є перспективним для застосування в фармакології.

З метою вивчення розмірів рекомбінантного протеїну ЕМАР II, його здатності до агрегації, а також впливу декстрану-70 на стабільність наноконструкції ЕМАР II – декстран-70 у розчині, проводили дослідження методом фотонної кореляційної спектроскопії на лазерному кореляційному спектрометрі "ZetaSizer-3" (Malvern Instrument, Великобританія). Реєстрацію та статистичну обробку лазерного випромінювання, розсіяного від розчину ЕМАР II та його комплексу з декстраном-70, проводили 5-разово протягом 60 с в діапазоні температур від +22 °С до +55 °С під кутом розсіювання 90°. Отримані результати вимірювань обробляли за допомогою сервісної комп'ютерної програми PCS-Size mode v1.61. Для дослідження використовували наступні концентрації складових: ЕМАР II з концентрацією 0,6 мг/мл (6,87 мМ) та декстран-70

з концентрацією 50 мг/мл (7,1 мМ). Стехіометрія зв'язування декстрану-70 з протеїном становить близько 1:1.

Аналіз даних показав, що гідродинамічний діаметр декстрану-70 знаходиться в діапазоні 0,4–4 нм. Встановлено, що при кімнатній температурі в розчині протеїну ЕМАР II присутні значні по розмірам осередки розсіювання світла з розмірами 20–60 нм (теоретично розрахований гідродинамічний діаметр одної молекули ЕМАР II становить 3 нм), що, ймовірно, обумовлено процесом утворення агрегатів ЕМАР II різного розміру. Подальше плавлення протеїну до 55 °С показує постійний ріст розмірів агрегатів до 5000 нм при підвищенні температури. Розміри комплексу ЕМАР II – декстран-70 при 20 °С значно відрізняються від розмірів чистого протеїну ЕМАР II. В комплексі реєструється значне зменшення гідродинамічного діаметра часток у розчині від 60 нм до 3–10 нм. З підвищенням температури зникають осередки значного розсіювання світла і така тенденція зберігається аж до досягнення температури 55 °С. Ці дані свідчать про те, що комплекс ЕМАР II – декстран-70 досить міцний та стабільний і не руйнується при високих температурах. Полісахарид декстран-70 стабілізує протеїнову глобулу ЕМАР II та перешкоджає процесам агрегації, що дуже важливо при використанні рекомбінантних терапевтичних протеїнів.

Наноконструктивний комплекс ЕМАР II із декстраном-70 може бути використаний для подальших доклінічних досліджень з метою застосування у фармакологічній практиці як протипухлинного та антиангіогенного комплексу.

НАНОКОМПЛЕКСИ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ МАЛЕІМІДУ ТА C₆₀ ФУЛЕРЕНУ: СТВОРЕННЯ, ПРОТИПУХЛИННІ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ

КУЗНЕЦОВА Г.М., ГУРМАЧ В.В., МІЛОХОВ Д.С., ДЗЮБЕНКО Н.В., ХИЛЯ О.В., РИБАЛЬЧЕНКО В.К.

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

e-mail: biophys@gmail.com

Окисний стрес є одним із основних механізмів реалізації патологічних станів шлунково-кишкового тракту, таких як запалення, фіброз та канцерогенез. Стан окисного стресу характеризується надмірною кількістю АФК, активацією прозапальних

шляхів та шляхів, пов'язаних з проліферацією клітин. Так як окисний стрес – мультифакторний стан, для успішної його корекції необхідним є системний підхід. C₆₀-фулери є біосумісними нетоксичними наноструктурами на основі Карбону,

основним механізмом біологічної дії яких є уловлювання вільних радикалів. Деякі похідні малеїміду здатні інгібувати низку рецепторних та нерепторних протеїназ, залучених у регуляцію проліферації, виживання та загибелі клітин. Тому метою роботи є розробка комплексного засобу, який би одночасно впливав на основні ланки, залучені у розвиток окисного стресу і його системних наслідків, а саме уловлював вільні радикали та пригнічував ключові протеїнази сигнальних шляхів, гіперактивованих при запаленні та канцерогенезі.

Комплекс на основі похідних малеїміду та C_{60} -фулерену досліджували методами молекулярного докінгу та молекулярної динаміки. Оцінку ефективності комплексного застосування C_{60} та представників похідних малеїміду здійснювали на моделі 1,2-диметилгідразин-індукованого раку товстої кишки (починаючи зі стадії сформованих пухлин протягом 7 тижнів) та хронічного індукованого оцтовою кислотою запалення товстої кишки (протягом 7 тижнів). Протипухлинну активність сполук оцінювали за розмірами та кількістю коло ректальних пухлин та активністю лактатдегідрогенази (ЛДГ) в сироватці крові. Протизапальну активність – за ступенем ураження товстої кишки та проникністю кишкової стінки для барвника фенол-

сульффталеїну (ФСФ) (вимірювали у добовій сечі). Статистичну обробку здійснювали за допомогою методу ANOVA із застосуванням критерію Тьюкі для апостеріорних множинних порівнянь.

При аналізі можливості утворення стабільного комплексу на основі найбільш біологічно активних похідних малеїміду та C_{60} було встановлено, що імовірно є утворення структури на основі нековалентних взаємодій між компонентами: молекула похідної піролу адсорбується на поверхні C_{60} за рахунок стекинг-взаємодій між ароматичними кільцями бічних радикалів, а також електростатичних взаємодій між електроноакцепторними групами (CO, Cl, CF_3) похідної малеїміду та C_{60} -фулерену. Сумісне застосування C_{60} та похідної малеїміду, не впливаючи на розміри пухлин, сприяє зменшенню їх кількості на 30 % та знижує активність сироваткової ЛДГ на 34 % порівняно з групою “нелікованих” тварин. Запропонована комбінація також зменшує ступінь ураження товстої кишки на 79 % при застосуванні за її хронічного запалення та зменшує проникність епітеліального бар'єру кишкової стінки на 60 %, відновлюючи її до контрольного значення.

Комплекс на основі C_{60} -фулерену та похідних малеїміду може бути перспективним засобом для корекції запалення та канцерогенезу, а також, пов'язаних з ними станів.

РУЙНУВАННЯ БІОПЛІВОК ЗА ДІЇ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241, *RHODOCOCCUS* *ERYTHROPOLIS* IMB AC-5017, *NOCARDIA VACCINIИ* IMB B-7405

ЛУЦАЙ Д.А., ПИРОГ Т.П., КЛЮЧКА Л.В., ПАЛІЙЧУК О.І.
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, КИЇВ, УКРАЇНА;
e-mail: liya.nikityuk@ukr.net

Колонізація мікроорганізмами різних поверхонь і подальше формування біоплівки є причиною поширення інфекційних захворювань та забруднення обладнання. На сьогодні точно встановлено, що як мінімум 60 % випадків всіх інфекцій спричинені біоплівками. Так, тільки в США щорічно реєструють 17 мільйонів інфекційних захворювань, спричинених біоплівками, серед яких до 550 тисяч смертельних випадків. На сьогодні звичайні стратегії дезінфекції та очищення не є достатньо ефективними щодо руйнування утворених біоплівок через їх специфічну фізіологію та фізичні бар'єри, зумовлені екзополісахаридами, синтезованими бактеріальним угрупованням.

Поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження широко використовуються у різних галузях промисловості. Завдяки антимікробним і антиадгезивним властивостям, а також здатності руйнувати біоплівки перспективним є застосування мікробних ПАР у біології та медицині як альтерна-

тиви синтетичним дезінфікуючим засобам або лікарським препаратам. У попередніх дослідженнях, проведених на кафедрі мікробіології та біотехнології Національного університету харчових технологій, було показано, що ПАР бактерій *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Nocardia vacciniИ* IMB B-7405 притаманні антимікробні та антиадгезивні властивості.

Мета роботи – дослідити здатність ПАР штамів IMB B-7241, IMB Ac-5017, IMB B-7405 руйнувати бактеріальні та дріжджові біоплівки.

Продукенти ПАР вирощували на поживному середовищі з етанолом, рафінованою та відпрацьованою олією, технічним та очищеним гліцерином. Для досліджень використовували супернатант культуральної рідини та розчин ПАР, виділених екстракцією із супернатанту. Як тест-культури використовували бактерії *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas aeruginosa* П-55 та дріжджі *Candida*

albicans Д-6. Ступінь руйнування біоплівки тест-культур, попередньо сформованих на лунках полістирольного імунологічного планшета, визначали спектрофотометричним методом.

Експерименти показали, що незалежно від природи джерела вуглецевого живлення в середовищі культивування штамів, всі синтезовані ПАР руйнували бактеріальні біоплівки. Слід зазначити, що деструкція біоплівок відбувалася як за дії розчину очищених ПАР, так і за використання супернатанту. Так, за дії препаратів ПАР *N. vaccini* IMB В-7405 (8,75–560 мкг/мл), *A. calcoaceticus* IMB В-7241 (40–640 мкг/мл), *R. erythropolis* IMB Ас-5017 (7,8–250 мкг/мл) спостерігали руйнування біоплівки бактерій на 5–77, 25–88, 20–65 %, дріжджів *S. albicans* Д-6 – на 5–45, 13–43, 29–75 %, відповідно. Наведені результати порівняні з літературними

даними. Так, рамноліпиди *P. aeruginosa* LCD12 (64 мкг/мл) і сурфактин *B. subtilis* RT7 (500 мкг/мл) руйнували бактеріальні біоплівки всього на 35–45 %, а ПАР *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 здатні руйнувати дріжджову біоплівку на 45 % за концентрації 100 мкг/мл.

Таким чином, ПАР штамів IMB В-7241, IMB Ас-5017, IMB В-7405 є ефективними деструкторами бактеріальних і дріжджових біоплівок навіть за низьких концентрацій. Перевагами досліджуваних ПАР є можливість їх синтезу на промислових відходах, що дає змогу знизити собівартість ПАР та утилізувати токсичні відходи. Це обумовлює можливість використання ПАР *A. calcoaceticus* IMB В-7241, *R. erythropolis* IMB Ас-5017, *N. vaccini* IMB В-7405 для створення нових ефективних мийно-дезінфікуючих засобів.

БІОСИМІЛЯРИ: УСПІХИ, ПРОБЛЕМИ І ПЕРСПЕКТИВИ

МАСЛОВА Н.Ф.¹, ЛІТВИНОВА О.В.²

¹ДП “ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ І МЕДИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ”, ХАРКІВ, УКРАЇНА;

²НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ, УКРАЇНА;
e-mail: Maslova333gncls@gmail.com

Сьогодні в усьому світі до пріоритетних напрямів інноваційної діяльності відносять біотехнології. Біотехнологічні препарати відкрили нові можливості терапії захворювань, які важко піддаються лікуванню. Однак через складність їх розробки і виробництва вартість таких препаратів, як правило, досить висока. Одним із шляхів підвищення економічної доступності для населення є заміна біопрепаратів на біосиміляри.

Метою роботи було дослідження проблем, перспектив та успіхів впровадження біосимілярів в Україні.

Дослідження проводилися з використанням баз даних в мережі Інтернет: Українського патентного відомства, Європейської патентної організації, патентного відомства США, Адміністрації по контролю за ліками і харчовими продуктами, Європейського агентства лікарських засобів (ЕМЕА), ДП “Державний експертний центр” МОЗ України, сайту МОЗ України. Використано ретроспективний, логічний, статистичний та системно-аналітичний методи дослідження.

Найбільш великими ринками біосимілярів є країни ЄС і США. Сегмент біопрепаратів і біосимілярів в Україні розвинений слабо, акумулює трохи більше 3% ринку лікарських засобів (ЛЗ), і причому домінують імпортовані препарати. Згідно з доповіддю аналітичної компанії “Thomson Reuters” на стадії розробки знаходяться більше 700 біосимілярів, над створенням яких працюють 245 біофармацевтичних компаній і дослідницьких установ. За даними

аналітичної компанії “MarketsandMarkets”, до 2023 р. ринок біосимілярів може досягти 23,63 млрд дол. США. В Україні обмежена кількість підприємств, які реєструють і випускають вітчизняні біосиміляри і в основному спільно із зарубіжними фармацевтичними фірмами (ПАТ “Фармак”, ВАТ “Фармекс Груп” та ін.). Якщо головною метою дослідження біологічного препарату є визначити клінічний ефект, то при розробці біосиміляра головна мета – визначити схожість, формування наукового містка, що веде до клінічного досвіду оригінального ЛЗ. Аналітичні методи є найбільш чутливим інструментом для формування цього наукового містка. Для скорочення обсягу досліджень на етапах доклінічного і/або клінічного вивчення обґрунтовано принцип покрокової методики доказовості подібності біоподобних і референс препаратів. Чим більш повно і достовірно продемонстровано схожість біоподобних і референс ЛЗ на кожному етапі, тим менший обсяг досліджень потрібно на наступних етапах. Важливим є вибір референтного препарату, який повинен бути затверджений для застосування в Європейському Союзі (ЄС), на основі повного досьє. Обраний референтний препарат повинен застосовуватися протягом виконання всієї програми порівняльних досліджень. Серйозною проблемою використання біосимілярів є імуногенність, розвиток якої не піддається прогнозуванню. Біосиміляр може мати подібну до референс препарату ефективність і безпеку, але за імуногенністю може істотно відрі-

нитися. Зазначене підкреслює необхідність тривалих програм фармаконагляду вже після виходу біопрепарату на ринок. В даний час необхідно визнати існування на фармацевтичному ринку не тільки України, але і в ЄС біосимілярів, які зареєстровані раніше за іншими спрощеними процедурами, зокрема, за процедурою, прийнятою для генериків. Якщо "скопійовані" ЛЗ були ліцензовані без надання адекватних даних щодо якості, безпеки або клінічних випробувань, то ВООЗ (5 липня

2017 р. Копенгаген), розглянув як варіант, можливість присутності препарату на ринку протягом певного періоду часу, в ході якого необхідно зобов'язати виробників подати відповідні дані і план управління ризиками для регулярної експертизи з метою підтримки продовження терміну дії ліцензії.

Зроблено висновок, що для лікування серйозних патологій, які важко піддаються лікуванню, доцільно впровадження біосимілярів, на виробництво яких повинні бути націлені вітчизняні виробники.

ВИКОРИСТАННЯ ГІБРИДНИХ МИШЕЙ ЛІНІЇ BALB/CXC57BL/6J З МЕТОЮ МАКСИМАЛЬНОГО ОТРИМАННЯ АНТИТІЛ МОРС-21

МАТВЄЄВА Х.П., КЛОНОВСЬКИЙ А.Я., ЛУЦАК В.І.

ДВНЗ "ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА",
ІВАНО-ФРАНКІВСЬК, УКРАЇНА;
e-mail: kristinellomatveeva@gmail.com

Технологія отримання антитіл є однією з небагатьох галузей біотехнології, яка протягом останніх десятиліть зазнала значних покращень та стандартизацій. Антитіла стали незамінним інструментом для виявлення та ідентифікації цільових молекул методами імуноцитохімії, широко використовують для вивчення структури і функції біомолекул, виявлення нових антигенних компонентів клітин та тканин, аналіз експресії та регуляції генів. Вони дозволяють забезпечити високу специфічність, чутливість і відтворюваність в імуноезимному аналізі. Однак, незважаючи на швидкий прогрес в науці, дані щодо оптимальних умов культивування клітин-продуцентів *in vivo* та *in vitro* практично відсутні. Культивування гібридом *in vivo* з метою отримання великих кількостей антитіл залишається досі "вузьким місцем" гібридної технології. Використання різних ліній та створення гібридних ліній мишей може значно збільшити сумарний вихід антитіл та їх специфічність.

Мета роботи – порівняти особливості культивування гібридом МОРС-21 в мишах лінії BALB/c та гібридів 2-го покоління BALB/cxC57BL/6J на процеси асцитотворення та отримання максимальної кількості антитіл. Для реалізації мети були поставлені наступні завдання: 1) порівняти використання інбредних та гібридних мишей на фізіологічні параметри асцитотворення; 2) визначити концентрацію загального протеїну, титр антитіл та кількість клітин-гібридом МОРС-21 в асцитній рідині; 3) очистити імуноглобуліни класу G; 4) провести підбір концентрацій антитіл при нативному електрофорезі.

У експерименті використовували одномісячні самці та самки лінії BALB/c та гібридої лінії в кількості 7 особин на групу. Спочатку проводилась ін'єкція пристаном та після 2-х тижнів клітинами

МОРС-21. У роботі також використовували фізіологічні (вага, споживання їжі та води/0,9% NaCl), біохімічні (концентрація загального протеїну), імунологічні (титр антитіл, підрахунок клітин в камері Горяєва) методи та методи нативного електрофорезу. Статистичну обробку даних та сканування гелів здійснювали за допомогою програми "Mupova" та "TotalLab Quant Software". В якості статистичних показників брали середнє арифметичне та похибку середнього, визначення вирогідної різниці між ними проводили за допомогою критерію Стьюдента. Значення $P < 0,05$ розглядали як критерій вирогідної різниці.

Вперше показано, що при ін'єкції клітинами МОРС-21, самці гібридної лінії (BALB/c x C57BL/6J) мишей споживають більше корму та води/0,9% NaCl відповідно до інбредної лінії (BALB/c) самців, тоді як між самками достовірної різниці не виявлено. Також спостерігаємо збільшення маси тварин обох ліній та обох статей, це свідчить про ріст клітин гібридами в черевній порожнині і не залежить від споживання корму та води. У самок гібридних ліній збільшується кількість клітин МОРС-21, асцити та концентрація протеїну відповідно до інбредних ліній самок, тоді як між самцями достовірних змін не спостерігаємо. Титр антитіл достовірно вищий у інбредних мишей, однак вміст IgG при електрофорезі в ПААГ не відрізняється у самок обох ліній, тоді як у самців інбредних мишей достовірно менший порівняно до гібридних самців.

Використання самок гібридних мишей є ефективним для синтезу антитіл. Оскільки саме в самок лінії BALB/c x C57BL/6J збільшується кількість клітин МОРС-21, асцити, концентрація загального протеїну, вміст імуноглобулінів класу G, збільшується маса тварин та практично не змінюється споживання корму та води/0,9% NaCl.

EPR STUDY OF MONO- AND BIS-NITROXIDE DERIVATIVES OF ADAMANTANE IN COMPLEXES WITH BETA-CYCLODEXTRIN

MELNYK A.K., KOBZAR O.L., KHILCHEVSKIY O.M., VOVK A.I.
V.P. KUKHAR INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY AND PETROCHEMISTRY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: vovk@bpci.kiev.ua

Stable nitroxide radicals are known to display biological activity as possible redox-modulators in living cells which exhibit superoxide dismutase-mimetic and free radical scavenging properties. The detailed investigation of the compounds of such class may be important for the creation of drugs.

In the present work, the interaction of four adamantane-based mono- and bis-nitroxide radicals (1-oxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-4-yl esters of adamantane carboxylic and adamantane acetic acids) with beta-cyclodextrin were studied using EPR spectroscopy. This cyclic oligosaccharide as a molecule with a hydrophobic cavity has an ability to form host-guest complexes, therefore it can be used as a specific platform for transporting biologically active compounds to target sites.

The obtained data showed that EPR spectra for all of the stable radicals in aqueous buffer solutions (pH 8) containing 2 % of ethanol consist of triplet, determined by the hyperfine interaction of unpaired electron with nitrogen nucleus, and a broad singlet line, caused by spin-exchange interaction due to the formation of molecular aggregates. After addition of beta-cyclodextrin (host molecules), this superparamagnetic component disappeared in the spectra of mono-nitroxides, and its intensity was drastically decreased in case of spectra of biradicals. This can be explained with the host-guest complexation between

beta-cyclodextrin and adamantane-based radical compounds accompanied by dissociation of hydrophobic aggregates. The results of the temperature experiments alongside with the values of the rotational diffusion correlation time proved good stability of such complexes.

Reactivity of the radicals self-associated in aqueous solution was compared with their properties in complexes with beta-cyclodextrin using a model system with ascorbic acid, a biomolecule with a number of important functions *in vivo*. The reaction kinetics was investigated by monitoring the decay of EPR signal during reduction of the nitroxyl derivatives to corresponding hydroxylamines. The results showed that the reaction rate increases significantly in the case of the formation of water-soluble complexes with beta-cyclodextrin, as compared to a system containing the aggregated adamantane compounds. The reaction rates of the nitroxide radicals in complexes with beta-cyclodextrin were approximately the same.

In conclusion, the EPR study confirms the inclusion complexation of the mono- and bis-nitroxide radicals with beta-cyclodextrin. In biomedical systems, the formation of such complexes can be considered as an approach to improve solubility and bioavailability of bioactive nitroxide compounds with adamantane scaffold.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ РЕКОМБІНАНТНИХ ПРОТЕЇНІВ НА ТКАНИННИЙ МЕТАБОЛІЗМ ІШЕМІЗОВАНОЇ НИРКИ

НИКУЛІНА Г.Г., МИГАЛЬ Л.Я., СЕРБІНА І.Є., НІКІТАЄВ С.В.
ДУ "ІНСТИТУТ УРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", КИЇВ;
e-mail: 0675076531@ukr.net

Порушення уродинаміки при сечокам'яній хворобі, обструкції сечових шляхів та іншій урологічній патології призводить до зниження кровообігу нирки та її гіпоксичного ушкодження. Експериментально доведено, що інтраорганне введення препарату основного фактора росту фібробластів (bFGF) послаблює склерозування ниркових судин і посилює гемодинаміку ішемізованої нирки. Оскільки гіпоксія викликає утворення медіаторів запалення, ми вважали, що введення препарату з протизапальною дією, зокрема цитокіну інтерлейкін-10 (IL-10), також може використовуватись для проти-

гіпоксичної ренопротекції. Найбільш чутливі до ішемії – процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та лізосомні ензими канальцевого апарату нирки.

Мета роботи – вивчити протигіпоксичний вплив препаратів рекомбінантних протеїнів bFGF та IL-10 на стан ПОЛ та активність реноспецифічного ензиму N-ацетил-β-D-глюкозамінази (НАГ) в нирці з експериментально змодельованою ішемією.

У досліджах на 45 кролях масою 2,5–3,2 кг моделювали хронічну ішемію верхнього полюсу лівої нирки шляхом накладання лігатури на строк 3–8 мі-

сяців. Права нирка залишалась інтактною. Групу 1 складали 10 кролів із "чистою" ішемією лівої нирки, без ренопротекції. Решті дослідних тварин черезшкірно вводили в зону ішемії нирки препарати рекомбінантних протеїнів: bFGF в дозі 5 мкг/кг (група 2, 12 кролів), IL-10 в дозі 10 мкг/кг (група 3, 10 кролів) та послідовно комплекс bFGF та IL-10 (група 4, 11 кролів). Контроль – 3 здорових кролі (6 нирок). В гомогенаті коркового шару ізольованих нирок визначали активність НАГ та процесів ПОЛ за вмістом малонового діальдегіду (МДА).

У групі 1 за ішемії нирки активність НАГ знижувалась вдвічі – з $118,5 \pm 3,1$ мкмоль/год/г в нормі до $64,9 \pm 2,2$. У групах 2 і 3 рівні активності НАГ підвищились в порівнянні з "чистою" ішемією: під впливом bFGF до $83,8 \pm 3,4$ та під впливом IL-10 до $78,9 \pm 5,2$ відповідно ($P < 0,01$), при цьому зберігалась різниця з нормою ($P < 0,001$). В групі 4 під дією комплексу обох препаратів показник активності

НАГ підвищився до $110,95 \pm 9,4$ і практично нормалізувався.

Визначення вмісту МДА в гомогенаті ниркової паренхіми показало, що в групі 1 при "чистій" ішемії він становив $4,4 \pm 0,4$ мкмоль/г, що було на 90% більше норми ($2,3 \pm 1,8$) ($P < 0,05$). У групі 2 вміст МДА знизився до $3,8 \pm 2,7$, в групі 3 – до $3,3 \pm 0,2$, тобто був на 12 % та 25 % відповідно менше, ніж в групі 1. У групі 4 рівень МДА зменшився ще більше – на 47 % порівняно з "чистою" ішемією (до $2,3 \pm 0,4$) і нормалізувався.

Хронічне порушення гемодинаміки посилює утворення токсичних продуктів ПОЛ та пригнічує активність НАГ у тканині коркового шару ішемізованої нирки. Ін'єкційне застосування рекомбінантних протеїнів bFGF та IL-10 та особливо їх комплексу призводить до корекції виявлених метаболічних порушень, що вказує на протиішемічний ренопротекторний вплив цих препаратів, особливо по відношенню до канальцевого апарата нирки.

ВПЛИВ НОВИХ СЕЛЕНОВМІСНИХ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК НА ДИХАННЯ МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ТА МІКРООРГАНІЗМІВ

ОВСЯННИКОВА Т.М., КОВАЛЕНКО А.О., РАЕВСКАЯ І.М., ДЯЧЕНКО В.Д., РОМОДАНОВА Е.О.
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;
e-mail: ovsyannikova58.15@gmail.com

Відновлення пулу селену в організмі являється важливим завданням, особливо для мешканців територій, збіднених на цей елемент. Отримання та дослідження нових селеновмісних сполук є актуальним для України, більша частина якої має знижений вміст селену в ґрунті.

Були синтезовані нові селеновмісні перспективні органічні сполуки, котрі потребують поглибленого дослідження на предмет токсичності та біологічної активності. Усі сполуки структурно відрізняються одна від одної, загальним був вміст атому селену, що дозволяє допустити можливість їх використання як транспортної форми селену в організм. Було досліджено сім сполук, умовні назви: ДВД-9 – 15. Передусім, слід було з'ясувати їх токсичність. Враховуючи складність і дорожнечу їх синтезу, для подібних цілей необхідно використовувати методики, що дозволяють застосувати невелику кількість цих сполук. Ми здійснювали дослідження на рівні мітохондрій та мікроорганізмів *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*, вирішуючи одночасно й задачу вивчення їх біологічно активних властивостей. Мітохондрії із печінки щурів виділяли методом диференційного центрифугування. Дихання мітохондрій печінки та мікроорганізмів реєстрували за допомогою електрода Кларка. За кривими поглинання кисню розраховували швидкість дихання мітохондрій в метаболічних

станах 4 (V_4) і 3 (V_3) за Чансом та коефіцієнт дихального контролю.

Всі досліджувані речовини в різній мірі і різнонаправлено впливали на біоенергетичні функції мітохондрій печінки щурів. Властивості справжнього роз'єднувача дихання і окислювального фосфорилування показано у сполуці ДВД-15. Сполуки ДВД-11 та ДВД-9 працювали схожим чином. Дихання органел знижується після додавання цих сполук, але здатність до фосфорилування все ж таки зберігається, дихальний контроль знаходиться в межах 2-х одиниць. Можливо, досить громіздкі за своєю структурою речовини змінюють стан ліпідного бішару, ущільнюючи його, що призводить до зниження швидкості роботи дихального ланцюга і струму протонів в міжмембранному просторі, але не значно впливає на ефективність фосфорилування. Проте, на відміну від ДВД-9, динаміка дихання нефосфорилуючих мітохондрій у ДВД-11 все ж негативна. ДВД-10 не знижувала на перших хвилинах дихальну активність нефосфорилуючих мітохондрій, але пригнічувала її в 2 рази вже на 4-й хв, відразу позбавляючи мітохондрії здатності до фосфорилування. Можливо, наявна в складі цього з'єднання амідна група зв'язується з функціонально значущими протеїнами внутрішньої мембрани мітохондрій, наприклад, субодиницями АТФ-ази. Сполуки ДВД-12 і -13 діяли аналогічно

ДВД-9 і -11, але більш позитивно. Вплив ДВД-14 на дихання мітохондрій також не був негативним. Сполука досить масивна, цілком здатна зайняти половину ліпідного бішару або входити в гідрофобні пори. Її позитивний ефект вимагає додаткових досліджень.

Селеновімісні гетероциклічні органічні сполуки ДВД 7-15 різнонаправлено впливали на дихальну активність мікроорганізмів *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus* – в першому випадку збільшували, в другому частіше сповільнювали, більш

того – визивали продукцію кисню. Напевне, деякі з сполук можуть служити як субстрати харчування для *Staphylococcus aureus* за рахунок метильних груп в їх складі.

Досліджувані нові органічні селеновімісні сполуки у своїй більшості продемонстрували помірну і слабку токсичність в дослідках на мітохондріях печінки щурів та мікроорганізмах. Сполуки які вивчали при додатковому розширеному їх дослідженні, мають перспективу в фармакології, медицині і біотехнології.

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВИХ СЕЛЕНОВІМІСНИХ СИНТЕТИЧНИХ ОРГАНІЧНИХ СПЛУК

ОВСЯННИКОВА Т.М., ВОЛЬВАЧ Г.М., КОВАЛЕНКО А.О., СІЧЕВСЬКА Л.В., ПАНЧЕНКО В.Г., ДЯЧЕНКО В.Д.

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА;
e-mail: ovsyannikova58.15@gmail.com

Важливість селену для метаболізму як есенціального елементу визначається, перш за все, його наявністю в активному центрі глутатіонпероксидази [1.11.1.9/12] у складі амінокислоти селеноцістеїну. Ряд територій України дефіцитні за вмістом селену, введення його в організм - актуальне завдання. Органічні сполуки селену, проходячи через процеси гідроксилування в гладкому ендоплазматичному ретикулумі печінки як ксенобіотик, ймовірно, мають більші шанси вбудуватися в метаболізм, ніж неорганічні. У зв'язку з цим синтез нових органічних селеновімісних сполук і дослідження їх біологічної активності представляє великий науково-практичний інтерес.

Були синтезовані нові селеновімісні органічні сполуки (умовні назви ДВД-1, -4, -5, -7 і -8), що мають в своєму складі піридинові і ароматичні структури з різними замісниками - аліфатичними, аміно- і карбонільними групами. Досліджували антиоксидантні властивості сполук, оцінюючи їх по накопиченню малонового діальдегіду (МДА) при індукції аскорбат-залежного пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) в середовищі з гомогенату печінки щурів. У кожному пробі додавали одну з п'яти досліджуваних сполук, розчинених в диметилсульфоксиді. Кінцеві концентрації добавок в пробах інкубації – $1 \cdot 10^{-6}$ м. Інкубація проводилася протягом 15 і 30 хв, контролем служили інкубовані з аскорбатом гомогенати печінки без добавок. Також досліджували взаємодію селеновімісних сполук із модельними мембранами. Для цього застосовувалися ліпідні везикули різного фосфоліпідного складу, отримані методом етанольної інжекції, та різні мембранні зонди.

Інкубація гомогенатів печінки з селеновімісними сполуками протягом 15 і 30 хвилин приводила до зниження накопичення МДА в порівнянні з кон-

трольними пробами, але в різній мірі. В контролі після 15 і 30 хв інкубації вміст МДА становив відповідно $3,21 \pm 0,33$ і $4,23 \pm 0,78$ нмоль на 1 мг протеїну (базальний рівень – $0,93 \pm 0,03$ нмоль/мг протеїну). Після 15 хв інкубації швидкість накопичення МДА при додаванні сполук знижувалася в порівнянні з контролем в 2-4 рази. Після 30 хв інкубації величина накопиченого в пробах із добавками МДА не досягала показників контролю, максимальна величина спостерігалася з добавкою ДВД-5 – $2,24 \pm 0,20$ нмоль/мг протеїну. Динаміка накопичення МДА розрізнялася залежно від сполуки. ДВД-1 інгібував утворення МДА при інкубації, його рівень залишався однаковим після 15 і 30 хв, перевищуючи базальний лише в 1,4 рази. При додаванні ДВД-7 і -8 після 15 хв інкубації залишався базальний рівень МДА, зростаючи до 30 хв інкубації в 1,7 рази. ДВД-4 і -5 приблизно в 2 рази інгібували швидкість накопичення МДА в порівнянні з контролем. Модельні дослідження на ліпосомах показали, що досліджувані сполуки особливо ефективно перерозподіляються в кардіоліпінових ліпосомах. Можна припустити, що в процесі інкубації відбувається їх зв'язування з внутрішньою мембраною мітохондрій, тим самим перешкоджаючи роботі комплексів дихального ланцюга і утворення активних форм кисню. В процесі інкубації можливо відбувається метаболізм цих сполук в гладкому ендоплазматичному ретикулумі, їх гідроксилування і переформатування селену. Взаємозалежність структури і біологічних властивостей цих сполук вимагає додаткового вивчення.

Показано, що нові органічні селеновімісні сполуки мають антиоксидантну активність і при додатковому розширеному їх вивченні можуть мати перспективу застосування в фармакології, медицині і біотехнології.

ФЛУОРЕСЦЕНТНІ НАНОКОМПОЗИТИ З ПАРАМАГНІТНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ В КЛІТИННИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

ПАНАС І.Д., ПИРШЕВ К.О., КАНЮК М.І., НАЗАРЕНКО В.І.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: Nazarenko@biochem.kiev.ua

Розробка нових методів дослідження і аналізу властивостей біологічних систем за допомогою флуоресцентних міток і зондів є областю науки і технологій, що переживає етап бурхливого розвитку. Флуоресцентні наноматеріали дозволяють одержати найбільш чутливу відповідь на їх взаємодію з молекулярним оточенням. Флуоресцентні методи аналізу в значній мірі витіснили радіоізотопні методи в біохімії і клітинній біології. Вони стали незамінними в клінічній діагностиці, контролі довілля та в інших напрямках практичної діяльності. Їхні переваги полягають в надзвичайно високій абсолютній чутливості та різнобічних можливостях їх застосування – від мініатюрних пристроїв до живих клітин. Очікується, що нові технології, основані на застосуванні флуоресцентних наноматеріалів із парамагнітними властивостями, дозволять значно поліпшити ці характеристики.

Мета даної роботи полягала в створенні нових наноконструкцій із флуоресцентними та парамагнітними властивостями для біотехнологічних та біоаналітичних досліджень, вивченні характеру їх взаємодій з структурами клітин та можливості застосування в дослідженнях функціонального стану клітин.

Методи досліджень включали флуоресцентну спектроскопію, спектроскопію оптичного поглинання, проточну цитофлуориметрію та конфокальну флуоресцентну мікроскопію. Проведено роботи по створенню нових наноконструкцій з колірзмінними та парамагнітними властивостями. Модифікація поверхні, вміст додаткових компонентів та конфігурація в наноконструкціях визначалися узгодженою оптимізацією ряду властивостей – селективності,

афінності та інформативності флуоресцентної відповіді.

Розроблено нові флуоресцентні наноконструкції із парамагнітними властивостями та показана їх взаємодія з структурами живих клітин. Наведено експериментальні дані щодо створення таких поліфункціональних наносенсорів із різними варіантами поверхні наночастинок та флуорофорів як репортерів. Оптимізовано способи функціоналізації флуоресцентних наноконструкцій із парамагнітними властивостями для клітинних досліджень. Розроблено підходи для застосування магнітних флуоресцентних наночастинок для сортування біомолекул та їх вилучення з розчину. Створено міцелярні магнітні наноструктури на основі полімеру F127 з флуоресцентним двобарвниковим комплексом куркуміну і ціанінового барвника та Fe_3O_4 . З'ясувано характер взаємодії поліфункціональних парамагнітних флуоресцентних наноконструкцій із клітинними структурами клітин лінії HeLa залежно від часу інкубації та концентрації наноконструкції і його складових. Досліджено ступінь цитотоксичності створених флуоресцентних наноконструкцій при взаємодії з живими клітинами шляхом застосування МТТ-тесту. Показана життєздатність клітин у межах концентрацій наночастинок $Fe_3O_4@SiO_2$ 0,5–16 мг/мл під час проведення візуалізації клітинних структур.

Продемонстровано можливість застосування створених флуоресцентних "наноконтейнерів" $Cur^*Cy^*DOX@F-127$ (куркумін, ціаніновий барвник, доксорубіцин з міцелоутворювачем Pluronic F-127) для транспортування лікарських субстанцій - куркуміну та доксорубіцину в живі клітини з одночасною їх візуалізацією.

CRYOPRESERVATION OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN THREE-DIMENSIONAL (3D) CONSTRUCTS BY VITRIFICATION

PETRENKO A.Yu., TRUFANOVA N.A.
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KHARKIV;
e-mail: alexander_petrenko@cryo.org.ua

Development of tissue engineered constructs (TECs) with mesenchymal stromal cells (MSCs) for regenerative medicine is a promising strategy. An efficient method for long-term storage of ready-to-use

TECs is required for their implementation in clinical practice. Conventional cryopreservation protocols based on slow rate freezing are accompanied by ice crystals formation, which may lead to cell death and

carrier destruction. Vitrification is achieved without ice formation, and so it is a promising alternative to conventional cryopreservation.

To develop the composition of the cryoprotective solution and the protocol for vitrification of TECs based on macroporous matrices and MSCs, which prevent the development of crystallization, vitreous phase cracking and preserve cell viability.

To design the vitrification solution, compositions of dimethyl sulfoxide (DMSO), ethylene glycol (EG), 1,2-propanediol (1,2-PD), sucrose (called DEPS) in various concentrations were used. Polyvinyl alcohol (PVA), polyethylene glycols (PEG-400, PEG-8000) were used as ice blockers. Human dermal MSCs (obtained in accordance with Declaration of Helsinki WMA and the requirements of the Bioethical Committee of the IPC&C) in suspension, entrapped in alginate microspheres or seeded into scaffolds were used in this work. Alginate-gelatin macroporous cryogels (kindly provided by prof. Lozinsky V.I. (A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, RAS, Russia) disks with diameter 5 mm and thickness 1 mm were used as scaffolds. Glass-forming properties of multicomponent solutions were studied by visual analysis and differential scanning calorimetry (DSC). Viability (trypan blue, FDA/ethidium bromide dual staining), metabolic activity (Alamar Blue assay, MTT-test), adhesion and differential potential of cells were assessed both after exposure with vitrification solutions and following rapid cooling-warming in standard cryovials.

The minimal concentrations of cryoprotectants in solution, which allowed avoiding ice formation during rapid cooling and rewarming comprised 10 % DMSO, 20 % EG, 20 % 1,2-PD and 0.5 M sucrose. After vitrification in this solution, both MSCs suspension and MSCs within alginate microspheres retained the viability, metabolic activity and capacity to osteogenic and adipogenic differentiation. However, this solution did not suppress the ice formation during the rapid cooling of the macroporous scaffolds, which, possibly due to its anisotropic structure, is a potent inducer of crystallization. We studied a number of solution modifications and found out that increasing the concentration of DMSO to 15% and adding 1% PVA prevented the development of crystallization during rapid carrier cooling-thawing. Then, based on thermal characteristics of the solution obtained by DSC, we developed a two-step cooling and thawing modes, which prevented vitreous phase cracking. The modified vitrification protocol provided a high viability rate of MSC in suspension, but should be further improved for vitrification of MSCs in macroporous scaffolds.

The possibility of vitrification in a relatively large volume system of MSCs in suspension and alginate microspheres is shown. The set of conditions necessary for the vitrification outside and inside the macroporous scaffolds without the cracks formation during cooling and warming is determined. Our results are feasible for further development of vitrification methods for TECs preservation.

РЕГУЛЯЦІЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

ПИРОГ Т.П., КЛЮЧКА Л.В., ПАЛІЙЧУК О.І., ШЕВЧУК Т.А.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, КИЇВ, УКРАЇНА;
e-mail: liya.nikityuk@ukr.net

Раніше на кафедрі біотехнології і мікробіології було встановлено, що штами *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 та *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, синтезують поверхнево-активні речовини (ПАР) з високою антимікробною активністю. Зазначимо, що ПАР синтезуються у вигляді комплексу подібних сполук, співвідношення яких може змінюватися в різних умовах культивування. Так, за хімічною природою ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *N. vaccinii* IMB B-7405 є комплексом нейтральних, гліко-, фосфо- та аміноліпідів. Згідно літературних даних, саме останні є найбільш ефективними антимікробними агентами порівняно з фосфо- та нейтральними ліпідами. Отже, збільшення вмісту аміноліпідів у складі комплексу може супроводжуватися підвищенням їх антимікробної активності. Встановлено, що клю-

човим ензимом біосинтезу аміноліпідів у трьох штамів є NADP⁺-залежна глутаматдегідрогеназа.

R. erythropolis IMB Ac-5017 та *A. calcoaceticus* IMB B-7241 вирощували в рідкому середовищі з етанолом, а *N. vaccinii* IMB B-7405 – з гліцерином (1 %, об'ємна частка). Активність NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази аналізували за утворенням глутамату за окиснення NADPH при 340 нм. При дослідженні впливу катіонів на активність NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази в реакційну суміш вносили 0,001-10 мМ Zn²⁺, Ca²⁺ та Mg²⁺ у вигляді розчинів солей ZnSO₄·7H₂O, CaCl₂ та MgSO₄·7H₂O відповідно. У дослідженнях використовували ПАР, екстраговані з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1). Антимікробні властивості поверхнево-активних речовин аналізували за показником мінімальної інгібувальної концентрації (МІК).

Встановлено, що катіони кальцію у концентрації 5 мМ є активаторами ключового ензиму біосинтезу аміноліпідів у всіх досліджуваних штамів (збільшення активності у 1,3–1,5 раза). Збільшення концентрації Ca^{2+} до 10 мМ в реакційній суміші супроводжувалося підвищенням у 1,2–1,3 раза активності ензиму у *A. calcoaceticus* IMB B-7241 та у *N. vaccinii* IMB B-7405 і її зниженням у 3 рази у *R. erythropolis* IMB Ac-5017 (порівняно з його активністю за наявності 5 мМ Ca^{2+}). Окрім катіонів кальцію, додавання Mg^{2+} (10 мМ) і Zn^{2+} (0,001–0,01 мМ) супроводжувалося збільшенням глутаматдегідрогеназної активності у штаму *A. calcoaceticus* IMB B-7241. За додаткового внесення Zn^{2+} в середовище культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 та підвищення концентрації $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і CaCl_2 до 0,2÷0,4 та 0,1÷0,2 г/л відповідно, активність NADP^+ -залежної глутаматдегідрогенази збільшилася в 2–3 рази порівняно з активністю на середовищі без цих катіонів. Підвищення концентрації CaCl_2 в середовищі культивування штамів IMB Ac-5017 та B-7405 до 0,1 та 0,4 г/л супроводжувалося збільшенням активності ключового ензиму біосинтезу аміноліпідів у 1,5–2 рази відповідно.

Мінімальна інгібуюча концентрація ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на модифікованому середовищі, щодо *Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia coli* ІЕМ-1 та *Enterobacter cloacae* С-8 становила 4, 16 та 32 мкг/мл відповідно та була у 2–3,5 раза нижчою, ніж МІК поверхнево-активних речовин, одержаних на середовищі з нижчим вмістом катіонів. Мінімальна інгібуюча концентрація щодо досліджуваних тест-культур ПАР штаму IMB B-7405, синтезованих на середовищі з підвищеним вмістом Ca^{2+} , становила 12,5–25 мкг/мл та була в 1,8–13 разів нижчою, ніж МІК поверхнево-активних речовин, одержаних на базовому середовищі, що містило 0,1 г/л кальцій хлориду. Щодо препаратів ПАР, отриманих за умов росту *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на середовищі з 0,1 г/л CaCl_2 , то їх значення МІК вдалося знизити у 1,5 раза відносно штамів тест-культур.

Отримані результати вказують на можливість регуляції антимікробної активності поверхнево-активних речовин, що дає змогу одержувати препарати зі стабільними заданими властивостями залежно від галузі їх практичного використання.

C_{60} ФУЛЕРЕН ТА ЙОГО КОМПЛЕКС ІЗ ЦИСПЛАТИНОМ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ У ПРОТИПУХЛИННІЙ ТЕРАПІЇ

ПРИЛУЦЬКА С.¹, ГРЕБІНИК А.^{1,2}, ГРИНЮК І.¹, ЛИНЧАК О.¹, ДРОБОТ Л.³, МАТИШЕВСЬКА О.³

¹КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

²ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ПРИКЛАДНИХ НАУК, ВІЛЬДАУ, ФРН;

³ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail:psvit@bigmir.net

Цілеспрямований синтез наночастинок різної природи зі специфічними біологічними властивостями стимулював їх широке використання у біотехнологіях. Стабільна вуглецева наноструктура C_{60} фулерен привертає особливу увагу, оскільки не виявляє токсичних ефектів за низьких концентрацій, характеризується унікальними фізико-хімічними властивостями, а її поверхня піддається модифікації хіміотерапевтичними препаратами. Припускають, що C_{60} фулерен може бути використаний для фотодинамічної терапії раку як фотосенсибілізатор, а у комбінації з протипухлинними препаратами - для створення наносистем, що забезпечують стабільність ліків, їх тривале утримання, переважне накопичення у пухлинних клітинах, подолання резистентності до ліків та посилення ефективності протипухлинної терапії загалом.

Метою роботи було оцінити фотодинамічний потенціал C_{60} фулерену для ураження пухлинних клітин, а також з'ясувати токсичну дію C_{60} -Cis-Pt наноконкомплексу щодо карциноми легені Льюїса (LLC)

порівняно з окремою дією Cis-Pt в експериментах in vitro та in vivo.

У дослідженнях використано водний колоїдний розчин пристінного C_{60} фулерену (0,15 мг/мл, чистота >99,5 %, середній розмір наночастинок 50 нм). Концентрація C_{60} фулерену та Cis-Pt у створеному наноконкомплексі C_{60} -Cis-Pt (1:1) становила 75 мкг/мл.

Доведено ефективне накопичення флуоресцентноміченого C_{60} фулерену лейкоцитними клітинами L1210 і CCRF та значне зниження життєздатності оброблених C_{60} фулереном клітин у разі їх опромінення як світлодіодною лампою у діапазоні 320–600 нм, так і світлодіодним 405 нм лазером. Біохімічними механізмами токсичної дії фотозбудженого C_{60} фулерену є індукція апоптозу через інтенсивне продукування АФК, підвищення концентрації цитозольного Ca^{2+} , дисипацію мітохондріального потенціалу. За комбінованої дії фотозбудженого C_{60} фулерену та Cis-Pt вдалося реалізувати токсичний ефект хіміотерапевтичного препарату

за низької концентрації 1 мкг/мл у резистентних до нього клітинах L1210.

За використання атомно-силової та скануючої тунельної мікроскопії підтверджено збільшення розміру вихідних вуглецевих наночастинок при утворенні C_{60} -Cis-Pt наноконкомплексу у водному середовищі та високе значення його дзета-потенціалу (-21,2 мВ). Порівняльна оцінка життєздатності клітин LLC показала, що величина IC_{50} за дії C_{60} -Cis-Pt наноконкомплексу у еквівалентній концентрації Cis-Pt знижується порівняно з такою за дії вільного Cis-Pt (17 та 50 мкМ, відповідно). За дії 12,5 мкМ Cis-Pt не виявлено змін життєздатності та морфології клітин LLC, тоді як за дії C_{60} -Cis-Pt наноконкомплексу життєздатність клітин знижувалася, вони набували округлої форми, зростав вміст клітин у проапоптотичній subG1 фазі, спостерігалась екстерналізація фосфатидилсерину та активація каспази 3/7.

За внутрішньочеревного введення мишам C_{60} фулерену у дозі 3,75 мг/кг не виявлено токсичних

ефектів (показник LD_{50} становить 721 мг/кг), гематологічних та гістопатологічних змін у печінці, нирках та селезінці.

У групі мишей з прищепленою LLC, які отримували C_{60} -Cis-Pt наноконкомплекс у Cis-Pt-еквівалентній дозі 3,75 мг/кг, подовжувалася тривалість життя, а об'єм і вага пухлини, кількість і середній об'єм метастазів у легенях були значно меншими, ніж у групі тварин-пухлиноносіїв, що отримували Cis-Pt (3,75 мг/кг). Показник LD_{50} для C_{60} -Cis-Pt наноконкомплексу становив 72,2 мг/кг, тоді як для Cis-Pt – 15,6 мг/кг.

Таким чином, застосування C_{60} -Cis-Pt наноконкомплексу дозволяє значно підвищити чутливість злоякісних клітин до Cis-Pt та використати хіміопрепарат у менш токсичній для нормальних клітин ефективній дозі.

Робота частково підтримана дослідницьким проектом УНТЦ N6256.

STUDY OF THE DYNAMICS OF THE DEVELOPMENT OF THE THERAPEUTIC EFFECT OF NATIVE AND PRECONDITIONED HUMAN MSCS BASED ON THE MODEL OF ACUTE ABDOMINAL INFLAMMATION IN MICE

PIKUS P., RYMAR S., SHUVALOVA N.

INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: polinaignatchenko7@gmail.com

The Mesenchymal Stem Cells (MSCs) carry promising potential in regenerative medicine due to their immunomodulating properties, the self-renewal and multilineage potency. However, MSCs may lose biological functions after isolation and cultivation for a long time in vitro or as a result of the short time survival after transplantation. Recently studies have shown that the properties of MSCs are very dependent on the microenvironment, and the therapeutic effects of MSCs can be enhanced by preconditioning. Different ways of preconditioning MSCs are key strategies for improving MSC transplantation efficiency in tissue engineering and regenerative medicine.

The aim of this research was to study the dynamics of the development of the therapeutic effect after injecting native and preconditioned human umbilical cord MSCs based on a model of acute abdominal cavity inflammation in mice.

Experiments were performed on male BALB/c mice. Sterile inflammation was caused by intraperitoneal injection of 1 ml of sterile 3 % proteose peptone solution. Control mice were injected with 1 ml of saline solution. The development of inflammation was evaluated by the total number of cells and macrophages in peritoneal lavage fluid. Monocytes and macrophages

were identified after Giemsa staining. The phagocytic activity was determined by counting the internalized and adherent cells of E. coli in approximately 100 macrophages. MSCs were isolated from human umbilical cord using explants method. MSCs were preconditioned in the medium with 30 μ Mol H_2O_2 . In the course of studying the dynamics of the development of the therapeutic effect, mice were injected with both native and preconditioned MSCs of human umbilical cord (5×10^3 cells/mouse) 20 minutes and 24 hours after the introduction of the proteose peptone solution.

The dynamics of the development of the therapeutic effect of human umbilical cord MSCs was studied on the model of acute inflammation of the abdominal cavity in mice, induced by the introduction of sterile 3 % proteose peptone solution. An intraperitoneal injection of MSCs (5×10^3 cells /mouse) was made 20 minutes and 24 hours after introduction of peptone. The injection of MSCs 20 min after the introduction of peptone led to almost complete disappearance of signs of inflammation after only 1 hour. MSC transplantation 20 minutes after the introduction of the proteose peptone appears to prevent the development of inflammation. If animals were injected with native MSCs 24 hours after the introduction of peptone, that

is in conditions of acute inflammation, the intensity of inflammation dropped sharply, the number of macrophages in the lavage fluid was decreased by 2 times in 1 hour after the injection MSCs. The transplantation of low doses of MSCs, which do not lead to the complete disappearance of inflammation, allow comparison of the therapeutic effect of native and preconditioned MSCs. The study of the dynamics of the development of the therapeutic effect of preconditioned MSCs showed that transplantation of such MSCs 24 hours after the injection of proteose peptone results in that the number of macrophages one hour after the administration of preconditioned MSCs is 1.5 times

lower than with the introduction of native MSCs. These data suggest that the MSCs preconditioned with H_2O_2 enhanced their therapeutic potential. Thus, it was shown that the effects, due to the local injection of the human MSCs, develop very quickly. In particular, the introduction of MSCs in a low dose 20 minutes after the induction of inflammation prevents it and under the conditions of developed acute inflammation 1 hour later the intensity of inflammation drops sharply.

The injection of MSCs at low doses demonstrates significant differences in the therapeutic effects of native and preconditioned MSCs on a model of acute inflammation of the abdominal cavity in mice.

МОДЕЛІ НАНОКОМПЛЕКСІВ НА ОСНОВІ ФУЛЕРЕНУ C_{60} ДЛЯ СТВОРЕННЯ АНТИПУХЛИННИХ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНИХ МЕДИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

РЕПЕЦЬКИЙ С.П.¹, КУЗНЄЦОВА Г.М.¹, МЕЛЬНИК Р.М.², АНДРУСИШИН А.В.², РИБАЛЬЧЕНКО В.К.¹

¹КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА,
ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ, УКРАЇНА;

²НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "КИЄВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ", УКРАЇНА;
e-mail: rmelnyk@ukr.net

Запальні захворювання кишечника (ЗЗК) можуть призводити до передракових станів і раку кишечника. Існуючі терапевтичні засоби є малоефективними, не коригують системні ускладнення ЗЗК і мають низку побічних ефектів. Похідна піролу 1-(4-хлорбензил)-3-хлоро-4-(трифторметилфеніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (MI-1) має високий терапевтичний потенціал для корекції запалення товстої кишки різної природи та виявляє протективні властивості щодо ключових органів і систем організму при колоректальному раку, який супроводжується окисним стресом. У той же час фулерени C_{60} є потужними антиоксидантами завдяки наявності на поверхні подвійних зв'язків між гекса- і пентагональними структурами, що дає підстави використання наноконкомплексу фулерену C_{60} зі сполукою MI-1, для створення антипухлинних та протизапальних медичних препаратів.

На основі квантово-хімічного методу молекулярних орбіталей, реалізованого в пакеті програм Gaussian 09w, розвинено метод моделювання наноконкомплексів для створення антипухлинних та протизапальних медичних препаратів. Встановлено, що фулерен C_{60} утворює стабільний наноконкомплекс зі сполукою MI-1. Енергія дисоціації наноконкомплексу з відокремленням фулерену від сполуки MI-1 становить $E_{dis} = -0.0066224$ а.о. ≈ -0.1802 еВ. Середня енергія теплового руху на один атом при температурі $T=300$ К становить $k_B T = 0.02585$ еВ. З наведених результатів видно, що модуль $|E_{dis}| \gg k_B T$. Це вказує на те, що даний наноконкомплекс є стабільним. При проникненні у тканину пухлини, завдяки зниженому рН в порівнянні зі здоровою тканиною, значна доля цих комплексів буде дисоціювати та діяти на клітину як дві незалежні частки – фулерен C_{60} і сполука MI-1.

ГЕНОТОКСИЧНІСТЬ КАРБОНОВИХ НАНОТРУБОК

РУДНИЦЬКА О.В., ЦИМБАЛ Д.О., МІНЧЕНКО Д.О., НЕКРАСОВА В.Ю., МІНЧЕНКО О.Г.

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: olga_rudnytska@ukr.net

Карбонові нанотрубки мають унікальні властивості, відмінні від звичайних матеріалів, з яких вони виготовлені, але мають такий же хімічний склад і застосовуються в різних технологіях, у тому числі в біології та медицині. Разом з тим, різні варіанти

карбонів нанотрубок виявляють різну токсичність, оскільки вони здатні перетинати гематоенцефалічний бар'єр, проникати через мембрану клітини та через пори ядерної мембрани з накопиченням в ядрах. Цю властивість карбонів нанотрубок

використовують для розробки способів цілеспрямованої доставки лікарських засобів в злоскісні пухлини, а також у візуалізаційних зондах, але механізми їх токсичності і генотоксичності, зокрема, вивчені ще недостатньо. Раніше було показано, що одностінні карбонові нанотрубки (SWCNTs) істотно змінюють експресію ключових генів, які контролюють процеси проліферації та апоптозу клітин, зокрема таких як циклін D2, *DTNA*, *PARVB*, *PFKFB3* та *PFKFB4*, і, можливо, відображають токсичну дію цих унікальних карбонових наночастинок.

Метою роботи було дослідити рівень експресії генів, протеїнові продукти яких задіяні в регуляції проліферативних процесів, зокрема *TOM1L1* (target of oncogene MYB1 (chicken)-like 1), *HTRA1* (high-temperature requirement A serine peptidase 1), *HSPB8* (small (22 kDa) heat shock protein B8), *CA9* (carbonic anhydrase 9), *P4HA2* (procollagen-proline, 2-oxoglutarate 4-dioxygenase (proline 4-hydroxylase), alpha polypeptide II), *TOB1* (transducer 1 of Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2 (ERBB2/HER2), anti-proliferative protein), та *MYBL2* – v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog-like 2), а також мікроРНК miR-182, у нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS за дії різних концентрацій SWCNTs.

Експерименти проводили на нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS, використовуючи різні концентрації SWCNTs (2, 10 і 50 нг/мл середовища). Тривалість дії цих наночастинок – 24 год. Рівень експресії генів оцінювали за даними кількісної полімеразної реакції у реальному часі і нормалізували по експресії β-актину.

Встановлено, що SWCNTs виражено і дозозалежно збільшують рівень експресії гена *HTRA1*, відомого ще як PRSS11 (serine protease with IGF-binding domain), який є пухлинним супресором і контролює активність подібних до інсуліну факторів росту. За дії цих наночастинок також посилювався рівень експресії генів *TOM1L1*, *CA9* та *HSPB8*, які були залучені до регуляції сигнальних шляхів і процесів проліферації та трансформації клітин. У той же час, за дії карбонових нанотрубок спостерігалось різке зниження рівня експресії генів *P4HA2* та *TOB1*, які задіяні у ремоделюванні позаклітинного матриксу, канцерогенезі як анти-проліферативні фактори і пухлинні супресори. Рівень експресії гена *MYBL2*, який контролює виживання клітин і процеси проліферації істотно не змінювався під впливом SWCNTs, за винятком найнижчої їх концентрації, яка посилювала експресію цього гена. Було також встановлено, що під впливом карбонових нанотрубок збільшується рівень експресії мікроРНК miR-182, сайти зв'язування якої виявлені на 3'-ділянці мРНК *TOB1*, а тому в зниженні рівня експресії гена *TOB1* на пост-транскрипційному рівні може бути задіяна і miR-182.

Таким чином, SWCNTs при дуже низьких концентраціях порушують експресію ключових регуляторних генів, пов'язаних із проліферацією клітин і канцерогенезом, у нормальних астроцитах людини. Краще розуміння таких механізмів є необхідним для ретельної оцінки потенційних ризиків SWCNTs для здоров'я людини при їх використанні у біомедичних цілях.

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF A CONDUCTOMETRIC BIOSENSOR FOR ARGININE DETERMINATION FOR MULTI-PURPOSE APPLICATION

SAIAPINA O., DZYADEVYCH S., JAFFREZIC-RENAULT N.

INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: oysaiapina@gmail.com

Reliable, fast and affordable analytical tools for determination of the individual target molecules remain to be of high demand for medical tests in clinical laboratories and the efficient quality control in industry and farming. Determination of L-arginine (L-arg) has a particular interest due to its diverse biochemical role in the body and its vital significance in nutrition. Interpretation of the results on the L-arg levels in the tested samples can provide the information on the possible health disorders (including asthma, tuberculosis, impaired coronary and peripheral vascular functions, heart failure, and cancer), authenticity of fruit juices, grains and produce ripening, safety and quality of drug products and dietary supplements.

The aim of our work was to develop a general approach for the development and optimization of

L-arginine biosensor featured with the reliable and reproducible analytical characteristics, ease of preparation, reusability, portability and cost-effectiveness. In the work, the biosensor performance was studied using a differential conductometry and electrochemical impedance spectroscopy; the bioselective elements of the sensor were prepared by co-immobilizing arginase (EC 3.5.3.1), urease (EC 3.5.1.5) and ammonium-sensitive zeolite. Immobilization of the biosensor selective elements was performed by a covalent crosslinking of enzymes with glutaraldehyde (GA) followed by physical sorption of the enzymatic complex on the zeolite sublayer. The experiments were designed based on the repeatable sets of measurements ($n \geq 3$) and the data were processed based on calculation of a standard deviation value. For the

biosensor preparation, the enzyme-based and reference membranes were immobilized on a conductometric transducer which consisted of two identical pairs of interdigitated thin-film electrodes (150 nm thick), fabricated by gold vapor deposition onto a non-conducting pyroceramic substrate (5×30 mm). For the biosensor development, a composition of work and reference membranes and time of immobilization were optimized in order to minimize the quantity of the enzyme used. It was found that the reproducible immobilization protocol required as little as 3 % of arginase and 5 % of urease, with the time of immobilization of 30 min in 1 % of GA. To optimize the biosensor sensitivity, the dependence of its signals on concentration, pH and ionic strength of the working buffer ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{PO}_4$) was studied. The optimum buffer for the biosensor operation was 5 mM phosphate buffer (pH 7.0). The effects of magnesium and manganese ions on the biosensor sensitivity were evaluated and it was found that 15 mM Mg^{2+} had a pronounced activating effect on the enzymatic activity

of the biosensor. In such buffer, the dynamic concentration range of the biosensor was extended up to 200 mM. The selectivity studies showed that the biosensor was capable to exclusively detect L-arginine in the presence of 12 other water-soluble amino acids, however, it responded to L-histidine and L-lysine, which requires further explanation and, probably, revision of the working buffer composition. The developed biosensor demonstrated high signal reproducibility (coefficient of variation was 3–5 % during one working day) and showed promising results when tested in the real sample analysis (detection of L-arg in a drinkable solution “Arginine Veyron” with the developed biosensor had a coefficient of variation of 7 % compared to the concentration stated by a producer).

Therefore, a reliable and cost-effective conductometric biosensor for L-arginine determination was developed, and its applicability for the analysis of multicomponent samples was demonstrated.

APPLICATION OF MOLECULARLY IMPRINTED NANOSTRUCTURED POLYMERS AS BIOMIMICS IN SMARTPHONE-BASED SENSOR SYSTEMS

SERGEYEVA T.A.

INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: t_sergeyeva@yahoo.co.uk

Easy-to-use optical sensor systems based on nanostructured polymers for efficient detection of trace levels of toxic organic molecules and metabolites have been developed. The nanostructured polymers in the form of membranes were synthesized either *in situ* or using grafting polymerization methods according to the principle of molecular imprinting. The composition of molecularly imprinted polymer (MIP) membranes having nanostructured synthetic receptor sites mimicking those of biological receptors and capable of selective recognition of the target molecules was optimized using the method of computational modeling. The nanostructured MIP membranes were synthesized in the presence of the analytes of interest (template molecules). The selective receptor sites, which are complementary to the templates in size, shape, and positioning of functional groups, were formed after extraction of these molecules from the fully-formed polymeric membrane. The MIP membranes for the selective recognition of a broad range of analytes (aflatoxin B1, zearalenone, phenol, bisphenol A, sulfamethoxazole, and creatinine) were synthesized and used as a basis for the optical sensor systems. The sensor systems function according to the following principle: 1) the analytes are to be

selectively adsorbed by synthetic receptor systems; 2) the further UV-irradiation of the latter initiates native fluorescence of the small organic molecules (aflatoxin B1, zearalenone) with the intensity proportional to their concentration in the analyzed sample. Alternatively, colorimetric sensor systems for the molecules capable of color complexes' formation (phenol, bisphenol A, creatinine, and sulfamethoxazole) were developed. The intensity of staining of the polymeric membranes with the selectively adsorbed small organic molecules was proportional to their concentration in the analyzed samples. High adsorption capability and affinity of the synthesized MIP membranes resulted in high sensitivity of sensor systems on their basis as well as wide linear dynamic range (1-1000.0 ppb). High selectivity of the sensor systems was confirmed in experiments with close structural analogs of the templates. The proposed MIP membranes are capable of not only selective recognition of the analytes but also for the generation of the sensor response, which can be easily registered. For the first time, application of the nanostructured MIP membranes as recognition elements of smartphone-based sensor systems was demonstrated. Practical application of the smartphone-based sensor systems does not require neither high

qualification of personnel nor expensive equipment. Their application in the food industry, environmental monitoring and medical diagnostics for the effective point-of-care detection of toxic molecules and main metabolites would increase the safety of the environ-

ment, drinking water, and foodstuffs and improve the effectiveness of medical diagnostics.

Acknowledgment. Financial support from National Academy of Sciences of Ukraine and Ministry of Education and Science of Ukraine is gratefully acknowledged.

FLUORESCENT STYRYLCYANINE DYES FOR SENSING AND VISUALIZATION OF NUCLEIC ACIDS

**SNIHIROVA Y., KUPERMAN M., MOSHYNETS O.,
KRYVOROTENKO D., YARMOLUK S., KOVALSKA V.**

*INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: snigireva178@gmail.com*

Improved bright and photostable popular fluorescent dyes could serve as a powerful tool for detection and monitoring in real-time of biological processes. Due to its unique physical and chemical properties, such as sensitivity, stability, low phototoxicity and inexpensive synthesis, styrylcyanines are successfully used in various biological studies.

Here, we characterized a new series of benzothiazole styrylcyanine dyes with different functional N-alkyl tail groups as probes for detection of NAs (nucleic acids) by fluorescent and absorption spectroscopy. Photostability was evaluated as a change in the absorption maximum after 150 min of irradiation with LED lamp (470 nm). Visualization of eukaryotic living cells was made by confocal laser scanning microscopy.

The absorption maxima of the styrylcyanines in Tris-HCl were located in the range 513–524, the molar extinction values were in the range $3.7\text{--}9.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$; upon NA addition, the spectral bands of the dyes mostly shifted to the long-wavelength range (up to 26 nm). Studied dyes were weakly fluorescent in an unbound state and had noticeably increased emission upon binding to dsDNA/RNA (up to 80 times), whereas were almost silent in the presence of proteins. Excitation and emission maxima of the DNA-dye complex were 547–562 nm and 596–605 nm, respectively. The quantum yields of the dyes in their complexes with dsDNA were moderate (up to ~22 %). DNA

detection limit allowed by dye with N-alkylbenzylamine substituent in solution was estimated as $6.2 \times 10^{-7} \text{ M b.p.}$

Photostability of free dyes strongly depends on the nature of the N-alkyl functional tail group. In a free state: in Tris-HCl buffer, after 150 min of irradiation, the decrease of absorption intensity was from 18.87 % (dye bearing negative charged N-alkylcarboxy group) to 92.1 % (dye bearing positive charged N-alkyldipyridyl group) to its original value. However, when the dye is bound to DNA its stability increases (for dye with N-alkyldipyridyl group observed loss of absorption intensity about 65.2 % to its original value). Such changes in photostability are useful for discrimination between free and NA-bound dye forms and could allow increasing detection sensitivity.

Upon staining of mesenchymal stem cells with dye with N-alkylbenzylamine group in co-staining with sensitive to DNA dye SYBR Green, styrylcyanine dye brightly stained cytoplasm, whereas SYBR Green stained mainly nucleus. However, also nucleus components (probably nucleoli) stained by styrylcyanine dye were highly discernible. Presumably, it is suggested to visualize cytoplasmic RNA and clusters of RNA in the nucleus.

Thus fluorescent functionalized styrylcyanine dyes are prospective as easy-to-use and photostable NAs stain for in-solution detection and microscopy techniques.

ЗАСТОСУВАННЯ НАНОЧАСТОК ЗОЛОТА З МЕТОЮ ПОКРАЩЕННЯ АНАЛІТИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЕНЗИМНИХ БІОСЕНСОРІВ

СОЛДАТКІНА О.В.¹, СОЛДАТКІН О.О.^{1,3}, РЕЗНІЧЕНКО Л.С.²,
ГРУЗІНА Т.Г.², ДИБКОВА С.М.², ДЗЯДЕВИЧ С.В.^{1,3}

¹КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТУ БІОКОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ ІМ. Ф.Д. ОВЧАРЕНКА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

³ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: olgasoldatkina@yahoo.com

На сьогодні створенню нових методів якісної діагностики приділяється значна увага науковців із усього світу. Одним із найбільш перспективних напрямів є розробка нових аналітичних приладів – біосенсорів. Методики виготовлення цих приладів об'єднують в собі передові досягнення в галузі біології, фізики, хімії, математики, мікроелектроніки та ін.

Одним із найбільш перспективних напрямів у розвитку біосенсорних технологій є використання нових нанорозмірних матеріалів для покращення важливих аналітичних характеристик біосенсорів на їх основі.

У ході роботи перевірено вплив наявності у біоселективних елементах наночастинок золота на аналітичні характеристики кондуктометричних та амперметричних біосенсорів. Було протестовано біосенсори на основі двох варіантів коїмобілізації різних ензимів (ацетилхолінестераза, бутерилхолінестераза, глюкозооксидаза) з наночастинами золота. Перший варіант іммобілізації проводили на основі адсорбції ензимів на кондуктометрично-

му перетворювачі вкритому золотими наночастинами. Другий варіант – це коїмобілізація ензимів з наночастинами золота в парах глутарового альдегіду на поверхні перетворювача.

У роботі тестували біосенсори на основі наночастинок золота різного розміру та за різних їх концентрацій в біоселективному елементі. Для порівняння також було протестовано ензимні біосенсори на основі традиційного методу іммобілізації без використання наночастинок. За результатом даного дослідження проведено порівняння аналітичних характеристик (шум базової лінії, дрейф, мінімальна границя визначення, чутливість, лінійний діапазон роботи, похибка вимірювання) ензимних біосенсорів із та без додавання у біоселективний елемент наночастинок золота.

Отримані результати свідчать, що використання наночастинок золота в складі біоселективних елементів дозволяє контролювати змінювати характеристики біосенсорів у залежності від поставлених завдань.

КРИТЕРІЙ ЕТИЧНОЇ ДОЗВОЛЕНОСТІ ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

ТЕРЕШКЕВИЧ Г.Т. (сестра ДЮГЕНА)

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО, УКРАЇНА;

e-mail: bioethics@gmail.com

Тіло, і передусім його генетична програма, його генетичний код, в єдності з душею і духом творять єдність особистості. Будь-яке втручання в тілесну природу людини, а тим паче і в його генетичний код є втручанням у цілісність людської особистості і може бути виправдане лише у разі терапевтичної необхідності, інакше воно є проявом панування однієї людини над іншою. Етичний критерій ґрунтується на тому, що генетичний код становить основну глибинну структуру кожної людської особи і кожне втручання, яке може призвести до знищення фізичної індивідуальності людського суб'єкта, є замахом на головну цінність і недоторканість людської особистості, створеної за образом і подобою Божою.

Інструкція “Дар життя” Конгрегації у справах доктрини і віри застерігає: “Певні спроби вплинути на хромосомну і генетичну спадковість, які не є терапевтичними, а націлені на продукування людських істот, відібраних щодо статі та інших наперед визначених якостей, – такі маніпуляції суперечать гідності людини, її цілісності та ідентичності. Тому вони жодним чином не можуть бути виправдані можливими корисними наслідками для майбутнього людства”.

Не можна допускати експериментів, які лише дуже невеликою мірою зумовлюють розвиток медичних наук, не стосуються потреб конкретних хворих людей і безпосередньо зачіпають гідність осіб, що беруть у них участь, порушують їх ціліс-

ність, нищать їхнє життя або створюють непропорційно великий ризик у досягненні очікуваних позитивних результатів.

Втручання генної інженерії у соматичні клітини людини етично дозволене, якщо потрібно модифікувати їх дегенерацію або ваду. Етично неприпустимою та надзвичайно небезпечною є генна терапія статевих клітин, бо вона пов'язана зі зміною геному в ряді поколінь, що може викликати непередбачені нові мутації і порушення рівноваги між людством і довкіллям.

Отримання генетично модифікованих організмів за допомогою методів генної інженерії можливе в наукових цілях (процеси старіння і регенерації); в сільському господарстві (створення нових порід, сортів і видів); в екології (екологічно чисте паливо); в медичних цілях (генотерапія).

Проте невдовзі виникли побоювання, що трансгенні організми, які були створені в лабораторних умовах без урахування їхніх імовірних екологічних характеристик і не пройшли тривалу еволюцію з природними організмами, можуть вирватися з пробірки на свободу та неконтрольовано розмножуватися. Висуваються різні гіпотези щодо наслідків: порушення екологічної рівноваги; зменшення біорозмаїтості; активація досі невідомих патогенних мікроорганізмів; хаотичне перене-

сення “чужорідних” генів у біосферу; поява нових видів (“монстрів”, В. Бельков, 2002), які можуть знищити все; руйнування екосистеми; загроза людському генофонду планети; виникнення і поширення досі невідомих хвороб тварин, рослин (наприклад, вірус атипової пневмонії в Китаї, пташиний грип в Азії, коров'ячий сказ в Європі та ін.); нове захворювання Morgellons (Моргеллонс) пов'язують з плазмідами агробактерій, що використовуються для створення ГМО.

При втручанні генної інженерії необхідно аналізувати критерій етичної дозволеності – “не все, що технічно і науково можливе, етично дозволене”. Людський розум повинен захистити цілісність людини у її інтегральності. З цього випливають такі етичні вимоги: забезпечувати охорону життя і генетичну ідентичність кожного людського індивіда; здійснювати втручання лише для виправлення вади чи усунення хвороби, яка не піддається лікуванню жодним іншим способом; дбати про охорону екосистеми як середовища, що важливе для життя і для здоров'я людини; розуміти відмінність між людиною та іншими живими істотами, яка полягає у здатності до самосвідомості, свободи, відповідальності; людина не повинна бути засобом; забезпечення компетентної участі світової спільноти задля майбутнього всього людства.

РОЗРОБКА НОВИХ СПОСОБІВ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ СИНТЕЗУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН МІКРОМІЦЕТАМИ

ТУГАЙ Т.І.^{1,2}, ТУГАЙ А.В.^{2,1}, БІЛЯВСЬКА Л.О.^{2,1}, НИКОЛАЄВ Р.³, ОБЕРНІХІНА Н.В.⁴,
БУЛАНЧУК О.М.⁵, ФЕДУН В.І.⁶, БУЛАНЧУК Ю.М.², КОЛЯДА Ю.Є.⁷

¹ВІДКРИТИЙ МІЖНАРОДНИЙ УНІВЕРСИТЕТ РОЗВИТКУ ЛЮДИНИ “УКРАЇНА”, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д.К. ЗАБОЛОТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

³ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

⁴НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ;

⁵МАЛА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ, КИЇВ;

⁶ПРИАЗОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, МАРІУПОЛЬ, УКРАЇНА;

⁷МАРИУПОЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;

e-mail: tatyatanatugay2@gmail.com

Гриби є важливими джерелами природного продукту, які мають величезний потенціал для виробництва нових сполук для використання у фармакології, сільськогосподарському застосуванні та промисловості. У порівнянні з іншими природними джерелами, такими як рослини, гриби дуже різноманітні, але недостатньо вивчені. Одним із перспективних для біотехнології видів мікроміцетів є *Cladosporium cladosporioides*, продуцент цілого комплексу біоактивних продуктів, які мають перспективи застосування у різних галузях виробництва.

Особливої актуальності набуває розробка науково обґрунтованих способів підвищення

ефективності синтезу біологічно активних речовин мікроміцетами при практичному застосуванні наноматеріалів, зокрема, нанопрепаратів металів, які на відміну від їх солей потенційно менш токсичні.

У роботі були використані штами мікроміцетів з антропогенно змінених територій з метою пошуку нових потенційно активних продуцентів біологічно активних речовин, та проведено скринінг високоефективних штамів мікроміцетів з підвищеною продуктивністю біологічно активних речовин із колекції культур ІМВ НАНУ чорнобильського походження та виділених з чистих територій.

Проведено порівняльне вивчення впливу нанопрепаратів металів на склад біологічно активних сполук секретому та приріст біомаси досліджуваних штамів, синтез меланінів, наявність інших біологічно активних сполук та визначення їх належності до певного класу.

Показано збільшення біомаси гриба, який було вирощено на середовищі з додаванням колоїдного розчину заліза, в 3–4 рази в порівнянні з контролем (на стандартному живильному середовищі). Ймовірно, що аналогічний приріст буде і у інших представників царства. Схожість рослини оброблених супернатантом культуральної рідини *C. cladosporioides* сягала 90 %, що свідчить про відсутність фітотоксичності метаболітів виділених грибом. Дослідження впливу низки розведень досліджуваних речовин, виявили різний рівень активації рос-

тових процесів, що може свідчити про дію комплексу речовин фітогормональної природи.

У досліджуваних штамів за дії певних концентрацій колоїдного розчину заліза встановлено збільшення синтезу меланінових пігментів у 3–4 рази. В результаті порівняльного дослідження фізико-хімічних властивостей цих пігментів за дії нанопрепаратів металів, зокрема, в інфрачервоних спектрах виявлено збільшення кількості реакційних груп здатних акцептувати збуджені електрони від активних форм кисню, збільшення кількості циклічних сполук із ненасиченими зв'язками, зростання кількості спиртових та вільних гідроксильних груп фенолів, що свідчить про підвищення відновного редокс-потенціалу досліджуваних сполук.

Дослідження природи екзометаболітів *C. cladosporioides* є предметом подальших досліджень.

GENE *BCRP* CODING FOR RIBOFLAVIN EXCRETASE IS IMPORTANT FOR IMPROVEMENT OF RIBOFLAVIN PRODUCTION IN YEAST

FEDOROVYCH D.V.¹, DMYTRUK K.V.¹, BORETSKY Y.R.², TSYRULNYK A.O.¹,
RUCHALA J.³, PAVLIUKH K.V.¹, SIBIRNY A.A.^{1,3}

¹INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE OF UKRAINE, LVIV;

²LVIV STATE UNIVERSITY OF PHYSICAL CULTURE, UKRAINE;

³UNIVERSITY OF RZESZOW, RZESZOW, POLAND;

e-mail: fedorovych.d@gmail.com

Flavins are manufactured for use as vitamins in human and animal nutrition, as pharmaceuticals and as a food colorants. Currently, riboflavin is produced on a large scale by microbial synthesis. However, more efficient microbial riboflavin producers are needed. Many microorganisms are capable of riboflavin over-synthesis and accumulation in a medium, suggesting that they efficiently excrete riboflavin. The mechanisms of riboflavin efflux in microorganisms remain elusive. Earlier, the transport system for efflux of riboflavin from the cells was described for yeast *Pichia guilliermondii*. However, the gene encoding the riboflavin excretase has not been cloned. Flavinogenic yeasts *Candida famata*, *P. guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* contain genes homologous to the mammal *BCRP* (breast cancer resistance protein) gene coding the protein responsible for secretion of riboflavin from breast to the milk. Two *P. guilliermondii* genes encoding putative riboflavin transporters homologous to *BCRP* were identified, cloned and deleted. Deletion of the each of these genes did not affect phenotype of *P. guilliermondii* riboflavin-transporting strain R93. Introducing of the cloned native gene PGUG_04776.1 into cells of R93 did not alter its phenotype in the regards of energy dependent riboflavin excretase activity. In contrast, most of selected transformants bearing

an additional copy of other gene PGUG_05894.1 possessed 2–2,5 folds increased energy-dependent riboflavin excretase activity relative to the recipient strain. Moreover about 30% of them possessed approximately 6 folds raise of this activity. Obtained results suggest that gene PGUG_05894.1 encodes a transporter involved in excretion of riboflavin by *P. guilliermondii*. It can be assumed that overexpression of riboflavin excretase gene can enhance riboflavin efflux from the cells and possibly leading to an increase in riboflavin synthesis and its accumulation in the cultural medium.

Yeast *C. famata* represents the organism with high flavinogenic potential. *BCRP* gene homolog was isolated from genome of *D. hansenii* and expressed under control of promoter of *TEF1* gene in the heterologous host, the best flavinogenic strain of the yeast *C. famata*. Resulted transformants exhibited overexpression of *D. hansenii* *BCRP* gene homolog and produced 1.3–1.5 times more riboflavin relative to the parental strain.

The cultivation conditions of the constructed strains which lead to increased production of riboflavin were optimized. We screened the different media components (in particular carbon and nitrogen sources) for the best riboflavin production. We are also

focused on extension of the substrate range to produce the vitamin B₂ from cheaper carbon sources from beer wort, hydrolysate of bagasse, milk whey or lignocellulosic substrates.

This study was supported by National Academy of Sciences of Ukraine (Grant 36-19) and by Polish National Science Center, grant Opus UMO-2018/29/B/NZ1/01-497.

APPLICATION OF DIMETHYLAMINOETHYL METHACRYLATE-CONTAINING CARRIERS FOR GENETIC ENGINEERING OF *CERATODON PURPUREUS* MOSS

FINIUK N.S.¹, PAIUK O.L.², MITINA N.Y.², LOBACHEVSKA O.V., ROMANYUK N.D.³, ZAICHENKO A.S.², STOIKA R.S.^{1,3}

¹INSTITUTE OF CELL BIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, LVIV;

²LVIV POLYTECHNIC NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

³INSTITUTE OF ECOLOGY OF THE CARPATHIANS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, LVIV;

⁴IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV, UKRAINE;

e-mail: nataliyafiniuk@gmail.com

Genetic engineering of plants is extensively applied in agricultural research, biotechnology and phytomedicine. However, the efficiency of genetic transformation of plants remains a challenge due to a limited intracellular transport of genes and other biomolecules through the plant cell wall, damaging of cells/tissues, gene disruption, and high cost of used methods. Thus, the targeted delivery and controlled release of biomolecules in plants are of great interest. The mosses, non-vascular plants, are attractive model organisms for such studies due to their capacity to undergo efficient mitotic homologous recombination and the availability of many tools for comparative and functional genomics.

We evaluated a potential of 8 novel poly(2-dimethylamino)ethyl methacrylate (DMAEMA)-based carriers, namely poly(fluorine-alkyl methacrylate)(FMA)-block-poly(DMAEMA), poly(lauryl acrylate)-block-poly(DMAEMA), poly(butyl acrylate)-block-poly(DMAEMA), and poly(PEG-MA)-block-poly(DMAEMA) for gene delivery into *Ceratodon purpureus* moss protoplasts, as well as their cytotoxicity and mutagenic properties.

The agarose gel electrophoretic assay confirmed the formation of complexes of the polymeric carrier with plasmid DNA. In addition, in complex with the poly-DMAEMA carriers plasmid DNA was protected against DNase I cleavage.

The plasmid DNA pSF3 containing gene of green fluorescent protein (GFP) and Hygromycin resistant cassette was used for transformation of moss proto-

plasts. We obtained 75 stable transformants of *C. purpureus* moss using F8MA-DM2 carrier, 23 transformants – using F8MA-DM1, 41 – using LAcr-DM2, 38 – using LAcr-DM1, 33 – using BAcr-DM2, 28 – using BAcr-DM1, 5 – using PEG246-MA-DM2, 3 – using PEG246-MA-DM1. The PCR analysis confirmed the presence of the gene of interest – GFP – in transformants of *C. purpureus* moss.

The poly-DMAEMA carriers used in 0.0025 % working concentration were relatively non-toxic (83.1–93.9 % viability of the treated protoplasts of *C. purpureus* moss). *Allium cepa* ana-telophase chromosomal aberration test did not reveal a genotoxic effect of the polymers. PEG-modified carriers possessed a higher effect on the activity of catalase and superoxide dismutase, the key antioxidant enzymes involved in the reduction of the hydrogen peroxide and superoxide radical, respectively, and the level of the malonic dialdehyde, key indicator of lipid peroxidation, in the regenerated protoplasts of *C. purpureus* compared to that under lauryl acrylate-, butyl acrylate-, and fluorine-containing polymers.

Thus, novel synthetic poly-DMAEMA carriers demonstrated their perspectives as a promising system for the delivery of plasmid DNA into plant cells.

Acknowledgments. This study was supported by the Research Grant of the Molecular & Cellular Biotechnologies Program of the National Academy of Sciences of Ukraine (Number 0115U004198, 2015–2019).

ФЛУРЕСЦЕНТНІ ЛІПОСОМИ НАВАНТАЖЕНІ СПОЛУКОЮ РЕНІЮ(I) ТА ЇХ БІОСУМІСНІСТЬ З ЕРИТРОЦИТАМИ

ХАРЛОВА М.І.^{1,2}, ШТЕМЕНКО О.В.², ШТЕМЕНКО Н.І.^{1,2}

¹НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ “ДНІПРОВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА”, ДНІПРО, УКРАЇНА;

²ДВНЗ “УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ХІМІКО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ”, ДНІПРО;

e-mail: kharlovamargarita@gmail.com

Відомо, що трикарбоніли ренію(I) є флуоресцентними сполуками, які проявляють протипухлинну активність та можуть використовуватися для лікування і діагностування онкозахворювань. Отже, метою роботи було синтезувати флуоресцентні наноліпосоми на основі фосфатидилхоліну, які містять флуоресцентний бромотрикарбоніл-5(1,2,3-триметоксибензен)-3(піридин-2-іл)-1,2,4-триазолреній(I) Re(I) та з'ясувати їх біосумісність і токсичність щодо еритроцитів людини і мишей.

Наноліпосомні форми комплексної сполуки ренію **Re'lip** було отримано методом гідратації тонкої плівки. Люмінесцентне випромінювання **Re'lip** фіксували за допомогою флуоресцентного мікроскопу Granum R40 при збільшенні 400x. Роботу проведено на еритроцитах людини донорської крові IV(AB) Rh⁺ групи, на еритроцитах клінічно здорової миші лінії ICR (CD-1), і еритроцити миші, яка мала спонтанну пухлину молочної залози, доставлених з віварію Агро-економічного університету (Дніпро). Інкубацію еритроцитів проводили на протязі 1, 5, 30 та 90 хвилин з наступною фіксацією і дослідженням за допомогою флуоресцентного мікроскопа. Для дослідження морфологічних форм клітин застосовували фарбування за Романовським-Гімзе.

Було виявлено, що **Re'lip** накопичувався в еритроцитах людини вже через 5 хв, через 30 хв спостерігалось суттєве флуоресцентне забарвлення, яке практично не відрізнялося як для концентрації **Re'lip** 10⁻⁷ М, так і для концентрації **Re'lip** 10⁻⁶ М, і було дуже інтенсивним для обох концентрацій через 90 хв. інкубації. Взаємодія еритроци-

тів людини з флуоресцентними ліпосомами не призводила до суттєвих змін морфологічних форм клітин, що свідчило про біосумісність і нетоксичність **Re'lip**.

Спостерігали, що **Re'lip** еритроцити миші вже через 1 хвилину накопичували флуоресцентні частки, а через 90 хвилин були яскраво забарвлені. Слід відмітити, що флуоресцентні іміджи еритроцитів миші здорової і миші з патологією мають відмінності за інтенсивністю забарвлення, що свідчить про залежність швидкості проникнення отриманих нами **Re'lip** від біохімічного складу еритроцитарних мембран. Це спостереження підтверджується відомими фактами про те, що еритроцити людини і миші відрізняються наявністю деяких мембранних протеїнів і про те, що розвиток пухлин призводить до суттєвих змін процесу еритропоезу.

Отже, вперше було отримано флуоресцентні наноліпосоми, які містять комплексні сполуки ренію(I). Показано біосумісність з еритроцитами і залежність поглинання від концентрації: із збільшенням концентрації наночасток процес накопичення флуоресцентної речовини відбувається більш інтенсивно. Виявлено, що морфологічні форми еритроцитів у цьому експерименті практично не змінюються, що свідчить про нетоксичність ново-синтезованих наноліпосом. Отримані результати свідчать про перспективність подальших досліджень, спрямованих на синтез флуоресцентних наноконструкцій на основі сполук ренію(I) і дослідження механізмів їх взаємодії з біологічними об'єктами різної складності.

РЕАКЦІЯ *MICROCYSTIS PULVEREA* (H.C.WOOD) FORTI НА ПРИСУТНІСТЬ НАНОПРЕПАРАТУ ОКСИДУ ЦЕРІЮ

ЧЕБАН Л.М.¹, ГРУШКІВСЬКИЙ Є.В.¹, МАРЧЕНКО М.М.¹, ЖОЛОБАК Н.М.²

¹ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА, УКРАЇНА;

²ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМЕНІ Д. К. ЗАБОЛОТНОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: l.cheban@chnu.edu.ua

Нанопрепарати оксиду церію (НР СеО₂) широко використовуються в біомедицинській галузі як антиоксиданти, в сільському господарстві як стимулятори росту, прогнозоване їх використання як протівірусних та антимікробних препаратів (Жолобак,

2016). Зі збільшенням виробництва нанопрепаратів існує загроза неконтрольованого їх вивільнення у навколишнє середовище. У водному середовищі НР СеО₂ зазнають окисно-відновних модифікацій, формують полідисперсні агрегати, що призводить

до зміни їх каталітичної активності. Вплив НР CeO_2 на тест-об'єкти виявляє залежність від розміру і концентрації наночастинок, експозиції впливу препарату та рівня клітинної організації.

Microcystis pulverea (H.C.Wood) Forti – грамнегативна ціанобактерія, класичний представник альгофлори прісноводних водойм помірних широт. Ціанобактерії як перспективні продуценти органічної сировини на різні потреби є також зручним об'єктом для вивчення ефектів від впливу нанопрепаратів. Метою роботи було вивчення реакції *M. pulverea* на присутність у живильному середовищі нанопрепарату оксиду церію.

Матеріалом для дослідження служили ціанобактерія *M. pulverea*, яка підтримується у колекції Інституту біології, хімії та біоресурсів ЧНУ. Біомасу ціанобактерії концентрували та відмивали від залишків живильного середовища стерильною дистильованою водою. До оводнених клітин додавали препарат НР CeO_2 , стабілізований цитратом, з розміром частинок 1–2 нм чи CeCl_3 у наступних концентраціях: 100 мМ, 10 мМ, 1 мМ, 0,1 мМ, 0,01 мМ та 0,001 мМ.

Протягом 10-ти денної експозиції аналізували кількість біомаси водорості за густиною культури з використанням оптичного показника при 750 нм на CaryWin UV 60 (Agilent, США). Вміст в клітинах протеїнів, ліпідів, хлорофілу *a* та каротиноїдів визначали спектрофотометрично за класичними методиками, застосовуючи типові суміші екстрагентів (Біохімія гідробіонтів, 2009). Дослідження

проводили у 4-кратній повторюваності, статистичне опрацювання отриманих результатів проводили з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel.

У культурі *M. pulverea* відмічене збільшення кількості біомаси у відповідь на внесення церію у будь-якій із запропонованих форм. Подібний ефект, із різним ступенем вираженості, спостерігається у діапазоні концентрацій 0,001–1 мМ. Максимальна кількість біомаси ціанобактерії відмічена при застошуванні НР CeO_2 у кількості 1 мМ, збільшення протягом експозиції сягало 60 %. З отриманими результатами чітко корелює показник вмісту хлорофілу *a* *M. pulverea*. Його кількість у клітинах достовірно не відрізняється від контрольних значень, окрім варіантів у яких відмічене пригнічення ростової активності ціанобактерії (10–100 мМ). Не дивлячись на позитивний вплив церію як у іонній формі, так і у вигляді нанопрепарату на ростову активність *M. pulverea*, відмічене зменшення кількості загального протеїну за дії НР CeO_2 та CeCl_3 у всіх варіантах досліджу. На фоні зниження кількості протеїну у біомасі *M. pulverea* встановлено збільшення кількості ліпідів у двічі та каротиноїдів у 1,5 раза.

Отримані результати дали можливість оцінити вплив нанопрепарату церію на клітини *M. pulverea*. Визначено, що 1 мМ НДЦ є оптимальною кількістю препарату, яка дозволяє збільшити вихід біомаси ціанобактерії та досягти збалансованих показників за вмістом хлорофілу *a*, протеїнів, ліпідів та каротиноїдів.

A SELECTIVE AND SENSITIVE FLUORESCENT SENSOR: THIALCALIX[4] ARENE C-800 FOR ZN IONS

YAVOROVSKA V.I., LABYNTSEVA R.D., BEVZA O.V.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: viyavr@gmail.com; raisa.lab@gmail.com

The development of fluorescence chemosensors for detecting biologically important metal ions has been an important research topic currently. Zinc is an essential biogenic element for most of the organisms. Its ions form complexes with multiple proteins that carry out vital metabolic functions. However, it is noxious to living organisms in excessive doses. Therefore, the measurement of Zn ions is important in monitoring biological processes.

The purpose of the work was to search for compounds that could be used as a zinc ion sensor. A promising class of such substances is water-soluble cup-shaped thiacalixarenes possessing the metal complexing groups at the macrocyclic molecular platform.

The fluorescence spectra of the thiacalix[4]arene C-800 (5,11,17,23-tetrakis[(hydroxyethoxyphosphor

yl)methyl]-25.26,27,28-tetrahydroxythiacalix[4]arene) were tested on a Single-4 fluorescence spectrophotometer. Investigation of the interaction of C-800 and zinc ions was conducted using fluorescent microscopy. Computer simulation of the interaction of C-800 with zinc ions was performed in ChemOffice using the MM2 method (molecular mechanics 2).

Thiacalix[4]arene C-800 exhibited an enhanced fluorescence in the presence of Zn ions and selectivity for them over some other metal ions, in particular, Pb, Cd, Mg and Ca. Its fluorescence increases in a dose-dependent manner in the presence of Zn ions. The method of computer simulation has established that two zinc ions can interact with four methylphosphonic groups located on the upper rim of the C-800, namely, each zinc ion can bond simultaneously with two methylphosphonic groups. It has been shown that the

C-800 fluorescence was increased in uterine cells incubated with zinc ions and depended on their concentrations and incubation period.

Thereby, thiocalix[4]arene C-800 can be used as a fluorescent sensitive probe for Zn²⁺ in living systems.

The authors thank partners of the Institute of Organic Chemistry, NAS of Ukraine V.I. Kalchenko, A.B. Drapailo and S.G. Kharchenko for the synthesis, and analysis of the thiocalix[4]arene C-800.

ЖИРНОКИСЛОТНІ ПРОФІЛІ БАКТЕРІЙ ПОРЯДКУ *BACILLALES* З ОВОЧЕВОЇ ТА М'ЯСНОЇ КОНСЕРВОВАНОЇ ПРОДУКЦІЇ

ЯМБОРКО Г.В.¹, СТРАШНОВА І.В.¹, ПИЛИПЕНКО Л.М.², ПИЛИПЕНКО І.В.²
¹ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;
²ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, УКРАЇНА;
e-mail: jamborkoann@ukr.net

Мікробіота овочевої та м'ясної консервованої продукції різноманітна, однак у переважній кількості виділяються аеробні та факультативно-анаеробні спороутворювальні бактерії – представники порядку *Bacillales*, деякі види яких здатні спричинити псування продукції та харчові отруєння. Останніми роками значна увага приділяється вивченню мікробних контамінантів харчових продуктів, напівфабрикатів і сировини для визначення їх харчової безпеки і відповідності принципам НАССР. Однією із відносно стабільних і сталих індивідуальних характеристик бактерій є жирнокислотний склад, саме тому його можна використовувати як фінгерпринт.

Метою роботи було визначення жирнокислотних профілів бактерій порядку *Bacillales* - залишкової мікробіоти овочевої та м'ясної консервів, потенційних збудників харчових отруєнь і псування продукції.

Для виділення термостійких штамів аеробних та факультативно-анаеробних спороутворювальних бактерій проби консервів прогрівали протягом 20 хвилин за температури (80±1) °С та після охолодження до кімнатної температури висівали на м'ясо-пептонний агар, інкубували за температури (30±1) °С впродовж 24–48 годин. Первинну ідентифікацію баціл здійснювали шляхом виділення чистих культур і вивчення їх біологічних властивостей. Аналіз жирних кислот проводили методом газової хроматографії з використанням системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock (MIDI, USA), застосовуючи бібліотечну базу даних.

Вивчення 31 штаму спороутворювальних бактерій консервованої продукції дозволило віднести їх до певних родів та видів порядку *Bacillales*. Однак, біологічні особливості цих штамів викликають сумнів щодо точності їх ідентифікації за фенотипом, тому видову приналежність підтверджували проведенням жирнокислотного аналізу, порівнюючи їх з відомими стандартами.

Домінування розгалужених жирних кислот у жирнокислотному профілі виявилось характерною ознакою усіх досліджених штамів. Вміст розгалужених жирних кислот у баціл становив від 54 до 85 % загального жирнокислотного пулу клітини, включаючи як насичені, так і ненасичені кислоти з переважанням 13-метилтетрадеканової кислоти (C₁₅:0 iso) і 12-метилтетрадеканової кислоти (C₁₅:0 anteiso). Характерним для них також є високий вміст 14-метилгексадеканової кислоти (C₁₇:0 anteiso) та 15-метилгексадеканової кислоти (C₁₇:0 iso).

За результатами ідентифікації, включаючи вивчення жирнокислотного складу, виділені із овочевих консервів штами баціл належать до 4 родів порядку *Bacillales*: *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus* та *Brevibacillus*. Серед них переважали представники роду *Bacillus* з домінуванням виду *B. subtilis*. У штамів роду *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus* GC subgroup A, *B. pumilus* GC subgroup B, *B. atrophaeus* та *B. licheniformis*) жирнокислотний склад переважно представлений C₁₅:0 anteiso (25–66 %), C₁₅:0 iso (22–47 %), C₁₇:0 anteiso (2–12 %) за винятком представників групи *B. cereus*, які характеризувалися підвищеним вмістом ненасичених жирних кислот (більше 10 %) та меншим вмістом C₁₅:0 anteiso (7–12 %). Найрізноманітніший склад жирних кислот виявлено у штаму *Brevibacillus choshinensis* sp. C1.

Баціли м'ясної консервованої продукції були представлені тільки штамми роду *Bacillus* (*B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. cereus*) з домінуванням виду *B. pumilus*, для якого характерно високий вміст C₁₅:0 anteiso (24,58–29,43 %) та C₁₅:0 iso (52,07–60,41 %) жирних кислот.

Таким чином, застосування жирнокислотного біомаркування є цінним доповненням традиційної схеми ідентифікації баціл, яке може мати прикладне значення.

BIOMIMETIC-BASED SENSOR SYSTEMS FOR HIGHLY-SELECTIVE DETECTION OF AFLATOXIN B1 AND ZEARALENONE

YARYNKA D.V.¹, PILETSKA E.V.², DUDEY I.Ya.¹, LINNIK R.P.³, ZAPOROZHETS O.A.³, BROVKO O.O.⁴, PILETSKY S.A.², EL'SKAYA A.V.¹, SERGEYEVA T.A.¹

¹INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV,;

²UNIVERSITY OF LEICESTER, COLLEGE OF SCIENCE AND ENGINEERING, LE1 7RH LEICESTER, UK;

³TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV, UKRAINE;

⁴INSTITUTE OF MACROMOLECULAR CHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV

Mycotoxins are toxic mutagenic and carcinogenic compounds, which are produced by microscopic fungal species. Aflatoxin B1 and zearalenone on a worldwide scale are important mycotoxins in human foods and animal feedstuffs. Polymers-biomimetics in the form of free-standing molecularly-imprinted polymer (MIP) membranes with synthetic binding sites, mimicking those of natural receptors, were successfully used for the development of easy-to-use and reliable biosensor systems for detection of widespread food mycotoxins – zearalenone and aflatoxin B1. The technique of molecular imprinting and method of *in situ* polymerization were used for molecularly imprinted polymer membranes synthesis. The MIP membranes were synthesized using nontoxic and non-fluorescent close structural analogues of aflatoxin B1 (ethyl-2-oxocyclopentanecarboxylate) and zearalenone (cyclododecyl 2,4-dihydroxybenzoate) as dummy templates. The quantitative detection of zearalenone and aflatoxin B1, selectively adsorbed by the MIP membranes, is based on their natural fluorescence. Sensor responses are registered after selective adsorption of mycotoxins by synthetic receptor sites in the MIP membranes' structure and generated by UV-irradiation. The intensity of fluorescence is proportional to the analyte's concentration in the sample. The MIP membranes with the optimized composition

demonstrated high selectivity towards aflatoxin B1 and zearalenone. Negligible binding of close structural analogues of aflatoxin B1 and zearalenone to the MIP membranes was demonstrated. Aflatoxin B1 can be detected within the range 1–500 ng/ml, while linear detection range for zearalenone comprised 125 µg/ml. Detection limits of the developed sensor systems correspond to the concentrations that have to be detected in food and feedstuff in accordance with food protection standards and were estimated as 15 ng/ml and 1 µg/ml for aflatoxin B1 and zearalenone detection, respectively. Storage stability of the proposed sensor systems was assessed during 18 months storage at room temperature. The sensor system provides highly-selective and sensitive detection of aflatoxin B1 and zearalenone in both model and real (maize and wheat flour) samples. The newly developed sensor systems based on nanostructured biomimetics provide sensitive, precise, and an inexpensive analytical method for aflatoxin B1 and zearalenone detection. In comparison with traditional methods of mycotoxins detection, proposed systems provide a convenient point-of-care approach in food safety testing and can be used in in-field conditions.

Acknowledgment. Financial support from the Ministry of Education and Sciences of Ukraine, National Academy of Sciences of Ukraine.

**Симпозіум 5.
БІОХІМІЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ
ТВАРИН І РОСЛИН.
ХАРЧОВА БІОХІМІЯ**

**СТАН ПРО-АНТИОКСИДАНТНИХ СИСТЕМ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ
TRITICUM AESTIVUM L. ТА *TRITICUM DICOCCUM* SCHRANK EX SCHÜBL.
ЗА УМОВ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ**

БАЦМАНОВА Л.М., КОВАЛЕНКО М.С., КОНОТОП Є.О., ТАРАН Н.Ю.
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: l.batsmanova@gmail.com

Нині у широкому колі дослідників сформувався консенсус, згідно з яким посухостійкість необхідно розглядати у комплексі зі змінами процесів росту і розвитку рослин. На ранніх етапах онтогенезу рослини є особливо чутливими до дії посухи, тому з'ясування особливостей адаптаційних реакцій за умов ПЕГ-модельованого осмотичного стресу видається надзвичайно актуальним.

Метою дослідження було з'ясування стану про-антиоксидантних систем проростків м'якої пшениці та двозернянки за умов осмотичного стресу. Об'єктами досліджень були сорти м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. (Фаворитка, Трипільська) та двозернянки *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl. (Голіковська). Рослини вирощувались на середовищі з осмотичним потенціалом -0,3 МПа (15 % розчин ПЕГ) протягом 7 діб. Розвиток окислювальних процесів оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів [Kumar G., Knowles N.R., 1993]. Вміст вільного проліну визначали згідно методу L.S. Bates та ін. (1973). Активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) згідно С.Н. Giannopolitis та S.K. Ries (1977). Активність каталази (КАТ, КФ 1.11.1.6) визначали за Aebi (1984). Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою програм Microsoft Excel та Statistica 8.0. Для порівняння вибірок підраховували середнє арифметичне (M) та стандартну помилку від середнього (SEM). Достовірність різниці між порівнюваними групами оцінювали за допомогою критерію Дункана. Ста-

тистично значущою для всіх показників вважали різницю $P < 0,05$.

Аналіз отриманих результатів вказує на розвиток пероксидного окислення ліпідів лише у проростків м'якої пшениці сорту Трипільська. Необхідно зазначити значне накопичення проліну в коренях в усіх досліджувальних сортах. У листках найбільший вміст проліну (у 7 разів) спостерігався у двозернянки сорту Голіковська, що сприяло осмотичній регуляції для підтримки водного балансу. У листках сортів м'якої пшениці вміст проліну був на рівні контрольного варіанту. Згідно даних літератури [Marcinińska et al., 2013] накопичення проліну характерне для сортів із вищою толерантністю до посухи.

Активність СОД у коренях підвищувалась у сорту Фаворитка (на 30 %), проте у сорту Трипільська – знижувалась (на 25 %). Змін активності СОД у листках досліджуваних сортів не виявлено. Сорти пшениці м'якої Трипільська та Фаворитка характеризувались зниженням активності КАТ у коренях на 25 та 38 %, відповідно, тоді як у сорту Голіковська цей показник зростав на 35 %. У листках активність КАТ знижувалась тільки у сорту Фаворитка (на 19 %).

Отже, в умовах ПЕГ-модельованого осмотичного стресу проростки пшениці *Triticum aestivum* L. та *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl. виявили різновекторність у формуванні захисних реакцій. Рослини пшениці двозернянки сорту Голіковська – більш стійкі до осмотичного стресу.

**АНАЛІЗ НУТРИЄНТНОГО СКЛАДУ *D. MAGNA* ЗА УМОВ БІОІНКАПСУЛЯЦІЇ
МІКРООРГАНІЗМАМИ**

ВАСІНА Л.М., КРАЄВСЬКА І.М.
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА, УКРАЇНА;
e-mail: l.vasina@chnu.edu.ua

Зоопланктон, який зазвичай використовують як живий корм риб, не здатний синтезувати каротиноїди, а лише накопичувати їх. Традиційним

харчовим субстратом для зоопланктону у випадку лабораторного культивування є *Saccharomyces cerevisiae*, які також характеризуються низьким

вмістом каротиноїдів, життєво необхідної субстанції на різних стадіях онтогенезу риб. Варіантом вирішення цієї проблеми може бути використання каротиногенних дріжджів. Тому метою даної роботи було визначення вмісту окремих нутрієнтів в організмі *D. magna* у разі застосування технології біоінкапсуляції мікроорганізмами.

Дослідження проводилися на чистій культурі *Rhodotorula glutinis* УКМ Y-1242 та культурі молочнокислих бактерій, виділеній із слизових оболонок травного тракту осетрових. Для збільшення каротинсинтезуючої здатності родоторули опромінювали ультрафіолетовим світлом (254 нм) та здійснювали сумісне культивування з бактеріями у середовищі з молочною сироваткою. Прісноводний зоопланктон вирощували на модифікованому середовищі ADAм у ємностях місткістю 500 мл при початковій щільності 50 ос./л, дотримуючись 16-годинного фотоперіоду та температури 22±2 °С. Одержану центрифугуванням суспензію мікроорганізмів стандартизували за кількістю клітин дріжджів 24×10⁶/л дистильованої води і вносили кожні 48 год впродовж 4 діб у кількості 0,5 г/л. Біомасу зоопланктону обробляли ультразвуковим дезінтегратором USDN-2T. Визначення вмісту загальних каротиноїдів здійснювали спектрофотометричним методом, загального протеїну – за методом Лоурі, загальних ліпідів – у реакції з фосфованіліновим реактивом. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel.

Як свідчать результати досліджень, найбільшу кількість каротиноїдів у біомасі *D. magna* зафіксовано при застосуванні як кормового субстрату асоціації опроміненої культури *R. glutinis* та молочнокислих бактерій (у понад 8 разів), децю нижчі значення зареєстровані у разі використання опро-

міненої монокультури *R. glutinis* (майже у 6 разів) та нативної культури *R. glutinis* (у 1,4 раза) порівняно із групою тварин, для яких кормом слугували сахароміцети.

Аналіз нутрієнтного складу *D. magna* при використанні каротиновмісних дріжджів показав незначне збільшення вмісту загальних білків. Найвищі значення даного показника відмічені за вигодовування зоопланктону асоціацією мікроорганізмів, що містила опромінену культуру. Ймовірно, свою частку для збагачення цінними нутрієнтами зоопланктону вносять й наявні у складі асоціації молочнокислі бактерії. Бактеріальний протеїн має високу поживну цінність завдяки значному вмісту незамінних амінокислот, а гідролітичні ензими сприяють процесу травлення та попереджають контамінацію. Оцінка вмісту загальних ліпідів в усіх дослідних групах показала незначну варіабельність. Деяке скорочення частки загальних ліпідів під час застосування каротинсинтезуючих дріжджів пояснюється тим, що споживання каротиноїдів може призводити до інгібування диференціації адипоцитів із клітин-попередників. Проведеними дослідженнями встановлено інтенсивне наростання біомаси дрібних ракоподібних при використанні як кормового субстрату каротинсинтезуючих дріжджів. Найбільша щільність культури зареєстрована при вирощуванні зоопланктону на асоціації мікроорганізмів – показник зростає у 2,5 раза порівняно зі стандартним кормовим субстратом *S. cerevisiae*.

Отже, запропонована технологія біоінкапсуляції прісноводного зоопланктону асоціацією каротинсинтезуючих дріжджів та молочнокислих бактерій дозволить підвищити вміст каротиноїдів у живих кормах для риб та прискорити темпи наростання їх біомаси.

THE BIOCHEMICAL CRITERIA FOR THE EVALUATION OF FUNCTIONAL STATE OF BONE MARROW CELLS AFTER CRYOPRESERVATION IN LIQUID NITROGEN

VODOPYANOVA L.A., BOBRYTSKA O.M., YUHAI K.D., ULIZKO P.Y.
KHARKIV STATE ZOOVETERINARY ACADEMY, UKRAINE;
e-mail: vodopyanova49@gmail.com

Long-term storage of bone marrow cells (BMC) has remained an actual problem in contemporary cryobiology and transplantology.

The methods for animals BMC cryopreservation have not been developed yet. However, the low-temperature conservation of BMC of animals is necessary stage of biomaterial storage before transplantation to treat diseases connected with haematopoietic disorder. Indeed, the long-term storage of dogs' bone marrow cells is one of the biggest challenges faced by researchers working in the field of cell transplanta-

tion in veterinary and the driving force for continuing research that aims to extend cryopreservation technology.

The aim of the investigation was to study the biochemical criteria (glycogen, ATP, pyruvate) for the evaluation of the functional state of bone marrow cells after cryopreservation in liquid nitrogen.

Incubation of dogs' BMC at low temperature (4 °C) with cryoprotective solutions during 30 min reduces the viability and metabolites of power exchange (glycogen, ATP, pyruvate) not so much.

After cryopreservation of dogs bone marrow cells with 7 %, 10 % DMSO indexes of metabolites of power exchange (glycogen, ATP, pyruvate), which determine the basic functional indexes of cells, did not differ considerably from such in control level keep. DMSO 7 % solution had a better effect on almost all types of dogs' BMCs.

Glycerol in all used concentrations was non-effective for freezing. The cells cryopreserved with PEO-400 had better viability rate but not in comparison with DMSO because of the increase of the level of lactic acid in cells after cryopreservation.

Based on the results obtained, we can make the following conclusions: dogs' BMC cryopreservation with PEO-400 and DMSO saves cells in the cryopreservation process. DMSO is a more effective cryoprotectant, as the cell content remains on proper level in cells influenced by the influence of incubation and freezing-thawing. It has been found that 7 % DMSO was most effective cryoprotectant and 83.51±1.9 % of cells survived. The ATP, pyruvic and lactic acids levels in dogs' bone marrow cells after freezing-thawed with DMSO was near control measure.

ВПЛИВ ВИСОКИХ ДОЗ ВІТАМІНУ D₃ НА ОБМІН РЕЧОВИН У КУРЕЙ

ВУДМАСКА І.В., ГУДИМА В.Ю., ПАХОЛКІВ Н.І.,
НЕВОСТРУЄВА І.В., ГОЛОВА Н.В., САЧКО Р.Г., СКОРОХІД І.В.
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;
e-mail: ivvudmaska@gmail.com

Особливістю вітаміну D є гормоноподібний механізм регуляції метаболізму. На відміну від інших вітамінів, дія вітаміну D здійснюється за характерними для стероїдних гормонів сигнальними шляхами. Подібно до стероїдних гормонів, для 1,25(OH)₂D₃ у клітинах наявні мембранні та ядерні рецептори, через які вітамін D виконує регуляторні функції. Гормональна дія 1,25(OH)₂ вітаміну D здійснюється автокринним, паракринним та ендокринним шляхами. Отже, традиційно кальциферолі відносять до вітамінів, проте їх можна вважати й гормонами, особливо якщо враховувати, що частина вітаміну D₃ синтезується у шкірі, тобто він не є повністю незамінним для організму. Метою досліджень були, по-перше, відома з літературних джерел дія високих доз вітаміну D₃ на проліферацію і диференціацію клітин та імунний статус лабораторних тварин, по-друге, дуже низька токсичність вітаміну D₃ для птахів, зокрема кури без жодних негативних наслідків витримують тривале введення до раціону 100 тис. МО/кг вітаміну D₃.

Дослід проведено на трьох групах курей-несучок кросу Хайсекс коричневий з 180- до 210-денного віку. Кури отримували стандартний повнораціонний комбікорм. Вміст вітаміну D₃ у раціоні курей 1-ї (контрольної) групи відповідав рекомендованим нормам і становив 2,5 тис. МО/кг. У раціоні курей 2-ї і 3-ї груп вміст вітаміну D₃ доводили до 5,0 і 10,0 тис. МО/кг, збільшуючи його, відповідно, удвічі й утричі понад норму. У кінці дослідження відбирали зразки венозної крові у 10-ти курей кожної групи. Вміст 25-OH D₃ визначали імуноензимним методом. Кількість клітин крові підраховували у камері Горяєва. Визначення концентрації гемоглобіну здійснювали гемоглобінціанідним колориметричним методом. Фагоцитарну реакцію нейтрофілів оціню-

вали за фагоцитарною активністю, числом та індексом фагоцитозу. Статистичну обробку виконували з використанням програми Microsoft Excel.

Збільшення у раціоні курей-несучок кількості вітаміну D₃ призвело до зростання у плазмі крові концентрації його гідроксильованої форми 25-OH D₃, причому ці зміни не пропорційні дозі згодованого вітаміну. Так, при підвищенні вмісту у раціоні вітаміну D₃ з 2,5 до 5,0 тис. МО/кг концентрація 25-OH D₃ у плазмі крові змінилась незначно, тоді як подальше його збільшення до 10,0 тис. МО/кг збільшило його концентрацію майже удвічі ($P < 0,001$).

Підвищення у раціоні вмісту вітаміну D₃ з 2,5 до 5,0 та 10,0 тис. МО/кг збільшувало кількість еритроцитів і, відповідно, концентрацію гемоглобіну у крові ($P < 0,05$). Концентрація гемоглобіну зростала не лише завдяки збільшенню чисельності еритроцитів, а й внаслідок більшого його вмісту в еритроциті.

Зі збільшенням у раціоні вмісту вітаміну D₃ з 2,5 до 5,0 тис. МО/кг у крові курей зменшувалась кількість лейкоцитів ($P < 0,05-0,01$). При подальшому підвищенні вмісту вітаміну D до 10,0 тис. МО/кг кількість лейкоцитів залишилась на тому ж рівні, що й за дози 5,0 тис. МО/кг. Хоча відносна частка лімфоцитів у лейкоцитарній формулі курей 2-ї дослідної групи зменшилась несуттєво, абсолютна кількість лімфоцитів у цій групі, враховуючи меншу загальну кількість лейкоцитів, була значно меншою, ніж у контролі. У складі лейкоцитів крові курей 3-ї групи спостерігалось подальше зменшення відсотка лімфоцитів ($P < 0,05$), проте враховуючи дещо більшу загальну кількість лейкоцитів, абсолютна кількість лімфоцитів у курей 2-ї та 3-ї дослідних груп відрізнялась незначно. У крові курей, які отримували

мували з раціоном підвищену кількість вітаміну D₃, виявлено більшу кількість моноцитів та нейтрофілів, тобто клітин відповідальних за фагоцитоз.

Таким чином, в організмі курей вітамін D₃ бере участь не лише у регуляції мінерального обміну, а впливає на гемопоез та імунну функції.

ВПЛИВ ПЕРЕДПОСІВНОЇ ОБРОБКИ НАСІННЯ БІОПРЕПАРАТАМИ НА АСИМІЛЯЦІЙНІ ПРОЦЕСИ РОСЛИН ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД ЗЕРНА КУКУРУДЗИ

ГАВІЙ В.М., КУЧМЕНКО О.Б., КУРИЛЕНКО А.О., ТЕРЕЩЕНКО О.О.
НІЖИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ МИКОЛИ ГОГОЛЯ, УКРАЇНА;
e-mail: gaviyv@gmail.com

Кукурудза – одна з найпоширеніших і найважливіших сільськогосподарських культур у світі, в тому числі й в Україні. Кукурудза за своїми біологічними властивостями широко використовується не тільки у галузі тваринництва, але й у харчовій та фармацевтичній промисловості, для виробництва біопалива. Якість продукції зазначеної культури залежить від сукупного поєднання погодно-кліматичних, ґрунтових факторів та технології вирощування. Сучасні технологічні прийоми вирощування кукурудзи передбачають використання регуляторів росту рослин. Для підвищення якості зернової продукції кукурудзи необхідно ретельно вивчити та проаналізувати процеси, які відбуваються у рослинах у різні фази їхнього росту й розвитку з метою подальшого їх регулювання. Метою роботи було вивчити вплив передпосівної обробки насіння біопрепаратом Поліміксобактерином і імунопротектором BAI-SI на вміст зелених фотосинтетических пігментів у листках рослин на різних фазах онтогенезу та хімічний склад зерна кукурудзи.

Для досліджень використовували гібрид Дніпровський 196 СВ підвиду кукурудзи цукрової (*Zea mays saccharata*). Вміст хлорофілів a, b, загальний вміст хлорофілів у листках рослин, вміст моносахаридів та дисахаридів у зерні кукурудзи визначали спектрофотометричним методом.

Встановлено, що зазначені препарати збільшують вміст хлорофілів на основних фазах розвитку кукурудзи. Так, у фазу 3-5 листків у контролі вміст суми хлорофілів a і b становив 1,28 мг/г сирової маси, хлорофілу a – 1,03 мг/г сирової маси, хлорофілу b – 0,25 мг/г сирової маси. Передпосівна обробка насіння кукурудзи Поліміксобактерином дозволила збільшити вміст суми хлорофілів a і b в листках кукурудзи до 1,68 мг/г сирової маси, що перевищило показники контролю на 31,2 %. Також, зазначений біопрепарат ефективно стимулював утворення хлорофілу b в листках кукурудзи, перевищуючи показники контролю на 92 %. У фазі викидання волотей у контролі вміст суми хлорофілів a і b становив 1,94 мг/г сирової маси, хлорофілу a –

1,38 мг/г сирової маси, хлорофілу b – 0,56 мг/г сирової маси. Передпосівна обробка насіння кукурудзи Поліміксобактерином показала найвищу ефективність і дозволила збільшити вміст суми хлорофілів a і b в листках кукурудзи на 0,6 мг/г сирової маси, перевищуючи показники контролю на 30,9 % відповідно. Зазначений препарат ефективно стимулював вміст хлорофілу a і b в листках кукурудзи, перевищуючи показники контролю на 26,8 % і 41,0 % відповідно. Передпосівна обробка насіння кукурудзи BAI-SI дозволила збільшити вміст суми хлорофілів a і b на 0,42 мг/г сирової маси, хлорофілу a – на 0,22 мг/г сирової маси, хлорофілу b – на 0,2 мг/г сирової маси, перевищуючи показники контролю за цими показниками 21,6 %, 16 % і 35,7 % відповідно.

Вміст хлорофілу в листках рослин кукурудзи поступово зростає за фазами росту і досяг свого максимуму в фазу молочної стиглості зерна. У цю фазу найвищу ефективність показав препарат BAI-SI, збільшуючи вміст суми хлорофілів a і b, вміст хлорофілу a і вміст хлорофілу b більш, ніж на 40 % в порівнянні з контролем.

Таким чином, зазначені препарати інтенсивно стимулюють синтез зелених фотосинтетических пігментів у листках рослин кукурудзи, що інтенсифікує асиміляційні процеси та впливає на накопичення цукрів у зерні кукурудзи. Так, у контролі вміст моносахаридів у зерні кукурудзи складав 139,0 мг/г сирової маси. Передпосівна обробка насіння кукурудзи BAI-SI та Поліміксобактерином дозволила збільшити вміст моносахаридів до 304,8 та 410,0 мг/г сирової маси відповідно. При обробці насіння кукурудзи ранньостиглого гібриду Дніпровський 196 СВ перед сівбою зазначеними препаратами вміст дисахаридів в зерні, порівняно до контролю, збільшився у 2,4 та 1,78 раза відповідно. Отже, передпосівна обробка насіння кукурудзи Поліміксобактерином і BAI-SI ефективно стимулює асиміляційні процеси в листках рослин та накопичення цукрів у зерні. Це має важливе значення при вирощуванні підвидів кукурудзи цукрової, оскільки підвищує якість продукції.

ВПЛИВ ДОДАВАННЯ ДО РАЦІОНУ КОРІВ ОРГАНІЧНОЇ ТА НЕОРГАНІЧНОЇ ФОРМ СЕЛЕНУ НА ЙОГО ВМІСТ В МОЛОЦІ

ГОЛОВА Н.В., ВУДМАСКА І.В., НЕВОСТРУЄВА І.В.,
ГУДИМА В.Ю., ПАХОЛКІВ Н.І., САЧКО Р.Г., СКОРОХІД А.В.
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;
e-mail: yurnatalia@ukr.net

У складі кормів селен (Se) надходить в організм тварин, головним чином, у вигляді селенмісних амінокислот – селен-метіоніну (Se-Met) і селен-цистеїну (Se-Cys). Селен-метіонін наявний у мікроорганізмах і рослинах, але не синтезується в організмі тварин і людини, де фізіологічною формою селену є селен-цистеїн. На відміну від селен-цистеїну, селен-метіонін може накопичуватися у складі протеїнів організму тварин у досить великих кількостях. Протеїни крові, у тому числі і ті, що містять Se-Met, потрапивши у молочну залозу розщеплюються до амінокислот, які використовуються у синтезі протеїнів молока, служить джерелом Селену для споживачів молока.

Неорганічний селен також позитивно впливає на обмін речовин, попереджуючи перебіг процесів пероксидного окислення. Разом із тим, у жуйних тварин неорганічний Se частково використовується мікроорганізмами рубця для синтезу Se-Met і Se-Cys, які після всмоктування у тонкому кишечнику депонуються в тканинах у вигляді селеноамінокислот.

Метою нашої роботи було порівняти дію різних доз селеніту натрію (Na_2SeO_3) та Se-Met на вміст селену в молоці.

Для досліджу сформовано п'ять груп корів по п'ять голів у кожній, продуктивністю – 5–6 тис. кг молока за лактацію. Корови контрольної групи отримували збалансований за вмістом поживних речовин раціон. Корови 1-ї та 2-ї (дослідних) груп отримували аналогічні раціони з добавкою селеніту натрію у кількості 0,2 та 0,5 мг/кг сухої речовини корму у перерахунку на селен, а корови 3-ї та 4-ї (дослідних) груп – з добавкою Se-Met в кількості 0,2 та 0,5 мг/кг сухої речовини корму у перерахунку на селен. У молоці визначали вміст білка, лактози, жиру. Вміст Se визначали на атомно-абсорбційному спектрографі S–115 ПК у зразках крові і молока.

Вміст селену в раціоні контрольних корів був у 6 разів меншим за рекомендовану норму (0,3 мг/кг сухої речовини). Внаслідок цього, його концентрація у плазмі крові та молоці також була дуже низькою. Додавання до раціону Na_2SeO_3 або Se-Met по-різному впливало на вказані показники. Зокрема, концентрація селену в плазмі крові корів, що отримували добавку 0,2 або 0,5 мг/кг сухої речовини раціону Na_2SeO_3 чи Se-Met зростала дозозалежно, при цьому Se-met діяв дещо ефективніше. Так, порівняно до контрольної групи, плазма крові корів, що отримували по 0,2 мг/кг Na_2SeO_3 або Se-Met містила в 1,6 і 2,2 раза більше Se, а плазма крові корів, яким згодовували по 0,5 мг/кг Na_2SeO_3 або Se-Met – у 2,8 і 3,4 раза ($P < 0,001$).

Вміст селену в молоці не залежав від кількості введеного до раціону селеніту натрію, тоді як, у молоці корів, що отримували 0,2 і 0,5 мг/кг Se-Met вміст Se в молоці зростав у 3,5 та 6,0 раза, ($P < 0,001$).

Добовий вихід Se з молоком у корів, що отримували селеніт натрію був у 2 рази більшим, ніж у контрольній групі і не залежав від кількості введеної неорганічної сполуки. Добовий вихід Se у молоці корів, які отримували Se-Met залежав від його кількості. За дози 0,2 мг/кг він у 4 рази перевищував відповідний показник корів контрольної групи, а за дози 0,5 мг/кг вміст Se в молоці був у 8 разів більший, ніж у контрольній групі.

Додавання до раціону Se-дефіцитних корів Na_2SeO_3 або Se-Met у кількості 0,2 і 0,5 мг/кг сухої речовини дозозалежно збільшує концентрацію селену в плазмі крові. Селеніт натрію у 2 рази збільшував вміст Se в молоці не залежно від дози введення, тоді як Se-Met, доданий у кількості 0,2 і 0,5 мг/кг збільшував вміст селену в молоці відповідно у 3,5, і 6 разів. Згодовування коровам Se-Met в кількості 0,2 мг/кг на 5 % підвищувало надої корів і на 9 % збільшувало його жирність.

ЛІПІДНИЙ СКЛАД СИРОВАТКИ КРОВІ У ПЕРЕХВОРИЛИХ НА ЕНТЕРОПАТОЛОГІЮ ТЕЛЯТ ТА КОРИГУВАЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ФОСФОЛІПІДІВ МОЛОКА

ГРИЩЕНКО В.А.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: viktoriya_004@ukr.net

Нині доведено, що у хворих на ентеропатологію новонароджених телят розвиток дисліпідемії викликає зниження резервів регенерації в уражених тканинах і органах. Основним структурним елементом клітинних мембран, що насамперед зазнають пошкодження, є фосфоліпіди (ФЛ). Для організму новонароджених тварин природними за хімічним складом є ФЛ молока. Тому мета роботи полягала у визначенні коригувальної ефективності ФЛ молока щодо ліпідного і ліпопротеїнового спектрів сироватки крові у перехворілих на ентеропатологію телят.

З телят 2-добового віку формували три групи по 10 голів у кожній: в контрольній групі перебували клінічно здорові тварини; до I дослідної групи віднесено телят, хворих на ентеропатологію незразної етіології та яких лікували за традиційною терапевтичною схемою; телятам II дослідної групи застосовували комплексне лікування (традиційна терапія + експериментальна фосфоліпідовмісна БАД "FLP-MD" репаративної дії) до зникнення клінічних симптомів захворювання, а в період реабілітації тварини отримували БАД до 30-добового віку включно. Біодобавку в період захворювання телят на ентеропатологію вводили з молоком по 3 капсули тричі на добу, а в період реабілітації і до 30-добового віку – по 5 капсул один раз на добу із розрахунку 0,04 г ліпідної маси на 1 кг маси тіла тварин за один прийом. Традиційна схема лікування передбачала застосування тромексину, тіломіцину В та нутрілу Se згідно з інструкціями щодо їх використання. Кров для дослідження біохімічних показників відбирали у піддослідних телят на 25–30-ту добу життя (через три тижні після зникнення симптомів захворювання). Дослідження показників обміну ліпідів проводили у сироватці крові на біохімічному аналізаторі Stat Fax, (Awareness Technology INC, США) за стандартними наборами реактивів (Intero, LTD).

У телят I дослідної групи на 25–30-ту добу життя залишається вірогідно високий вміст у сироватці крові триацилгліцеролів (ТАГ) і низький ФЛ, відповідно на 13 і 15,7 %, що свідчить про дисліпідемію, яка вказує на недостатнє відновлення структурних дефектів і метаболічних порушень в уражених за ентеропатології органах, насамперед, кишечнику та печінці. У телят II дослідної групи, які додатково отримували фосфоліпідовмісну БАД "FLP-MD", відзначається вірогідно високий рівень протиатерогенної фракції ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) (на 27 %), що проявляється істотним зменшенням величини коефіцієнта атерогенності (на 27 %) та свідчить про позитивні зрушення у ліпопротеїновому спектрі сироватки крові цих телят. Крім того, включення у терапевтичну схему при лікуванні телят зазначеної біодобавки сприяє нормалізації концентрації ТАГ у сироватці крові, стимулює вірогідне зростання вмісту ФЛ, що має виражений мембранотропний ефект і забезпечує кращу утилізацію ТАГ клітинами печінки та інших внутрішніх органів, а отже, стимулює розвиток процесів регенерації. Високий рівень ФЛ у сироватці крові цих тварин узгоджується з вірогідним збільшенням вмісту ЛПВЩ. Слід відмітити, що зменшення величини коефіцієнта атерогенності у перехворілих телят при комплексному застосуванні фосфоліпідовмісної БАД справляє виражений протиатерогенний ефект, що дозволяє рекомендувати її як лікувально-профілактичну добавку за розладів обміну ліпідів і ризику виникнення атеросклерозу.

Отже, результати дослідження ліпідного і ліпопротеїнового спектрів сироватки крові в перехворілих на ентеропатологію телят доводять протиатерогенний і нормалізуючий обмін ліпідів ефект фосфоліпідовмісної БАД "FLP-MD", яка може бути рекомендована як засіб відновлювальної терапії при шлунково-кишковій патології новонароджених тварин.

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ ВІВСА ПОСІВНОГО НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ М'ЯЗОВИХ ТКАНИН ГУСЕЙ

ДАНЧЕНКО О.О.^{1,2}, КОШЕЛЕВ О.І.¹, ГАЛЬКО Т.І.¹, НИКОЛАЄВА Ю.В.¹, ЯКОВІЙЧУК О.В.¹, ЗДОРОВЦЕВА Л.М.², ДАНЧЕНКО М.М.²

¹МЕЛІТОПОЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ БОГДАНА ХМЕЛЬНИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: nndea@ukr.net;

²ТАВРІЙСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДМИТРА МОТОРНОГО, МЕЛІТОПОЛЬ, УКРАЇНА

У складі вівса посівного, окрім відомих фенольних сполук, як то рутин, кверцетин, гесперидин та деякі інші, встановлено наявність авенантрамідів – особливих сполук фенольної природи. Завдяки унікальному комплексу біологічно активних сполук у складі вівса, він суттєво підвищує адаптивний статус птиці, що в кінцевому рахунку сприяє підвищенню кількісних і якісних показників птахівництва.

Метою роботи було з'ясування впливу екстракту вівса посівного *Avena sativa* на жирнокислотний склад ліпідів м'язових тканин гусей під час фізіологічної напруги, зумовленої формуванням контурного і ювенального пір'я (з 14-ої до 56-ої доби). Дослідження проводились на гусях породи Легарт. Гуси як модельний вид для досліджень обрано з урахуванням властивої їм високої інтенсивності метаболізму, великого вмісту ліпідів та їхньої значної ненасиченості, що зумовлює підвищену чутливість організму цієї птиці до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги (ПОЛ-АОА).

Для виділення флавоноїдів збирали надземну частину вівса у фазу колосіння і цвітіння та просушували до повітряно-сухого стану. Вилучення флавоноїдів із вихідної сировини проводили водою, співвідношення сировини і екстрагенту – 1:30, термін екстракції на киплячій водяній бані – 90 хв.

Гусенят дослідної групи (з 7-ої до 56-ої доби) випоювали розчином отриманого екстракту (в розрахунок 0,5 мл/кг маси тіла). Жирнокислотний склад ліпідів (ЖКС) у м'язових тканинах серця, шлунка і кінцівок гусей визначали методом газорідинної хроматографії.

Результати експерименту свідчать, що найбільш суттєві зміни ЖКС під впливом екстракту

відбуваються під час формування контурного пір'я в гусенят у віці 28 діб. Так, якщо загальний вміст ненасичених жирних кислот (НЖК) у м'язових тканинах гусенят цього віку для контрольної групи складав 48,0–52,8 %, то для дослідної групи цей показник зменшився в 3,0–3,6 раза. При цьому найбільш значним було зниження вмісту олеїнової кислоти: цей показник в міокарді скоротився в 31,8, м'язах шлунка – у 47,1, а м'язах кінцівок – у 86,5 раза. Водночас вміст незамінної лінолевої кислоти зменшився в усіх тканинах у 3,2–4,5 раза, лінолевої – тільки в посмугованих м'язах (в 1,7–2,0 раз), а в гладких м'язах шлунка навіть підвищився на 27,5 %. Зниження вмісту арахідонової кислоти було менш суттєвим. Різке падіння вмісту НЖК супроводжувалось зростанням вмісту насичених пальмітинової і стеаринової кислот. Можливим механізмом реалізації таких змін у м'язових тканинах є інгібування специфічних ензимів синтезу та/або десатурації жирних кислот, оскільки є дані, що деякі флавоноїди здатні інгібувати відповідні синтази. Втім, відмінність ЖКС м'язових тканин контрольної і дослідної груп гусенят у віці 28 діб, надалі поступово зменшувались і у віці 49 діб гусенята, на тлі формування ювенального пір'я, набули несуттєвого характеру як за сумарним умістом НЖК, так і вмістом окремих ненасичених кислот.

Отже, під час формування контурного пір'я екстракт вівса стимулює включення нейрогуморальних процесів, що спрямовані на підтримку рівноваги ПОЛ ↔ АОА шляхом зниження ненасиченості жирних кислот ліпідів і, таким чином, суттєво підвищує резистентність клітин до негативного впливу активних форм оксигену.

MECHANICAL STABILITY OF DOGS ERYTHROCYTES UNDER THE ACTION OF PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS OF CRYOPRESERVATION

DENYSOVA O.M., YAKIMENKO T.I., ZHEGUNOV G.F., GLADKA N.I., PRICHODCHENKO V.O.
KHARKIV STATE ZOOVETERINARY ACADEMY, UKRAINE;
e-mail: denisova78@yahoo.com

The development of biotechnologies and their application in medical and veterinary practice are faced with the need for long-term storage of various cells,

tissues and organs. Inhibition of biochemical reactions at ultra-low temperatures allows cells to preserve structural and functional properties for a long time.

However, in the process of cryopreservation series of negative factors are involved, one of which is mechanical stress.

The aim of the work was to study the influence of physicochemical cryopreservation factors in the development of hemolytic damage to canine erythrocytes under mechanical stress. To achieve this goal were used methods of cryopreservation, spectrophotometry and centrifugation. Statistical processing of the results was performed using the software package Statgraphics plus 2.1.

We have previously shown that the most effective cryoprotectants for cryopreservation of canine erythrocytes are dimethyl sulfoxide (DMSO), polyethylene glycol-1500 (PEG-1500) and hydroxyethylated starch (HES). To improve the safety of cells after cryopreservation, mixtures of penetrating and non-penetrating cryoprotectants were investigated. The most effective combination was the use of DMSO (penetrating cryoprotectant) together with sucrose (non-penetrating cryoprotectant).

The study of the effect of cryoprotectants, which are balanced by ionic strength and pH at the level of physiological values, on the stability of dog erythrocytes under mechanical stress showed different protection of these substances. Stabilization of cells with sucrose at the mechanical stress was shown only at 5 % concentration. PEG-1500 increased the stability of erythrocytes in the concentration range (10–30 %), and DMSO and HEK showed a maximum efficiency at a concentration of 10 %.

Analysis of the mechanical stability of erythrocytes after freezing-thawing in the presence of a penetrating cryoprotectant showed that hemolytic damage of cryopreserved erythrocytes is higher in comparison with the corresponding indicators of cells incubated in solutions of cryoprotectants. Washing of DMSO with the addition of sucrose from cryopreserved erythrocytes brought the level of hemolytic cell damage under conditions of mechanical stress to the control values. Obviously, there are no serious violations of the properties of the membrane-cytoskeletal complex of erythrocytes cryopreserved in the presence of DMSO, which makes it possible to use such cells in veterinary practice. At the same time, red blood cells cryopreserved under PEG-1500 and HEK protection even after removing the cryoprotectant from the cell suspension showed a high level of hemolysis under mechanical stress, which differed significantly not only from control, but also from the level of hemolysis of cryopreserved erythrocytes washed from penetrating cryoprotectant.

Thus cryoprotectants have a significant effect on the stability of dog erythrocytes to mechanical stress. The mechanical properties of erythrocytes cryopreservation in the presence of DMSO indicate the absence of serious damage of the membrane-cytoskeleton complex. A decrease in the mechanical stability of erythrocytes cryopreservation under the protection of PEG-1500 and HES may indicate sublethal damage of the membranes.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЛЕЗІНКИ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

ДУНАЄВСЬКА О.Ф., ГОРАЛЬСЬКИЙ Л.П.

ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;
e-mail: Oksana_Fd@ukr.net

Фундаментальною і прикладною проблемою сучасної біології та імунорфології, з безпосереднім застосуванням у галузях гуманної та ветеринарної медицини, є дослідження закономірностей будови органів імуногенезу, у тому числі і селезінки, яка виконує в організмі численні важливі функції. Тому тільки всебічна та ґрунтовна оцінка закономірностей розвитку, будови з позиції анатомічної, морфологічної, імуногістохімічної характеристик селезінки на органному, тканинному і клітинному рівнях дозволить більш детально прогнозувати резервні можливості організму тварин та встановити їх імунний статус. У зв'язку з цим, проведення імуногістохімічних досліджень селезінки сільськогосподарських тварин є актуальним.

Мета дослідження – з'ясувати імунцитохімічні особливості селезінки сільськогосподарських тварин для розробки тест-системи органа в нормі.

Селезінку відбирали у статевозрілих тварин обох статей у співвідношенні 1:1 у фазі морфофункціональної зрілості органа: курки домашньої породи полтавська глиняста (19–20 тижнів), свині великої білої породи (вік 8–10 місяців) та кроля каліфорнійської породи (6–8 місяців) у сільськогосподарських господарствах Житомирської області. Кількість зразків для аналізу становила 26, 56 та 20 штук відповідно. Проводили фіксацію матеріалу та парафінування за методикою для світлової мікроскопії. Субпопуляції лімфоцитів виявляли за допомогою мишачих моноклональних антитіл (фірми DAKO) та системи візуалізації. Визначали їх розміщення, вміст (абсолютну і відносну кількість), кількісне співвідношення популяцій та імунорегуляторний індекс (IPI) як відношення кількості клітин CD4⁺ до клітин CD8⁺ в полі зору мікроскопа (окуляр 10, об'єктив 40). Вивчення препаратів про-

водили на мікроскопі Olympus AX70 (Японія) з цифровою відеокамерою Olympus DP50, з'єднаною з персональним комп'ютером.

Нами встановлено, що субпопуляції лімфоцитів з кластерами CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD20⁺ в пульпі селезінки курки, кроля і свині розміщувались поодинокі та дифузні, найчастіше утворювали ланцюги або скупчення. Кількість лімфоцитів CD4⁺ у пері артеріальних лімфоїдних піввах (ПАЛП) селезінки від загальної кількості популяції пульпи становила 75,4% у курки, 31,55% у кроля та 30,73% у свині. Решта лімфоцитів CD4⁺ розташовувалась у лімфоїдних вузликах (ЛВ) та червоній пульпі (ЧП). Встановлено, що найбільша частка лімфоцитів CD4⁺ у ЛВ від загальної кількості пульпи була у кроля (67,95%), найменша – у курки (20,87%), у свині цей показник дорівнював 66,97%. В білій пульпі (БП) селезінки ссавців вони розподілялись нерівномірно: найбільше було сконцентровано у ЛВ, серед складових ЛВ вагома частка розташовувалась у артеріальній зоні пера. Клітини CD8⁺ у ссавців локалізувались переважно в ЛВ, у курки в ПАЛП. Зокрема, у ПАЛП БП їх кількість становила

76,81 % у курки, решта (15,93 %) у ЛВ БП. У ЛВ кроля їх кількість нараховувала 74,5 %, у свині – 60,28 %, тоді як у ПАЛП ця кількість була значно меншою і складала 24,51 % та 38,1 % відповідно. У ЧП селезінки їх кількість не перевищувала 2,8 % у курки, 1,0 % у кроля та 1,62 % у свині. При цьому ІРІ пульпи селезінки дорівнював у 1,85, у курки, 1,82 у кроля та 1,71 у свині. Серед популяцій В-лімфоцитів переважали CD20⁺-лімфоцити порівняно з CD19⁺: в зонах ПАЛП селезінки у курки такі клітини займали 43,65 %. У кроля та свині CD20⁺-лімфоцити були розподілені майже однаково (13,2 та 13,0 % відповідно) та найбільше вони були сконцентровані в ЛВ ссавців – 86,08 % у кроля та 76,96 % у свині. Найбільша кількість лімфоцитів CD19⁺ знаходилась у ЛВ – 80,97 % у кроля, 77,93 % у свині, 75,19 % у курки. У ЧП селезінки кількість лімфоцитів CD 19⁺ та CD20⁺ була більшою за кількість лімфоцитів CD4⁺, CD8⁺ майже вдвічі.

Наші подальші дослідження плануємо зосередити на гістохімічному вивченні селезінки бика, вівці та коня.

ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРА РОСТУ НА ОСНОВІ ДИФОРМІЛ СЕЧОВИНИ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЗА ДІЇ ПІСЛЯСХОДОВИХ ГЕРБІЦИДІВ НА *ZEA MAYS*

ЖИР Є.А., ПРИЙМАК Ю.В., ЗІНЧЕНКО А.В., БУХОНСЬКА Я.К., СМІРНОВ О.Є.
ІНЦ “ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ”, КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: zhyr.elizaveta@gmail.com

Застосування гербіцидів є традиційним та ефективним підходом для боротьби з бур'янами у вирощуванні кукурудзи. Але гербіциди також пошкоджують сільськогосподарські культури та впливають на показники врожайності, особливо за несприятливих погодних умов, у невідповідні фази та з-за використання несумісних речовин у баковій суміші (Délye, Pernin, & Scarabel, 2011). Для запобігання пошкоджень використовують синтезовані регулятори росту рослин, зокрема антистресанти, які є запобіжними заходами у боротьбі з наслідками абіотичних стресів. Дослідження ефективності їх дії на рівень стресу у рослин, який спричинений гербіцидами є важливим для удосконалення технологій вирощування сільськогосподарських культур (Souza, Guedes, & Fontanetti, 2016).

Метою цієї роботи було визначення впливу диформіл сечовини та особливостей використання регулятора росту рослин на біохімічні показники при пошкодженнях післясходовими гербіцидами.

У експериментах використовували гібрид кукурудзи СИ Енігма ФАО 230, який є високоврожайним і стійким до стеблових гнилей. На фазі V3

(16-та добу) варіанти були оброблені сумішшю фоліарних гербіцидів Тітус та Пріма, що мають ацетолактатсинтазну інгібуючу активність. Обробку антистресантом на основі диформіл сечовини здійснювали на 16-ту, 18-ту та 20-ту доби (варіанти з обробкою антистресантом до внесення гербіциду, одночасно та після, відповідно). Рослинний матеріал фіксували на 41-ий день (фаза V8). Визначення загального вмісту фенолів та фотосинтетичних пігментів проводили спектрофотометрично, загальної кількості розчинних протеїнів за методом Бредфорд та кількість загальних цукрів визначали фенол-сульфатним методом. Статистичну обробку результатів експерименту проводили за допомогою програми “StatSoft Statistica 6.0” з використанням критерію Ст'юдента.

Виявлено, що післясходові гербіциди, що мають ацетолактатсинтазну інгібуючу дію, підвищують рівень цукрів та протеїнів (на 67,13 та 19,34 % відповідно у порівнянні з контролем). Також було визначено, що післясходові гербіциди пригнічують синтез каротиноїдів та фенольних сполук (на 18,63 та 27,56 % у порівнянні з контролем). Регулятор

росту на основі диформіл сечовини знижував кількість розчинних протеїнів на 32,5 %, на 5,95 вміст цукрів сполук та на 14,2 % інгібував синтез фенольних сполук у порівнянні з контролем.

Під час застосування антистресанту на основі диформіл сечовини за 2 дні до внесення гербіцидів (16-та доба) усі біохімічні показники були в межах похибки з контролем. Внесення сумісно та через 2

добы (18-та та 20-та доби) характеризувалось зниженням вмісту фенольних сполук (на 15,6 та 14,2 % відповідно) і підвищенням кількості розчинних протеїнів (на 19,1 та 16,8 % відповідно). Таким чином, ми вважаємо, що дія регулятора росту була більш ефективною при застосуванні його за 2 дні до внесення післясходових гербіцидів.

ВПЛИВ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ НА НАКОПИЧЕННЯ РОЗЧИННИХ ЦУКРІВ, ФРУКТОЗИ І ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У *TRITICUM*

КАВЕЦЬКИЙ В.С., ЗІНЧЕНКО А.В., ПАНЮТА О.О., СМІРНОВ О.Є.
ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: Vksos@gmail.com

Triticum одна з найбільш важливих сільськогосподарських культур в сучасному світі. Засуха, засоленість ґрунтів, високі температури є основними обмежуючим фактором для вирощування і продуктивності *Triticum*. Вони викликають осмотичний стрес. Сьогодні існує велика кількість сортів *Triticum*. Різні сорти цієї культури демонструють різний рівень толерантності до осмотичного стресу, а як результат і різну продуктивність за таких умов. Одним із показників продуктивності рослин є концентрації накопичених розчинних цукрів (у тому числі моносахаридів) і фенолів. Тому метою нашої роботи було виміряти концентрацію загальних розчинних цукрів, фруктози і фенолів за умов осмотичного стресу у 4-х сортів пшениці (Трипільська, Голіковська, Фаворитка, Подолянка) і порівняти їх. Для моделювання стресових умов пшеницю вирощували на середовищі з PEG (-0.3МПа) та NaCl(-0.3МПа). Пул загальних розчинних цукрів визначали за фенол-сульфатним методом, фруктозу – за методом Селіванова, феноли – методом Фолина. Статистичну обробку продили в GraphPad Prism 6.0.

Найбільші концентрації цукрів спостерігалися в рослин сорту Фаворитка, вирощених на середовищі з ПЕГ (234 мг) та у Трипільська (226 мг). Сорти рослин, вирощені на середовищі з NaCl, містили меншу концентрацію вільних цукрів у надземній частині рослини. Найменше значення (95 мг) спостерігалось в Голіковської, а найбільше (190 мг) у Фаворитки. В підземних частинах рослин сортів Подолянка і Голіковська було помічено наступне: контрольні рослини мали найвищі показники, а рослини вирощені на середовищі з ПЕГ – найнижчі. Окрім цього, найбільша концентрація фруктози була виявлена у рослин, вирощених при дії ПЕГ, меншу концентрацію фруктози було зафіксовано у рослин, вирощених на розчині солі. Найменші вміст фруктози був характерним для кон-

трольних варіантів. Така особливість спостерігалася у представників сортів Фаворитка, Подолянка і Трипільська. Найбільші показники концентрації фруктози у підземних частинах за дії ПЕГ спостерігався у представників сорту Фаворитка (19 мг сухої речовини). Усі інші сорти за дії цього фактора демонстрували приблизно рівні значення. Слід зазначити, що нижня частина контрольних рослин сорту Голіковська мала найвищу концентрацію фруктози – 22 мг. Найменше значення концентрації фруктози у контрольних рослин спостерігались у Фаворитки.

Також ми виміряли вміст фенольних сполук у пшениці. Фаворитка, вирощена на середовищі з ПЕГ мала найбільші концентрації фенолів як в коренях, так і в листках. Контрольні рослини характеризувалися найменшим значенням цих сполук. Вміст фенолів в коренях контрольних рослин був найбільшим серед представників сорту і становив 16 мг на г сухої речовини. Однак верхня частина контрольних рослин мала найменші показники концентрації серед рослин цього сорту. Найбільше накопичення фенолів у верхній частині спостерігалось в рослин, вирощених на середовищі з ПЕГ, а найменша концентрація у коренях – у рослин в сольовому розчині.

Отже, рослини усіх чотирьох сортів накопичували за осмотичного стресу велику кількість розчинних цукрів та фруктози. Найбільша різниця з контролем спостерігались за осмотичного стресу, змодельованого ПЕГом. Вміст фенольних сполук у досліджуваних сортів варіював залежно від природи осмотичного стресу та сорту. Це може свідчити про неоднаковість пристосування рослин досліджуваних сортів до стресових умов на рівні фенольного метаболізму. За осмотичного стресу вміст фенолів у надземній частині рослин зростав у сортів Фаворитка та Подолянка та зменшувався у Голіковської та Трипільської. Це може свідчити

про вплив солі та ПЕГу на протікання шикиматного шляху у асиміляційних тканинах пшениці. Вміст фенолів у коренях рослин Фаворитки та Голіков-

ської залишався на стаціонарному рівні (що може свідчити про нечутливість цієї захисної ланки) та зменшувався у Подолянки та Трипільської.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ГЕНЕРАЦІЇ СУПЕРОКСИДАНІОНРАДИКАЛА ТА АКТИВНОСТІ ЦИТОХРОМОКСИДАЗИ В ЗЕРНІВКАХ ПШЕНИЦІ РІЗНИХ ЗА РІВНЕМ СТІЙКОСТІ ДО ХВОРОБ СОРТІВ

КАЗНАЧЄЄВА М.С.¹, ВОРОНА С.О.²

¹ЦЕНТРАЛЬНОУКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ВИННИЧЕНКА, КРОПИВНИЦЬКИЙ, УКРАЇНА;

e-mail: kazna4eeva@gmail.com;

²КІРОВОГРАДСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ЕКСПЕРТНО-КРИМІНАЛІСТИЧНИЙ ЦЕНТР
МВС УКРАЇНИ, КРОПИВНИЦЬКИЙ, УКРАЇНА;

e-mail: biolog-1@ukr.net

Супероксиданіонрадикал (O_2^-) є активною формою кисню (АФО) та одним із основних компонентів прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС) рослин. $\bullet O_2^-$ ініціює та продовжує ланцюг вільнорадикального пероксидного окислення біополімерів, однак $\bullet O_2^-$ активує синтез АТФ мітохондрій, необхідний при трансляції, є компонентом сигнальних систем рослин, бере участь у забезпеченні захисної реакції надчутливості. Цитохромоксидаза є термінальним ферментом дихального ланцюга мітохондрій, вільнорадикальна пероксидна деструкція мембран у результаті посиленого утворення АФО хлоропластами, пероксисомами, цитозолем і клітинною стінкою рослин знижує активність ферменту, тому досить актуальним є кількісний біохімічний аналіз активності цитохромоксидази. Інформація про зв'язок стійкості сорту пшениці до хвороб із рівнем генерації $\bullet O_2^-$ та активності цитохромоксидази в літературі відсутня.

Мета цієї роботи – дослідити рівень та джерела генерації $\bullet O_2^-$, а також активність цитохромоксидази в зернівках пшениці різних за рівнем стійкості до хвороб сортів.

Для аналізу використовували тканини зернівок пшениці твердої високостійкого до хвороб сорту “Подолянка”, середньостійкого “Куяльник” та малостійкого сорту “Херсонська безоста”. Концентрацію $\bullet O_2^-$ (нмоль $\bullet O_2^-$ /г с) встановлювали спектрофотометричним НСТ-тестом: визначали загальну нестимульовану активність, стимуляцію Ca^{2+} -каналів здійснювали розчином NaF, стимуляцію оксидативної активності – розчином дріжджів. Активність цитохромоксидази визначали шляхом реакції з 0,1 % α -нафтолом, 0,1% N,N'-диметил-пара-феніллендіамін гідрохлоридом та 0,02 % розчином

цитохрому с. Екстрагували ефіралкогольною сумішшю, фотометричні вимірювання здійснювали при 540 нм.

Спектрофотометричний НСТ-тест виявив найвищий фоновий рівень генерації $\bullet O_2^-$ у зернівках сорту “Херсонська безоста”, що в 1,26 раза перевищує рівень $\bullet O_2^-$ сорту “Куяльник” ($P < 0,05$), та в 1,66 раза сорту “Подолянка” ($P < 0,05$). Відношення концентрації $\bullet O_2^-$ в тканинах пшениці сорту “Подолянка” та “Куяльник” достовірно складає 1,32 ($P < 0,05$). Стимуляція NaF зумовила зростання рівня генерації $\bullet O_2^-$ на 245,59 % для зернівок сорту “Подолянка” та 15,04 % для сорту “Херсонська безоста”, а стимуляція дріжджами – на 57,35 %, 88,89 % та 26,55 % відповідно до порядку сортів “Подолянка”, “Куяльник” та “Херсонська безоста”. Таким чином, встановлено наступне співвідношення показників рівня генерації $\bullet O_2^-$ в зернівках згаданих сортів пшениці: 0,76:1:1,26 ($P_{1,2,3} < 0,05$) для фонового рівня, 2,61:1:1,44 ($P_{1,2,3} < 0,05$) при стимуляції NaF та 0,63:1:0,18 ($P_{1,2,3} < 0,05$) при стимуляції дріжджами відповідно.

У результаті дослідження активності цитохромоксидази виявлена закономірність, згідно якої при переході від високостійкого до хвороб сорту “Подолянка” до середньостійкого “Куяльник”, активність ферменту знижується в 1,57 раза ($P < 0,05$), а при переході до малостійкого сорту “Херсонська безоста” – знижується в 1,61 раза ($P < 0,05$).

Зроблено висновок, що посилення рівня генерації $\bullet O_2^-$ призводить до захисного посилення активності цитохромоксидази. У той же час стійкість сорту пшениці твердої до хвороб прямопропорційно залежить від величин кількісних показників обох ланок про/антиоксидантного балансу.

ENZYMATIC REACTIONS ARE USEFUL METHODS FOR FOOD POLYSACCHARIDE BIOTRANSFORMATIONS

KAPRELYANTS L.V.

ODESSA NATIONAL ACADEMY OF FOOD TECHNOLOGIES, UKRAINE;

e-mail: leonid@onaft.edu.ua

In this presentation it has been shown that enzymatic reactions are useful methods for polysaccharide modifications. These modification reactions include ester formation, transesterification, amidation, oxidation, glycosylation, and polymer molecular weight reduction. A summary of major concepts and useful practical information is provided below:

1. Most of the polysaccharide modifications need not be carried out to very high dry substances (DS) to give the desired end-use properties; thus, enzymatic reactions do not necessarily have to entail high conversion yields to be useful. For example, hydrophobic modification of hydroxyethylcellulose (HEC) and guar only needs to be carried out to DS of 0.1 (or less) to produce a significant effect on physical properties, such as high viscosity and shear thinning behavior. Similarly, the DS for the amino acid or diamine substitution can be 0.2 (or less) to induce the formation of pectin gels.

2. If a desired polysaccharide modification is needed, a scouting study is usually first carried out to check for the feasibility with specific substrates and enzymes. In order to achieve best results, the modification reaction needs to be optimized with particular care paid to the choice of the enzyme and the solvent medium.

3. Most solvent media used are polar aprotic solvents, water, or mixed solvents. Preferably both the starting material and the final product are either soluble or swellable in the solvent media. Examples of often used solvents are N,N-dimethylformamide, N-methyl pyrrolidone, butyl methyl ether, or aqueous buffer. If an aqueous buffer is used, the pH needs to be optimized for the reaction. (Note that each enzyme usually has its own optimal operating pH range.) Sometimes it is possible to carry out the enzymatic

reaction without a solvent (e.g., HEC-caprolactone and pectin-glycerol); in such cases, the enzymes used for the reaction should be mostly dry but contain a trace amount of water for optimal results. A good way is to use a freeze dried enzyme for the modification reaction.

4. If a new enzymatic reaction is being attempted, it would be useful initially to use an artificially high level of an enzyme (as much as 10–20% of the weight of the polysaccharide) together with different stoichiometries of the reactants. If the reaction is shown to work, then the enzyme level can be scaled back later in an optimization process. The stoichiometry of the reactants can also be optimized.

5. The reaction temperature can be varied in the optimization process. Note that most enzymes undergo increasing degrees of denaturation at higher temperatures (approximately 70 °C or higher). This upper temperature limit can be raised for special enzymes from extremophiles or from directed evolution, up to 90 °C in some cases.

6. Some enzymatic reactions involve the co-generation of a small molecule as a byproduct (e.g., acetaldehyde, methanol, and water). For these reactions, often it is possible to increase the reaction rate or yield by pulling a vacuum or decreasing the pressure in the reaction vessel in order to remove the small molecule. In the case of water, an alternative is to use a dehydrating agent (e.g., molecular sieves) in the reaction mixture.

7. Some enzymes can be expensive. In order to decrease the cost, the enzyme can be immobilized on a solid support and reused. Some commercial enzymes are already available on a solid support. More enzyme-mediated reactions on polysaccharides can be expected in the future.

БІОСИНТЕТИЧНІ ТА РОСТОВІ ПРОЦЕСИ РІЗНИХ СОРТІВ *TRITICUM* ЗА ДІЇ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ НА РАННІХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ

КАРПЕЦЬ Л.-А.М., СМІРНОВ О.Є.

ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;

e-mail: karpets.leilaanastasia@gmail.com

За даними інституту світових природних ресурсів близько 37 країн в наш час стикаються з надзвичайно високим рівнем водного дефіциту, а тому

кількість придатних для використання посівних площ та світова врожайність найважливішої харчової культури – пшениці також знижується. Серед

небезпечних наслідків осмотичного стресу є пряма токсична дія іонів та обмеження поглинання поживних речовин, що впливає на морфо-функціональні та синтетичні параметри рослин. Тому, метою нашої роботи було визначення ростових та біосинтетичних процесів у підтримці гомеостазу різних сортів *Triticum* за дії осмотичного стресу різної етіології на ранніх етапах онтогенезу.

Матеріал досліджень: 2, 3 та 7-денні проростки пшениці м'якої (сорт: Фаворитка, Подолянка, Трипільська) та пшениці двозернянки (сорт Голіковська). Осмотичний стрес моделювали за допомогою пророщування рослин на розчинах осмолітиків для формування осмотичного потенціалу $-0,3$ МПа з використанням поліетиленгліколю (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 та хлориду натрію. Морфо-функціональні параметри вимірювали стандартним методом. Загальний вміст розчинного протеїну в рослинному екстракті визначали за методом Бредфорда. Спектрофотометричне визначення вмісту протеїну проводили при $\lambda=595$ нм.

За результатами досліджень довжина колеоптилів на 2 добу у сорту Голіковська знизилась у 8,5 разів відносно контролю за стресу дії NaCl і зростає у 5 разів на середовищі з ПЕГ, а у сорту Фаворитка у 2 рази. Довжина коренів знизилась у сорту Голіковська у 3 рази відносно контролю за стресу дії NaCl та у 2 рази у сорту Фаворитка за стресу дії ПЕГ. Також, було відмічено зростання довжини колеоптилів у сортів Голіковська та Фаворитка за дії ПЕГ стресу у 2,5 рази та 2 рази, відповідно. На 3 добу знижувалась довжина колеоптилів та коренів у сортів Голіковська та Фаворитка у 2,5

раза та 2 рази відповідно відносно контролю середовища за дії NaCl (Голіковська) та за дії ПЕГ (Фаворитка). Також, за дії NaCl зростала довжина колеоптилів у сортів Трипільська та Фаворитка. У всіх інших варіантах статистично значущої різниці не було встановлено.

Найвищий вміст загального розчинного протеїну спостерігали на 7 добу експерименту у контрольному варіанті – у зразках сорту Голіковська – 160,5 мг/г сухої речовини. Вміст протеїну у підземній частині зразків сорту Голіковська поступався зразкам сорту Подолянка (на 6,7 %). На середовищі з NaCl у зразках надземної частини сорту Трипільська виявлено найвищий вміст протеїну (на 16,9 % більше контролем відносно контрольного варіанту), а у зразках сорту Фаворитка – у підземній (на 103,8 % більше). На середовищі з ПЕГ зразки підземної та надземної частин сорту Голіковська протеїнів характеризувалися найвищим вмістом протеїну (на 23,9 % та 91,8 % більше відносно контрольного рівня).

У ході дослідження адаптивного потенціалу рослин пшениці м'якої та пшениці двозернянки на ранніх етапах розвитку зафіксовані сорто- і видоспецифічні особливості розвитку реакцій-відповідей на рівні ростових та біосинтетичних процесів при моделюванні зниження осмотичного потенціалу середовища вирощування за допомогою поліетиленгліколю та натрій хлориду. Створено лабораторну модель для порівняння впливу осмотичного стресу йонного та нейонного походження на рослини.

ФУНКЦІОНАЛЬНА ВЗАЄМОДІЯ НІТРАТ- І L-АРГІНІН-ЗАЛЕЖНОГО ШЛЯХІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ ІНДУКУВАННІ СТРЕС-ПРОТЕКТОРНИХ РЕАКЦІЙ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ

КАРПЕЦЬ Ю.В.¹, КОЛУПАЕВ Ю.Є.^{1,2}, ЛУГОВА Г.А.¹, ШВИДЕНКО М.В.¹

¹ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. В. ДОКУЧАЄВА, УКРАЇНА;
e-mail: plant_biology@ukr.net;

²ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА

Оксид азоту (NO) як один із сигнальних посередників відіграє важливу роль у регуляції багатьох фізіологічних процесів у рослин, зокрема, в їх адаптації до дії стресорів різної природи (Siddiqui et al., 2011; Oz et al., 2015). Уявлення про синтез NO у рослин залишаються предметом дискусії (Mur et al., 2013). Основна увага акцентується на двох шляхах: нітрат/нітри- і L-аргінінзалежному. Перший полягає у відновленні нітрату і нітриту до оксиду азоту за участю цитозольної нітратредуктази (НР) (Shi, Li, 2008). Другий шлях передбачає синтез NO в результаті окислення L-аргініну, що ідентично основним механізмам утворення оксиду азоту в клітинах тварин (Mur et al., 2013). Однак

дотепер гомологи NO-синтази тварин знайдені тільки у зелених водоростей (Roszer, 2014). Хоча є підстави вважати, що у вищих рослин можуть бути протеїни, здатні генерувати NO, використовуючи як субстрат L-аргінін. Можливе також перетворення L-аргініну на поліаміни і утворення NO при їх окисленні (Rosales et al., 2012).

При дослідженні NO-залежних фізіологічних процесів у рослин як донори NO найбільш часто використовують нітропрурид натрію, рідше S-нітрозоглутатіон (GSNO) і S-нітрозо-N-ацетилпеніциламін. Водночас слабо вивчена можливість індукції стійкості рослин до стресорів екзогенними нітратом і L-аргініном, які є субстратами для реак-

цій утворення NO. В окремих дослідженнях повідомляється про позитивний вплив екзогенного L-аргініну на стійкість рослин до абіотичних стресорів (Bagand et al., 2015). Дані про вплив нітрату на резистентність рослин до дії стрес-факторів малочисельні, суперечливі і не дозволяють однозначно пов'язувати його фізіологічні ефекти з функціонуванням NO як сигнальної молекули (Boogar et al., 2014). Неясно також, чи взаємодіють між собою два основні шляхи синтезу NO і як ця взаємодія відбивається на формуванні NO-індукованої стресостійкості.

Зважаючи на це, метою роботи було дослідження роздільного і комбінованого впливу нітрату (NaNO_3) і L-аргініну як можливих джерел NO на його вміст в коренях проростків пшениці (*Triticum aestivum* L.) та їх теплостійкість. Максимальне підвищення стійкості проростків до ушкоджувального прогріву спостерігали при обробці NaNO_3 в концентрації 20 мМ і L-аргініном в концентрації 5 мМ. Під впливом L-аргініну відбувалося підвищення вмісту NO в коренях протягом двох перших годин

після початку обробки, вплив нітрату спричиняв більш істотне і тривале зростання кількості оксиду азоту. Під впливом нітрату значно (в 2–3 рази) підвищувалася активність HP в коренях. Спричинюване нітратом і L-аргініном збільшення вмісту NO в коренях усувалося їх попередньою обробкою інгібітором HP вольфраматом натрію та інгібітором NO-синтази тварин L-NAME (від N^G -nitro-L-arginine methyl ester), відповідно. При обробці коренів комбінацією NaNO_3 і L-аргініну частково нівелювалися індуковані нітратом ефекти збільшення активності HP, вмісту NO і підвищення теплостійкості проростків. У присутності L-NAME негативний вплив L-аргініну на прояв ефектів нітрату помітно пом'якшувався. Під впливом нітрату і L-аргініну підвищувалася активність антиоксидантних ензимів (супероксиддисмутази, каталази і гваяколпероксидази). При комбінованій обробці NaNO_3 і L-аргініном ці ефекти виявлялися слабше. Таким чином, отримані дані свідчать про можливий антагонізм NO_3^- -залежного і L-аргінінзалежного шляхів утворення NO у рослин.

ВПЛИВ ЦИТРАТІВ БІОЕЛЕМЕНТІВ НА ЛІПІДНИЙ СКЛАД ЖОВТКІВ ЯЄЦЬ ПЕРЕПЕЛІВ

КИСЦІВ В.О., ГУНЧАК А.В., РАТИЧ І.Б., СТЕФАНИШИН О.М., СІРКО Я.М.
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;
e-mail: kystsiv@ukr.net

Застосування мінерально-вітамінних добавок та преміксів у птахівництві не завжди приносить бажаний метаболічний і продуктивний ефект. Неорганічні форми мікроелементів, що найчастіше використовуються в складі стандартних мінеральних преміксів, мають ряд недоліків. Вони вступають у хімічні реакції з органічними речовинами корму, порушуючи при цьому їхню структуру і біологічну дію, мають здатність до окислення та утворення важкодоступних і навіть токсичних сполук. Цінними, в цьому плані, є цитратовані сполуки мікроелементів, які мають кращу засвоюваність, біодоступність та ефективність біологічної і продуктивної дії на організм птиці.

Метою роботи було вивчити вплив мінерального комплексу із цитратів біоелементів нанотехнологічного походження на ліпідний склад перепелиних яєць для подальшого розроблення фізіологічного і нормативно-технологічного обґрунтування їх застосування у живленні перепелів.

Для реалізації поставлених завдань в умовах віварію Інституту біології тварин НААН проведено дослід на п'яти групах (по 16 голів у кожній) перепелів, починаючи з 14-добового віку. Утримання і годівля птиці відповідали технологічним вимогам.

Птиця контрольної групи, відповідно до норм годівлі, одержувала повнораціонні комбікорми з мінеральним преміксом, який містив (г/т комбікорму): Mn – 50; Zn – 50; Cu – 2,5; Fe – 10; Co – 1; J – 0,7 – у формі неорганічних солей. При цьому птиця I, II, III і IV дослідних груп, замість мінерального преміксу отримувала комплекс цитратів цих же біоелементів, в перерахунку на мікроелементи, відповідно 50 %, 25 %, 10 % та 5 %, від контрольної групи. Дослід тривав чотири місяці.

У результаті проведеного нами дослідження встановлено, що найвищою була продуктивність перепілок третьої та четвертої дослідних груп, у яких несучість птиці була вищою, ніж у контролі на 6,11 та 4,18 %, відповідно. Тому, для біохімічних досліджень відбирали жовтки яєць перепілок дослідних груп із вищою несучістю, тобто третьої і четвертої, яким до раціону вводили мінеральну добавку у формі аквацитрату з умістом мікроелементів, що становить 10 та 5 % від їх вмісту в неорганічному преміксі (контрольна група). У зразках визначали вміст загальних ліпідів гравіметричним методом, екстракцію проводили за Фолчем, співвідношення окремих класів ліпідів визначали методом тонкошарової хроматографії. Результати проведених

досліджень аналізували статистично, шляхом обчислення середніх величин та вірогідності отриманих даних.

За результатами визначення вмісту загальних ліпідів і ліпідних фракцій у жовтках яєць встановлено збільшення вмісту загальних ліпідів ($P < 0,01$) та зниження концентрації вільного холестеролу ($P < 0,05-0,001$), також виявлено зниження вільних жирних кислот (відповідно на 2,0 %; $P < 0,05$ і 1,0 %; $P < 0,05$), порівняно до їх вмісту в жовтку яєць перепілок контрольної групи. Крім цього, у жовтку яєць перепілок дослідних груп спостерігались деякі відмінності співвідношення інших класів ліпідів. Зокрема, у жовтках яєць перепілок третьої дослідної групи зросла кількість триацилгліцеролів на

3,6 % ($P < 0,001$), а четвертої дослідної групи – етерифікованого холестеролу на 1,5 %, ($P < 0,05$), у порівнянні з показниками контрольної групи.

Отже, отримані результати можуть бути використані для обґрунтування рекомендацій щодо включення комплексу цитратів мікроелементів нанотехнологічного походження до складу стандартних преміксів для перепілок. Зменшення кількості біоелементів в раціонах птиці, за умови забезпечення відповідного її біокомфорту, впливатиме на здешевлення продукції та матиме позитивну екологічну складову, оскільки, за кращої їх засвоюваності в зовнішнє середовище буде викидатися менша частка незасвоєних хімічних сполук.

УЧАСТЬ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ІНДУКУВАННІ ТЕПЛОСТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ ПОЛІАМІНАМИ

КОЛУПАЕВ Ю.Є.^{1,2}, КОКОРЕВ О.І.¹, ЯСТРЕБ Т.О.¹, ГОРЕЛОВА О.І.¹

¹ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. В. ДОКУЧАЄВА, УКРАЇНА;
e-mail: plant_biology@ukr.net;

²ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. Н. КАРАЗІНА, УКРАЇНА

Поліаміни належать до числа сполук, що виконують у рослин множинні функції (Saha et al., 2015). Відома здатність екзогенних поліамінів спричиняти підвищення стійкості рослин до абіотичних стресорів різної природи. Донедавна вважалося, що їх стреспротекторні ефекти пов'язані в першу чергу з прямою захисною дією на біомакромолекули (Pal et al., 2015). Водночас вважають, що однією з причин їх стреспротекторних ефектів є вплив на редокс-гомеостаз (Peunevandi et al., 2018). У рослин, оброблених поліамінами, відзначається зменшення окислювальних пошкоджень і підвищення активності антиоксидантних ензимів (Mostofa et al., 2013). Припускають, що захисні ефекти поліамінів можуть бути пов'язані не лише зі стабілізацією протеїнів і мембранних комплексів, а й з появою під їх впливом клітинних посередників, зокрема, активних форм кисню (АФК) (Pal et al., 2015). Однак причинно-наслідковий зв'язок між активацією поліамінами окремих ензимних систем, що генерують АФК, і розвитком стійкості рослин до стресорів, зокрема, до гіпертермії, залишається майже не дослідженим.

Вивчали можливу участь Гідроген пероксиду як посередника при дії екзогенних діаміну путресцину і тетрааміну сперміну на стійкість етіюльованих проростків пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Досконала до потенційно летального теплового стресу (10-хвилинного прогрівання у водяному термостаті при 46 °С) та стан про-/антиоксидантної рівноваги.

Встановлено, що обробка проростків путресцином і сперміном в концентраціях діапазону 0.25–2.5 мМ викликала істотне підвищення їх теплостійкості. У варіантах із обробкою поліамінами у коренях і пагонах відзначалися вищі величини активності супероксидисмутази, каталази і гваяколлапероксидази як у звичайних умовах, так і в стресових. Після впливу теплового стресу вміст продукту пероксидного окислення ліпідів малонового діальдегіду у проростках, оброблених поліамінами, був нижчим порівняно з контрольними.

Обробка проростків скавенджером пероксиду водню диметилтіосечовиною (ДМТС) та інгібітором NADPH-оксидази імідазолом усувала позитивний вплив путресцину і сперміну на теплостійкість проростків. Спричинюване дією путресцину транзиторне підвищення вмісту Гідроген пероксиду в клітинах коренів проростків частково нівелювалося як під впливом інгібітора NADPH-оксидази імідазолу, так і під дією інгібітора діаміноксидази аміногуанідину. Вказані інгібітори також усували позитивний вплив путресцину на активність антиоксидантних ензимів. Ці ефекти вказують на участь АФК як сигнальних посередників у реалізації стрес-протекторної дії поліамінів та на можливість утворення Гідроген пероксиду як за рахунок деградації поліамінів під впливом аміноксидаз, так і на здатність поліамінів спричиняти активацію NADPH-оксидази.

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНАХ І ЕПІДИДИМАЛЬНИХ СПЕРМІЯХ БУГАЇВ

КУЗЬМІНА Н.В., ОСТАПІВ Д.Д.

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;

e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua

Генерація активних форм кисню (O_2^- , OH^- , H_2O_2 ; АФО) є необхідною умовою для дозрівання, існування та здатності спермій запліднювати ооцит. Зокрема встановлено, що в дихальному ланцюзі мітохондрій статевих клітин за одноелектронного відновлення молекулярного кисню утворюється супероксиданіон радикал, який за участі супероксиддисмутази перетворюється в гідроген пероксид. Доведено, що H_2O_2 разом з іншими чинниками, бере участь в збільшенні концентрації внутрішньоклітинного цАМР, необхідного для запуску каскаду реакцій фосфорилування тирозину і капітації спермій. Проте, надмірно висока інтенсивність утворення АФО призводить до uszkodження мембран, втрати рухливості та загибелі статевих клітин. Вміст АФО на оптимальному рівні підтримується антиоксидантною системою, ключову роль в якій відіграють супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза (ГПО) та каталаза (КАТ).

Мета роботи – дослідити активність ензимів антиоксидантного захисту у тканинах репродуктивної системи і епідидимальних сперміях бугаїв.

Для дослідження використані бугаї української чорно-рябої молочної породи ($n=5$; віком 14–16 місяців). Тварин забивали на м'ясопереробному підприємстві. Після забою відбирали сім'яники і придатки сім'яників, з яких вимивали спермії 0,9 % розчином натрію хлориду. Тканини сім'яників і придатків гомогенізували в гомогенізаторі Поттера за температури 4 °С в 0,25 М розчині сахарози (рН 7,4; 1 г тканини на 2 мл розчину сахарози) за 6000 об/хв протягом 1 хв. Гомогенат центрифугували 15 хв за 8000 об/хв (температура 4 °С). В супернатанті визначали активність ензимів антиоксидантного захисту: СОД – за кількістю нітроформазану, що утворюється в реакції між феназинметасульфатом та НАДН, КАТ – методом Коро-

люк М.А. та ін., ГПО – з використанням реактиву Елмана. Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за М.О. Плохінським.

Встановлено, що активність СОД тканин сім'яників та голівки його придатку в межах 18,9–20,2 МО/мг протеїну, на 39,2–43,1 % ($P<0,001$) нижча у тілі придатків і ще на 43,4–47,1 % ($P<0,001$) менша у хвості. Спермії з різних частин придатку сім'яників також відрізняються за активністю СОД. Найвища активність ензиму виявлена у сперміях з голівки придатків (16,2±0,05 МО/мг протеїну), нижча на 6,8 % з тіла і найнижча (8,9±0,03 МО/мг протеїну) з хвоста. Різниця між максимальною і мінімальною величинами значень становить 45,1 % ($P<0,001$). Активність ГПО у тканині сім'яників – 0,83±0,03 мкмоль/хв×мг протеїну, вища у 2,8 раза ($P<0,001$) у тканині голівки і знаходиться на тому ж рівні (2,44±0,10 мкмоль/хв×мг протеїну) у тілі придатка. У тканині хвоста придатка активність ензиму нижча на 29,7–32,8 % ($P<0,05$ – 0,001), порівняно з голівкою і тілом. Активність ГПО спермій з голівки придатка висока (1,00±0,14 мкмоль/хв×мг протеїну), нижча на 43,0 % ($P<0,05$) з тіла і на 69,0 % ($P<0,001$) з хвоста. Активність КАТ максимальна (1,54±0,40 мкмоль/хв×мг протеїну) у тканині сім'яників і нижча на 53,8–50,7 % у придатку. Подібні зміни активності цього ензиму виявлені у сперміях придатків: висока (0,64±0,06 мкмоль/хв×мг протеїну) з голівки і на 31,3–34,6 % нижча з хвоста і тіла.

Таким чином, у бугаїв перехід від тканин сім'яників до голівки придатку характеризується підвищенням активності СОД та ГПО і зниженням КАТ; у придатку сім'яників: голівка → тіло → хвіст – поступово знижується активність ензимів антиоксидантного захисту. У сперміях придатку сім'яників: голівки → тіла → хвоста – активність СОД і ГПО знижуються, КАТ – низька з тіла і хвоста.

ACCUMULATION OF EDCs IN PROCAMBARUS VIRGINALIS MUSCLES AS POTENTIAL RISK FOR AQUACULTURE CONSUMERS' HEALTH

LYKHOLAT T.Yu.¹, MARENKOV O.N.¹, LYKHOLAT O.A.²

¹ OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

² UNIVERSITY OF CUSTOMS AND FINANCE, DNIPRO, UKRAINE;

e-mail: abcdef@gmail.com

Endocrine disrupting compounds (EDCs) are responsible for alterations in the endocrine system functions and have been widely reported as potential

carcinogenic threats to the human population. EDC contamination in food is a global concern. The sources of estrogenic EDCs include natural estrogens

produced by plants (phytoestrogens), fungi (mycoestrogens) and cyanobacteria, synthetic therapeutic agents (eg raloxifene), personal hygiene products, and numerous synthetic compounds, mainly used in industry and agriculture (for example, polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides, plasticizer phthalates or dioxins, antimicrobial agents (zearalenone)). Chemical substances with potential to disrupt endocrine systems have been detected in aquatic environments worldwide. The present work aimed to determine estradiol concentration in different age aquatic organisms of *Procambarus virginalis* from river Dnipro in Dnipro city.

Estradiol concentration was determined by ELISA method.

In month age (young) crustacean muscles average estradiol level was 4634 ng/g fresh weight, five-month (mature) ones – 4854 ng/g, one-year (older) ones – 4877 ng/g fresh weight. These results highlight the ubiquitous bioaccumulation of estrogens in aquatic invertebrates, depending on the exposure duration.

The distributions of estradiol in muscles of *Procambarus virginalis* could reflect the exposure of EDCs

directly and effectively. These EDCs levels might represent an unacceptable hazard for other aquatic organisms. Xenoestrogens can act on several mechanisms simultaneously. Estrogen xenobiotics also perturb aquatic organisms physiology, biochemical processes as triggers of oxidative stress, can affect reproductive their development, cause transcriptional effects, that they are quite powerful initiators of signal cascades out of membranes. Estradiol transfer from *Procambarus virginalis* digestive system to the ones muscles can rule a potential risk to aquaculture, wild animals and human health related to the consumption of aquatic organism meat. Finally, they contribute to the general environmental estrogen pool.

Clearly estrogens are essential for normal human physiology but can have serious adverse effects if allowed to accumulate in the environment. Concern has been expressed regarding the entry of estrogens into the human food chain which in turn relates to how aquatic organisms consumed as food, take up and metabolism estrogens. If consumed at levels above the safe thresholds, they can increase the risk of cancer and induce cardiovascular diseases in humans.

ВМІСТ ЛІПІДІВ В М'ЯЗАХ КОРОПА ТА ЩУКИ ІЗ МАЛИХ РІЧОК ТЕРНОПІЛЬЩИНИ

ЛЯВРІН Б.З., ХОМЕНЧУК В.О., ПЕНДРАК О.А., КУРАНТ В.З.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА, УКРАЇНА;
e-mail: bohdan.lyavrin@gmail.com

Малі річки містять у собі основну масу запасів прісних вод України і є невід'ємною частиною природних ландшафтів. Зниження рибопродуктивності цих річок, а також зменшення об'ємів виловів та погіршення їх якісного складу, яке спостерігається в останні роки, зумовило необхідність більш детального вивчення та аналізу стану основних видів риб цих річок. Ліпіди відіграють важливу роль в процесах життєдіяльності риб. Було показано видів, вікові та органно-тканинні особливості вмісту ліпідів, а також вплив на їх склад та кількість чинників оточуючого водного середовища.

У експерименті використовували коропа (*Syrpinus carpio* L.) та щук (*Esox lucius* L.) дворічного віку, масою 290–330 та 200–350 г, з річок Серет, Стрипа та Золота Липа в осінній період. Риб виловлювали безпосередньо перед експериментом, транспортували в лабораторію, де відразу відбирали тканини м'язів. Їх подрібнювали на холоді та екстрагували ліпіди за методом Фолча. Кількість загальних ліпідів у тканині визначали ваговим методом. Розділення ліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одномірної тонкошарової

хроматографії. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти. Було ідентифіковано такі фракції: лізофосфатидилхолін (ЛФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилетаноламін (ФЕА), фосфатидилхолін (ФХ), фосфатидилінозитол (ФІ) та сфінгомієлін (СМ). Кількість фосфоліпідів визначали за Васьковським. Результати досліджень були статистично опрацьовані з використанням t-критерію Стьюдента для визначення достовірної різниці.

Аналіз отриманих результатів показав, що вміст загальних ліпідів у м'язах коропа з річок Серет, Стрипа та Золота Липа становив 25,4, 24,6 та 11,3 мг/г вологої тканини. Частки фосфоліпідів при цьому становили 38,4, 36,4 та 32,4 % для кожної групи риб відповідно. Відсотковий вміст ФХ та ФЕА у м'язах коропа були найбільшими і становили близько 45–47 та 36–39 % від загального вмісту фосфоліпідів, проте достовірної різниці між групами риб із досліджуваних річок встановлено не було. Найменшу кількість ЛФХ, ФІ та ФС було виявлено у м'язах риб із р. Золота липа – 1,7, 2,3 та 2,5 %, а найбільший вміст даних фракцій був у м'язовій

тканині риб виловлених з р. Серет – 3,6, 6,5 та 3,3 % відповідно. Разом із тим слід відзначити, що частка СФМ була найбільшою у м'язах коропа з р. Золота Липа (7,5 %), а найменшою – тканині з р. Серет (5,6 %).

У м'язах щуки із річок Серет, Стрипа та Золота Липа вміст загальних ліпідів був нижчим як в коропа та становив 18,2, 19,5 та 6,2 мг/г відповідно. При цьому на фосфоліпіди припадало 35,4, 32,0 та 35,7 %. Частка ФХ була найменшою у риб з р. Золота Липа (50,0 %), а найвищою у щук з р. Стрипа (57,5 % від загальної кількості). Разом із тим мінімальна кількість ЛФХ відмічена у тканинах риб з р. Серет, а максимальна – у м'язах щуки з р. Серет. Найвищим відсотковий вміст ФЕА був у м'язах риб, виловлених з р. Золота Липа (23,0%), а найнижчим у м'язовій тканині щуки з р. Стрипа. Частки ФІ і СФМ

у м'язовій тканині риб усіх груп значимо не відрізнялися і були у межах 3,8–4,4 % та 7,0–8,4 % відповідно. Як і в коропа мінімальне значення кількості ФС було відмічено для м'язів риб із р. Золота Липа (6,4 % проти 8,4 % для риб двох інших груп).

Отже, за результатами проведених досліджень спостерігається видова специфіка вмісту ліпідів та їх фракцій в тканинах м'язів риб, яка залежить від умов середовища існування, наявної кормової бази та рухової активності досліджених видів риб. Колівання у складі структурних ліпідів відіграють важливу роль в процесах адаптації клітинних мембран до дії різних чинників. Показники фракційного складу ліпідів м'язів риб також можуть бути використані для оцінки ступеня забруднення водного середовища та якості рибної продукції.

СТАН ПРО/АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ПЕЧІНЦІ, СКЕЛЕТНИХ ТА СЕРЦЕВОМУ М'ЯЗАХ ЩУРІВ ПРИ ЖИРОВОМУ НАВАНТАЖЕННІ

МАЙКОВА Г.В., СЬОМІК Л.І., ПАВЛІЧЕНКО О.Д., МАКАРЕНКО О.А.
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА, УКРАЇНА;
e-mail: a.maikova@onu.edu.ua

У харчуванні сучасної людини використовується широке розмаїття жирів і олій. Ці олії мають різний жирнокислотний склад: в соняшниковій олії превалює лінолева кислота, а в вершковому маслі – пальмітинова кислота. Жирнокислотний склад і кількість жирів в раціоні може впливати на метаболізм ліпідів і процеси окислення, які активно протікають в печінці, нирках, м'язах, жировій тканині. Але під час окислення можуть утворюватися вільні радикали та змінюватися інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ).

Метою роботи було визначення показників окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в печінці, скелетних та серцевому м'язах щурів за умов тривалого вживання надлишку різних харчових жирів.

Експеримент був проведений на 30 білих лабораторних щурах (самці, 5-7 місяців), яких розподілили на 5 груп: 1 – контрольна (інтактна), отримувала стандартний раціон віварію (комбікорм); 2 – комбікорм + соняшникова олія; 3 – комбікорм + високоолеїнова олія "Оливка"; 4 – комбікорм + вершкове масло, 5 – комбікорм + пальмова олія. Жири складали 15 % від загального раціону. Корм давали ad libitum. Тривалість експерименту склала 60 днів. У гомогенатах печінки, скелетних та серцевому м'язах щурів визначали рівень МДА та активність каталази. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні.

Проведені дослідження встановили, що в скелетних м'язах щурів, яких годували соняшниковою, пальмовою олією та вершковим маслом, вміст МДА збільшився на 57, 50 та 27 % ($P < 0,05$) відповідно. В серцевому м'язі цей показник був підвищеним на 67 і 20 % ($P < 0,05$) у щурів, які споживали надлишок вершкової та пальмової олій відповідно. При вивченні вмісту МДА в печінці щурів відзначалося його підвищення у всіх груп щурів, крім тварин, що вживали високоолеїнову олію "Оливку": після соняшникової олії – на 62 %, вершкового масла – на 127 %, пальмової олії – на 188 % ($P < 0,05$).

В печінці, скелетному та серцевому м'язах щурів при годуванні різними жирами активність каталази майже не змінювалась ($P > 0,05$). Але було відмічено зниження активності каталази в печінці на 19,1 та 23,4 % ($P < 0,05$) при годуванні тварин вершковим маслом та пальмітиновою олією відповідно.

Результати дослідження встановили, що більш інтенсивно процеси ПОЛ протікають в печінці, менш інтенсивно – в скелетних та серцевому м'язах тварин при споживанні ліпідів, в складі яких превалюють лінолева та пальмітинова кислоти й не спостерігаються при споживанні високоолеїнових олій. Таким чином, надлишок пальмітинової та лінолевої кислот в харчовому раціоні може призводити до інтенсифікації ПОЛ і розвитку патологічних процесів.

THE CHANGES OF GLIAL FIBRILLARY ACIDIC PROTEIN LEVEL IN MARBLED CRAYFISH *PROCAMBARUS VIRGINALIS* GANGLIA UNDER THE VARIOUS TEMPERATURE REGIMES

MARENKOV O.M., KOVALCHUK Y.P., SHAPOVALENKO Z.V.
OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, DNIPRO, UKRAINE;
e-mail: gidrobions@gmail.com

Biological invasions are a significant threat to native biodiversity worldwide, with important ecological and economic impacts. Adaptation on biochemical and cellular levels underlies the preconditions for survival of the population of invasive species. Thus, studying of adaptation possibilities of new hydrobionts species outside of their native range is of special interest. Due to the introduction of dangerous invasive marbled crayfish *Procambarus virginalis* (Lyko, 2017) in aquatic ecosystems of Ukraine, it is required to investigate its adaptative potential to the new ecological conditions in order to predict its further acclimatization and invasion. Until recently, molecular basis of adaptation of nervous system of crustaceans to various ecological factors remains unexplored. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is known to be the principal histospecific component of intermediate filaments of astroglial cytoskeleton, presenting in two forms, water-soluble and insoluble (filamentous). GFAP is an evolutionary highly conservative protein, which is widely expressed in different species and involved in molecular mechanisms of neuron-glia interactions. GFAP is used as a valuable index of neurotoxicity in mammal's brain, however its marker role in invertebrates is still poorly investigated. In this study, we tested for the first time effects of high and low temperatures on the levels of GFAP expression in marbled crayfish ganglia as a plausible mechanism of nervous system response on the stress external factors.

In the experimental model, 24 marbled crayfishes (age – 1 months, weight – 512±8.24 mg) were divided into four groups (n=6 in each group): 1 – control (+20 °C); 2 – cool water (+9 °C); 3 – hot water (+26 °C); 4 – warm water (+ 23 °C). The specimens were kept in mentioned temperature regimes for 21 days. Isolation of protein fractions from ganglion tissues was performed by differentiating centrifugation of tissue homogenate in 25 mM tris-HCl (pH 7.4), containing 2 mM dithiothreitol and protease inhibitors, followed

by extraction of insoluble cytoskeletal proteins in the same buffer supplemented with 4 M urea. The ratio tissue : buffer was 1:10. Total protein was measured by Bredford method. Proteins of water-soluble and cytoskeletal fractions were separated by gradient SDS-PAGE (7-18%) electrophoresis and transferred onto nitrocellulose filters by electroblot. GFAP levels were evaluated by immunoblotting and the relative GFAP band immunostaining was quantified and analyzed by Image2000 software (Bio-Techne Corp.). One-way ANOVA was performed to verify statistical significance of the obtained results. The *P* value less than 0.05 was considered statistically significant.

There were no significant differences in total protein content in both fractions among all studied groups of *P. virginalis* (*P*>0.05). Unlike mammal's brain, no soluble GFAP form was detected in crayfish ganglion tissue. Unexpectedly, in control group samples, filamentous GFAP intact polypeptide 49 kDa was presented only in trace amount. However, temperature impact caused dramatic elevation of GFAP expression in *P. virginalis* ganglia. Among studied groups, the most pronounced increase in GFAP level (*P*<0.01) was observed for the group 2. It could be assumed that low temperature regime induced glial response, known as reactive astrogliosis. Along with up-regulation of GFAP intact subunit, abundance of truncated GFAP polypeptides (~35 kDa) was detected in the samples of cold-treated specimens. Significant but not so marked changes in GFAP content were induced by warm and hot regimes as well. Obtained results indicate that GFAP synthesis may occur in the inducible manner, reflecting phenotype changes of ganglion astrocytes. Drastic astroglial response to the suboptimal temperatures can be considered as a cellular reaction of *P. virginalis* nervous tissue on environmental stress factors and could potentially lead to local adaptation of the invasive species.

АЦИДОЗ ПРИРОДИ: ПРОБЛЕМИ ВИНИКНЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ ЛЮДСТВА

МЕЛЬНИЧУК С.Д.
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА

У доповіді представлені результати досліджень, які стосуються перспектив розвитку гло-

бального катаклізму Планети – “ацидоз Природи” – в результаті всенаростаючого процесу накопи-

чення кількостей мінеральних кислот (та їх ангідридів) у водах, ґрунтах і в атмосфері. Утворюються ці кислоти перш за все при окисленні сірки (під час спалювання вугілля і нафтопродуктів) до ангідридів сірчаної і сірчистої кислот. Подібне має місце при окисленні азоту повітря (при температурі вище 400 °С він реагує з киснем) і утворює ангідриди азотної і азотистої кислот. Значна частина сірки і азоту повітря при цьому трансформується у вказані ангідриди і кислоти мікроорганізмами. Всі ці ангідриди, вступаючи в реакцію з водою, утворюють вказані кислоти (5–6 млрд. тон щорічно) і нейтралізуються перш за все – карбонатними сполуками. При цьому утворюється абіогенний вуглекислий газ, що вносить чималу долю у нинішнє зростання концентрації CO₂ в атмосфері (з відомими наслідками впливу на клімат) і нейтральні солі. Біля півмільйона тон сірчаної, соляної, фосфорної і азотної кислот щорічно виробляє хімічна промисловість. Певна частина цих кислот утворюється при окисленні сірководню у верхніх шарах вод чорноморського басейну, в болотах при їх розморожуванні та в процесі обеззараження промислових, побутових і тваринницьких стоків, при пожежах

та вулканічній активності тощо. Доповнюють цей вплив і органічні кислоти, які утворюються в процесах гниття біомаси тощо.

Різкий обвал величин рН материкових чи океанських вод є дуже небезпечним для життя на Планеті, перш за все водної фауни. При зниженні рН води до 5 і нижче, практично вся флора і фауна в ній гине. При цьому вже при подоланні межі рН нижче 7,0 – важкі метали, в т.ч. і радіонукліди, із нерозчинних форм переходять у розчинні і рухливі форми. Потрапивши у трофічні ланцюги вони контамінують все оточуюче середовище. За вказаних умов гальмуються процеси фотосинтезу і нарощування біомаси рослинами і водоростями. Значні ускладнення при ацидозах у людей і тварин мають місце при таких хворобах як: діабет, подагра, остеомалія тощо.

Отже наведені факти свідчать про те, що альтернативні відновлювальні способи отримання енергії та зважені біоекономічні підходи є єдиним варіантом спасіння Природи і людства від загроз наростаючого глобального Ацидозу, оскільки буферні властивості Природи не є безкінечними.

ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНОГО СКЛАДУ НАСІННЯ СОЇ ЗА ВПЛИВУ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

МОЛОДЧЕНКОВА О.О.¹, ДАЩЕНКО А.В.³, ДУНІЧ А.А.², БЕЗКРОВНА Л.Я.¹,
КАРТУЗОВА Т.В.¹, ЛИХОТА О.Б.¹, РИЩАКОВА О.В.¹, ФАНІН Я.С.¹, МІЩЕНКО Л.Т.²
¹СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ІНСТИТУТ-НАЦІОНАЛЬНИЙ ЦЕНТР НАСІННЄЗНАВСТВА
ТА СОРТОВИВЧЕННЯ, ОДЕСА, УКРАЇНА;
e-mail: olgamolod@ukr.net;

²КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: lmishenko@ukr.net;

³НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: dannaval@ukr.net

На світовому ринку соя (*Glycine max* L.) вважається стратегічною культурою XXI століття. У неї рідкісне для рослин поєднання білковості й олійності з цінними вітамінами, зольними й біологічно активними сполуками. Передові країни Європи, Азії та Америки, використовуючи нові технології виділення й очищення протеїнів, біологічно активних сполук виготовляють з сої різноманітні продукти харчування. Відомо, що соя схильна до ураження багатьма вірусами, такими як вірус мозаїки сої (*Soybean mosaic virus*, ВМС), вірус мозаїки люцерни (*Alfalfa mosaic virus*, ВМЛ), вірус жовтої мозаїки квасолі (*Bean yellow mosaic virus*, ВЖМК) та ін. Найбільш шкодочинним для сої є ВМС. Інфікування рослин сої ВМС призводить до значних втрат врожаю – від 8 % до 50 % у природних умовах та навіть до 100 % – у випадках епіфітотії. ВМС-ін-

фекція може викликати зміни у біохімічному складі насіння, знижувати життєздатність сходів. Метою наших досліджень було вивчення впливу вірусної інфекції на біохімічні показники, що характеризують якість насіння сої, у сортів української та закордонної селекції. Дослідження проведені на 8 сортах сої української та закордонної селекції, створених класичними методами селекції та 2 сортах трансгенної сої Грімо та Монро. При виконанні досліджень використовували біометричні вимірювання, твердо фазний імуноензимний аналіз, метод зворотної транскрипції з використанням полімеразно-ланцюгової реакції, метод секвенування вірусних геномів, філогенетичний аналіз, спектрофотометричні методи, метод гемаглютинації трипсинізованих еритроцитів крові, електрофорез протеїнів. Статистична обробка даних була проведена за

допомогою програми "LibreOfficeCalc" GNU Lesser General Public License v 3), програми аналізу зображень "ImageJ".

Проведений моніторинг посівів сої в Полтавській, Київській та Одеській областях в 2016-2018 рр. на наявність найбільш шкочинних вірусів виявив наявність у рослин симптомів зморщуваності та мозаїки листової пластинки. Результати імуноензимного аналізу і молекулярно-генетичних досліджень показали, що рослини інфіковані вірусом мозаїки сої. Встановлено, що інфікування ВМС (ізоляти SKP-16 та SGP-17) викликало зміни основних біохімічних показників, що характеризують якість насіння сої (вмісту протеїну, жиру, вуглеводів, ізофлавононів, активності лектинів, ліпоксигенази, інгібітора трипсину) в інфікованому насінні. Виявлені особливості за зміною цих показників залежали від сорту сої, ступеня інфікування рослин та умов вирощування. Відомо, що найбільш перспек-

тивними протеїнами для виробництва соєпродуктів є глобуліни, а саме 11S глобулін (гліцинін) та 7S глобулін (β-конгліцинін), а їх вміст, співвідношення та компонентний склад у сумарній фракції протеїну визначає його якість, так як вони неоднаково збалансовані за амінокислотним складом. Дослідження вмісту і компонентного складу гліциніну та β-конгліциніну насіння сої, інфікованого ВМС, показало наявність змін в кількості та співвідношенні 7S та 11S глобулінів, інтенсивності смуг α, α', β субодиниць β-конгліциніната A, A₃, A₅ та B протеїнових компонентів гліциніна, які впливають на харчову цінність соєпродуктів, у різних сортів сої за впливу вірусної інфекції.

Отримані результати можна використовувати для розробки методів добору сортів сої із високою якістю насіння і стійкістю до вірусу мозаїки сої та будуть рекомендовані для впровадження у селекційну і сільськогосподарську практику.

АКТИВНІСТЬ ХІТИНАЗИ ТА β-1,3-ГЛЮКАНАЗИ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦІ ЗА ВПЛИВУ ГРИБНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА СИГНАЛЬНИХ МОЛЕКУЛ

МОЛОДЧЕНКОВА О.О., РИЩАКОВА О.В.

СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ІНСТИТУТ-НАЦІОНАЛЬНИЙ ЦЕНТР НАСІННЕЗНАВСТВА
ТА СОРТОВИВЧЕННЯ, ОДЕСА, УКРАЇНА;
e-mail:olgamolod@ukr.net

Вважається, що хітинази та β-1,3-глюканази є маркерами захисного відгуку рослин на дію патогенів. Експресія генів хітиназ та β-1,3-глюканаз індукується різними патогенами. Різноманітність представників цих ензимів свідчить про їх специфічну роль в рослинах. Відомо, що хітинази володіють прямою антипатогенною дією, руйнуючи хітин клітинних стінок багатьох патогенів. При нормальному розвитку рослини хітинази можуть впливати на процеси росту та розвитку рослин. β-1,3-Глюканази – ензими, які гідролізують β-1,3-зв'язки в полісахаридах клітинних стінок патогенів. Фрагменти полісахаридів, які утворюються в результаті цієї реакції, володіють імуномодулюючими властивостями. Активація хітинази та β-1,3-глюканази в рослинах регулюється сигнальними системами. В якості сигнальних молекул виступають жасмонова (ЖК) та саліцилова (СК) кислоти, які приймають участь в індукції захисних реакцій рослин.

Метою дослідження було вивчення зміни активності хітинази, β-1,3-глюканази в проростках пшениці за інфікування збудниками фузаріозу та впливу СК і ЖК. Дослідження були проведені на сортах пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum L.*), які достовірно відрізнялися за рівнем стійкості до збудників фузаріозу. Активність хітинази вимірювали за вивільненням N-ацетил-D-глюкозаміну з

використанням колоїдного хітину як субстрат, активність β-1,3-глюканази аналізували спектрофотометрично з використанням динітросаліцилової кислоти та ламінаріну як субстрату. Електрофорез ензимів проводили у 12,5 % поліакриламідному гелі, що містив субстрати для визначення ензимів (0,01 % глікольхітин або 2,5 % ламінарін). Статистична обробка даних була проведена за допомогою програми "LibreOfficeCalc" GNU Lesser General Public License v 3), програми аналізу зображень "ImageJ".

Дослідження динаміки зміни активності ензимів під час 8-ми добового проростання зерна пшениці показало, що максимальний рівень активності хітинази спостерігався на 4–5 добу в проростках стійкого та на 7 добу у сприйнятливо до збудників фузаріозу сортів пшениці, а максимальний рівень активності β-1,3-глюканази встановлений на 4–5 добу проростання в надземній частині та коренях проростків стійкого та сприйнятливо сортів. Встановлені особливості зміни активності та ізоензимного складу хітинази та β-1,3-глюканази в проростках пшениці за інфікування збудниками фузаріозу, дії СК та ЖК в залежності від стійкості сортів пшениці до патогену та генотипу. Вивчення компонентного складу хітинази проростків пшениці дозволило виявити 4 ізоформи хітинази з моле-

кулярною масою від 30 до 75 кДа. Відомо, що більшість хітиназ із молекулярною масою від 30 до 46 кДа відносяться до PR-протеїнів та індуюються за біотичних факторів, в тому числі, як показали наші дослідження, за інфікування *Fusarium graminearum*. Мабуть, різнохарактерний рівень активності хітинази та β -1,3-глюканази у різних за стійкістю сортів пшениці, пов'язаний з накопиченням окремих ізоформ ензимів, їх можливим індивідуальним значенням в регуляції процесів формування реакцій відгуку рослин на фузаріозну інфекцію.

Одним із проявів захисної дії ЖК та СК є їх здатність індукувати зміни активності хітинази та β -1,3-глюканази в тканинах рослин пшениці. Отримані дані щодо зміни активності вивчених захисних протеїнів під впливом СК та ЖК свідчать про неоднакові механізми активації захисних реакцій у генотипів пшениці, що відрізняються за рівнем стійкості до збудників фузаріозу, за дії цих сполук.

Встановлені результати можна застосовувати для розробки методів оцінки та підвищення стійкості рослин пшениці до грибних патогенів, зокрема до збудників фузаріозу.

LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN MUSCLES AND GILLS OF PUMPKINSEED *LEPOMIS GIBBOSUS* (LINNAEUS, 1758)

NESTERENKO O.S., MARENKO O.M.

OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: gidrobions@gmail.com

Lactate dehydrogenase is an enzyme found in most tissues of various animal taxons. It is involved in the conversion of lactate to pyruvate and vice versa. The change in the activity of this enzyme is widely used as a stress indicator. Pumpkinseed *Lepomis gibbosus* is a new alien species in water bodies of Ukraine, which lives even in water bodies with significant anthropogenic load, where its organism is stressed.

Determination of the lactate dehydrogenase (LDH) activity was carried out in the tissues of the pumpkinseed caught in the Samara Bay of the Zaporizke reservoir, which is considered quite contaminated, and the fish inhabiting it are under chronic toxicological effects of heavy metals. The LDH activity was determined in the gills and muscles of pumpkinseed males and females at the age of 4 years. The activity of lactate dehydrogenase was determined using stan-

dard commercial kits "LDG" (Filisit-Diagnostics, Ukraine) on the spectrophotometer SF-26 at a wavelength of 340 nm.

According to the study results, males from the Samara Bay have the highest rate of LDH activity in the gills and this figure reaches 119.50 ± 2.79 nmol NADH/mg protein*min, while in females this figure is 57.29 ± 3.29 nmol NADH/mg protein*min.

There were no significant differences in LDH activity in the muscles of pumpkinseed males and females, but this index in males caught in the Samara Bay was higher by 19.7 % than in females and amounted to 62.64 ± 2.24 nmol NADH/mg protein*min in males, and 50.29 ± 3.98 nmol NADH/mg protein*min in females.

Increasing the level of lactate dehydrogenase in the body increases the glycolysis processes that can be caused by a violation of the normal energy supply processes.

ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ МОЛОЧНИХ КОРІВ

ПЕТРУХ І.М., ВЛІЗЛО В.В., ОСТАПІВ Д.Д., ВУДМАСКА І.В., САЧКО С.Р.

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;

e-mail: impetruh@gmail.com

Серед метаболічних хвороб у корів із високою молочною продуктивністю домінує кетоз. Одночасно, порушення травлення, посилення ліпомобілізації, накопичення β -оксимасляної, ацетооцтової кислоти та ацетону при затяжному кетозі спонукає до напруження компенсаторних механізмів мета-

болізму і часто є причиною розвитку стеатозу та вторинної остеодистрофії.

Метою роботи було дослідити показники ліпідного обміну у молочних корів, хворих на кетоз, стеатоз та вторинну остеодистрофію. Матеріалом для досліджень були корови голштинської породи,

2–4 лактації, продуктивністю понад 8 000 кг молока за попередню лактацію. Тварини утримувалися в аналогічних умовах та отримували однаковий раціон. Корів досліджували клінічно, проводили аналіз сечі на вміст кетонів та крові – на вміст загального й етерифікованого холестеролу. У молоці корів визначали вміст жиру та протеїну. За результатами клінічних досліджень та позитивним експрес-тестом на наявність кетонів у сечі було сформовано групи корів: клінічно здорові та хворі. Серед хворих тварин диференціювали три групи: хворі на кетоз ($n=8$), корови з ознаками стеатозу ($n=7$) та вторинної остеодистрофії ($n=5$).

У крові корів, хворих на кетоз, вторинну остеодистрофію та стеатоз вміст загального холестеролу зростає майже удвічі ($P<0,001-0,05$). За кетозу та стеатозу цей показник підвищується на 38 % та 40,3 %, відповідно, а за остеодистрофії – на 30 %, порівняно до показника у здорових корів. Водночас, у хворих корів встановлено зниження на 5,5–11 % ($P<0,05$) вмісту етерифікованого холестеролу. Індекс етерифікований/загальний холестерол з $0,63\pm 0,06$ у здорових тварин знижується у хворих корів до $0,31-0,39$ ($P<0,001$). Зростання вмісту загального холестеролу за зниження етерифікованого свідчить про підвищення концентрації ліпопротеїдів високої щільності та вказує на порушення функціональної здатності печінки за значного ураження гепатоцитів.

Під час дослідження молока встановлено, що молоко, отримане від корів з ознаками кетозу, остеодистрофії та стеатозу характеризується вірогідно ($P<0,001$) вищим (на 65,9, 58,3 та 75,8 % відповідно) вмістом жиру, що свідчить про інтенсивну мобілізацію жиру з організму. Для встановлення стану ліпомобілізації за розвитку метаболічних порушень визначають співвідношення між кількістю жирів і протеїнів у молоці (жирово-протеїновий коефіцієнт). Встановлено, що вміст протеїну в молоці хворих корів був у межах 2,72–2,74 %, проти 3,1 % – показника у клінічно здорових. Низький вміст протеїну у молоці (нижче ніж 2,8 %) свідчить про нестачу енергії, що спонукає до виникнення метаболічних порушень, особливо у високопродуктивних корів. У молоці здорових корів співвідношення між кількістю жирів і протеїнів було у межах 1,04–1,26 ($1,1\pm 0,05$). Коефіцієнт жир/протеїн у молоці корів при стеатозі був у 2 рази вищим, ніж у здорових, а при кетозі та остеодистрофії зростав на 79 % ($P<0,001$) та 71 % ($P<0,01$), відповідно, що свідчить про розвиток ліпомобілізаційного синдрому.

Отже, інформативними показниками виникнення метаболічних порушень, зокрема таких як кетоз, стеатоз та вторинна остеодистрофія є зниження у крові індексу етерифікований/загальний холестерол із $0,63\pm 0,06$ у здорових тварин до $0,31-0,34$ у хворих та вірогідне зростання коефіцієнту жир/протеїн ($1,8-2,0$; $P<0,01-0,001$) у молоці хворих корів.

БІОХІМІЧНІ ТА МІКРОБІОЛОГІЧНІ ІНОВАЦІЇ В НУТРИЦІОЛОГІЧНІЙ ОЦІНЦІ БЕЗПЕКИ ТА ЯКОСТІ ХАРЧОВОЇ СИРОВИНИ І ПРОДУКТІВ ЇЇ ПЕРЕРОБКИ

ПИЛИПЕНКО Л.М., ВЕРХІВКЕР Я.Г.

ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, ОДЕСА
e-mail: l.n.pylypenko@ukr.net, yaverkhivker@gmail.com

Сучасні погляди на питання превентивної медицини вносять істотні корективи в спектр діагностичних досліджень, які пов'язані з залученням інноваційних розробок суміжних наук – нутриціології, молекулярної генетики, біохімії, мікробіології, харчової технології.

Кількісне зростання захворювань, пов'язаних з харчуванням, викликає необхідність вдосконалення його якості, яке включає комплекс характеристик харчових продуктів – цінність для здоров'я (за наявністю есенційних і оздоровлюючих інгредієнтів, щільністю есенційних і поживних речовин, енергетичною цінністю та щільністю, засвоєваністю та переносимістю тощо, а також ознаками, що знижують їх цінність для здоров'я – вміст природних небезпечних біогенних субстанцій, речовин, що утворюються при неналежному зберіганні сирови-

ни та недотриманні режимів її переробки та виробництва кінцевих харчових продуктів), смакову та споживчу цінність, а також нових досить нетрадиційних показників – соціально-культурна, психологічна, етична, екологічна цінність.

Мета роботи – розробка біохімічних та молекулярно-біологічних методів для прискореної комплексної нутриціологічної оцінки безпеки та якості харчових продуктів та визначення режимів заключної обробки харчових продуктів для отримання продукції тривалого зберігання.

Мікробіологічні контаміанти є критеріальними складовими серед небезпечних чинників в системі показників безпеки харчових продуктів. Генна діагностика як прискорений і точний метод визначення цих біологічних токсигенних контаміантів може позиціонуватися в системі методів попередження

захворювань, що дозволяють перейти від лікування хвороби до збереження здоров'я людини. Розробленими нами пріоритетними (3 патенти на винаходи та 5 патентів на корисні моделі) методами молекулярно-генетичної діагностики токсигенних бацилярних і деяких клостридіальних представників та мультикомплексними методами визначення патогенних мікроорганізмів та збудників псування продукції тривалого зберігання за наявності продуктів ампліфікації специфічних генів цих контамінантів.

Відомо, що порушення антиоксидантного статусу організму лежить в основі патогенеза практично всіх захворювань. В нутриціології антиоксидантна активність є показником детоксикаційної здатності продукту, внаслідок того, що механізм токсичної дії проявляється в здатності активізувати процеси перекисного окислення ліпідів. Саме тому проведено моніторинг антиоксидантної та біологічної активностей різних видів сировини, традиційних та розроблених видів продуктів за показниками періоду індукції ініційованого окислення, су-

марною концентрацією антиоксидантів і біологічною активністю.

Визначено вплив різних технологічних факторів в процесах підготовки та впливу технологічних режимів переробки харчової сировини на ці показники. Встановлено доцільність певних видів і режимів зберігання продукції та розроблено моделі превентивного прогнозування якості і безпеки харчових продуктів. Розроблено технологічні режими для широкого асортименту продукції у сучасних видах споживчої тари.

Таким чином, іноваційні підходи інтегрального визначення безпеки харчової сировини і продуктів її переробки за біохімічними та мікробіологічними показниками, заснованими на генно-молекулярній діагностиці контамінантів та кінетиці окиснювальних процесів, необхідні для прискореної комплексної нутриціологічної їх оцінки, а також сучасні технологічні прийоми обробки кінцевої продукції є доцільними в системі методів превентивної медицини 21 століття.

УЛЬТРАФІОЛЕТ-А ЯК ДОСТУПНИЙ СПОСІБ АНТИОКСИДАНТНОЇ БІОФОРТИФІКАЦІЇ САЛАТУ ПОСІВНОГО (*LACTUCA SATIVA*)

ПРИЙМАК Ю.В., СМІРНОВ О.Є., ТАРАН Н.Ю.

ННЦ "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ", КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, УКРАЇНА;
e-mail: prymak@knu.ua

Салат посівний (*Lactuca sativa* L.) посідає одне з лідируючих місць за обсягом вирощуваної продукції серед овочевих культур. Корисні властивості листового салату обумовлені наявністю у його складі вітамінів, незамінних амінокислот та ненасичених жирних кислот. Крім того, *L. sativa* характеризується здатністю до синтезу і накопичення фенольних сполук, відомих завдяки своїм антиоксидантним властивостям. Фенольні сполуки виявляють широкий спектр корисних властивостей для організму людини, здійснюють профілактику серцево-судинних та нейродегенеративних захворювань, знижують ризик розвитку раку та інтенсивність процесів старіння. Цим пояснюється високий попит на харчові продукти з підвищеним вмістом фенольних сполук – низькомолекулярних антиоксидантів.

Одним з найбільш доступних та перспективних шляхів біофортificaції рослинної продукції для підвищення вмісту фенольних сполук є ультрафіолет-А (УФ-А). Це єдиний тип УФ опромінення, що не змінює, в значній мірі, морфологію листової пластинки у рослин салату посівного.

Метою даного дослідження було з'ясувати вплив УФ-А опромінення на процеси синтезу і на-

копичення фенольних сполук у тканинах *L. sativa*. Для досягнення даної мети тканини салату посівного ввели у культуру *in vitro*. Як експланти використовували сім'ядольні листки 5-добових проростків двох контрастних за вмістом фенольних сполук сортів салату: "Лоло Росса" (червоний) та "Лоло Біонда" (зелений). Індукцію калусогенезу проводили на трьох живильних середовищах із різним складом регуляторів росту. Найбільш успішно калусогенез індукувався на середовищі з 10 мг/л бензиламінопурину, 0,5 мг/л нафтилоцтової кислоти та 200 мг/л активованого вугілля. Розмір калусів, вирощених на даному середовищі, становив близько 379 та 132 мм² для сортів "Лоло Росса" і "Лоло Біонда", відповідно.

Через 6 тижнів вирощування на живильному середовищі калуси піддавали опроміненню УФ-А протягом 6 днів. Після цього з сухої речовини калусних тканин здійснювали екстракцію метанолом і вимірювали вміст загальної суми фенольних сполук, флавоноїдів та загальну антиоксидантну активність спектrophотометричними методами. Статистичну обробку параметричних даних здійснювали шляхом дисперсійного однофакторного аналізу з порівнянням середніх арифметичних та

значущості різниці між ними за допомогою t-критерію Стюдента за $P \leq 0,05$. Як статистичні показники брали середнє арифметичне (M) та стандартну похибку середнього арифметичного (m). Побудову діаграм і проведення розрахунків здійснювали у програмі "Microsoft Excel 2010".

У калусах червоного салату "Лоло Росса" вміст фенольних сполук, флавоноїдів та антиоксидантна активність значно не змінились за опромінення УФ-А. Натомість, у калусах сорту "Лоло Біонда" вміст загальної суми фенольних сполук збільшився на 74 %, вміст флавоноїдів – на 27 %, загальна антиоксидантна активність екстрактів – на 30 %

порівняно з калусами, що не піддавали опроміненню УФ-А.

Таким чином, УФ-А не виявився достатнім стимулом для підвищення інтенсивності синтезу фенольних сполук у тканинах салату з високим вмістом фенолів. Проте, зелені сорти салату з низькою кількістю фенольних сполук і флавоноїдів реагують на опромінення УФ-А різким підвищенням синтезу і накопичення фенольних сполук та флавоноїдів, що проявляється також у підвищенні антиоксидантної активності калусних екстрактів. Це свідчить про ефективність використання УФ-А для антиоксидантної біофортифікації зеленого салату.

THE IMPORTANCE OF BIOCHEMISTRY IN THE TRAINING OF VETERINARIANS AND LIVESTOCK TECHNOLOGIES

PRIHODCHENKO V.O., DENYSOVA O.M., GLADKA N.I.
KHARKIV STATE ZOOVETERINARY ACADEMY, UKRAINE;
e-mail: denisova78@yahoo.com

Biological chemistry has great importance in the basic training of veterinarians and livestock technologists and has an integral part of their science education. Biochemistry studies various structures characteristic of living organisms, chemical reactions occurring at the cellular and organism levels. The basis of life is chemical reactions that provide metabolism. Thus, biochemistry can be considered the main language of all biological sciences. Formation among future specialists of agriculture understanding the molecular nature of individual physiological processes, the biochemical basis of the pathogenesis of diseases, the effect of medicines on metabolic processes in the body, the essence of chemical transformations of agricultural production components during technological processing is an urgent need today. Modern veterinarians should be trained both theoretically and practically for the use of objective biochemical methods in diagnostic activities and for control the course of the disease. To this end, a course "Biological chemistry with the basics of physical and colloidal chemistry" is taught at the Department of Chemistry and Biochemistry at the Kharkiv State Zooveterinary Academy, for first- and second-year students for two semesters. The traditional form of teaching biochemistry at each department is combined with the orientation of biochemical information in each specialty. Thus, on the faculty of veterinary medicine in the teaching of biological chemistry in almost all sections of the discipline

outlines the features of biochemical processes in various types of farm animals, and at the technological faculty – the basis of biochemistry of various types of agricultural products (meat, milk, eggs, wool, etc.). In further, this knowledge allows students to study more effectively the course "Clinical Biochemistry", which is studied at the Faculty of Veterinary Medicine in the fourth year at the Department of Clinical Diagnostics. Thus, future doctors of veterinary medicine acquire good theoretical knowledge, as well as the possibility of using them in practice. For study of the biochemistry course, a modular-rating system is used, which stimulates students to work regularly during the academic year and allows more effective learning of educational material, as well as more objectively evaluating knowledge. Another important direction of teaching biochemistry at the academy is to form a concept among future agricultural specialists about the impact of agricultural products on human life safety, because "a doctor treats a person and a veterinarian – humanity". The deepening of the biochemical training of veterinary doctors, technologists in the current conditions of global chemicalization of technological processes in the manufacture of food is very relevant. This knowledge then goes deeper, is specified in the courses of veterinary and sanitary expertise of livestock products, toxicology and corresponds to the modern requirements of training highly skilled agricultural specialists.

THE YIELDS OF TOMATOES AND BARLEY UNDER THE INFLUENCE OF EXOMETABOLITES *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405, *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241 AND *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* IMV AC-5017

PIATETSKA D.V.¹, LEONOVA N.O.², PIROG T.P.^{1,2}, SHEVCHUK T.A.², IUTYNSKA H.O.²

¹NATIONAL UNIVERSITY OF FOOD TECHNOLOGY, KYIV, UKRAINE;

²DANYLO ZABOLOTNY INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND VIROLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE,, KYIV;

e-mail: dashka2310@gmail.com

Previous studies determined the ability of *N. vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017 to synthesize surfactants and phytohormones not only on traditional substrates (ethanol, refined oil), but also on industrial waste (fried oil and technical glycerol).

The aim of this work is to investigate the influence of exometabolites of *N. vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017 on the yield of tomatoes and barley under vegetative conditions.

Bacteria were cultivated using a synthetic medium. The refined sunflower oil and oil after frying meat (McDonald's Restaurant Network, Kyiv, Ukraine) were used as the carbon and energy sources in concentration of 2.0 % v/v. Phytohormonal extracts were obtained from the supernatant of cultural liquid by three times extraction with ethyl acetate or butanol. The extracts were evaporated to dryness under vacuum and redissolved in 80 % ethanol. The greenhouse experiment was carried out at the greenhouse of the D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology for three months using barley and tomatoes as a test-culture.

Experiments have shown that the treatment of tomato seedlings of Chicago variety with exometabolites of *N. vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017 before planting in the soil stimulated the growth of the seedlings, increased the number of formed flowers and accelerated the formation and maturation of the fruit. The highest yield increase was observed for tomato seedlings, treated with exometabolites of strain *R. erythropolis* IMV Ac-5017. So, when treating plants with supernatant of this strain, diluted in 2 and 3 times,

as well as the extract of phytohormones, the number of mature fruits in comparison with the control was higher by 12, 56 and 106 %, respectively. As for the exometabolites of the strain *A. calcoaceticus* IMV B-7241, the most effective was the use of the 2 times diluted supernatant for the treatment of tomatoes seedlings, in which the number of fruits was greater than control by 40 %. Treatment with the exometabolites of the strain *N. vaccinii* IMV B-7405 allowed us to obtain the highest average fruit weight among all the studied variants, although the amount of tomatoes was less than control.

Experiments with barley seeds have shown that the treatment with exometabolites of *N. vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017 strains stimulated the growth of barley and promoted the grain yield increase. The highest increment of yield was observed for the treatment of barley seeds with exometabolites of strain *R. erythropolis* IMV Ac-5017. So, the use of IMV Ac-5017 supernatant in dilution of 1:20 increased the yield by 83.3 %, at the same time in dilution 1:10 the increase was only on 33.3 %. Independent of the supernatant dilution, for the strain *A. calcoaceticus* IMV B-7241 we observed almost the same growth stimulation: the increase in barley grain yield was within the range of 68.3–69.2 %.

The positive influence of extracellular exometabolites *N. vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017 on the yields of barley and tomatoes is established in this work. It is the basis for the development of microbial preparations technology using cheap industrial wastes for application in crop production.

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ РИБ ЗА ДІЇ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ Fe^{3+} У ВОДІ

РАБЧЕНЮК О.О., ХОМЕНЧУК В.О., СТАНІСЛАВЧУК А.В., КУРАНТ В.З.
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА, УКРАЇНА;
e-mail: Rabchenyuk23@i.ua

Пероксидне окислення ліпідів (ПОЛ) – типовий вільнорадикальний процес, один з найважливіших окисних процесів у аеробних організмів, у тому числі і риб. Дія стресових чинників різного генезису, включно металів, обумовлює продукування додаткових кількостей активних форм кисню та посилення ПОЛ. Тому метою нашої роботи було дослідження впливу Fe^{3+} на вміст окремих продуктів ПОЛ (дієнові кон'юганти, гідропероксили ліпідів, ТБК-активні продукти) та активність каталази (1.11.1.6) та супероксиддисмутази (СОД; 1.15.1.1) у тканинах коропа та щуки.

Досліді проводили на коропах (*Surgynus carpio* L.) та щуках (*Esox lucius* L.) дворічного віку, масою 300–350 грамів. Риб утримували в стаціонарних акваріумах об'ємом 200 л з постійною аерацією. Період аклімації тривав 14 діб. Риб під час досліду не годували. Вивчали вплив Fe^{3+} в концентраціях 0,2 і 0,5 мг/мл. Іони металу вносили у вигляді хлориду. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) в зябрах та печінці риб визначали в гексано-ізопропанольних (1:1) екстрактах. Концентрацію ТБК-активних продуктів – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Вміст гідропероксидів ліпідів визначали після осадження протеїнів розчином трихлороцтової кислоти та екстракцією ліпідів етанолом із наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з амоній тіоціанатом. Активність каталази визначали за зменшенням інтенсивності забарвлення утвореного комплексу H_2O_2 з амоній молібдатом. Активність СОД – за Чеварі та ін. Одержані експериментальні дані опрацювали статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

Аналіз отриманих результатів показав, що вміст ДК у печінці коропа зростав у 1,2 раза лише за дії 0,5 мг/мл іонів Fe^{3+} , а у зябрах – у 1,8 та 2,1 раза за впливу 0,2 і 0,5 мг/мл іонів металу відповідно. У печінці щуки було відмічено зростання вмісту ДК в 1,4 раза за дії 0,2 мг/мл, а за дії 0,5 мг/мл іонів Fe^{3+} – у 1,6 раза. У зябрах щуки за дії іонів металу вміст ДК не відрізнявся від контрольних значень.

Дія 0,5 мг/мл іонів Fe^{3+} викликала зростання рівня гідропероксидів ліпідів у 1,5 раза в печінці та

у 1,2 рази у зябрах коропа відносно контрольних значень. За впливу 2 ГДК іонів Fe^{3+} в зябрах коропа спостерігалось достовірне зниження вмісту гідропероксидів у 2,1 раза. На відміну від коропа, у печінці щуки мало місце зниження гідропероксидів ліпідів у 1,3 раза за впливу 0,5 мг/мл іонів Fe^{3+} . У зябрах щуки спостерігалось зростання вмісту гідропероксидів ліпідів у 1,1 та 1,2 раза за впливу 0,2 і 0,5 мг/мл іонів металу щодо контролю відповідно.

Вміст ТБК-активних продуктів у печінці та зябрах риб за впливу підвищених концентрацій іонів Fe^{3+} достовірно не відрізнявся від контрольних значень.

Підвищена активність антиоксидантних ензимів є індикатором наявності в організмі риб окисного стресу. Так, у печінці коропа за дії 2 ГДК іонів Fe^{3+} у воді активність каталази знижується в 1,3 раза, тоді як вплив 0,5 мг/мл іонів металу призводив до зростання активності цього ензиму у 1,1 раза. У зябрах коропа та у печінці щуки дія підвищених концентрацій іонів Феруму не призводила до достовірних змін активності каталази. У тканині зябер щуки було відмічено зростання активності каталази у 1,5 раза лише за дії 0,2 мг/мл іонів металу.

Стосовно СОД, то як в печінці коропа, так і щуки, достовірних змін у активності ензиму відмічено не було. У зябрах коропа спостерігалось зростання у 1,2 раза активності СОД за дії 0,2 мг/мл іонів Fe^{3+} та зниження активності ензиму щодо контролю за впливу 0,5 мг/мл іонів металу. У зябрах щуки мало місце зниження активності СОД за дії 0,2 мг/мл іонів металу та активація даного ензиму у 1,2 раза за впливу 0,5 мг/мл іонів Fe^{3+} .

Отже, високі концентрації Fe^{3+} (0,5 мг/мл) посилюють ПОЛ в зябрах та печінці риб, на що, в цілому, вказує підвищення вмісту дієнових кон'югатів та гідропероксидів ліпідів. Разом із тим дія 0,2 мг/мл Fe^{3+} здебільшого не викликала пероксидації ліпідів відносно контролю. Очевидно, за дії невисоких концентрацій феруму (III) антиоксидантна система ефективно знешкоджує вільні радикали у тканинах риб.

РЕГУЛЯЦІЯ ЕНЗИМАТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ БАКТЕРІЙ РУБЦЯ КОРІВ ІОНОФРАМИ

САЧКО С.Р.¹, ПЕТРУК А.П.², ВУДМАСКА І.В.¹

¹ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;

²ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С. З. ГЖИЦЬКОГО, УКРАЇНА;

e-mail: ivvudmaska@gmail.com

При оцінці метаболічного стану корів у після-родовий період основну увагу приділяють порушенням вуглеводно-ліпідного обміну. Поза увагою залишається такий важливий аспект як інтоксикація аміаком. Аміак утворюється в рубці корів при катаболізмі амінокислот бактеріями рубця. Раціон високопродуктивних корів містить велику кількість протеїнових кормів, внаслідок чого зростає утворення аміаку, що створює надмірне навантаження на печінку, викликає патологію паренхіми та знижує її функціональну здатність. Основний внесок в утворення аміаку в рубці виконує нечисельна, але метаболічно дуже активна група бактерій гіперпродуцентів аміаку. Для пригнічення їх життєдіяльності можна застосувати антибіотики-іонофори. Важливим напрямом досліджень є пошук шляхів регулювання утворення аміаку без використання антибіотиків. Одним із таких чинників може бути насіння хмелю, яке містить поліфенольні сполуки, що вибірково діють на грам-позитивні бактерії, до яких належать гіперпродуценти аміаку.

Використано 3 групи сухостійних корів української молочної чорно-рябої породи з продуктивністю за попередню лактацію 7 тис. кг молока, по 10 тварин у групі. Перша група була контролем. Коровам другої групи додавали до раціону монензин у дозі 400 мг на добу. Третя група отримувала борошно з шишок хмелю у кількості 10 г на добу. Монензин та екстракт шишок хмелю додавали протягом останніх 3-х тижнів до та перших 3-х тижнів після отелення. У рубцевій рідині визначали вміст аміаку за Конвеєм, молочної кислоти за Баркером-Саммерсоном, вміст летких жирних кислот. У плазмі крові визначали вміст кетонових тіл (ацетон, ацетоацетат, гідроксибутират) йодометричним методом; вміст загального протеїну, сечовини,

загальних ліпідів, триацилгліцеролів, холестерину, глюкози, за допомогою діагностичних наборів. У молоці визначали вміст протеїну, жиру, лактози на аналізаторі "Ecomilk".

Додавання до раціону корів як монензину, так і шишок хмелю знижувало протеолітичну активність у вмісті рубця. Крім того, спостерігалось пригнічення ліполітичної активності, більш виражене у групі, яка отримувала шишки хмелю. Амілолітична активність у рубці обох дослідних груп зросла, проте статистично вірогідним цей вплив був лише у групі, яка отримувала монензин ($P < 0,05$). Целюлозолітична активність не залежала від введення у раціон досліджуваних чинників. Така дія викликана пригніченням монензимом та наявними у шишках хмелю α -кислотами грам-позитивних бактерій рубця, до яких належать протеолітичні бактерії.

Обидві досліджувані добавки знижували концентрацію аміаку та підвищували концентрацію лактату і летких жирних кислот у вмісті рубця ($P < 0,05-0,01$). У плазмі крові корів дослідних груп, порівняно до контрольної групи, спостерігали вищу концентрацію глюкози. Концентрація кетонових тіл зменшувалась у крові корів обох дослідних груп ($P < 0,05$). У плазмі крові корів обох дослідних груп виявлено зменшення неестерифікованих жирних кислот ($P < 0,05-0,01$). Отже, застосування шишок хмелю пригнічує протеолітичну та стимулює амілолітичну активності у рубці корів. Внаслідок цього, у вмісті рубця знижується концентрація аміаку, зростає концентрація лактату та знижується рН. За регуляторною дією шишки хмелю близькі до антибіотика монензину, тобто володіють властивостями природного фітоіонофору. Дія шишок хмелю на кетогенез менш виражена, а антиоксидантні властивості вищі, порівняно до дії монензину.

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРЧОВІ ПРОДУКТИ З АНТИОКСИДАНТНОЮ ТА ЦУКРОЗНИЖУВАЛЬНОЮ ДІЄЮ

СИБІРНА Н., САБАДАШКА М., ГАЧКОВА Г., НАГАЛЄВСЬКА М.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, УКРАЇНА;

e-mail: sybirna_natalia@yahoo.com

Експериментально доведено, що споживання рослинної їжі сприяє поліпшенню стану хворих на цукровий діабет, ожиріння, серцево-судинні та

онкологічні захворювання. Ці ефекти пов'язані з високим вмістом клітковини, фітонутрієнтів, вітамінів і мінералів, низьким рівнем насичених жирних

кислот. Лікарські засоби на основі рослинних матеріалів у вигляді екстрактів або ізольованих сполук зазвичай рекомендуються як харчові добавки. Проте на ринку недостатньо доступних нетоксичних функціональних харчових продуктів і їхня ефективність не завжди науково доведена, а механізми їхньої дії залишаються неясними. Всі доступні препарати з гіпоглікемічною дією, які використовуються в клінічній практиці, не мають достатньої селективності і можуть неспецифічно взаємодіяти з тканинами і органами мішеней. Це викликає різні побічні ефекти внаслідок порушень обміну речовин, розвитку атеросклерозу великих і малих судин, індукції діабетичної ретинопатії, нефропатії, ангіопатії кінцівок. Враховуючи основні патогенетичні механізми розвитку хронічних ускладнень при цукровому діабеті, обґрунтованим терапевтичним підходом до їхньої профілактики та лікування є застосування антиоксидантних та цукрознижувальних препаратів, отриманих з сировини природного походження.

На кафедрі біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка розроблено і запатентовано методики одержання субстанцій, збагачених біологічно активними речовинами з

лікарських рослин, медичних грибів і червоних вин. Проаналізовано вплив отриманих компонентів, що можуть бути основою функціональних харчових продуктів, на рівень глікемії, на прооксидантно-антиоксидантний баланс і на функціональний стан імункомпетентних клітин в умовах стрептозотоциндукованого цукрового діабету. У якості сировини використовували надземну частину галеги (*Galega officinalis* L.) та листя і бульби якоку (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.), порошок міцелію лікарських грибів *Agaricus brasiliensis* і *Ganoderma lucidum*, а також концентрат червоного вина Каберне Совіньон.

З метою поліпшення розчинності у воді та підвищення біодоступності біологічно активних сполук отримані препарати стабілізували додаванням біогенних поверхнево-активних речовин, продуктів біосинтезу у штаму бактерій *Pseudomonas aeruginosa* JRV-L.

Дизайн функціональних харчових продуктів на основі галеги, якоку, лікарських грибів або поліфенолів вина та вивчення їхнього впливу в умовах індукованого діабетом окисно-нітративного стресу, дозволить розробити новий напрям у лікуванні цукрового діабету.

АКТИВНІСТЬ ГІДРОЛІТИЧНИХ ЕНЗИМІВ КУРЕЙ-НЕСУЧОК ЗА ВПЛИВУ АКВАЦИТРАТІВ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

СТЕФАНИШИН О.М., ГУНЧАК А.В., РАТИЧ І.Б., КИСЦІВ В.О., СІРКО Я.М.
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;
e-mail: oliastef@ukr.net

Широкі ензимологічні дослідження, проведені в багатьох країнах світу, свідчать про те, що кількісні та якісні особливості мінерального живлення можуть проявляти глибокий вплив на різні системи організму птиці, в тому числі на систему травлення, що є однією з найважливіших в організмі. Метою нашої роботи було дослідити механізми біологічного та продуктивного впливу цитратів біоелементів нанотехнологічного походження на організм курей-несучок.

За принципом груп-аналогів, було сформовано чотири групи курей-несучок, по 10 у кожній. Утримання і годівля птиці відповідали технологічним вимогам. Вся птиця одержувала повнораціонний комбікорм, збалансований за поживними і біологічно активними речовинами. Птиця контрольної групи отримувала стандартний мінеральний премікс із неорганічних солей біоелементів (Zn – 60 г/т, Mn – 100 г/т, Fe – 10 г/т, Cu – 2,5 г/т, Co – 0,1 г/т, J – 0,7 г/т, Se – 0,1 г/т корму). Курей-несучок дослідних груп випоювали з водою мінеральний комплекс із цих же елементів у формі цитратів нанотехнологічного походження за схемою: дослід-

на 1 – кількість біоелементів становить 1/2 (50 %) від вмісту в стандартному преміксі; дослідна 2 – 1/4 (25 %); дослідна 3 – 1/10 (10 %) відповідно. У кінці дослідження, який тривав чотири місяці, проведено забій птиці і відібрано проби тканин печінки, підшлункової залози, слизової і хімусу 12-палої кишки. У біологічному матеріалі проводили дослідження за такими методами: активність протеаз за методом Кунітца; активність амілази за методом Каравея; активність ліпази за методом Тітца. Одержані результати проведених досліджень аналізували статистично, шляхом обчислення середніх величин та вірогідності отриманих даних.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що форма і кількість введення мінеральних речовин у раціон курей-несучок впливають на активність гідролітичних ензимів в організмі птиці. Зокрема, встановлено, що протеолітична та ліполітична активність в тканинах підшлункової залози несучок підвищувалася за умови введення до раціону мінеральної добавки у формі цитрату. Показано, що застосування аквацитратів мікроелементів у годівлі курей фактично не проявляє

впливу на протеолітичну та амілолітичну активність ензимів у хімосі дванадцятипалої кишки. Поряд із цим, ліполітична активність птиці дослідних груп перевищувала показники аналогів контрольної групи на 18,2; 32,3 та 9,5 % ($P < 0,01$; $0,001$; $0,05$) відповідно.

Щодо активності гідролітичних ензимів у тканинах печінки курей-несучок, то характер змін відрізнявся від такого в інших досліджуваних нами тканинах. Встановлено, що в печінці активність ензимів, була найнижчою, порівняно з показниками в тканинах підшлункової залози та доуденальному вмісті дванадцятипалої кишки. Водночас, у курей

всіх трьох дослідних груп, яким до раціону вводили мікроелементну добавку у формі аквацитратів, у тканинах печінки виявлено тенденцію до зниження ліполітичної активності, порівняно з аналогами контрольної групи. Ліполітична активність була найвищою, порівняно з іншими ензимами, в усіх досліджуваних нами тканинах.

Встановлено, що активність амілаз у всіх досліджуваних нами тканинах курей-несучок дослідних груп знижувалась, порівняно до контрольної, що демонструє хорошу функціональну і адаптаційну активність підшлункової залози, яка проявляється в утриманні ензиму під контролем.

ВІКОВІ ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ СТЕРЛЯДІ

СУЛЕЙМАНОВА Р.Р.^{1,3}, МЕЛЬНИЧУК Д.О.², КАЛАЧНЮК Л.Г.³

¹ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²РАДНИК ПРЕЗИДІЇ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

³НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, КИЇВ;

e-mail: 1992_s_roza@ukr.net

Активність антиоксидантних ензимів у тканинах залежить від багатьох причин: зовнішніх впливів, стану організму, генетичних факторів, годівлі, сезону, віку, статі. У літературі висвітлюються питання досліджень вікових особливостей антиоксидантної ензимної системи та вмісту продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) у тканинах різних видів риб. Ензимну активність системи антиоксидантного захисту в організмі прісноводних риб, зокрема стерляді різновікових груп, досліджено не досконало. Вивчення особливостей перебігу процесів пероксидації у тканинах риб у віковому аспекті є важливим для оцінки адаптаційних можливостей організму стерляді.

Об'єктами дослідження була кров та печінка стерляді різної вікової групи: дворічки (масою 0,3–0,4 кг), трирічки (масою 0,5–0,6 кг) та статевозрілі (дев'ятирічки) (масою 5–6 кг), яких відібрали у весняний період на рибному господарстві "Осетр" в смт. Українка Обухівського району, Київської області. Статистичну обробку результатів дослідження виконано з використанням програми SPSS 13.0. Для аналізу результатів використовувалися методи описової статистики (n, середнє арифметичне, медіана, стандартне відхилення, мінімум і максимум); однофакторний дисперсійний аналіз (one-way ANOVA) з наступним застосування критерію множинних порівнянь Тьюкі (Tukey HSD test).

Проведено дослідження вікових змін активності антиоксидантних ензимів – каталази (КАТ),

глутатіонпероксидази (ГПО) та вмісту продуктів ПОЛ малондіальдегіду (МДА) у печінці та крові стерляді.

Аналіз одержаних результатів свідчить, що рівень активності КАТ у тканинах печінки поступово знижувався з віком і становить у дворічок – 72,3 мкмоль H_2O_2 /хв на 1 мг протеїну, у трирічок – 70,9 мкмоль H_2O_2 /хв на 1 мг протеїну, а у статевозрілої – 54,8 мкмоль H_2O_2 /хв на 1 мг протеїну, що у 1,3 раза менше, порівнюючи з дворічками. Активність КАТ у сироватці крові стерляді з віком підвищується в 3,6 раза.

Щодо ГПО, то його активність у стерляді трирічного віку на 20 %, а статевозрілих – на 41 % більша, порівняно з дворічною рибою.

Для оцінки окисно-антиоксидантних процесів у крові та печінці риб визначали вміст одного із продуктів ПОЛ – МДА. Встановлено, що найбільший вміст МДА у крові у статевозрілої стерляді. Накопичення вмісту МДА вказує, що зі зміною імунологічного статусу у риб відбувається інтенсивний процес пероксидного окислення ліпідів, що може призводити до розвитку окислювального стресу.

Детальне дослідження показників крові та органів стерляді, що живе у прісній воді, важливе для її розведення в промислових рибних господарствах, де останнім часом виявлено випадки ранньої смертності цього виду, що могло бути зумовлене як екологічними, так і аліментарними чинниками.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ ГЛУТАТІОНТРАНСФЕРАЗИ З НОВОУТВОРЕННЯМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ У СОБАК

ФЕДЕЦЬ О.М.¹, ДМИТРУК К.В.³, ВІНЯРЧИК С.², КУРЛЯК І.М.¹, ДМИТРУК О.В.³,
АДАШЕК Л.², ЗАЯЦЬ О.І.¹, ФЕДОРЧУК А.О.¹, МІДЯНИЙ С.В.¹, САС Н.Б.¹

¹ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
ІМЕНІ С. З. ГЖИЦЬКОГО, УКРАЇНА;

²ЛЮБЛІНСЬКИЙ ПРИРОДНИЧИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ПОЛЬЩА;

³ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;

e-mail: fedets@lvet.edu.ua

Пухлини молочної залози є одними з патологій, які найчастіше виникають як у тварин, так і у людини. Важливим завданням дослідників є пошук біомаркерів, які можуть бути використані для раннього виявлення цих новоутворень, прогнозу їх розвитку, лікуванням та контролю за перебігом патологічного процесу. Глутатіонтрансферази є групою ензимів, які каталізують зв'язування з глутатіоном електрофільних субстратів, які можуть бути канцерогенами, лікарськими засобами та іншими сполуками. Зміни в нуклеотидній послідовності генів, що кодуєть глутатіонтрансферази можуть призвести до порушення цих процесів, що в свою чергу може бути причиною виникнення новоутворень або неефективного їх лікування. Тому актуальним є виявлення поліморфізмів в цих генах.

Метою роботи було виявити одонуклеотидні поліморфізми в гені *GSTP1*, що кодує глутатіонтрансферазу P1 у собак із новоутвореннями молочної залози, порівняти ці дані із здоровими тваринами і встановити чи існує взаємозв'язок між одонуклеотидними поліморфізмами гена глутатіонтрансферази P1 і новоутвореннями молочної залози.

У собаках із новоутвореннями молочної залози та у здорових тварин відбирали кров у EDTA-вмісні вакуумні пробірки. Проби зберігали у рідкому

азоті до використання. ДНК виділяли хімічним методом, який порівняли з методом виділення за допомогою набору NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel). На основі аналізу нуклеотидної послідовності глутатіонтрансферази P1, яка наведена в базі даних PubMed, були встановлені нуклеотидна послідовність та синтезовані праймери. Підібрано параметри для проведення полімеразної ланцюгової реакції з використанням виділеної ДНК, як матриці, та отримано продукт з молекулярною масою аналогічною до послідовності, що наведена в базі PubMed. Секвенування проводили по Сенгеру з використанням нових праймерів, для яких були підібрані необхідні параметри.

У результаті секвенування продуктів полімеразної ланцюгової реакції виявлені одонуклеотидні поліморфізми в кодуючих та некодуючих ділянках гена глутатіонтрансферази P1. Проводиться аналіз ролі цих одонуклеотидних поліморфізмів у регуляції транскрипції та впливу на структуру глутатіонтрансферази P1 з наступною зміною її каталітичних властивостей по відношенню різних сполук.

Ця робота була фінансово підтримана Міністерством освіти і науки України в рамках виконання теми "Розробка діагностичних маркерів новоутворень молочної залози собак на основі поліморфізму глутатіонтрансферази та протеїнів крові" (0118U003495).

FATTY ACIDS COMPOSITION IN TISSUES OF HONEY BEES UNDER THE INFLUENCE OF PESTICIDES

КХYZHNYAK S.V., MIDYK S.V., SYSOLYATIN S.V., VELYNKA A.O.

NATIONAL UNIVERSITY OF LIFE AND ENVIRONMENTAL SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: khs2014@ukr.net

The dynamics of the content of lipids and their fatty acids in the body of honey bees is an important indicator of the functional state (the course of physiological and biochemical processes). In turn, it can, to some extent, characterize the influence of exogenous factors, in particular, the change of environmental conditions due to the use of pesticides.

The aim of this research was to study the fatty acid composition of the tissues of the thoracic and

abdominal segments of the honey bee *A. mellifera* L. under the influence of pesticides belonging to different chemical groups. Pesticides under the study: fungicide (active ingredient: tebuconazole, triazole class) and herbicide (active ingredients: desmedipham and phenmedipham, carbamate class and ethofumesate, benzofuranyl class) are classified as weakly toxic, 3rd hazard class. In an acute experiment, worker honey bees *A. mellifera* were fed with sugar syrup containing

pesticides in quantity not exceeding the value LD₅₀. The determination of the residual amount of pesticides by QuEChERS-method (2008) showed the accumulation of active ingredients in the body of bees.

At the end of the experiment, samples of bee tissues (total chest and abdominal segments) were taken; homogenization and lipid extraction were performed with a chloroform-methanol mixture. During the action of pesticides, temporary inhibition of *A. mellifera* honey bees' activity was observed. Biochemical ways of insects' response to the influence of the pesticides were evaluated during the study of the fatty acid spectrum of lipids in the tissues of the thoracic and abdominal segments of worker bees. Fatty acids composition was determined by the method of high sensitivity gas chromatography (on the gas chromatograph Trace GC Ultra" (USA) with flame ionization detector).

Using the method of high-sensitivity gas chromatography, we detected and quantitatively identified 17 fatty acids in the tissues of bees in the control and experimental groups. We observed redistribution of the content of individual fatty acids (saturated and unsaturated). Reduction of palmitic and stearic fatty

acids may indicate lower level of energetic and structural reserves of bees' organisms. The reduction of short-chain saturated fatty acids may indicate lower level of antibacterial and antifungal resistance. The content of saturated fatty acids increases mainly because of long-chain polyene fatty acids are the precursors of biologically active substances.

Differences in pesticides influence on the redistribution of ω -6 and ω -3 fatty acids characterize the effect on eicosanoids level that are synthesized in the organism under the exogenous influence. During the study, the reduction of lipids exchange intensity was determined, as the correlation value of palmitic and oleic fatty acids is reduced.

The obtained results show complicated processes of lipid metabolism in the bees' organism with the involvement of fatty acids, particularly of ω -3 and ω -6 classes, that can influence functional activity and viability of bees under the influence of pesticides.

Acknowledgments: The work was carried out within the framework of the research work, funded by the Ministry of Education and Science of Ukraine (Registration Number 0117U002548).

КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ ВМІСТОМ ПОЛІФЕНОЛІВ В ЛИСТКАХ І ВРОЖАЙНІСТЮ СОЇ

ХОДАКОВ І.В.

ДУ "ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ ТА ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ХІРУРГІЇ НАМН УКРАЇНИ", ОДЕСА;
e-mail: hodakovigor@gmail.com

Серед біологічних факторів, що впливають на врожайність сортів сої, визначаючими є інтенсивність фотосинтезу та стійкість до біотичних і абіотичних факторів середовища: УФ випромінювання, дефіцит вологи, підвищена температура, дії різних членистоногих, грибів, вірусів, бактерій. Поліфеноли листків, значну масу яких складають флавоноїди та фенольні кислоти, виконують захисну роль на основі антиоксидантних властивостей та впливу на процеси метаболізму організмів, що пошкоджують рослини. Метою роботи було виявлення кореляції між вмістом поліфенолів у листках на різних стадіях онтогенезу сої та її врожайністю.

Досліджували склад і вміст поліфенолів в листках сортів сої української селекції Берегиня, Васильківська, Данко, Сяйво і Фарватер, що були зібрані в 2013 році на дослідних полях Селекційно-генетичного інституту–НЦСС НААН України у наступних фазах вегетації: початок цвітіння, повне цвітіння, кінець цвітіння, налив бобів і початок пожовтіння листя.

Аналіз спиртових екстрактів із висушеного та подрібненого листя здійснювали методом ВЕРХ із застосуванням Prominence LC-20 Shimadzu (Япо-

нія) з С18-колонкою (Agilent Technologies Microsorb-MV-150). Ідентифікацію поліфенолів проводили шляхом порівняння часу утримання і спектральних характеристик досліджуваних речовин з характеристиками стандартів. Для аналізу кореляції використовували відомі показники врожайності вказаних сортів сої у 2007 р. (Одеська обл., жорстка посуха), 2010 р. (Крим, вологий рік), та показники максимальної врожайності за період 2005–2013 рр. в Україні на основі розрахунків коефіцієнтів кореляції Пірсона з застосуванням програми Microsoft® Excel 2010.

Найменша врожайність в зазначених роках відзначена для сорту Берегиня (0,21–3,68 ц/га), найбільша – для сорту Васильківська (0,41–4,10 ц/га) незалежно від умов вирощування. Показники врожайності в посушливому 2007 році в найбільшому ступені й з найбільшою вірогідністю корегували з сумарним вмістом поліфенолів у листі у фазі наливу бобів ($r=0,854$, $P<0,01$). Високі значення кореляції були виявлені також між врожайністю і вмістом фенольних кислот (0,822, $P<0,01$), флавонолів (0,735, $P<0,01$) та ізофлавонів (0,784, $P<0,01$).

Аналогічні показники кореляції у фазі наливу бобів для 2010 року мали менші значення відносно як до сумарного рівня поліфенолів (0,746, $P < 0,01$), так і до вмісту фенольних кислот (0,719, $P < 0,01$), флавонолів (0,587, $P < 0,05$) та ізофлавонів (0,588, $P < 0,05$). Розраховані залежності найбільш точно визначались логарифмічними рівняннями, що припускає певний максимальний рівень накопичення поліфенолів у листі, перебільшення якого може не впливати на врожайність. Найбільшою кореляція була відзначена для посушливого року, що вказує на більш тісну залежність процесів формування насіння від інтенсивності накопичення цих груп поліфенолів у фазі наливу бобів за екстремальними умовами вирощування сої.

Результати дозволяють припустити, що рівень накопичення поліфенолів у листках сої, зокрема фенольних кислот, флавонолів і ізофлавонів, у фазі наливу бобів може служити сортовою характеристикою й одним із вагомих факторів, які формують величину врожайності сортів. При цьому вміст поліфенолів в листках набуває більшого значення за менш сприятливими умовами вирощування, що вказує на адаптивну роль поліфенолів листків у фазі наливу бобів – в одній із важливих критичних фаз вегетації сої, під час якої рослини досягають максимальних показників інтенсивності фотосинтезу, сумарної біомаси й площини поверхні листя.

ВПЛИВ ЦИТРАТУ ЙОДУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ КОРІВ У ПЕРШІЙ ПЕРІОД ЛАКТАЦІЇ

ЦАП М.М., КОВАЛЬЧУК І.І., КОЛЕЩУК О.І., ХРАБКО М.І.
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ;
e-mail: mm_tsap@meta.ua

Метою досліджень було вивчення динаміки біохімічних показників крові корів у першій період лактації, за згодовування різних доз цитрату йоду.

Дослідження проведено в ДП ДГ "Пасічна" НВЦ "Соля" НААН на 15 повновікових коровах української чорно-рябої молочної породи, аналогів за віком, масою тіла, періодом лактації. У підготовчий період корів було розділено на 3 групи. Тварини I – контрольної та II і III – дослідних груп отримували основний раціон (ОР), збалансований за поживністю. У дослідний період корови II дослідної групи отримували до ОР цитрат йоду (ЦІ) з розрахунку 0,6 мг /кг сухої речовини (с. р.) раціону, а тварини III дослідної групи — ОР та ЦІ з розрахунку 0,06 мг /кг с. р. раціону. Цитрат йоду отримано методом нанотехнології ТОВ "Наноматеріали та нанотехнології", м. Київ. Додатку цитрату йоду згодовували щоденно впродовж перших 3-ох місяців лактації з добовою порцією комбікорму. Для біохімічних досліджень використовували відібрані зразки венозної крові у підготовчий (20-та доба лактації) і дослідний (60 доба згодовування добавки цитрату йоду) періоди. Отримані цифрові дані статистично опрацьовували за допомогою стандартного пакета статистичних програм *Microsoft EXCEL*. Ступінь вірогідності порівняльних даних оцінювали за коефіцієнтом Стьюдента.

Показники активності АлАТ і АсАТ трансаміназ у сироватці крові до певної міри вказують на напруженість обміну протеїнів в організмі корів. Рівень загального протеїну вірогідно зростав на 13,5 % ($P < 0,05$) в сироватці крові тварин III групи, яким згодовували ЦІ в кількості 0,06 мг /кг с. р. раціону.

Підгодівля тварин, протягом вказаного періоду досліджень, цитратом йоду з розрахунку 0,06 мг /кг с. р. раціону сприяла збільшенню у крові тварин дослідної групи вмісту альбуміну на 16,7 % та зниженню активності АсАТ на 16,6 % ($P < 0,05$). Підвищення вмісту альбуміну у крові тварин III дослідної групи може свідчити про стимулюючий ефект цитрату йоду, в даній концентрації, на інтенсивність синтезу цієї фракції протеїну в печінці корів.

У крові корів II дослідної групи, які отримували 0,6 мг /кг с. р. раціону спостерігали збільшення вмісту альбуміну на 15,1 % та загального протеїну на 2,43 %, на тлі зменшення активності АсАТ на 16,6 % ($P < 0,05$). Варто зазначити, що вірогідних змін активності іншої трансамінази – АлАТ за дії ЦІ у корів двох дослідних груп не виявлено. Очевидно, за згодовування йоду у формі цитрату підвищується інтенсивність обміну протеїнів та активуються процеси трансамінування в печінці. Встановлено у тварин II та III дослідних груп вірогідне підвищення концентрації кальцію відповідно на 13,5 % та 17,4 % ($P < 0,001$), а також неорганічного фосфору на 12,5 % ($P < 0,001$) та 11,3 %. Спостерігалася також тенденція до збільшення вмісту триацилгліцеролів і активності лужної фосфатази та зниження концентрації сечовини у крові тварин III групи.

Невстановлено зростання основного кінцевого продукту обміну протеїнів – сечовини у крові корів дослідних груп, що вказує на фізіологічну адекватність дії цитрату йоду. Рівень креатиніну в сироватці крові дослідних корів також не зазнав вірогідних змін. Очевидно, застосування ЦІ не впливає на

перебіг енергетичних процесів в міоцитах та не завдає негативної дії на функціонально-структурні характеристики м'язової та видільної систем організму.

Отже, згодовування коровам у перший період лактації цитрату йоду проявляє стимулюючий ефект на біохімічні показники крові, що більше виражено в концентрації 0,06 мг /кг с. р. раціону.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ В СПЕРМІ ЧИСТОПОРІДНИХ І ГІДРИДНИХ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ

ЦЕХМІСТРЕНКО С.І., ПОЛИЩУК С.А., ПОЛИЩУК В.М., ПОНОМАРЕНКО Н.В.,
ЦЕХМІСТРЕНКО О.С., СЕЛЕЗНЬОВА О.О., РОЛЬ Н.В.
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, УКРАЇНА;
e-mail: vitnik2007@ukr.net

Сперматогенез – циклічний процес, який контролюється центральною нервовою системою та залозами внутрішньої секреції. Важливе значення в функціонуванні сперміїв відіграє антиоксидантна система (АОС). Вона представлена позаклітинними, мембранними та внутрішньоклітинними антиоксидантами. Дисфункція АОС викликає метаболічні та функціональні зміни у клітинах гермінативного епітелію. Це в свою чергу призводить до нагромадження активних форм кисню (АФО) у спермі. Головними мішенями АФО є протеїни та ліпіди, які входять до складу статевих клітин і плазми сперми.

Метою роботи було дослідити активність ензимів АОС та вміст продуктів ліпопероксидації в спермі кнурів-плідників. Для досліджень використовували кнурів-плідників великої білої породи та спеціалізованої синтетичної лінії SS23 віком 2 роки. Матеріалом для дослідження слугували плазма сперми та цитоплазма статевих клітин.

Стан процесів пероксидного окислення ліпідів оцінювали за активністю каталази (КАТ), супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО) та за вмістом церулоплазміну, гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів.

Отримані дані свідчать про те, що перебіг процесів ліпопероксидації в організмі кнурів-плідників великої білої породи та синтетичної лінії SS23 протікають з різної інтенсивністю. У статевих клітинах кнурів синтетичної лінії вміст дієнових кон'югатів був вірогідно вищим ($P < 0,01$), порівняно з показниками у групі чистопородних тварин. Натомість концентрація вказаного продукту у плазмі сперми обох досліджуваних груп кнурів була практично однаковою.

У плазмі сперми кнурів великої білої породи зафіксовано низьку активність СОД, проте у цитоплазмі сперміїв вона була найвищою і перевищувала аналогічний показник у тварин синтетичної

лінії на 16,1 % ($P < 0,05$). Активність каталази у плазмі сперми тварин синтетичної лінії нижча на 45 % ($P < 0,001$) порівняно з показниками чистопородних кнурів. Встановлено, що низька активність каталази в статевих клітинах досліджуваних тварин компенсується високою активністю глутатіонпероксидази.

Концентрація церулоплазміну в плазмі сперми та цитоплазмі сперміїв кнурів обох порід була приблизно на однаковому рівні. Значний вміст церулоплазміну в статевих клітинах, ймовірно, пов'язаний з низькою активністю супероксиддисмутази. Між вмістом церулоплазміну та активністю каталази виявлений негативний корелятивний зв'язок ($r = -0,64$).

Ефективність захисту клітини від АФО визначається не стільки абсолютними величинами активності ензиму, скільки співвідношенням їх активностей. Співвідношення СОД/КАТ у плазмі сперми чистопородних кнурів-плідників майже у два рази менше порівняно з показниками тварин синтетичної лінії. Натомість у цитоплазмі сперми досліджуване співвідношення було на 14,8 % вищим. У сім'яній рідині коефіцієнт активності СОД/КАТ значно нижчий, ніж СОД/ГПО. Можливо, це свідчить про те, що каталаза є основним ензимом, який знешкоджує надлишок пероксиду гідрогену в плазмі сперми кнурів-плідників. Натомість у статевих клітинах основним ензимом, який знешкоджує H_2O_2 , є глутатіонпероксидаза.

Проведені дослідження з вивчення біохімічних аспектів функціонування антиоксидантної системи захисту сперми кнурів-плідників показали, що інтенсивність перебігу процесів ліпопероксидації у статевих клітинах значно вища, ніж у позаклітинному просторі. Всі компоненти АОС в нормі знаходяться у взаємокомпенсаторних співвідношеннях. Як правило, зниження концентрації чи активності одних антиоксидантів призводить до відповідних змін інших.

БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ РОДУ *ENTEROCOCCUS*, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ТРАДИЦІЙНОЇ КАРПАТСЬКОЇ БРИНЗИ

ЦІСАРИК О.Й., СЛИВКА І.М., МУСІЙ Л.Я.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: slyvka.88@ukr.net

Дослідження мікрофлори традиційних національних молочних продуктів може слугувати не тільки збереженню природних біоценозів, які формувалися упродовж століть в конкретних умовах, але й створенню бактеріальних препаратів для промислового використання. У складі таких біоценозів можуть бути бактерії, які наділені особливими технологічними і пробіотичними властивостями. Метою наших досліджень було вивчити біологічні властивості чотирьох культур роду *Enterococcus*, виділених із традиційної карпатської бринзи. Також досліджено стійкість штамів до різних груп антибіотиків та їх патогенність. Ці культури за комплексом мікробіологічних та генотипових властивостей (RAPD-PCR, RFLP-PCR, sequence 16S rRNA) попередньо були віднесені до виду *E. faecium*, оскільки за нуклеотидною послідовністю вони незареєстровані у Gene Bank. Штами отримали назву SB20, SB18, SB6, SB12 (Slyvka I., Tsisaryk O., 2015).

Дослідження включали морфологічну характеристику, забарвлення за Грамом, оптимальну температуру культивування та ряд біохімічних властивостей, зокрема, здатність продукувати CO₂ з глюкози, гідроліз аргініну, каталазну активність (традиційними методами) та спектр зброджування вуглеводів на біохімічному аналізаторі (VITEK®2 Compact, bioMérieux, Canada). Технологічні властивості оцінювали за здатністю до утворення молочної кислоти та здатністю рости у присутності 2, 4, 6,5% NaCl. Чутливість до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом. Патогенні властивості досліджували на білих мишах масою 18-20 г в умовах віварію.

Встановлено, що бактерії штамів SB20, SB18, SB6, SB12 добре росли на середовищі MRS за температур +15–45 °С, є Грам+ коками, каталазо-неактивними, не утворювали CO₂ з глюкози, гідро-

лізували аргінін. За результатами зброджування спектра вуглеводів було встановлено, що один із досліджуваних штамів відноситься до виду *E. faecium*, а решта три – до виду *E. durans*, оскільки останні зброджували аланін і тирозин, натомість не зброджували d-маніт. Кислотність знежиреного молока за 24 години ферментації зростала до 80–82 °Т, а рН знижувалось до 5,1 за внесення усіх культур, вони росли у середовищі із додаванням 6,5 % NaCl. Встановлено, що серед досліджуваних штамів більшість виявилися чутливими до широкого спектра антимікробних препаратів (макроліди, тетрацикліни, фторхінолони, цефалоспорины, нітрофурані, хлорамфеніколи, глікопептиди, полімікани, рифампіцини), за винятком аміноглікозидів (гентаміцин, стрептоміцин, канаміцин) та пеніцилінів. Природна стійкість до аміноглікозидів пояснюється тим, що у анаеробів, якими є культури роду *Enterococcus* відсутні системи перенесення цих антибіотиків через плазматичну мембрану клітини (Ботина С.Г., 2008). Стійкість до пеніцилінів можна обґрунтувати наявністю в ентерококів спеціальних ензимів, що інактивують дію пеніциліну. Стійкість до антибіотиків мікроорганізмів не є негативним фактором, але застосування таких культур для виробництва харчових продуктів є небезпечним, оскільки можливе перенесення генів антибіотикостійкості до нормофлори людини. За результатами дослідження патогенності штамів виду встановлено, що всі досліджувані мікроорганізми є авірулентними, нетоксичними і нетоксигенними для піддослідних тварин.

Таким чином, штамів SB20, SB18, SB6, SB12 в перспективі можуть бути використані як стартерні культури у складі бактеріальних препаратів, оскільки є біологічно безпечними та наділені важливими технологічними властивостями.

ОТРИМАННЯ ПОПЕРЕДНИКІВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ПЕПТИДІВ ІЗ МОЛОКА КОРОВИ В НАТИВНИХ УМОВАХ

ЮКАЛО В.Г.

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ПУЛЮЯ, УКРАЇНА;
e-mail: biotech@tu.edu.te.ua

До основних попередників біоактивних пептидів у коров'ячому молоці відносяться чотири фракції протеїнів казеїнового комплексу (альфаS1-казеїн, альфаS2-казеїн, бета-казеїн і капа-казеїн), а також три фракції протеїнів сироватки молока (бета-лактоглобулін, альфа-лактальбумін, альбумін сироватки). З цих протеїнів у результаті обмеженого протеолізу може звільнитися більше 300 пептидів, які впливають на нервову систему (казоморфіни, казоксини, лакторфіни), серцево-судинну систему (казокініни, казоплателіни, лактокініни), травну систему (фосфопептиди, регулятори моторики, глікомакропептид), імунну систему (імуномодуляторні та антимікробні пептиди). Враховуючи фракційну специфічність розміщення, для отримання біоактивних пептидів певної дії необхідно використовувати гомогенні протеїни – попередники. Існуючі методи виділення багатостадійні, довготривалі і приводять до змін будови і складу протеїнів.

Метою роботи було виділення гомогенних попередників біоактивних пептидів із коров'ячого молока в нативних умовах. Для виділення використовували свіже знежирене коров'яче молоко. Аналітичний електрофорез проводили в пластинках поліакриламідного гелю (ПАГ) в апараті типу Стадієра. Склад протеїнів сироватки молока аналізували в системі диск-електрофорезу Девіса для кислих і нейтральних протеїнів. Протеїни казеїнового комплексу аналізували в анодній системі однорідного ПАГ в присутності сечовини. Кількісний аналіз електрофореграм, а також аналіз на гомогенність протеїнових фракцій проводили на

основі денситограм, побудованих із використанням функції зчитування графічних зображень *imread*. Гель-фільтрацію протеїнів молока проводили на колонках із набору для рідинної хроматографії фірми "Reanal".

У результаті проведених досліджень, на першій стадії було виділено протеїни казеїнового комплексу осадженням в ізоелектричній точці (рН 4,6), що відображає фізіологічний процес під час травлення молока в шлунково-кишковому тракті. На наступній стадії окремо проведено фракціонування казеїнів і протеїнів сироватки молока. Для одностадійного фракціонування малих кількостей (до 200 мг) цих груп протеїнів пропонується препаративний електрофорез в модифікованому апараті Стадієра. При цьому було використано адаптовану систему Девіса (для протеїнів сироватки) і анодну систему однорідного ПАГ для казеїнів. У результаті отримано всі основні протеїни – попередники біоактивних пептидів з високим ступенем гомогенності (90–97 %). Для фракціонування більших кількостей (до 4 г) протеїнів пропонується повторна гель-фільтрація на колонках із сефадексами G-150 (казеїни) і G-100 (протеїни сироватки) з розділенням хроматографічних піків на сектори перед другою гель-фільтрацією. Такий підхід дозволив отримати три фракції казеїнів (альфаS1-казеїн, бета-казеїн і капа-казеїн), бета-лактоглобулін та імуноглобуліни з відсотком гомогенності від 75 до 95. Запропоновані методики можуть бути використані під час виділення та дослідження біоактивних пептидів.

ПОЛІФЕНОЛЬНИЙ КОМПЛЕКС ВЕГЕТАТИВНИХ ОРГАНІВ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ *VACCINIUM CORYMBOSUM L.*

ЯВОРСЬКА Н.Й., ВОРОБЕЦЬ Н.М.

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, УКРАЇНА;
e-mail: yavorska.natali@gmail.com

Фенольні сполуки – найбільш поширені і численні в тканинах вищих рослин представники вторинного метаболізму. Вони приймають участь в основних процесах життєдіяльності рослинних клітин: фотосинтезі, диханні, формуванні клітинних стінок, а також у захисті від дії стресових факторів

біотичного та абіотичного походження. Рослинні поліфеноли знаходять широке практичне застосування завдяки високій біологічній активності, успішно використовуються в медицині та фармації як речовини з антисептичною, антиоксидантною, протипухлинною, кардіотонічною, спазмолітичною,

гіпотензивною, седативною, гепатопротекторною, кровоспинною, жовчогінною дією. Ці властивості, а також розчинність у воді обумовлюють використання фенольних сполук в медицині та біології. Антиоксидантна та протизапальна дія поліфенолів досі є малодослідженою у сільськогосподарських тварин, для яких поліфеноли можуть стати перспективними кормовими добавками в харчуванні (Gessner DK et al., 2017). Цінним джерелом антиоксидантів та інших біологічно активних речовин є лохина високоросла *Vaccinium corymbosum* L., яка характеризується високою здатністю до утворення вторинних метаболітів, головним чином фенольної природи.

Метою даної роботи є дослідження поліфенольних сполук вегетативних органів лохини високорослої в процесі вегетації: флавоноїдів, дубильних речовин, проантоціанідинів.

Досліджували водні та водно-етанольні екстракти (20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 96 %) повітряно-сухих пагонів лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.) сорту Elliott, які готували методом мацерації за ДФУ (1:10/маса:об'єм). Збір рослинного матеріалу проводили у фенологічні періоди: цвітіння, початку плодоношення, підготовки до зимового фізіологічного спокою.

Сумарний вміст фенолів визначали за модифікованою методикою з реагентом Фоліна-Чіокалтеу (Singleton, Rossi, 1965); загальний вміст флавоноїдів – за методом описаним Ozsoy et al. (2008) з незначними модифікаціями; вміст проантоціанідинів – за методикою описаною Chang et al., 2002.

Спостерігали зміну рівня фенольних сполук протягом різних періодів вегетації рослин. У весняний період у пагонах лохини спостерігали максимум флавоноїдів і найменше їх значення зафіксували у зимовий період. Для періоду плодоношення характерним було зростання вмісту проантоціанідинів, дубильних речовин на фоні зростання сумарної кількості фенолів. Суттєве зростання загального вмісту фенольних сполук та високий рівень вмісту проантоціанідинів було відмічено в осінньо-зимовий періоди.

Таким чином, у наших дослідженнях спостерігалась сезонна динаміка поліфенольного складу пагонів лохини високорослої з максимальним значенням флавоноїдів у весняний період та стабільно високими показниками проантоціанідинів і дубильних сполук в осінньо-зимовий період. Очевидно, виявлені закономірності можна враховувати при одержанні поліфенолвмісної сировини для використання у якості антиоксидантів.

**ПІДВИЩЕННЯ ОБІЗНАНОСТІ З ПРОБЛЕМ
«ПОДВІЙНОГО ВИКОРИСТАННЯ»: ДОСВІД УКРАЇНИ**

ГЕРГАЛОВА Г.Л., КОМІСАРЕНКО С.В., МАКСИМОВИЧ Я.С.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: fanik2011@yahoo.com

Дослідження проблем «подвійного використання» та все більша доступність знань, технологій і матеріалів ймовірного «подвійного використання», особливо в галузі медико-біологічних досліджень, є одними з основних викликів для сучасного суспільства. На жаль, в Україні на сьогодні недостатньо уваги приділяється висвітленню важливості цієї проблематики. Таким чином, питання біобезпеки, біозахисту, «подвійного використання» є актуальними для наукової спільноти України. Освіта з вказаних питань спрямована на підвищення обізнаності й відповідальності науковців та має проводитися на всіх рівнях – від навчальних установ до академічних інститутів та виробничих закладів. Така освіта є одним зі шляхів зменшення ризиків та запобігання неналежному використанню досягнень науки та технології. Впровадження новітніх навчальних програм та сучасних міжнародних підходів до навчання з питань біозахисту, біобезпеки, біоетики в українських вищих навчальних закладах стали основною метою партнерського проекту УНТЦ Р633 «Освіта та підвищення обізнаності в Україні». Цей проект виконувався командою Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України за фінансової підтримки Міністерства оборони Великобританії та здійснювався у тісній співпраці з університетом Бредфорда (Великобританія).

У рамках виконання проекту створений та продовжує підтримуватися Інтернет-сайт (<http://bsseducation.com.ua/>), який надає можливість для активного спілкування зацікавлених українських фахівців, обміну досвідом, розповсюдження кращих світових методик та підходів із проблематики викладання питань з біобезпеки, біозахисту, «подвійного використання», біоетики. Крім того, на сайті розміщено офіційні міжнародні документи й матеріали з вказаної проблематики та їх український переклад.

У рамках реалізації проекту було розроблено навчальний модуль з біобезпеки, біозахисту та біоетики й відповідні допоміжні навчальні матеріали. Навчальний модуль та додаткові матеріали були представлені й обговорені на дев'яти регіональних семінарах та трьох міжнародних симпозиумах. Зазначені документи отримали підтримку Міністерства освіти і науки й Міністерства охорони здоров'я України. Загалом до участі у проекті Р633 було залучено 40 вищих навчальних закладів України медико-біологічного профілю (біологічні, медичні, аграрні), фахові наукові та виробничі установи. На сьогодні 25 вищих навчальних закладів України підтвердили включення освітнього модуля «Біобезпека, біозахист та біоетика» в навчальні програми підготовки спеціалістів та магістрів. Дев'ять вищих навчальних закладів підписали довгострокові угоди з Інститутом біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України про подальшу співпрацю у цій сфері.

Результати проекту (досвід України) були представлені на зустрічах держав-учасниць Конвенції про заборону біологічної та токсинної зброї у місті Женева (Швейцарська Конфедерація). Міжнародні експерти високо оцінили зусилля українських фахівців у сприянні підвищенню обізнаності з питань біобезпеки, біозахисту та проблематики «подвійного використання» й наголосили на необхідності розповсюдження досвіду України серед зацікавленої міжнародної спільноти.

Проект Р633 має продовження – з використанням розроблених матеріалів створено навчальний курс для підготовки аспірантів медико-біологічного напрямку, проводяться тренінги для науковців усіх рівнів, продовжується спілкування та підтримка фахівців, які були залучені до виконання проекту, ведеться робота зі створення тренінгового центру.

MODERN CLINICAL DIAGNOSTICS TRENDS AND RELATED SOFTWARE SOLUTIONS COMPREHENSIVE MARKET ANALYSIS EXPLORING FOR SCIENTIFIC RESEARCHES AND IMPROVEMENTS

LUPAK M.V., STADNYK V.V.
ISD INFORMATION SYSTEMS, LVIV/DNIPRO
e-mail: vist@isd.dp.ua

The world of competition for technical advantage, image, efficiency, customer service and pricing, each laboratory face with necessity to develop a strategy that fits institutional strengths, competencies and internal resources to implement the most optimal solutions for future existence. It involves applying resources to manage information and use highly integrated laboratory information systems. New technologies and the ability to interpret and introduce test results are the key elements that can differentiate services as regular education, attracting and retaining skilled professionals are important for maintaining the marketing competencies of the healthcare providers. Complex analysis of authoritative sources and proper assessment of statistical indicators will help to evaluate opportunities, determine goals and methods to create an appropriate strategy.

The aim of the work was to determine the main trends in clinical diagnostics and estimate laboratory information management systems market.

Research and statistical data analysis methods: comparative content-analysis of analytical and literary data.

Results: Active and effective application of point-of-care testing caused increase the application of molecular diagnostics methods which respectively created the conditions for the rapid evolution of this domain and appearance of new techniques and technologies as well as software for a proper data processing.

Global molecular diagnostics market size during 2017-2019 years increased from \$6.6 to \$7.7 billion that allows making a prediction of further growth over the next 5 years. The most rapid growth can be predicted for clinical molecular diagnostics market segment. There is also expectations of some growth in blood donor screening market. In 2017 infectious disease testing occupied the largest part of the global molecular diagnostics market and will remain a key

driver of growth. Another major molecular diagnostics market growth area is expected to be taken by the oncology segment, because of the adoption of next-generation sequencing (NGS)-based cancer panels and the field of liquid biopsy. Revolution in NGS technologies development absolutely modified general molecular diagnostics approach and will displace some of the conventional PCR and traditional sequencing methods used for genetic diseases and cancer. The shortage of surgical pathologists is reported in the U.S., U.K., Canada, so the digital pathology will become a necessary solution next several years. Laboratory information system vendors make serious investments in these areas, providing complex solutions for molecular and genetic testing. The most popular hospital and laboratory information systems vendors are: Epic, MEDITECH, Cerner, Allscript and other. The study covers the assessment of disadvantages and benefits to orient in a field of laboratory information system market.

Conclusions: Practical application of molecular diagnostics methods can be difficult, due to the complexity of the involved analysis, but these challenges could be resolved by integration with advanced information technology, data analytic methods and appropriate software. The ability to collect, store and analyze a lot of rapidly increasing diagnostics data, particularly with gene sequencing tests, is an ongoing challenge. Laboratory systems must have enough power to process and analyze these huge volumes of information. Another key challenge is the necessity of data standards that would speed the interpretation of these complex genomic data sets and make the results relevant for specific patients. This task is further complicated by the fact that the patient's medical record is often in many unconnected places, whether in multiple out-patient offices, multiple hospitals, or multiple pharmacy systems.

BIOSAFETY AND BIOSECURITY ISSUES IN UKRAINE

MAKSYM OVYCH I., GERGALOVA G.

PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

e-mail: slavamaks@gmail.com

Biosafety and biosecurity are one of the most important components of the national security. Biosafety in the general sense of the world covers a wide range of problems linked to possible biothreats. Solution of such problems should minimize all biological threats that exist or may arise in our country.

For the control of human/animal and plant diseases Special Services are organized in our country including Public Health Center and State Service of Ukraine on Food Safety and Customer Protection.

Except government services, the non-government organization are developed including Ukrainian Biosafety Association in founded in 2013 National Academy of Sciences, National Academy of Medical Sciences and National Academy of Agrarian Sciences.

Ukraine attaches great importance to the development of cooperation and assistance in the biosafety/biosecurity sphere. In 2005 Ukraine and USA signed the Biological Threats Reduction Agreement which envisaged the enhancement of disease surveillance, upgrade several Ukrainian facilities where especially dangerous pathogens are handled and stored. National Academy of Sciences of Ukraine including Paladin Institute of Biochemistry with support of foreign partners organized and conducted in Ukraine a few important International scientific conferences on biosafety and biosecurity. Paladin Institute of Biochemistry is also strongly involved in promoting biosafety and biosecurity education, and on dual-use and bioterrorism awareness-raising via several international projects financed by the European Union and the UK.

Unfortunately, in spite of all above mentioned, status of biosafety and biosecurity in Ukraine has been gone down because of many factors.

The absence of state authority and programme for biosafety and biosecurity is a fundamental issue.

The Ministry of Health of Ukraine has developed the Strategy for ensuring biosafety and biosecurity under One Health to 2025, but this document is not approved by the Ukrainian Government. Another problem is a reformation of the governmental agencies responsible for the epidemiological surveillance.

Ukrainian legislation on biosafety and biosecurity also needs a lot of changes including current classification of human and animal pathogens. The current Ukrainian legislation on biosafety and biosecurity is based on the old Soviet rules and guidelines and is outdated. Some important guidelines on biosecurity were canceled and a serious gaps in biosecurity were provoked. The weakest points of the current Ukrainian legislation involve the complete absence of a systematic approach for biosafety and biosecurity in the laboratories, productive establishments and in the objects of obligatory inspection and control.

Another big issue is a biosafety and biosecurity education. The separate courses on bioethics and biosafety exist in current curriculums for life sciences students, but courses' durations as well as the syllabi are totally different and do not cover a lot of very important topics. In addition, training on biosafety and biosecurity are not included in the postgraduate education curriculums. Very often, the principles of biosafety and biosecurity are first introduced and incorporated into on-the-job training.

However, National Academy of Sciences of Ukraine including Paladin Institute of Biochemistry have possibility to contribute in the improvement of biosafety and biosecurity continuing efforts on education and awareness-raising, providing scientific expertise, promoting best practices of biorisk management for the safe laboratory work when the hazardous biological materials are handled.

THE APPLYING OF THE SITUATIONAL ANALYSIS METHOD IN THE TEACHING THE CLINICAL BIOCHEMISTRY

INSHYNA N.M., HREBENYK L.I., PRIMOVA L.O., CHORNA I.V.
SUMY STATE UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: n.inshina@med.sumdu.edu.ua

The analysis of considerable experience in teaching biochemistry and clinical biochemistry in higher medical educational institutions allows us to state confidently that in case of the purely traditional approach to the organization of the teaching process most of the students have some doubts about the necessity to study these disciplines. Changing views for the preparation to the future profession of today's youth and the rapid development of information technologies are becoming the generator of the new challenges for teachers in higher medical education institutions.

The authors of the paper, taking into account the necessity to revise methodological approaches to the teaching, developed and tested a new course of clinical biochemistry, the basic principles of which were: the situational analysis, the method of edutainment and the usage of open online resources. The peculiarity of the proposed pedagogical approach is that at each practical lesson, the theoretical material studied by the students is discussed on specific examples (case studies), which describe the real clinical situations. Each case contains information on the anamnesis data and the results of patients' biochemical blood and urine tests. Based on these data, students assess metabolic changes in the body, suggest additional diagnostic methods and substantiate the possible diagnosis. The method of edutainment is used

during practical classes while discussing the results of the cases self-study. Students are divided into 3 teams: speakers, reviewers and opponents. The task of the speakers is to maximize the coverage of the case. Reviewers evaluate the correctness of the tasks and if it is necessary, they supplement the response of the previous team. Opponents evaluate the work of speakers and reviewers, ask questions to the participants of both teams and make generalizations and conclusions. Students' teamwork contributes to the development of communicative skills and provides the creation of an emotionally comfortable atmosphere in the class.

It was conducted a questionnaire for students in order to evaluate the developed course of clinical biochemistry. More than 80% of respondents noted that case-method is effective in the study of clinical biochemistry because it increases interest in studying this discipline, develops the ability to apply the acquired theoretical knowledge in practice, contributes to the formation of clinical thinking and provides the development of teamwork skills.

The authors of pedagogical development are convinced that the introduction of new methodological approaches to teaching clinical biochemistry provides additional motivation of students to learning and creates conditions for the personality development of the future physician.

EDUCATION PROGRAM IN BIOCHEMISTRY: TOWARDS TIME REQUIREMENTS

LUSHCHAK V.I.
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY,
VASYL STEFANYK PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY, IVANO-FRANKIVSK
e-mail: lushchak@pu.if.ua

Development of modern biochemistry requires a major restructuring of the system of training of relevant specialists. Extensive use of bioinformatics and other computer-related approaches, with the need for early integration of young professionals into the international scientific environment through mobility and

development of skills for self-education and leadership are the main modern challenges to provide systematic education. Our experience in Ukraine and many foreign universities shows that, in addition to fundamental theoretical and experimental training in biochemistry and related sciences, the following key

skills are required to successfully integrate young professionals in international teams: fluent communication in English at theoretical courses and laboratories, preparation and submission of scientific projects. Based on the Law of Ukraine "On Higher Education" (2014), we have developed and implemented within the specialty of "Biology" an educational program "Biochemistry" at the bachelor's (four years) and master's (one and half year) levels that meet the standard requirements of the Ministry of Education and Science of Ukraine and foreign general educational system/strategy. There are several features of training of biochemists at the Precarpathian National University: teaching of students in small

separate group throughout the education cycle, clear logical sequence of courses, intensive English language training, including special courses, and engaging students to research from the first year. Successful combination of academic and scientific work and the ability of a certain number of students to work in English-speaking environment, both in theoretical classes and in laboratory, are important results of such approach. Our students are extensively involved in international cooperation, organization of summer schools, and realization of research projects.

Satellite Workshop: Improving Biochemistry Teaching and Scientific Training

USE OF VISUAL AIDS IN TEACHING BIOLOGICAL CHEMISTRY AS MEANS OF EFFECTIVE EDUCATION

SKOROBOGATOVA Z.M., STASHKEVICH M.A., MATVIYENKO A.G.

*L.M. LITVINENKO INSTITUTE OF PHYSICAL-ORGANIC CHEMISTRY AND COAL CHEMISTRY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: skorobogatova.z@gmail.com*

Medical education is mostly aimed at improving the quality of highly qualified doctors training. Among the fundamental disciplines taught at the higher education medical institutions the essential role belongs to biological chemistry. Its achievements are increasingly integrated into other medico-biological sciences as well as clinical disciplines. As for the development rates, publications number, achievements' significance and their importance for laying the foundation of applied medicine, the biochemistry is on top among the rest of medico-biological sciences. For this reason the problems of course content choice, ways of teaching and explanation of complex biochemical transformations studied by medical students, become particularly acute.

Retention and efficiency of course content learning are known to depend on various sensual experience which is translated into a most important didactic principle of visualization. Implementation of the principle stimulates students' cognitive activity, promotes the shaping of their medical judgment based on understanding the molecular basis of norm and pathology. Use of visualization principle in educational process contributes to the development of students' scientific and imagery thinking, allows to specify the theoretical questions under study, creates opportunities for simulation of certain processes and phenomena which cannot be naturally observed, systematizes and classifies the phenomena which are studied, into schemes, tables and drawings and, in general, enhance educational and cognitive activity of would-be physicians.

Based on long-term pedagogical activity and experience of teaching biological chemistry in M. Gorky DNMU as well as in O.O. Bogomolets NMU, we have developed a set of visual aids materials (presentations) for second-year students of the higher education medical institutions. First of all it includes color schemes of the main metabolic ways which are studied in the academic course of biochemistry. These visual aids materials allow to gradually guide the first-year medical students during a year-long training at the department through "jungles" of chemical formulas to understanding of a key postulate: "The chemical structure of compounds define their physical and chemical properties, while the properties define their biological function". Application of visual-illustrative material in teaching such a difficult subject as biochemistry has a number of advantages: easy digestion of new material, development, consolidation and specification of the information already available; substantial information capacity reached by pictorial representation of the objects under study, as well as improvement of professional skills of young teachers-biochemists. We hope such experience can be helpful in teaching bio-organic and biological chemistry in Ukrainian higher education medical institutions.

АЛФАВІТНИЙ ПОКАЖЧИК

- А**
АБДУЛХАДІ МОХАММАД 220
АБРАТ О.Б. 86
АЃСА С.А. 140
АДАШЕК Л. 325
АКОПЯН Г.Р. 224
AL-BADU L.-E.N. 92, 189
АЛЕКСАНДРОВ А.В. 58
ALEXEYEVА I.V. 37
ALEXEYEVА A.A. 111
АЛЬДАХДУХ В.А.Р. МОТАСИМ 220
АЛЬОХІНА С.М. 225
АМІРХАНОВ В.М. 266
АНДРЕЙЧИН М.А. 154, 197
АНДРІЄВСЬКИЙ О.М. 123
АНДРІЙЧУК Т.Р. 59
АНДРУСИШИН А.В. 283
ANDRUSYSHYN T.V. 178
АНДРУСИШИНА І.М. 15
ANLONG XU 5
АНОПРІЄНКО О.В. 16
АНТОНІО С.І. 259
ARISTOVA D.I. 260
ARNAUTA O.V. 92, 189
АРХИПОВА В.М. 260
АРКНУРСНУК І.В. 155
АСМОЛКОВА В.С. 174
АФАНАСЬЄВА К.С. 16
- Б**
БАБІЙЧУК Л.О. 112
БАВІУСНУК Л.А. 91
БАБІЧ Л.Г. 16, 44, 54
БАЙЛЯК М.М. 60, 84, 86, 176
ВАУЛЯК М.М. 65
БАЛАНДА А.О. 226
БАЛАЦЬКИЙ В.А. 176
БАЛАЦЬКИЙ В.В. 261
БАЛІНТ Л.І. 128
БАНДАС І.А. 156
BARANNIK T. 60
БАРИЛЯК Р.В. 61
БАСАРАБ Я.О. 118
ВАТУУК L.V. 17, 33
БАЦМАНОВА Л.М. 295
VASHINSKAYA N. 83
БДЖОЛА В.Г. 192, 226
BDZHOLA V.G. 167, 234
BEVZA O.V. 292
БЕДЕНЮК О.С. 157
БЕЗКРОВНА Л.Я. 314
BEZRODNYI B.G. 241
BELYAEVA T.O. 267
BENTSIONOVA K.I. 266
БЕРДИШЕВ А.Г. 158, 200
VEREST V.P. 17
БЕРЧЕНКО О.Г. 238
BESCHASNYI S. 158
БІЛА І.І. 19
БІЛА О. 62
БІЛЕЦЬ М.В. 63
BILETSKA H.V. 95
- БІЛОШЕНКО К.С. 191
БІЛУЩАК Г.І. 171
БІЛЯВСЬКА Л.О. 209, 288
BLAZHCHEKHO V.V. 186, 187
BLOKHINA O.G. 159
BLUME YA.B. 104
BOBETSKA O.P. 186, 187
BOBRYTSKA O.M. 296
БОДНАР Я.Я. 151
BODNAR O.I. 178
БОДНАРЮК Н.І. 190
БОЖКОВ А.І. 160, 191
БОЙКО С.М. 262
БОЙКО Ю.А. 183
БОЙЧУК А.В. 197
BONDAREVA A.V. 161
БОНДАРЕНКО Н.В. 220
БОНДАРЕНКО Т.П. 263
BONDARENKO M.A. 33
БОНДАРЧУК Т.В. 38
BONDARCHUK T.V. 18, 30
BORETSKY Y.R. 289
БОРЗОВА Н.В. 263
БОРИС Ю.Б. 71
БОРИСОВА Т.А. 40
BORISOVA T. 202
BORISOVA T.O. 182
БОРЩОВЕЦЬКА В.Л. 190
БРАЗАЛУК О.З. 216
BRAZALUK O.Z. 184
BROVKO O.O. 294
БРОДЯК І.В. 19, 87
БРЮХАНОВА Т.О. 162
БУДНЯК О.К. 123
БУЛАНЧУК О.М. 288
БУЛАНЧУК Ю.М. 288
BULDENKO V.M. 20
БУЛИГІНА Т.В. 21
BULYHINA T.V. 20
BURDLIUK N. 90
BURDYLIUK N. 137
BURKETOVA L. 92, 153
БУРЛАКА Ю.Б. 163
БУРМАС Н.І. 64
БУРЯЧЕНКО С.В. 164
BUSKO P.B. 40
БУТЕНКО Н.В. 84
BUTENKO N.V. 65
БУХОНСЬКА Я.К. 303
BUKHONSKA Y. 65
БУЧКО О.М. 66
BUYAK H.B. 143
- В**
VAVERS E. 182, 202
ВАГІНА І.М. 201
VAKAROV S. 165
VAKAROV S.V. 54
ВАРБАНЕЦЬ Л.Д. 21
VARENIUK I. 173
VARZATSKII O. 165
ВАСЕНКО Т.Б. 149
- VASYLEVSKA V.M. 212
VASYLYEVA I.M. 233
ВАСИЛЬЧЕНКО В.С. 198
VASYLCHENKO V.S. 155
ВАСІНА Л.М. 295
VDOVIN V.S. 234
ВЕКЛІЧ Т.О. 40, 67
VELYNSKA A.O. 325
VELIKY M. 253
VELIKY M.M. 165, 204
VEREVKA S.V. 22
ВЕРХІВКЕР Я.Г. 317
ВЕСЕЛЬСЬКИЙ С.П. 147
ВИНОГРАДОВА К.Г. 166
ВИНОГРАДОВА Р.П. 180
ВИШНЕВСЬКА Н.Ю. 154
VYSHNEVSKY S.G. 20
ВІЛЕЦЬКА Ю.М. 115
ВІННІКОВ А.І. 68
ВІНЯРЧИК С. 325
ВІСЛОВУХ А.А. 38
ВЛІЗЛО В.В. 194, 316
ВОВК Т.Б. 101
VOVK A.I. 20, 254, 276
VOVK M.V. 47
VODOPYANOVA L.A. 296
ВОЙТЕШЕНКО І.С. 147
VOITSITSKIY V.M. 69
ВОЛИНЕЦЬ Г.П. 192, 226
VOLYNETS G.P. 167, 260
ВОЛОДИНА Т.Т. 168
VOLODINA T. 77
VOLOCHNYUK D.M. 204
VOLOSHIN Y.Z. 54
ВОЛОЩЕНКО М.В. 109
ВОЛОЩУК Н.І. 169
ВОЛОЩУК О.М. 70
ВОЛЬВАЧ Г.М. 278
ВОЛЬСЬКА А.С. 253
VOLIUVACH O.V. 267
ВОРОБЕЦЬ Д.З. 61, 71
ВОРОБЕЦЬ З.Д. 247
VOROBETS Z.D. 36
ВОРОБЕЦЬ М.З. 71
ВОРОБЕЦЬ Н.М. 61, 330
ВОРОНА С.О. 305
ВОРОНКОВА О.С. 68
ВОРОНКОВА Ю.С. 170
ВОРОШИЛОВА Н.М. 163
VOROSHYLOVA N.M. 22
ВУДМАСКА І.В. 297, 299, 316, 322
- Г**
ГАБОР Г.Г. 214
ГАБОР М.Л. 108
ГАВІЙ В.М. 298
ГАВРИЛОВ І.О. 170
ГАВРИЛЯК В.В. 66, 171
ГАЙЛЕВИЧ Е.О. 119
ГАЙСАК М.О. 205, 250
ГАЛЕНОВА Т.І. 246

- HALENOVA T.I. 264
 HALYNIAK O.V. 178
 ГАЛИЦЬКИЙ В.А. 71
 ГАЛКІН М.О. 40
 ГАЛЬКО Т.І. 301
 ГАНУСОВА Г.В. 72
 GAPON A.A. 122
 ГАПОНЕНКО Я.Ю. 172
 GARMANCHUK L.V. 27, 133
 HARMATINA O. 73
 HASIUK O. 158
 ГАЧКОВА Г. 322
 GERASHENKO D.S. 133
 ГЕРАЩЕНКО Г.В. 201
 GERASHCHENKO G.V. 74
 ГЕРГАЛОВА Г.Л. 332
 GERALOVA G. 334
 ПИТТЕР Л.М. 205
 GLAVIN O.A. 74
 GLADKA N.I. 301, 319
 ГЛАДКИЙ Т.В. 213
 GNATYSHYNA L.L. 23, 48, 144, 173
 ГНАТЮК О.С. 75
 ГОВОРУН Д.М. 34
 ГОЙВАНОВИЧ Н.К. 116
 ГОЛОБОРОДЬКО Є.Є. 58, 195
 ГОЛОВА Н.В. 297, 299
 HOLOTA YU. 173
 ГОЛУБКА О.П. 205, 250
 GONCHAR M.V. 265
 GONCHAR O.O. 76
 GONCHAROVA-PIERZYNOWSKA K. 248
 HORAK I. 77
 HORAK I.R. 133
 ГОРАЛЬСЬКИЙ Л.П. 302
 GORBATIUK O.B. 266
 GORBACH T.V. 243
 HORBULINSKA A.V. 117
 ГОРДІЄНКО О.І. 24
 ГОРДОВСЬКА Н.В. 272
 ГОРЄЛОВА О.І. 309
 ГОРИН О.І. 25
 HORYN O.I. 143, 173
 ГОРІДЬКО Т.М. 174
 ГОРІЛА М. 175
 ГОРНИЦЬКА О.В. 41
 GORSKI A. 53
 GORSHKOVA O.G. 267
 ГОСПОДАРЬОВ Д.В. 84, 86, 176
 GOSPODARYOV D.V. 65
 ГРАБОВСЬКА О.І. 77
 ГРЕБЕНИК Л.І. 176
 НРЕВЕНУК Л.І. 335
 ГРЕБІНИК А. 281
 ГРЕБІНИК А.Г. 266
 GREBINYK D.M. 159
 ГРИГА В.І. 234
 ГРИГОР'ЄВА М.В. 177
 ГРИНЕНКО Т.В. 26, 31, 56
 ГРИНЧАК Н.М. 78
 ГРИНЮК І. 281
 ГРИНЮК І.І. 266
 ГРИЦУК О.І. 79
 ГРИШКОВА А.Ю. 121
 ГРИЩЕНКО В.А. 300
 HRYSHCHENKO N. 83
 GRINENKO T.V. 122, 140
 ГРОМОВИЙ Т.Ю. 15, 160
 GRUBINKO V.V. 178
 ГРУЗИНА Т.Г. 287
 GRUSHANYK N. 80
 ГРУШКІВСЬКИЙ Є.В. 291
 GUBINA-VAKULYCK G.I. 243
 HUDZ IE.A. 80
 ГУДЗЕНКО О.В. 263
 GUDZENKO T.V. 267
 ГУДЗЕРА О.Й. 192
 ГУДИМА В.Ю. 297, 299
 ГУДКОВА О.О. 81
 GUDKOVA O. 77
 ГУЗИК М.М. 242
 GUZYK M. 202
 GUZYK M.M. 140, 257
 ГУК М.Т. 197
 ГУЛА Н.М. 158, 174, 200
 HULA N.M. 141
 ГУЛЕВСКИЙ А.К. 82
 GULKOVSKIY R. 83
 GUMENYUK V.P. 93
 GUMIENNA-KONTECKA E. 54
 ГУНЧАК А.В. 308, 323
 ГУРЗА В.В. 84
 ГУРМАЧ В.В. 272
 HURSKII A.L. 92
 ГУТ І.Т. 13
Д
 DAVYDOVA N.V. 179
 ДАВИДОВСЬКА Т.Л. 147
 ДАДЛЕЗ М. 38
 DADLEZ M. 18
 DAMBROVA M. 182, 202
 ДАНИЛОВА В.М. 177, 180
 ДАНИЛОВИЧ Г.В. 84
 ДАНИЛОВИЧ Ю.В. 84
 ДАНИЛОВСЬКИЙ С.В. 105
 DANILCHENKO S.N. 268
 ДАНКЕВИЧ Л.А. 85
 ДАНЧЕНКО М.М. 301
 ДАНЧЕНКО О.О. 301
 DANCHUK V.V. 69
 ДАЩЕНКО А.В. 314
 DVORSHCHENKO K.O. 159
 ДЕМ'ЯНЧУК О.І. 86
 ДЕНИСЕНКО Н.В. 236
 DENYSOVA O.M. 301, 319
 DEREVYANCHUK M. 65
 ДЗИДЗАН О.В. 87
 ДЗЮБЕНКО Н.В. 148, 272
 DZYUBENKO N. 173
 ДЗЯДЕВИЧ С.В. 6, 260, 287
 DZYADEVYCH S. 284
 ДИБКОВА С.М. 287
 ДИЧКА Л.В. 181, 250
 ДІДИК О.К. 106
 DIDKIVSKIY V.A. 27
 ДМИТРИК В.В. 88
 ДМИТРУК К.В. 325
 DMYTRUK K.V. 289
 ДМИТРУК О.В. 325
 ДМУХАЛЬСЬКА Є.Б. 88
 DOVBAN O.O. 182
 DOVBYNCHUK T. 173
 ДОЛГІХ Г.В. 89
 DOMINA E.A. 74
 ДОСЕНКО В.Є. 200
 DOSENKO V.E. 27
 DRANITSINA A.S. 159
 ДРАННИК Г.М. 228
 DRAPAILO A.B. 20, 254
 ДРОБОТ Л. 281
 DROBOT L. 77
 DROBOT L.B. 6, 133
 DROBOTKO T.V. 122
 DRUVIETIS I. 144
 ДУБЕЙ І.Я. 28, 35
 DUBEY I.Y. 37
 DUDARENKO M.V. 182
 DUDEY I.YA. 294
 ДУНАЄВСЬКА О.Ф. 302
 ДУНІЧ А.А. 314
 ДЬОМШИНА О.О. 194
 ДЯКУН К.О. 242
 DYAKUN K.O. 257
 ДЯЧЕНКО В.Д. 277, 278
 DIACHENKO L.M. 27
Е
 ЕБЕРЛЕ Л.В. 183
 EL'SKAYA A.V. 18, 294
Є
 YEVSSTAFEVA O.Y. 184
 ЄРШОВА Н.А. 132
 ЄСИПЕНКО О.А. 44, 54
 ЄФІМЕНКО Н.В. 185
Ж
 ZHABINSKII V.N. 92
 ZHEGUNOV G.F. 301
 ЖЕЛТОВСЬКА Н.І. 251
 ЖИЛЮК В.І. 222
 ZHYLIUK V.I. 193
 ЖИМСКИЙ П. 25
 ЖИР Є.А. 303
 ZHYRSKA H.Y. 144
 ЖИРЯКОВА І.О. 146
 ЗНОНА В. 110
 ЖОЛОБАК Н.М. 291
 ЖУКОВ І.Ю. 45
 ZHUKOV V.I. 161
 ЖУКОВА Д.А. 8, 32
З
 ZABELINA I.A. 95
 ZAV'YALOV V.P. 7
 ЗАГАЙКО А.Л. 109, 162, 170
 ЗАГРОДСЬКА Л.В. 220
 ЗАДЕРЕЙ О.В. 123
 ЗАЄЦЬ В.М. 52, 272
 ЗАІЧЕНКО О. 271
 ZAICHENKO A.S. 290

- ZAICHENKO O. 215
 ZAICHENKO O.S. 23
 ЗАІЧКО Н.В. 113
 ZAICHKO N.V. 186, 187, 230
 ZAITSEVA O.V. 142
 ZAYTSEVA O.V. 33
 ZAKORDONETS L. 173
 ZAPOROZHETS O.A. 294
 ЗАРУДНА М.І. 34
 ЗАХАРОВ А.В. 123
 ЗАЯЦЬ О.І. 325
 ZAYACHKIVSKA A. 90, 137
 ZVARYCH V.I. 47
 ZVEJNIESE L. 182, 202
 ЗДОРОВЦЕВА Л.М. 301
 ZEMLIANSKYKH N.G. 91
 ЗІМЕНКОВСЬКИЙ Б. 271
 ЗІНЧЕНКО А.В. 303, 304
 ZLATOUS N.V. 165
 ЗУБ П.Е. 52
 ЗУБОВ П.М. 112
 ЗУБОВА О.Л. 112
- І**
- ІВАНИЦЯ В.О. 39
 ІВАНОВИЧ І.Ю. 98
 ІВАСЕЧКО І. 271
 ІВАХІВ О.Л. 154
 IVONIN S.P. 204
 ІВЧУК В.В. 188
 IZUMI KAJI 173
 ІЛЬЧЕНКО М.М. 28, 35
 ІНШИНА Н.М. 176
 INSHYNA N.M. 335
 IRODOV D.M. 266
 ІСКРА Р.Я. 99, 139
 ISKRA R.YA. 129
 ІУТΥNSKA H.O. 320
- Й**
- ЙОСИК Я.І. 154
- К**
- КАВЕЦЬКИЙ В.С. 304
 КАГЛЯК М.Д. 95, 118
 КАЗНАЧЄЄВА М.С. 305
 КАЛАЧНЮК Л.Г. 247, 324
 KALACHNIUK L.H. 92, 189
 KALACHOVA T.A. 92, 153
 КАЛАШНИК О.М. 208
 КАЛАШНІКОВА Ю. 191
 КАЛІНІНА Н.А. 228
 KALININ I.V. 29
 KALINKEVICH A.N. 268
 KALINKEVICH O.V. 268
 КАЛІЩУК О.А. 228
 KALISHCHUK O.A. 219
 KALUHIN YA.I. 173
 КАЛЬЧЕНКО В.І. 44, 54
 KALCHENKO V.I. 20, 27, 254
 КАНЮК М.І. 279
 KAPRELYANTS L.V. 306
 КАПУСТЯНЕНКО Л.Г. 31
 KAPUSTIAN L.M. 30
 КАРАХІМ С.О. 44, 54
 КАРМАШ О.І. 32, 190
- КАРПЕЦЬ Л.-А.М. 306
 КАРПЕЦЬ Ю.В. 307
 КАРТУЗОВА Т.В. 314
 KASATKINA L.A. 93
 KASATKINA L.O. 80
 КАСЯНЧУК Н.М. 25
 КАТАШИНСЬКА Д.О. 8, 32
 KASHULA S.O. 230
 КАШУБА В.І. 201
 KASHUBA V.I. 74, 217
 KELM A. 53
 КЕЦА О.В. 190
 КИРИЧЕНКО В.В. 135
 КИРИЧЕНКО С. 131
 КИРИЧЕНКО С.В. 135
 КΥRYSHENKO S.V. 193
 КИСЦІВ В.О. 308, 323
 КІРОШКА В.В. 263
 КІТ Y. 215
 KISHKO T. 77
 КЛИСЬ Ю.Г. 163
 КЛІМОВА О.М. 191
 КЛІЩ І.М. 88, 214
 КЛОHOVСЬКИЙ А.Я. 275
 КЛЮЧКА І.В. 259, 270
 КЛЮЧКА Л.В. 269, 270, 273, 280
 КЛЮЧНИК Я.С. 98
 KNIGAVKO V.G. 33
 КНЯЗЄВА М.В. 94
 КОБЕРНІК А.О. 183
 KOBZAR O.L. 20, 254, 276
 КОБИЛІНСЬКА Л. 271
 КОБИЛЬНИК С.М. 95
 КОВАЛЕНКО А.О. 277, 278
 KOVALENKO A.O. 95
 КОВАЛЕНКО І.В. 96
 КОВАЛЕНКО М.С. 295
 КОВАЛЕНКО О.П. 192
 KOVALENKO O.P. 167
 КОВАЛЬ Т.В. 59, 127
 KOVALSKA V. 165, 286
 KOVALSKA V.B. 53, 54, 260
 КОВАЛЬЧУК І.І. 327
 KOVALCHUK V.M. 211
 KOVALCHUK Y.P. 193, 313
 КОВЗУН О.І. 244
 КОЗАК М.Р. 194
 КОКОРЕВ О.І. 309
 КОКОРІТЕ І. 144
 КОКОШКІНА О.О. 123
 КОЛЕСНІКОВА І.М. 42
 KOLESNIKOVA I.M. 211
 KOLESNIKOV Y.S. 100
 KOLESNIKOV YA.S. 104
 КОЛЕЩУК О.І. 327
 КОЛИБО Д.В. 8, 32
 KOLYBO D.V. 105
 КОЛОДА М.І. 194
 КОЛОМІЄЦЬ І.М. 34
 КОЛОМІЄЦЬ Л.А. 272
 КОЛОМІЙЧУК С.Г. 220
 KOLOSOVYCH I.V. 241
 КОЛУПАЕВ Ю.Є. 307, 309
- КОЛЬП Б. 266
 КОЛЯДА Ю.Є. 288
 КОМІСАРЕНКО С.В. 8, 32, 332
 KOMISARENKO S.V. 105, 211
 КОМПАНЕНЬ І.В. 58, 195
 КОМПАНІЄЦЬ В.В. 170
 КОHOBAЛОВА О.І. 97
 KOHONENKO A.G. 200
 КОHOПЕЛЬНЮК В.В. 195
 КОHOПЕЛЬНЮК В.І. 58
 КОHOТОП Є.О. 295
 KONUP I.P. 267
 КОНЮХ С.А. 169
 КОПИЛЬЧУК Г.П. 98
 КОПЧА Ю.В. 196
 КОРСНАК О. 83
 КОРДА М.М. 8, 88, 156, 157, 172, 197, 223, 249, 255
 КОРНЕЛЮК О.І. 52, 272
 КОРНІЙЧУК О.П. 96
 КОРОБОВ А.М. 190
 КОРОЛЬ Л.В. 198
 KOROTKIY A.G. 159
 КОРЧІНСЬКА О.С. 96
 KORCHYNSKYI O. 199
 КОСТЕРІН С.О. 9, 16, 40, 44, 54
 КОСТІНА Т.В. 42
 KOSTINA V.G. 37
 КОСТЮЧЕНКО О.П. 42
 KOSTIUCHENKO O.P. 211
 КОСЯКОВА Г.В. 158, 200
 KOSIAKOVA H.V. 80, 141
 КОТИК Б.І. 99
 КОТЛЯР В.О. 206
 КОСН А.Е. 199
 КОШЕЛЕВ О.І. 301
 КРАВЕЦЬ В.С. 124
 KRAVETS V. 65
 KRAVETS V.S. 92, 100, 101, 104, 153
 КРАВЧЕНКО В.М. 200
 КРАВЧЕНКО Г.Б. 102
 КРАВЧЕНКО І.А. 183
 КРАВЧЕНКО О.О. 101
 KRAVCHENKO S. 83
 КРАЄВСЬКА І.М. 201, 295
 КРАСІЛЬНІКОВА О.А. 102
 КРЕНЦЬКА Д.І. 103, 152
 KRETYNIN S.V. 100, 104
 КРИВДЮК І.В. 105
 КРИВОРОТЕНКО Д.В. 35
 KRYVOROTENKO D. 286
 КРИВОРУЧКО Т. 237
 КРИНИЦЬКА І.Я. 214
 KRYNINA O.I. 105
 КРИСЮК І.П. 168
 KRYSIUK I. 77
 KRYSIUK I.P. 142
 КРИСАНОВА Н.В. 40
 KRISANOVA N. 202
 КРУПКО О.О. 140
 КУЗНЕЦОВА О.В. 106
 КУЗНЕЦОВА А.Ю. 75

- КУЗНЕЦОВА Г.М. 148, 272, 283
 КУЗЬМАК І.П. 257
 КУЗЬМАК М.В. 211
 КУЗЬМІНА Н.В. 310
 KUZNIAK O.V. 135
 КУЛИЦЬКА М.І. 156
 KUPERMAN M. 165, 286
 КУРАНТ В.З. 51, 311, 321
 КУРГУЗОВА Н.І. 160
 КУРИЛЕНКО А.О. 298
 КУРИЛО Х.І. 253
 КУРИЦЯ Х.І. 44
 КУРЛЯК І.М. 325
 КУКНАРЕНКО О.Р. 234
 KUCHARSKA A.Z. 87
 КУЧМЕНКО О.Б. 298
 KUCHMENKO O.B. 155
 КУЧМЕРОВСЬКА Т.М. 242
 KUCHMEROVSKA T. 202
 KUCHMEROVSKA T.M. 257
 KUSHNIR O.YU. 203
- Л**
 ЛАБИНЦЕВ А.Ю. 8
 LABYNTSEVA R.D. 292
 LABUDZYNSKYI D. 253
 LABUDZYNSKYI D.O. 204
 ЛАГАНОВСЬКА Ю.О. 111
 ЛАДНЮК Р.Є. 251
 ЛАРИЧЕВА О.М. 107, 146
 ЛАТИШКО Н.В. 81
 LATYSHKO N. 77
 LEVID-BILETSKA K.M. 134
 ЛЕВИЦЬКИЙ А.П. 205
 ЛЕВІЧЕВА Н.О. 238
 LEVCHENKO A.M. 95
 ЛЕМКО І.С. 205
 ЛЕМКО О.І. 108
 ЛЕОНОВА Н.О. 85
 LEONOVA N.O. 320
 LEONTOVYCHOVA H. 153
 ЛЕОНТЬЄВА Т.Л. 206
 ЛЕСИК Р. 271
 ЛЕТНЯК Н.Я. 172
 ЛИГИРДА О.В. 235
 ЛΥΛΥΚ M.P. 65
 ЛИНЧАК О. 281
 LYSENKO N.A. 37
 LYSETSKY I.L. 30
 ЛИСИЦЯ А.В. 40
 ЛИТКІН Д.В. 109
 ЛИХАЦЬКИЙ П.Г. 207
 LYKHENKO D. 110
 LYKHENKO O. 110
 ЛИХМУС О.Ю. 50, 208
 LYKHOLAT O.A. 310
 LYKHOLAT T.Y. 111
 LYKHOLAT T.YU. 310
 LYKHOLAT YU.V. 111
 ЛИХОТА О.Б. 314
 LINNIK R.P. 294
 LISAKOVSKA O. 253
 LISAKOVSKA O.O. 165
 ЛИТВИНОВА О.В. 274
- LITVINOVSKAYA R.P. 92, 100
 LOBACHEVSKA O.V. 290
 ЛОБОДА М.І. 209
 ЛОЖКО Д.М. 272
 LOZHKO D.M. 18
 ЛОЗИНСЬКА І.І. 236
 ЛОЙ Г.Я. 210
 LOSYTSKYU M.YU. 53
 LOTOTSKA O.YU. 212
 ЛУБЕНЕЦЬ В.І. 171
 ЛУГОВА Г.А. 307
 ЛУГОВСЬКА Т.В. 88
 LUGOVSKA N.E. 211
 ЛУЖЕЦЬКИЙ А.М. 39
 ЛУЗИНА О.Я. 111
 ЛУКАШ Л.Л. 226
 ЛУКАШОВ С.М. 221, 222
 ЛУКАШОВ С.С. 192
 LUKASHOV S.S. 234
 ЛУРАК М.В. 333
 ЛУЦАЙ Д.А. 273
 ЛУЩАК В.І. 10, 275
 ЛУЩАК О.В. 130, 136, 138
 LUSHCHAK O. 90, 114
 LUSHCHAK V.I. 335
 ЛЮТА М.Я. 32, 190
 ЛЯВРІН Б.З. 311
 ЛЯХ О.І. 211
 ЛЯХОВА О.Б. 181, 250
 ЛЯШЕНКО В.П. 221, 222
- М**
 MAZANOVA A. 253
 MAZANOVA A.O. 212
 МАЗУР Б.Ф. 128
 МАЗУР О.А. 119
 МАЙКОВА Г.В. 312
 МАКАРЕНКО О.А. 205, 213, 312
 MAKAROVA O.O. 212
 МАКАШОВА О.Є. 112
 МАКОВЕТСКА Л.І. 74
 МАКОГОНЕНКО Є.М. 42, 46
 МАКСИМОВИЧ Я.С. 332
 МАКСЫМОВУСН І. 334
 МАКСІВ Х.Я. 214
 МАЛИНОВСЬКА В.Г. 205
 MALYNOVSKA I.E. 155
 MALYSHEVA CH. 199
 МАЛТИС Л.А. 128
 МАНОЙЛОВ К.Ю. 8, 32
 МАНЧЕНКО О.В. 166
 МАНЬКО В.В. 16
 MANKO N. 215
 MANKOVSKA I.M. 76
 MARENKOV O.M. 111, 313, 316
 MARENKOV O.N. 310
 МАРКІВ В.С. 51
 MARTINEC J. 92, 100, 101
 MARTINYUK V.V. 144
 МАРУЩАК М.І. 214
 МАРУЩАК О.Ю. 246
 MARTSENYUK O. 110
 МАРЧЕНКО М.М. 190, 291
 МАРЧИШАК Т.В. 215
- МАСЛАК Г.С. 89
 МАСЛОВА Н.Ф. 274
 МАТВЄЄВА Х.П. 275
 MATVIYENKO A.G. 336
 МАТИШЕВСЬКА О. 281
 МАТИШЕВСЬКА О.П. 266
 МАХЕНДІРАРАСА Л.П. 146
 МАЦЕВИЧ Л. 226
 МАЦЕВИЧ Л.Л. 261
 МАШЕЙКО І.В. 216
 MEZHENSKA O.O. 35, 232
 МЕЛЬНИК А.В. 113, 240, 245
 МЕЛЬНИК О.В. 96
 МЕЛЬНИК Р.М. 283
 MELNYK A.K. 276
 МЕЛЬНИЧУК Д.О. 11, 247, 324
 МЕЛЬНИЧУК С.Д. 247, 313
 MELNYCHUK A. 114
 MELNICHUK N.S. 217
 МЕРЕЖКО О.С. 191
 МЕРКУЛОВА Ю.В. 218
 MESKALO O.I. 36
 МИГАЛЬ Л.Я. 228, 251, 276
 MYGAL L.YA. 219
 МИКИТЕНКО А.О. 114
 МИМРЕНКО А.А. 211
 МИРОНОВА А.О. 261
 МΥΚΗΑΙΛΟΥСН V. 90, 137
 МИХЕЙЦЕВА І.М. 220
 MIGUNOVA R.K. 91
 MIDYK S.V. 325
 МІДЯНИЙ С.В. 325
 МІЗІН В.В. 221
 МІЛОХОВ Д.С. 272
 МІНЧЕНКО Д.О. 75, 105, 111,
 115, 283
 MINCHENKO D.O. 134
 МІНЧЕНКО О.Г. 10, 75, 105, 111,
 115, 283
 MISCHENKO I.M. 254
 MISCHUK N.Y. 144
 МІТІНА Н. 271
 MITINA N. 215
 MITINA N.Y. 290
 МІКНАЙЛЕНКО В.М. 74
 МІЩЕНКО Л.Т. 314
 MISHCHENKO L.T. 117
 MISHCHENKO T.V. 95
 MISHCHUK O.V. 48
 МОЛОДЧЕНКОВА О.О. 314, 315
 МОЛОЖАВА О.С. 58
 МОНАСТИРСЬКА С.С. 116
 МОНЬКА Н.Я. 171
 МОСІЙЧУК Н. 145
 МОКНІР А. 165
 MOSHYNETS O. 286
 МУДРИК Л.М. 213
 МУКВИЧ В.В. 222
 МУРАВЬОВА Д.В. 222
 МУРДАСОВ Є. 131
 МУСІЙ Л.Я. 329
- Н**
 НАГАЛЄВСЬКА М. 322

- NAGALIEVSKA M.R. 117
 НАЗАРЕНКО В.І. 279
 NAKONECHNA O.A. 233, 243
 NAROKHA V.P. 227
 НАУМЕНКО А.М. 147
 НЕВОСТРУЄВА І.В. 297, 299
 НЕГРУЦЬКА В.В. 35
 NEGRUTSKA V.V. 37
 НЕГРУЦЬКИЙ Б.С. 38, 125, 224
 NEGRUTSKII B.S. 18, 30
 NEDZVETSKY V.S. 140
 НЕМЕШ І.М. 235
 НЕПОРАДА К. 237
 NESTERENKO O.S. 316
 НЕТРОНІНА О.В. 89
 НЕТЮХАЙЛО Л.Г. 118
 НЕЧИПОРУК В.М. 223
 НЕКРАСОВА В.Ю. 283
 НИКОЛАЙЧУК І.М. 98
 НІДОЄВА З.М. 226
 НІЖЕНКОВСЬКА І.В. 166
 NIZHENKOVSKA I.V. 227
 НІКІТАЄВ С.В. 276
 НІКІТИНА Н.С. 206
 НІКІТЧЕНКО І.В. 119
 НІКІТЧЕНКО Ю.В. 119
 НИКОЛАЄНКО Т.В. 27
 НИКОЛАЄВ Р. 288
 NIKOLAIEV R.O. 227
 НИКОЛАЄВА О.В. 118
 НИКОЛАЄВА Ю.В. 301
 НИКУЛІНА Г.Г. 228, 251, 276
 NIKULINA G.G. 219
 НІПОТ О.Є. 132
 NOVIKOV V.P. 47
 НОВОСИЛЬНА О.В. 38, 224
 NOVOSYLNA O.V. 30
 НОСАЧ О.В. 225
- О**
 ОБЕРНІХІНА Н.В. 288
 OBOLENSKAYA M. 110
 ОВСЯННІКОВА Л.М. 225
 ОВСЯННІКОВА Т.М. 277, 278
 OVSYANNIKOVA T.M. 95
 OZOLIŃŠ D. 144
 OKUNEV O.V. 266
 ОЛЕФІРЕНКО В.В. 16
 ОЛЕЩУК О.М. 210, 229
 ОМЕЛЬЧЕНКО О.Є. 63
 ONISHCHENKO A.I. 243
 ОНОПЧЕНКО О.В. 174
 ОНУФРОВИЧ О.К. 71, 96
 ОРЛОВА В.В. 120
 ОРЛОВА О.А. 120
 ОСИПОВ П.Г. 256
 ОСКИРКО О.С. 246
 ОСТАПІВ Д.Д. 310, 316
 ОСТАПЧЕНКО Л.І. 58, 59, 101, 126, 127, 195
 ОСТАРЧЕНКО Л. 173
 ОСТАРЧЕНКО Л.І. 159, 264
 ОСТАПЧУК А.М. 39
 ОСТРЕНЮК Р.С. 113
- OSTRENYUK R.S. 187, 230
 OSTRYNSKA O.V. 234
 ОХРИМЕНКО С.М. 121
- П**
 ПАВЛЕНКО Г.Ю. 135
 ПАВЛІЧЕНКО О.Д. 312
 PAVLOVA O.S. 232
 PAVLOVICH O.V. 122
 PAVLIUKH K.V. 289
 PALAMARCHUK I.V. 187, 230
 ПАЛІЄНКО К.О. 40
 ПАЛІЙЧУК О.І. 259, 273, 280
 PALONKO R.I. 92
 ПАНАС І.Д. 279
 PANKIVSKYI S.V. 40
 ПАНЧЕНКО В.Г. 278
 ПАНЧУК Р. 271
 ПАНЮТА О.О. 304
 ПАПУРІНА Т.Б. 231
 PARELE E. 144
 PARKHOMENKO YU.M. 35, 232
 PASICHNA E.P. 204
 PASICHNYUK G.V. 133
 ПАСТУХОВ А.О. 40
 PATALAKH I.I. 122
 ПАХОЛКІВ Н.І. 297, 299
 ПАХОМОВ О.В. 263
 PASHEVIN D.O. 27
 ПАІУК О. 215
 ПАІУК О.Л. 290
 ПЕЛЕШЕНКО Г.Б. 216
 ПЕНДРАК О.А. 311
 PEREBYINIS V. 83
 ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ В.Ф. 228
 PETERBURGSKY V.F. 219
 ПЕТИК А.В. 41
 ПЕТРЕНКО Т.М. 177
 RETRENKO A.YU. 279
 RETRENKO O.M. 241
 ПЕТРОВ С.А. 95, 118, 123
 ПЕТРУК А.П. 322
 ПЕТРУХ І.М. 316
 ПЕТРУШАНКО Т. 237
 RETRUSHKO M.P. 122
 PIERZYNOWSKI S. 248
 ПИЛИПЕНКО І.В. 293
 ПИЛИПЕНКО Л.М. 293, 317
 ПИЛИПЕЦЬ А.З. 171
 ПИРОГ Т.П. 259, 269, 273, 280
 ПИРОГ Т.Т. 270
 ПИРОГОВА Л.В. 42
 PYROGOVA L.V. 27
 ПИРШЕВ К.О. 279
 ПИХОВА О.В. 35
 ПІВЕНЬ О.О. 261
 PIKUS R. 282
 PILETSKA E.V. 294
 PILETSKY S.A. 294
 PINIAEV V.I. 122
 PIROG T.P. 320
 ПІСКУН Р.П. 78
 ПЛАТОНОВА Т.М. 42, 46
 PLATONOVA T.M. 80, 211
- ПЛИТУС А.В. 70
 POZDNYAKOVA N.G. 182
 POZNANSKI D.V. 173
 ПОКОТИЛО І.В. 124
 POLIKARPOVA H.V. 124
 ПОЛІЩУК В.М. 328
 ПОЛІЩУК С.А. 328
 POLOKHINA K.V. 55
 ПОЛЯНСЬКА Д. 62
 ПОНОМАРЕНКО Н.В. 328
 ПОНОМАРЕНКО О.М. 42
 PONOMARENKO N.S. 33
 ПОПОВА Н.М. 168
 ПОРОВА Л. 233
 ПОРОВА Н. 77
 PORTNYCHENKO A. 73
 ПОРУБЛЬОВА Л.В. 125
 ПОСОХОВА К.А. 257
 POSPICALOVÁ R. 153
 ПОТЯГАЙЛО А.Л. 34
 ПОХОЛЕНКО Я.О. 224
 ПРЕВАРСЬКА Н. 14
 PRYVROTSKA I.B. 257
 ПРИЙМАК Ю.В. 303, 318
 ПРИЛУЦЬКА С. 281
 ПРИЛУЦЬКА С.В. 266
 PRYS-KADENKO V.O. 92
 ПРИСТУПА Б.В. 183
 ПРИМОВА Л.О. 176
 PRIMOVA L.O. 335
 PRINODCHENKO V.O. 319
 PRICHODCHENKO V.O. 301
 ПРОКОПЮК О.В. 94
 ПРОТОРОРОВ М.В. 234
 ПУЗАНОВА В.С. 119
 ПУШКАРЬОВ В.В. 244
 ПУШКАРЬОВ В.М. 244
 PИATETSKA D.V. 320
- Р**
 РАБЧЕНЮК О.О. 51, 321
 РАДЧЕНКО В.Г. 262
 РАЕВСКАЯ І.М. 277
 RAYEVSKY A.V. 43
 РАЄЦЬКА Я.Б. 127
 РАКША Н.Г. 59, 101, 126
 РАМАЗАНОВА С.В. 198
 RAROK YU.S. 144
 РАТИЧ І.Б. 308, 323
 РЕБРІЄВ А.В. 31, 40
 REBRIEV A.V. 35
 REVKA O.V. 122
 РЕЗНІЧЕНКО Л.С. 287
 РЕМНЬОВА Н.О. 42
 РЕПЕЦЬКИЙ С.П. 283
 РЕЧИЦЬКИЙ О.Н. 32
 РЕШЕТАР Д.В. 108
 РИБАК М.Ю. 192
 RYBAK M.YU. 43, 167
 RYBALKO S.L. 217
 РИБАЛЬЧЕНКО В.К. 148, 272, 283
 RYMAR S. 282
 RYNDITCH A.V. 40

- РИЩАКОВА О.В. 314, 315
 ROZHNEUK N. 83
 РОЛЬ Н.В. 328
 РОМАНЮК С.І. 8
 ROMANYUK N.D. 290
 РОМОДАНОВА Е.О. 277
 РОССІХІН В.В. 256
 РОСТОКА Л.М. 128, 211, 235
 РУБАН Т.П. 226, 261
 РУДНИЦЬКА О.В. 283
 RUELLAND E. 101, 153
 RUKIN A.S. 33
 RUCHALA J. 289
 РЯБЕНКО Ю.А. 191
 RIAVOVOL O.O. 134
- С**
- САБАДАШКА М. 322
 SABADASHKA M. 128
 САВЧЕНКО В.С. 228
 САВЧУК В.Й. 251
 САВЧУК О.М. 88, 103, 126, 127, 152, 246
 SAVCHUK O.M. 264
 SALYHA N.O. 129
 SARAI I. 80
 САРКІСОВА Е.О. 225
 САС Н.Б. 325
 SAUCHUK A.L. 92
 САЧКО Р.Г. 297, 299
 САЧКО С.Р. 316, 322
 SAIARINA O. 284
 СВЯТЕЦЬКА В.М. 58
 СЕВОСТЬЯНОВА Т.О. 213
 СЕЛЕЗНЬОВА О.О. 328
 СЕМАНЮК У.В. 130
 СЕМЕНКО А. 131
 SEMCHYSHYN H. 132
 SENCHENKO N.V. 40
 СЕРБІНА І.Є. 228, 251, 276
 SERBINA I.E. 219
 SERGEYEVA T.A. 285, 294
 SERHIYCHUK T. 173
 СЕМІОНОВА К.А. 132
 СИБІРНА Н. 322
 СИБІРНА Н.О. 19, 32, 87, 185, 190
 SYBIRNA N. 128
 SYBIRNA N.O. 117
 СИВОЛОБ А.В. 49
 СИДОРОВ В.І. 160
 СИЛЕНКО А.В. 44
 SYSOLYATIN S.V. 325
 SIBIRNY A.A. 289
 СІРКО Я.М. 308, 323
 СІРОШТАНЕНКО Т.І. 220
 СІРЧАК Є.С. 234
 СІТКАР А.Д. 128, 211, 235
 СІТКО М.В. 86
 СІЧЕВСЬКА Л.В. 278
 SKATERNA T. 77
 SKATERNA T.D. 133
 СКЛЯРОВ О.Я. 236
 SKLYAROV O.Y. 182
- СКЛЯРОВ П.О. 236
 СКОК М.В. 50, 208
 СКОРИК О.Д. 62, 237
 СКОРОБОГАТОВ О.Ю. 45
 SKOROBOGATOVA Z.M. 336
 СКОРОХІД А.В. 299
 СКОРОХІД І.В. 297
 СКОРОХІД Н. 271
 СКРИЕВСЬКИЙ В.А. 147
 СКРИМА Р. 14
 СКРИПКИНА І.Я. 16
 СКРИПНИК М. 237
 SKUJA A. 144
 СЛИВА Т.Ю. 266
 СЛИВКА І.М. 329
 СЛОБОДЯНИК М.С. 266
 SLOMINSKII YU.L. 260
 SLIUSAR M.Y. 134
 СМІРНОВ О.Є. 303, 304, 306, 318
 SMIRNOV O.O. 189
 SNIHIROVA Y. 286
 СНІСАР Л.М. 198
 СОКОЛІК В.В. 46, 238
 СОКОЛОВА Л.К. 244
 SOKOLOVA I.M. 23
 СОКОЛОВСЬКА Л.І. 46
 СОЛДАТКІН О.О. 6, 287
 СОЛДАТКІН О.П. 6
 СОЛДАТКІНА О.В. 287
 СОМОВА Я.В. 206
 СОРОКІН А.В. 123
 SOROSHYNSKA O.M. 135
 СПІВАК М. 237
 SPIVAK Y.V. 189
 СПІРІНА В.А. 135
 SPRINґE G.H. 144
 STADNYK N.V. 92
 STADNYK V.V. 333
 СТАНІСЛАВЧУК А.В. 321
 STARYKOVYCH M. 215
 STARODUBTSEVA A.V. 92
 СТАРОСИЛА С.А. 192
 STAROSYLA S.A. 167, 234
 STASEVYCH M.V. 47
 STASYK O.V. 80
 STASYK O.G. 80
 STASHKEVYCH M. 239
 STASHKEVICH M.A. 336
 СТЕГНІЙ Б.Т. 164
 СТЕПАНЕНКО С.Р. 232
 СТЕПАНОВА Н.М. 198
 СТЕПЧЕНКО Л.М. 27
 СТЕФАНИШИН Н.П. 136
 СТЕФАНИШИН О.М. 308
 STETSENKO S.O. 161, 243
 STETSKA V. 173
 СТОЙКА Р. 271
 СТОЙКА R. 12, 215
 СТОЙКА R.S. 23, 290
 STOLIAR O.V. 23, 48, 144
 СТОРОЖУК Б.Г. 42
 СТОРОЖУК Л.О. 42
 СТОРОЖУК О.Б. 42
- СТРАШНОВА І.В. 293
 СТРІЛЬБИЦЬКА О.М. 138
 STRILBYTSKA O. 90
 СТРУТИНСЬКА О.Б. 223, 240
 STRUTYNSKA T. 90, 137
 СУЛЕЙМАНОВА Р.Р. 324
 СУСЛІКОВА Л.В. 120
 СУШКО О.О. 139
 СЬОМІК Л.І. 312
- Т**
- ТАБАРКЕВИЧ Я. 224
 ТАМАНАВА М.А. 100
 ТАРАН Н.Ю. 295, 318
 ТАРАСЕНКО А.С. 140
 ТЕРЕШКЕВИЧ Г.Т.
 (СЕСТРА ДЮГЕНА) 287
 ТЕРЕЩЕНКО О.О. 298
 TERESHCHENKO N.M. 155
 ТЕРТИШНА О.В. 113
 ТИХОМИРОВ А.О. 242
 ТУКНОМУРОВ А. 202
 ТУКНОМУРОВ А.А. 140, 241
 ТИХОНЕНКО Т.М. 242
 ТУКНОНЕНКО Т. 202
 ТУКНОНЕНКО Т.М. 257
 ТКАЧЕНКО О.С. 200
 ТКАЧЕНКО О.С. 80, 141
 ТКАЧЕНКО А.С. 243
 ТКАЧЕНКО V. 248
 ТКАЧЕНКО V.A. 243
 ТКАЧУК З.Ю. 45, 50, 201, 215
 ТКАШУК Z.YU. 217, 227
 ТОКАРЧУК К.О. 81
 ТОКАРЧУК К.О. 142
 TOLSTANOVA G. 173
 ТОПОРОВА О.К. 224
 ТОРХОВА С.Г. 177
 ТРЕТЯКОВА І.М. 53
 TRIKASH I.O. 93
 ТРОНЬКО М.Д. 244
 ТРОФИМЕНКО Я.В. 268
 ТРУТАЄВА І.А. 263
 TRUFANOVA N.A. 279
 TRUSH V.V. 20
 ТУБУЛКАН К.М. 245
 ТУГАЙ А.В. 288
 ТУГАЙ Т.І. 288
 ТУКАЛО М.А. 192
 TUKALO M.A. 12, 43, 167
- У**
- УДОВИЧЕНКО І.В. 246
 ULIZKO P.Y. 296
 УМАНСЬКА А.О. 247
 USENKO M.O. 266
 УСПЕНСЬКА К.Р. 50, 208
 УШАКОВА Г. 131
 УШАКОВА Г.О. 194, 222
 USHAKOVA G. 248
 USHAKOVA G.A. 193
 USHAKOVA G.O. 143, 182
 УШКАЛОВ В.О. 41
- Ф**
- ФАБРИ З.Й. 234

- ФАЛЬФУШИНСЬКА Г.І. 25
 ФАНИН Я.С. 314
 ФАТАЛЬСЬКА А. 38
 ФАФУЛА Р.В. 247
 FAFULA R.V. 36
 FALFUSHYNSKA H.I. 23, 143, 173
 FATALSKA A. 18
 ФЕДЕЦЬ О.М. 325
 ФЕДОРКО Н.Л. 123
 FEDOROVYCH D.V. 289
 ФЕДОРУК О.О. 25
 ФЕДОРЧУК А.О. 325
 ФЕДУН В.І. 288
 ФИЛИМОНЕНКО В.П. 119
 ФІЛОНЕНКО В.В. 13
 ФІЛЬЧУКОВ Д.О. 245
 FILCHUKOV D.O. 186
 FINIUK N.S. 290
 ФІРА Л.С. 64, 207
 ФОМЕНКО І.С. 236
 FOMENKO O. 248
 FROLOVA A. 110
 ФРОХМЕ М. 266
- Х**
 ХНАЛАВКА Y. 90, 137
 ХАРЛОВА М.І. 291
 ХАРЧЕНКО С.М. 56
 ХНУЗННЯК S.V. 325
 ХИЛЯ О.В. 272
 ХНІЛШЕВСЬКИЙ О.М. 276
 ХЛЕСТОВА С.С. 149
 ХОДАКОВ І.В. 326
 ХНОЛІН V. 83
 ХОМА В.В. 25
 ХНОМА V.V. 48, 143, 144
 ХНОМЕНКО А.В. 165
 ХОМЕНЧУК В.О. 51, 311, 321
 ХОМ'ЯКОВА І. 145
 ХРАБКО М.І. 327
 ХНРІРАШ V.A. 100, 101
 ХНРІРАШ V.F. 92
 ХРОМАГІНА Л.М. 205
 ХНРОМУКН N.O. 111
 ХУДАН Р.І. 249
 ХНУДІАКОВА О. 77
 ХНУДІАКОВА О.В. 133
- Ц**
 ЦАП М.М. 327
 ЦАП П.Ю. 46
 ЦАПОК Д.П. 44
 ЦВІЛІХОВСЬКИЙ В.І. 146
 ЦВЯХ О.О. 107, 146
 ЦЕХМІСТРЕНКО О.С. 328
 ЦЕХМІСТРЕНКО С.І. 328
 ЦИГАНЕНКО К.В. 260
 ЦИМБАЛ Д.О. 111, 283
 ЦИМБАЛЮК О.В. 147
 TSYRULNYK A.O. 289
 ЦІСАРИК О.Й. 329
- ЦУВАРЕВ О.Ю. 52
- Ч**
 ЧНАВАН М.М. 267
 ЧАЙКА Л.О. 218
 ЧАЙКОВСЬКА Т.В. 181, 250
 CZARNIK-KWAŚNIAK J. 199
 ЧЕБАН Л.М. 291
 СНЕВЕНЯК О.І. 143
 ЧЕБОТАР Л.Д. 146
 СHERVINSKA T. 173
 СHERENOK S.O. 27
 ЧЕРЕЩУК І.О. 148
 ЧЕРНАДЧУК С.С. 123
 ЧЕРНЕНКО В.В. 251
 ЧЕРНЕНКО Г.П. 89
 ЧЕРНЕНКО Д.В. 251
 СHERNYKH S.I. 227
 ЧЕРНИШ І.Ю. 180
 ЧЕРНИШЕНКО В.О. 42
 ЧЕРНИШЕНКО Т.М. 41, 42
 СHERNYSHENKO T.M. 80
 СHERNYSHENKO V.O. 27, 80, 211
 СHERNII V.YA. 53
 СHERNII S.V. 53, 260
 СHERNIK I.V. 173
 СHERNUKHA L.M. 211
 СHENIVSKA L.I. 232
 ЧОПЕЙ М.І. 16
 ЧОРНА І.В. 176
 СHORNA I.V. 335
 ЧОРНЕНЬКА Н.М. 127
 СHORNENKA N.V. 54
 ЧУМАК А.А. 225
 ЧУНІХІН А.Ю. 40
 ЧУНІХІН О.Ю. 44, 272
- Ш**
 SHALAK V.F. 18
 ШАМЕЛАШВІЛІ К.Л. 149
 ШАНДРЕНКО С.Г. 81, 168
 SHANDRENKO S. 77
 SHANDRENKO S.G. 142
 ШАПКИНА О.О. 132
 ШАРОВАЛЕНКО Z.V. 313
 ШАТУРСЬКИЙ О.Я. 8, 40
 SHATURSKY O.YA. 93
 SHAULSKA O.E. 243
 ШВИДЕНКО М.В. 307
 ШЕБЕКО С.К. 252
 SHEVTSOVA A.I. 243
 ШЕВЧУК О.О. 253
 ШЕВЧУК Т.А. 280
 SHEVCHUK T.A. 320
 ШЕВЧУК Т.І. 149
 ШЕМЕДЮК Н.П. 150
 SHYMANSKYI I. 253
 SHYMANSKYI I.O. 212
 SHYMANSKYI I.O. 165
 ШКАРУПА В.М. 78
- SHKEL O. 83
 ШКІЛЬНА М.І. 197
 ШКРАБАК О.А. 40, 67
 ШЛИКОВ С.Г. 16, 44, 54
 ШПАКОВА Н.М. 132
 ШТАТЬКО О.І. 240
 ШНТАТКО О.І. 186
 ШТЕМЕНКО Н.І. 77, 97, 149, 291
 ШТЕМЕНКО О.В. 291
 ШНТЕМЕНКО А.В. 55
 ШНТЕМЕНКО Н.І. 55
 ШТЕНІКОВ М.Д. 39
 ШУБА Я.М. 14
 SHUVALOVA N. 282
 ШУЛЬГА С.М. 238
 SHULHA Y.V. 254
 SHUMAKOV V.O. 155
- Щ**
 SZCZEPANOWSKI R.H. 18
 ЩЕРБА В.В. 255
- Ю**
 ЮНАІ К.Д. 296
 ЮКАЛО В.Г. 330
 ЮРИК І.І. 151
 ЮРИК Я.І. 151
 ЮРКЕВИЧ І.С. 136
 YURKEVYCH I. 90, 114, 137
 ЮРЧЕНКО А.В. 103, 152
 YURCHUK T.O. 122
 ЮСОВА О.І. 56
- Я**
 YAVOROVSKA V.I. 292
 ЯВОРСЬКА Н.Й. 330
 ЯКИМЧУК Ю.Б. 197
 ЯКИМЕНКО В.Є. 123
 ЯКИМЕНКО Т.І. 301
 ЯКОВЕНКО М.Г. 256
 ЯКОВЕНКО Н.А. 181, 250
 ЯКОВЕНКО Н.В. 256
 ЯКОВЕНКО Т.Г. 201, 215
 ЯКОВЕНКО О.М. 153
 ЯКОВІЙЧУК О.В. 301
 ЯКОВЛЕВ П.Г. 88
 ЯМБОРКО Г.В. 293
 ЯНІТСКА Л.В. 257
 ЯРЕМІІ І.М. 203
 ЯРЕМКЕВИЧ О.С. 66
 ЯРЕМЧУК О.З. 253, 257
 YARYNKA D.V. 294
 ЯРМОЛЮК С.М. 192, 226
 YARMOLUK S. 286
 YARMOLUK S.M. 53, 167, 234, 260
 ЯСТРЕБ Т.О. 309
 JAFFREZIC-RENAULT N. 284
 ЯЦЕНКО Т.А. 26, 56
 ЯЦІШИНА А.П. 226

Зміст

ПЛЕНАРНІ ДОПОВІДІ	5
<i>Симпозіум 1</i>	
СТРУКТУРА, ФУНКЦІЇ ТА ВЛАСТИВОСТІ БІОЛОГІЧНИХ МАКРОМОЛЕКУЛ І НАДМОЛЕКУЛЯРНИХ КОМПЛЕКСІВ	15
<i>Симпозіум 2</i>	
РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ТА КЛІТИННИХ ФУНКЦІЙ ЗА НОРМИ І ПАТОЛОГІЇ.....	58
<i>Симпозіум 3</i>	
МЕДИЧНА ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА БІОХІМІЯ	154
<i>Симпозіум 4</i>	
БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ	259
<i>Симпозіум 5</i>	
БІОХІМІЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН І РОСЛИН. ХАРЧОВА БІОХІМІЯ	295
КРУГЛІ СТОЛИ	332
ОСВІТНІЙ СЕМІНАР	335
Алфавітний покажчик	337