

## ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ УЧЕНИХ «АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ БІОХІМІЇ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ – 2016»

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, 26–27 травня, 2016 р., Київ*

Щорічна конференція-конкурс молодих учених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016», яка відбулася в кінці травня, порадувала найбільшою за останні роки кількістю доповідачів, а також широкою географією учасників. В її роботі взяли участь учені з наукових та освітніх закладів Києва, Львова, Одеси, Харкова, Мелітополя, Білої Церкви, Тернополя, Чернівців та Івано-Франківська. Наймолодшою учасницею Конкурсу стала студентка-третьокурсниця, але в Конференції також брали участь і кандидати наук.

До традиційного складу поважного журі, яке оцінювало доповіді конкурсантів, додалися гості з інших міст – завітала і взяла участь у роботі конференції проф. Н. О. Сибірна зі Львівського національного університету імені Івана Франка, яка запам'яталася багатьом молодим ученим блискучим модеруванням секції «біохімія» на львівській конференції «Молодь і поступ в біології». Із братньої Білорусі приїхав та увійшов до складу журі проф. В. М. Нікандров, завідувач кафедри хімії Білоруського державного педагогічного університету, один із творців препарату стрептокінази. Це особливо символічно, оскільки цього року конференцію-конкурс було присвячено 110-річчю з дня народження видатного біохіміка В. О. Беліцера, фундатора гемостазіології в Україні. Забігаючи наперед, варто зауважити, що дві роботи, які було відзначено призовими місцями, доповідалися молодими вченими, працюючими під керівництвом учнів В. О. Беліцера у відділах, що продовжують започатковані ним дослідження.

Очоловав конкурсну комісію проф. М. М. Великий, який разом із проф. О. П. Матишевською (ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка) також вів засідання секцій. Конференцію урочисто відкрив директор Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, академік НАНУ С. В. Комісаренко.

Більшість молодих доповідачів конференції представили кваліфіковані доповіді, присвячені актуальним проблемами сучасної біотехнології, продемонструвавши високий рівень підготовки, обізнаності з матеріалом. Впродовж двох днів роботи конференції було зроблено 43 наукові доповіді, кожна з яких викликала жваве обговорення та цікаві запитання.

На жаль, як правило, кількість призових місць була обмежена, хоча конкурсна комісія на чолі із проф. М. М. Великим, заручившись фінансовою підтримкою Українського біохімічного товариства, присудила цього року безпрецедентно велику кількість премій.

*Першу премію* отримала аспірантка лабораторії імунології клітинних рецепторів Катерина Успенська за доповідь на тему «Субодиничний склад та функціонування нікотинових ацетилхолінових рецепторів у мітохондріях мишей, нокаутних за генами  $\alpha 3$ -,  $\alpha 7$ -,  $\beta 2$ - або  $\beta 4$ -субодиниць». *Друге місце* поділили Ірина Горак та Яна Рока-Мойя. *Третє місце* було присуджено Ользі Лісаковській, Анні Мазановій та Євгену Стогнію (всі – Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України). *Заохочувальну премію* з формулюванням «за майстерність представлення доповіді» присуджено Ользі Кушнірик (Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича) та Олександрю Яковійчуку (Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького). *Спеціальну відзнаку* від генерального спонсора конференції – *Thermo Fisher Scientific* – отримала Віра Федина (ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ).

Нагороди переможцям вручив директор Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, академік С. В. Комісаренко, який висловив сподівання на те, що наступного року конференція збере ще більше учасників.

*Голова ради молодих учених  
Інституту біохімії  
ім. О. В. Палладіна НАН України,  
к.б.н. Володимир Чернишенко*

УДК 577.161.1:612.354

## ЗАБЕЗПЕЧЕНІСТЬ РЕТИНОЇДАМИ ЯК ФАКТОР, ЩО ВИЗНАЧАЄ АКТИВАЦІЮ ДЕТОКСИКАЦІЙНОЇ СИСТЕМИ

*В. Л. БОРЩОВЕЦЬКА, І. О. ШМАРАКОВ, М. М. МАРЧЕНКО*

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Україна;  
e-mail: vira.borschovetska@gmail.com*

Експресія та активність ключових ензимів біотрансформації ксенобіотиків знаходяться під контролем специфічних ядерних рецепторів (ксеносенсорів), які функціонують у складі гетеродимерів, сформованих за участю однієї з ізоформ ретиноїд Х рецептора (RXR  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ). Оскільки лігандом для гетеродимерного партнера ксеносенсорів є 9-цис-ретиноева кислота, забезпеченість організму ретиноїдами – це фактор, який визначає активність компонентів детоксикаційної системи та ефективність біотрансформації ксенобіотиків загалом. Мета роботи – дослідити активність компонентів I та II фаз детоксикаційної системи печінки за різної забезпеченості ретиноїдами.

Дослідження проводили на мишах лінії C57BL/16 масою 25–30 г та віком 2,5–3 місяці. Стани різної забезпеченості ретиноїдами моделювали, використовуючи тварин дикого типу (ДТ, нормальна забезпеченість ретиноїдами), нокаутів (*Lrat*<sup>-/-</sup>, позбавлені печінкових ретинілових ефірів), а також тварин обох генотипів, які отримували надвисокі фармакологічні дози ретиніл ацетату (3000 МО вітаміну А). Як класичний ксенобіотик-індуктор детоксикаційної системи печінки використовували бісфенол А (BPA), введення якого проводили щоденно *per os* протягом 3 діб у дозі 50 мг/кг, що відповідає LOAEL (від англ. lowest observable adverse effect level).

Встановлено збільшення активності компонентів I та II фаз детоксикаційної системи у тварин ДТ за введення BPA. У цієї групи тварин

показники *p*-гідроксилазної та N-деметилазної активності цитохрому P450 (CYP), а також N-оксигеназної активності флавінвмісних монооксигеназ (FMO) були вірогідно вищими порівняно з тваринами, які не отримували BPA. Найбільше зростала N-деметилазна активність (у 2,3 раза) та становила  $1,28 \pm 0,13$  нмоль/хв/мг протеїну. Одночасно в тварин ДТ встановлено збільшення UDP-глюкуронозил- (UGT) та глутатіонтрансферазної (GST) активності. Найсуттєвіші зміни виявлялись щодо активності GST мікросомальної фракції печінки, показник якої зростав у 8,9 раза та становив  $35,76 \pm 4,97$  мкмоль/хв/мг протеїну. На противагу цьому, в тварин *Lrat*<sup>-/-</sup> введення BPA не супроводжувалось активацією клітинної системи детоксикації (маркерна активність CYP і FMO, а також активність GST та UGT статистично вірогідно не відрізнялись від показників групи тварин, які не отримували BPA). Для підтвердження залежності активації детоксикаційної системи печінки від забезпеченості ретиноїдами тваринам додатково вводили 3000 МО вітаміну А. Показано, що в тварин-нокаутів введення ретиніл ацетату призводило до активації компонентів обох фаз детоксикаційної системи печінки, причому встановлені показники досягали та навіть перевищували показники тварин дикого типу.

Отже, індукція елементів I та II фаз клітинної системи біотрансформації в печінці за введення бісфенолу А відбувається лише за адекватної забезпеченості ретиноїдами.

УДК 577.217.5

## СТАБІЛЬНІСТЬ РЕКОМБІНАНТНОГО ПРОТЕЇНУ АІМР1/Р43 ЛЮДИНИ З $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ ТА ГІДРОКСИПРОПІЛ- $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ У НАНОКОМПЗИТНИХ КОМПЛЕКСАХ

Н. В. ВОРОБІЙОВА

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;  
e-mail: vorobyova\_natali\_0307@ukr.net

**П**ротеїн АІМР1/p43 (Aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein 1) є обов'язковим компонентом кодосоми вищих еукаріотів. Він містить послідовність цитокіну ЕМАР II та виявляє активність низки цитокінів і є перспективним продуктом молекулярної біотехнології. Проте, на відміну від ЕМАР II, цей протеїн є досить нестабільним, оскільки містить неструктуровані ділянки.

На сьогодні просторову структуру повнорозмірного протеїну АІМР1/p43 не встановлено. Для проведення структурних досліджень АІМР1/p43 методами рентгеноструктурної кристалографії та мультимірної ЯМР-спектроскопії необхідна препаративна кількість протеїну в стабільному розчинному стані. Метою цієї роботи було дослідження температурної стабільності нанокмпозитних комплексів протеїну АІМР1/p43 з  $\beta$ -циклодекстрином ( $\beta$ -ЦД) та гідроксипропіл- $\beta$ -циклодекстрином (ГП- $\beta$ -ЦД) – циклічними олігомерами залишків  $\alpha$ -D-глюкози, які успішно застосовуються у фармакології як агенти, здатні знизити рівень агрегації протеїнів, збільшити їх розчинність та підвищити стійкість до дії протеолітичних ензимів.

Рекомбінантний протеїн АІМР1/p43 одержували шляхом бактеріальної експресії в клітинах *E. coli* BL21(DE3)pLysE, трансформованих плазмідом рЕТ28b-p43. Очистку протеїнового препарату проводили методом металхелатуючої хроматографії на колонці з Ni-NTA-агарозою (Qiagen, Germany). Темпе-

ратурну стабільність комплексів АІМР1/p43 з  $\beta$ -ЦД та ГП- $\beta$ -ЦД досліджували методами флуоресцентної спектроскопії. Довжина хвилі збудження флуоресценції становила 280 нм, інтервал реєстрації спектрів флуоресценції – 300–400 нм.

Реєстрацією спектрів флуоресценції АІМР1/p43 в діапазоні температур 23–63 °С зафіксовано зсув максимуму флуоресценції із 333 до 350 нм, що відповідає максимуму флуоресценції вільного триптофану. Це обумовлено тим, що під час нагрівання розчину АІМР1/p43 до 63 °С протеїн денатурує, і відбувається конформаційний перехід, пов'язаний з експонуванням залишку Trp271 на поверхні протеїну. Температура локального конформаційного переходу становить  $43 \pm 1$  °С. Для нанокмпозитних комплексів АІМР1/p43 із  $\beta$ -ЦД та ГП- $\beta$ -ЦД у разі підвищення температури до 63 °С максимум емісії флуоресценції зсувається до 345 нм, тоді як температура локального конформаційного переходу становить  $51 \pm 1$  та  $50 \pm 1$  °С відповідно.

Встановлено, що рекомбінантний цитокін АІМР1/p43 у складі нанокмпозитних комплексів з  $\beta$ -ЦД та ГП- $\beta$ -ЦД за підвищення температури є істотно стабільнішим, ніж у вільному стані. Це дає можливість проведення подальших структурно-функціональних досліджень протеїну АІМР1/p43 у складі стабільних нанокмпозитних препаратів.

Автор глибоко вдячний науковому керівникові, проф., д.б.н, член-кор. НАНУ О. І. Корнелюку за допомогу в плануванні експериментів і обговоренні результатів.

УДК 577.112.384:612.815.1

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ НЕЙРОАКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАНОДІАМАНТІВ РІЗНОГО СПОСОБУ СИНТЕЗУ

М. О. ГАЛКІН

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: Galkin@biochem.kiev.ua*

**Н**анодіаманти є одними з найперспективніших нанорозмірних частинок з унікальними фізичними і хімічними властивостями, що роблять їх перспективними для використання в тераностиці для маркування, візуалізації нервових терміналей і модуляції ключових процесів у синапсах. Нанодіаманти можуть бути одержані різними способами – статичним або динамічним синтезом з утворенням частинок різних розмірів і різною морфологією поверхні. Нами було досліджено вплив двох видів нанодіамантів, а саме: динамічного та статичного синтезу на мембранний потенціал синапсом та тромбоцитів, а також на ацидифікацію синаптичних везикул та секреторних гранул тромбоцитів.

Мембранний потенціал вимірювали за допомогою потенціометричного флуоресцентного барвника родаміну 6G (0,5 мкм) на підставі його потенціалзалежного зв'язування з мембраною.

Для дослідження ацидифікації синаптичних везикул та секреторних гранул тромбоцитів було використано акридин оранжевий, рН-чутливий флуоресцентний барвник, який, як відомо, селективно акумулюється в кислих компартментах синаптичних везикул.

Два типи нанодіамантів продемонстрували різний за інтенсивністю, але однаково спрямований вплив на потенціал мембран та ацидифікацію синаптичних везикул і секреторних гранул тромбоцитів. Серед них найвираженіший ефект показали нанодіаманти статичного синтезу, що значно перевищило показники нанодіамантів детонаційного синтезу різних розмірів.

Нанодіаманти статичного синтезу мають вираженіший вплив на мембранний потенціал нервових терміналей та тромбоцитів, а також на ацидифікацію синаптичних везикул та секреторних гранул тромбоцитів, ніж нанодіаманти детонаційного синтезу.

Автор вдячний керівникові роботи д.б.н., проф. Т. О. Борисовій за цінні консультації; ст. наук. співр. лабораторії оптичних методів дослідження О. Ю. Чуніхіну за проведення лазерно-кореляційних спектроскопічних вимірювань; д.т.н. О. О. Бочечці та О. В. Лещенко з Інституту надтвердих матеріалів ім. В. М. Бакуля НАН України за надання зразків нанодіамантів; студентці 3-го курсу ННЦ «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка А. О. Шолох за допомогу в проведенні експериментальної частини роботи.

УДК 577.112:616

## ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ СПЕЦИФІЧНИХ ДО УБІКВІТИНУ ПРОТЕАЗ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ В УМОВАХ ПРИГНІЧЕННЯ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ IRE1

*О. В. ГАЛКІН, О. О. РЯБОВОЛ*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: oleggal2014@gmail.com*

**П**ротеази є важливою частиною складних регуляторних каскадів клітин і впливають на внутрішньоклітинну сигнальну мережу, яка відіграє надзвичайно важливу роль в динамічних механізмах регуляції біохімічних процесів як у нормі, так і за різних патологічних станів, а також за дії на організм різноманітних чинників. Інгібування сигнального ензиму IRE1 (inositol requiring enzyme-1), основного компонента сигналіну за умов стресу ендоплазматичного ретикулума, значно знижує рівень проліферації клітин гліоми і ріст злоякісних пухлин.

Метою роботи було дослідити експресію генів низки пептидаз *USP* (ubiquitin specific peptidase) і гена *GSA7/ATG7* (ubiquitin activating enzyme E1-like protein/ autophagyrelated 7) у клітинах гліоми лінії U87 за умов гіпоксії та пригнічення функції сенсорно-сигнального ензиму IRE1 для того, щоб з'ясувати роль цих генів у пригніченні проліферації пухлинних клітин.

Рівень експресії генів визначали в контрольних клітинах гліоми лінії U87, стабільно трансфекованих вектором pcDNA3.1 та її сублінії із пригніченою функцією сигнального ензиму IRE1 за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції.

Було показано, що рівні експресії генів *USP1*, *USP4*, *USP10*, *USP22* і *USP25* підвищуються

в клітинах гліоми з модифікованим IRE1. Проте, для генів *USP14* та *GSA7* було відзначено зниження рівня експресії порівняно з контрольними зразками. В умовах гіпоксії в контрольних клітинах гліоми спостерігалось підвищення рівня експресії гена *USP25* разом з одночасним зниженням рівня експресії генів *USP1*, *USP10* і *USP14*, водночас як гени *USP4* та *USP22* були стійкими до впливу гіпоксії. Однак пригнічення функції сенсорно-сигнального ензиму IRE1 модифікує регуляцію гіпоксією експресії генів *USP22*, *USP25* та *GSA7*.

Результати досліджень показують, що регуляція експресії генів *USP* та *GSA7*, які безпосередньо пов'язані з процесами клітинної проліферації та апоптозу, опосередковуються сигнальним ензимом стресу ендоплазматичного ретикулума IRE1, а також гіпоксією. Тому можна дійти висновку, що інгібування кіназної та ендорибонуклеазної активності IRE1 корелює з дерегуляцією специфічних до убіквітину протеаз та *GSA7* і, таким чином, уповільнює ріст пухлин.

Автори висловлюють подяку науковому керівнику, д.б.н., проф. О. Г. Мінченку за допомогу у проведенні досліджень, під час аналізу результатів та їх обговорення.



УДК 577.112.7:616

## РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО ІНСУЛІНУ В ПІДЛІТКІВ З ОЖИРІННЯМ КОРЕЛЮЄ ЗІ ЗМІНАМИ ЕКСПРЕСІЇ ГРУПИ ГЕНІВ, ЩО КОНТРОЛЮЮТЬ ПРОЦЕСИ ПРОЛІФЕРАЦІЇ

*О. С. ГНАТЮК, Д. О. МІНЧЕНКО*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: Oksana\_mol@bigmir.net*

**Р**озвиток ожиріння та його метаболічних ускладнень – одна з головних проблем суспільної охорони здоров'я – зумовлена порушенням регуляції численних внутрішніх механізмів, які контролюють більшість ключових метаболічних процесів. Збільшення об'єму жирової тканини за ожиріння тісно пов'язане з метаболізмом глюкози і ліпідів, а також процесами проліферації клітин. Водночас, численні зміни в органах і тканинах за різних захворювань, включаючи ожиріння, відображаються в крові. Особливий інтерес при цьому заслужують дослідження ключових регуляторних ензимів і факторів, які контролюють метаболізм глюкози та ліпідів, а також ріст клітин.

Основна мета цього дослідження полягала у з'ясуванні ролі групи генів, які кодують важливі фактори росту клітин та контролюють метаболізм глюкози і ліпідів в клітинах крові хлопчиків з ожирінням, для оцінки їх ролі в розвитку ожиріння і резистентності до інсуліну.

Нами досліджено експресію групи генів, що відповідають за контроль клітинного росту та метаболізму глюкози в клітинах крові хлопчиків з ожирінням із нормальною і порушеною чутливістю до інсуліну, а також у контролі – в умовно здорових осіб.

РНК виділяли із клітин крові за допомогою реагенту тризол, проводили зворотну

транскрипцію мРНК та оцінювали експресію генів із застосуванням кількісної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі.

Показано, що ожиріння з нормальною чутливістю до інсуліну підвищує експресію генів *IRS1*, *RIPK2*, *IL13RA2*, *RSP01*, *IQSEC* і *CCN2*, але зменшує рівень експресії генів *IRS2* та *DNAJC15* у клітинах крові порівняно з контрольною групою. Резистентність до інсуліну за ожиріння призводить до підвищення рівня експресії генів *IRS2*, *RSP01* і *DNAJC15*, а також до зниження рівня експресії генів *IRS1* та *RIPK2* в клітинах крові пацієнтів з ожирінням порівняно з пацієнтами з нормальною чутливістю до інсуліну.

Результати цього дослідження свідчать, що ожиріння впливає на експресію групи генів, пов'язаних із ростом клітин і метаболізмом глюкози в клітинах крові і що резистентність до інсуліну за ожиріння пов'язана зі зміною рівня експресії генів *IRS1*, *IRS2*, *RIPK2*, *RSP01* і *DNAJC15*, які сприяють розвитку резистентності до інсуліну і порушенню толерантності до глюкози, та можливо, відображають певні зміни в жировій тканині.

Автори висловлюють подяку науковому керівнику, д.б.н., проф. О. Г. Мінченку за допомогу у проведенні досліджень, під час аналізу результатів та їх обговорення.

UDC 577.218

## ADAPTOR PROTEIN Ruk/CIN85 INDUCES EMT IN MOUSE 4T1 BREAST ADENOCARCINOMA CELLS

I. R. HORAK

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: iryna.horak@gmail.com*

**A**daptor proteins consisting of binding domains and motives involved in protein-protein interactions play a key role in organization, structuring and regulation of physiologically relevant supramolecular complexes. Previously, we have demonstrated that adaptor protein Ruk/CIN85 enhances 4T1 breast adenocarcinoma cells motility and invasive potential through extracellular matrixes and vessel endothelium. The aim of this study was to elucidate the potential molecular mechanisms that mediate the impact of Ruk/CIN85 on breast cancer cell migration and invasion.

To obtain highly invasive subpopulation of 4T1 cells we performed Matrigel invasion test using modified Boyden chamber. Migrated cells were then collected and propagated in cell culture. Database [ist.medisapiens.com](http://ist.medisapiens.com) was used to analyze coexpression of Ruk/CIN85 and genes associated with metastasis in human breast cancer samples. Expression of selected genes in 4T1 cells with different Ruk/CIN85 expression levels was evaluated by Western blot analysis and quantitative PCR.

We have found that the expression level of Ruk/CIN85 in highly invasive subpopulation of 4T1

cells is higher than in parental cells. It was demonstrated that Ruk/CIN85 overexpression in 4T1 cells is associated with the increased amount of vimentin (mesenchymal marker) and decreased amount of E-cadherin (epithelial marker). Taken together these findings demonstrate that Ruk/CIN85 facilitates EMT in 4T1 breast adenocarcinoma cells. At the same time the expression of MMP-2 and MMP-9 as well as ERM proteins did not depend on Ruk/CIN85 expression level.

The obtained results indicate that Ruk/CIN85 may increase invasiveness of 4T1 breast adenocarcinoma cells by inducing EMT in these cells.

*Acknowledgments.* This work was partially supported by the SCOPES project (IZ73ZO\_152361). I would like to express my gratitude to my research supervisor Dr. Sci, Prof. Liudmyla Drobot and also to all colleagues from Cell Signaling Laboratory of Palladin Institute of Biochemistry for their help in experiments. Also I want to express my sincere appreciation to PD Dr. Lubor Borsig and Dr. Lucia Knopfová for their guidance and advices.

УДК 579.22:579.64

## АНАЛІЗ ЗАГАЛЬНОГО ЖИРНОКИСЛОТНОГО ПУЛУ АСОЦІАЦІЇ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ

О. Г. ГОРШКОВА, О. М. ІЛЬЧЕНКО, О. В. ВОЛЮВАЧ, Н. В. КОРОТАЄВА

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Україна;  
e-mail: tgudzenko@ukr.net

**Н**ауковий інтерес до вивчення жирнокислотного пулу (ЖКП) біохімічно активних мікроорганізмів зумовлений тим, що деякі з їхніх клітинних жирних кислот (ЖК) є аутоіндукторами в кворумчутливій системі, яка забезпечує контакти між членами популяції та з іншими макроорганізмами, що в біотехнології є важливим.

Мета дослідження – аналіз ЖКП та ідентифікація нафтоокислювальних штамів мікроорганізмів у складеній асоціації за їхнім жирнокислотним складом. Об'єкт дослідження – асоціація із двох біохімічно активних відносно органічних політантів штамів бактерій, виділених із морського середовища та попередньо ідентифікованих класичними методами до родів *Pseudomonas* і *Bacillus*.

Жирнокислотний аналіз проведено на газовому хроматографі Agilent Technologies 7890.

Домінантними в ЖКП мікроорганізмів були розгалужені ізомери насичених ЖК (40,5%), з яких 28,7% припадало на C15:0 iso. Із ЖК, що знаходились в iso та anteiso формах, переважали ЖК у формі iso: C11:0 (4,2%), C13:0 (0,3%); C14:0 (1,4%); C15:0 (28,7%), C16:0 (2,7%), C17:0 (3,1%). Частка ЖК C15:0 anteiso від загальної площі піків становила 23,7%. На частку ЖК C10:0, C14:0 та C16:0 припадало відповідно 0,4; 1,6 і

4,3%. Ізомерів гексадецевої кислоти виявлено 14,4%, з яких 10,2% розподілялось на 9-гексадецевою та 10-гексадецевою кислоти і 4,2% – на 15-метил-7-гексадецевою кислоти. В ЖКП асоціації штамів мікроорганізмів зафіксовано 4,3% гідроксикислот-iso: C11:0 ЗОН (1,66%), C12:0 ЗОН (0,41%), C13:0 ЗОН (2,26%); та 4,2% – гідроксикислот нормальної будови. Розрахована за відношенням 12-метилтетрадеканової кислоти до 13-метилтетрадеканової кислоти [C15:0 iso/ C15:0 anteiso] біомаркерна величина дорівнює 1,21. За рахунок присутності штаму *B. alcalophilus* в асоціації величина [C15:0 iso/ C15:0 anteiso] у 1,5 раза менша за аналогічну для монокультури *P. maltophilia* (1,83). Циклогептадеканова кислота (C17:0 cyclo, w=0,4%), ненасичені ЖК C17:1 w8c (w=0,4%), C17:1 w6c (w=0,2%) та співвідношення [C13:0 iso/ C13:0 anteiso], [C17:0 iso/ C17:0 anteiso] є біомаркерними лише для штаму *B. alcalophilus*: в ЖКП монокультури *P. maltophilia* перелічені ЖК відсутні.

За складом жирних кислот, спектри яких розшифровано з використанням бібліотечної бази даних RTSBA6 6.2 програми MIDI Sherlock, асоціація нафтоокислювальних мікроорганізмів ідентифікована як суміш, складена із *Pseudomonas maltophilia* і *Bacillus alcalophilus* з індексом схожості відповідно 0,467 і 0,294.



УДК 579.22:579.64

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ СКЛАДУ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ АСОЦІАЦІЇ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ-ДЕСТРУКТОРІВ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК

О. Г. ГОРШКОВА, М. О. САМОФАЛОВ, О. В. ВОЛЮВАЧ

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Україна;  
e-mail: tgudzenko@ukr.net

**П**ошук мікроорганізмів із поліфункціональною дією та їх ідентифікація залишаються актуальними для виготовлення нових біопрепаратів біотехнологічного призначення. Тому метою дослідження була ідентифікація та визначення складу жирних кислот (ЖК) ліпідів асоціації штамів мікроорганізмів-деструкторів органічних сполук, а об'єктом – асоціація штамів бактерій, виділених у 2014 році із забрудненого нафтою ґрунту о. Зміїний.

Жирнокислотний аналіз проведено на газовому хроматографі Agilent Technologies 7890 з автоматичною розшифровкою спектрів із використанням програми MIDI Sherlock.

У жирнокислотному профілі (ЖКП) асоціації штамів домінують розгалужені ЖК:  $\Sigma\text{ЖК}(\text{iso}+\text{anteiso}) = 91,34\%$  від загальної суми площ піків, з переважним умістом у 4,14 рази ЖК у формі anteiso (73,56%). Сума насичених ЖК розгалуженої будови до суми ЖК нормальної будови становить 34,08. У присутності в асоціації штаму *Kocuria rhizophila* відношення [C15:0 iso/C15:0 anteiso] зменшується з 0,33, згідно з даними літератури, для індивідуального штаму *Bacillus pantothenicus* до 0,24, що пов'язано із великим умістом у складі клітинних ліпідів C15:0 у формі anteiso (w=60,26%). Із насичених ЖК нормальної

будови в ЖКП зафіксовано лише ЖК з парною кількістю атомів карбону, сумарний вміст їх становить 2,68%, з яких 0,81% припадає на C14:0, 1,80% – на C16:0; слідова кількість 0,07% – на C18:0 – 0,07%. Таку саме слідову кількість в ЖКП становлять гідроксикислота C17:0 2ОН та ненасичена ЖК C19:1 w7c/C19:1 w6c. Маркерними для асоціації штамів мікроорганізмів слугують коефіцієнт насиченості ( $K_{\text{насич}}=1343$ ), співвідношення розгалужених ЖК: [C13:0 anteiso /C13:0 iso], [C15:0 anteiso /C15:0 iso], [C17:0 anteiso /C17:0 iso], що більше за одиницю, полягають у межах від 1,35–1,50 до 4,26 (4,26 для C15:0 anteiso/C15:0 iso).

За жирнокислотним складом асоціацію досліджуваних мікроорганізмів ідентифіковано як асоціацію, яка складена з індексом схожості 0,634 і 0,458 відповідно із *Kocuria rhizophila* і *Virgibacillus (Bacillus) pantothenicus*. Встановлено здатність мікроорганізмів до деструкції нафти: ступінь біодеструкції нафти з концентрацією 10 мг/10 мл бактеріальної суспензії за 20 діб експозиції становив 40%, відмічено хороший ріст мікроорганізмів на «голодному» агарі з 1% DSNa, що дозволяє пропонувати їх для використання в біотехнології очищення навколишнього середовища від органічних сполук.

УДК: 577.12:577.112:577.24

## ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *p53* ТА УБІКВІТИНУ В КУЛЬТУРАХ ФІБРОБЛАСТІВ ЛЕГЕНЬ І ШКІРИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

*М. А. ГРИЦЕНКО, І. С. ПИРІНА, Ю. Г. КОТ, К. В. КОТ*

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна;  
e-mail: masha.offshorebox@gmail.com*

**П**родукти генів *p53* та убіквітину беруть безпосередню участь в контролі процесу апоптозу, а, отже, впливають на швидкість старіння організму. В той самий час інтенсивність процесу старіння неоднакова для різних тканин та органів.

Виходячи з цього, метою дослідження було з'ясування зв'язку між морфологічними змінами і експресією генів *p53* та убіквітину в культурах фібробластів легень і шкіри щурів 0,5-, 1-, 3-, 24-місячного віку.

Клітини культивували за стандартних умов (DMEM+10% FBS, 37 °C, RH 95%, 5% CO<sub>2</sub>). Вміст нормальних, апоптотичних і «старіючих» клітин вимірювали в 3-му пасажі культури фібробластів. Підрахунок нормальних (Em 525 nm) і забарвлених акридиновим помаранчевим апоптотичних клітин (Em 630 nm) проводили за допомогою мікроскопа Olympus IMT2. Кількість «старіючих» клітин оцінювали за морфологічними ознаками (наявності ламелярного краю, кількості відростків і площі тіла клітин). Експресію генів вимірювали на ДНК-мікрочипах (Arrayit).

Показано, що в період від 0,5 до 24 місяців вміст апоптотичних клітин зростав з 1,9 до 33,6% і з 2,7 до 22,6%, а вміст «старіючих» клітин – з 0 до 64% і з 0 до 58% в культурах фібробластів легень і шкіри відповідно. Таким чином, в процесі росту в культурі фібробластів легень утворювалося більше дефектних клітин, ніж у культурі фібробластів шкіри, що свідчить про

більшу життєздатність останніх, принаймні, в умовах *in vitro*. У період від 0,5 до 24 місяців зміни експресії гена *p53* в обох культурах були односпрямовані. Експресія зростала в 2,4 раза у фібробластах легень і в 4,8 раза у фібробластах шкіри. Це, очевидно, пов'язано з накопиченням під час росту культур дефектних клітин, оскільки в постембріональному онтогенезі протеїн *p53* є одним із компонентів механізму їх апоптозу. Саме у цей період експресія убіквітину, який, зв'язуючись із протеїнами, запускає їх деградацію, знижувалась у фібробластах легень в 1,5 раза, а у фібробластах шкіри зростала в 1,8 раза. Така різноспрямованість, мабуть, пов'язана з тим, що у фібробластах шкіри під час росту культур утворювалося менше дефектних клітин і виникала надмірна кількість *p53*, яка і прибиралася за убіквітинзалежним механізмом. У фібробластах легень занадто велика кількість убіквітину може стати причиною того, що частина дефектних клітин не буде прибрана з культури, що призведе до її деградації.

Одержані результати свідчать про те, що між механізмом апоптозу клітини і убіквітинзалежною деградацією протеїнів, які беруть участь у ньому, існують як позитивні, так і негативні зв'язки, що залежать від функціональних властивостей самої клітини.

Автори висловлюють подяку науковому керівнику, д.б.н, проф. Є. Е. Перському за всебічну підтримку в проведенні дослідження.

UDC 577.29

## AN INHIBITORY ACTION OF N-STEAROYLETHANOLAMINE ON AGGREGATION OF HUMAN PLATELETS

*Ie. A. HUDZ', L. A. KASATKINA, L. P. URVANT, V. O. CHERNYSHENKO*

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: goudz@mail.ru*

**N**-stearoylethanolamine (NSE), a lipid mediator that belongs to the N-acylethanolamines family, possesses an anti-inflammatory, hypoglycemic and antitoxic action. The aim of the present work was to evaluate the effect of NSE on activation and aggregation of human platelets *in vivo*.

In aggregation measurements human platelet rich plasma (PRP) in the presence or absence of NSE ( $10^{-6}$ – $10^{-10}$  M) was activated with ADP. The activation of platelets was registered in fluorescence measurements based on exocytotic release of pH-sensitive dye acridine orange. The shape and granularity of platelets were monitored by flow cytometry.

The incubation of human PRP with NSE decreases the platelet aggregation rate from  $45 \pm 5$  to  $21 \pm 4\%$  ( $n = 5$ ). This effect was the most prominent in the presence of  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  M of NSE. However, the exocytotic release of pH-sensitive probe from activated platelets was not altered in the presence of NSE and equaled  $25 \pm 3\%$  ( $n = 5$ ) from accumulated dye. The long-term incubation with NSE did not affect shape or granularity of resting platelets.

Previously in studies *in vivo* on animal models NSE taken in the concentration range of  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  M was shown to be an effective anti-inflammatory agent. In the present study the same concentrations of NSE were found to be inhibitors of platelet aggregation. Surprisingly, NSE being the inhibitor of ADP-induced aggregation of platelets did not affect platelet activation. It could be an evidence of very specific action of NSE on platelets membrane or signaling processes involved in aggregation.

NSE taken in physiologically active concentrations were for the first time shown to be efficient inhibitor of aggregation of human platelets. Thus, the recently found anti-platelet effect of NSE complements its anti-inflammatory effect and at the same time allowed us to hypothesize the prospective studies of NSE as a potent anti-thrombotic agent.

Acknowledgements: to Dr. N. Hula and to Prof. E. Lugovskoy for their support in the development of the ideology of experiments.

УДК 577.112.7:616

## ЕКСПРЕСІЯ ГЕНА *TP53* ТА ЙОГО ІНГІБІТОРІВ В УМОВАХ ПРИГНІЧЕННЯ ERN1 ТА ГІПОКСІЇ В КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87

*С. В. ДАНИЛОВСЬКИЙ, І. В. КРИВДЮК, Д. О. МІНЧЕНКО*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: sergius03@gmail.com*

Гліома є однією з найзловякісніших пухлин з поширеним метастазуванням, і на сьогодні не існує ефективних методів її лікування. Пухлинні клітини знаходяться в умовах гіпоксії та дефіциту поживних речовин, які призводять до накопичення незгорнутих або неправильно згорнутих протеїнів, що спричинює стрес ендоплазматичного ретикулума, який, в свою чергу, пухлинні клітини використовують для росту. Найважливішим сенсорно-сигнальним ферментом стресу ендоплазматичного ретикулума є ERN1. Метою нашої роботи було знайти гени, через які ERN1 впливає на ріст пухлини або які змінюються за інгібування цього ферменту. Тому ми вирішили дослідити відомий ген-супресор *TP53* та його інгібітори: *MDM2*, *NME6*, *TOPORS*, а також ефектори: *PERP*, *SESN1* та *ZMAT3*.

РНК виділяли із клітин гліоми за допомогою реагенту тризол, протеїн *TP53* визначали імуноблот-аналізом, рівні експресії генів оцінювали кількісною полімеразною ланцюговою реакцією в реальному часі. Дослідження проводили на клітинах гліоми лінії U87 та її сублінії з домінантнегативною конструкцією на основі вектора pcDNA3.1 (dnERN).

У досліджах в умовах гіпоксії клітини поміщали в спеціальну камеру з 3% кисню, 5% діоксиду карбону та 92% азоту на 16 годин.

Дослідження показали, що гіпоксія неоднаково впливає на рівень експресії *TP53* та залежних від нього генів в умовах пригнічення сенсорно-сигнального ферменту ERN1. Експресія генів *TP53* та *ZMAT3* зменшується в умовах гіпоксії тільки в контрольних клітинах гліоми, але за умови виключення функції ферменту ERN1 ці гени є резистентними до гіпоксії. Гіпоксія не впливає

на експресію *SESN1*, але виключення ERN1 зумовлює гіпоксичну регуляцію. Стан гіпоксії є більш значущим для генів *MDM2* і *PERP*, оскільки спостерігалось підвищення їх експресії в обох типах клітин, і, таким чином, можемо дійти висновку, що ефект гіпоксії на експресію генів *MDM2* і *PERP* залежить як від активності ERN1, так і від інших факторів. Було встановлено, що індуковані гіпоксією зміни експресії генів призводять до зниження експресії генів *TOPORS* і *NME6* в умовах виключення функції сенсорно-сигнального ферменту ERN1.

Показано, що ERN1 бере участь у гіпоксичній регуляції експресії *TP53*-залежних генів, а гіпоксія призводить до стабілізації та підвищення активності *TP53*. У клітинах з dnERN1 гіпоксія індукуює вираженіші зміни на експресію вищезгадуваних генів порівняно з контрольними клітинами, що добре корелює зі зменшенням проліферації клітин з dnERN1.

Таким чином, клітинна відповідь на стрес ендоплазматичного ретикулума є важливим механізмом, за допомогою якого пухлинні клітини підтримують здатність до постійного швидкого поділу. Між наявністю гіпоксії і регуляцією шляхів клітинної загибелі існують складні відносини, які вимагають подальшого дослідження. Тому вплив на сигнальні шляхи клітинної відповіді на стрес ендоплазматичного ретикулума та виявлення потенційних генів-мішеней можуть бути використані як стратегія для розробки нових протипухлинних ліків.

Висловлюємо подяку науковому керівнику, д.б.н., проф. О. Г. Мінченку за допомогу в проведенні досліджень, під час аналізу результатів та їх обговорення.

УДК 577.112.34:612.822:661.8'036

## ВПЛИВ НОВИХ ФТОРВМІСНИХ АНАЛОГІВ ГАМК НА НАКОПИЧЕННЯ [<sup>3</sup>H]ГАМК НЕРВОВИМИ ТЕРМІНАЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ

*М. В. ДУДАРЕНКО, Н. Г. ПОЗДНЯКОВА*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: marina.dudarenko@gmail.com*

Одним з найефективніших методологічних підходів в розробці нових модуляторів позаклітинного гомеостазу  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК) у центральній нервовій системі є структурна модифікація цієї молекули. Різні похідні ГАМК та її аналоги широко відомі як лікарські засоби. Введення атомів фтору і невеликих поліфторалкільних груп в молекулу збільшує її ліпофільність, що спрощує подолання гематоенцефалічного бар'єра. Синтезовано нові фторвмісні аналоги ГАМК (ФА) із замісниками:  $\beta$ -CF<sub>3</sub>- $\beta$ -OH ((S)-1);  $\beta$ -CF<sub>3</sub> ((R)-2);  $\beta$ -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>H ((RS)-3). Метою цього дослідження було проаналізувати вплив ФА на початкову швидкість накопичення [<sup>3</sup>H]ГАМК нервовими терміналами (синаптосомами) головного мозку щурів та порівняти ефективність ФА з дією відомого медичного препарату Прегабаліну ((S)-4).

Синаптосоми головного мозку щурів виділяли за методом Котмана. Вивільнення нейромедіатору вивчали за допомогою радіоізотопного методу із застосуванням міченої [<sup>3</sup>H]ГАМК та скловолоконних фільтрів Whatman GF/C.

Встановлено, що ФА виявились здатними підвищувати початкову швидкість накопичення [<sup>3</sup>H]ГАМК нервовими терміналами головного мозку щурів лише в умовах їх попередньої інкубації із синаптосомами протягом 20 хв, оскільки гострого ефекту ФА не спостерігалось. Отже, аналог ГАМК (S)-1 підвищував початкову швидкість накопичення [<sup>3</sup>H]ГАМК на 23,27%; (R)-2 – на 17%; (RS)-3 – на 22,7%;

і (S)-4 (Прегабалін) – на 19%. Таким чином, ефект аналогів (S)-1 та (RS)-3 був вище ефекту Прегабаліну.

В умовах використання інгібіторів ГАМК-транспортерів GAT1 та GAT3 типів – NO711 та SNAP5114 відповідно також спостерігалось зростання початкової швидкості накопичення [<sup>3</sup>H]ГАМК синаптосомами.

ФА (S)-1 та (RS)-3, а також меншою мірою (R)-2 і Прегабалін збільшують початкову швидкість накопичення ГАМК синаптосомами. Вплив ФА був неспецифічним, оскільки спостерігалось зростання активності транспортерів ГАМК як GAT1, так і типу GAT3. Показано, що синтезовані речовини є структурними, але не функціональними аналогами ГАМК, тому що вони не інгібують, а, навпаки, активують процес накопичення нейромедіатору синаптосомами. Виявлено, що Прегабалін виявляє нижчу ефективність порівняно з новосинтезованими аналогами ГАМК.

Автори вдячні науковому керівникові, д.б.н., проф. Т. О. Борисовій за всебічну підтримку та консультації під час виконання роботи; академіку НАН України, д.х.н., проф. В. П. Кухарю та співробітникам відділу тонкого органічного синтезу Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України: О. М. Шайтановій, І. І. Герусу, Р. В. Миронцю за надані синтезовані сполуки; д-ру, проф. Г. Хауфе з Інституту органічної хімії (Мюнстер, Німеччина) за підтримку синтезу фторвмісних аналогів ГАМК.



УДК 57.085.23+576.535.5: 57.053+576.382.3

## ПРОЯВ ПУХЛИННИХ РИС ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИН ЗА ВПЛИВУ НА СИГНАЛЬНІ КЛІТИННІ СИСТЕМИ *IN VITRO*

*О. О. КАЛМИКОВА, Н. А. ПЕТРУК, О. А. КОЛОТІЙ, Н. В. СЕНЧИЛО*

*ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна;  
e-mail: olesyakalmukova@gmail.com*

У зв'язку зі зростанням рівня захворюваності на злоякісні новоутворення на сьогодні актуальним є вивчення біологічних характеристик пухлинних клітин, зокрема за дії активаторів та інгібіторів сигнальних рецепторів. Тому метою роботи було порівняння якісних, функціональних та кількісних характеристик змін трансформованої культури клітин HeLa за впливу активаторів (тейхоевої кислоти (ТК), епідермального фактора росту (EGF)) та інгібітора герцептин (HER) сигнальних рецепторів (Toll-like receptor, EGFR1, EGFR2) та за впливу ДНК-зв'язувального агента – цисплатину (CIS).

Клітини культивували за стандартних умов. Діючі речовини додавали по 100 мкл до кінцевої концентрації 5 мкг/мл (HER, CIS) і 50 мкг/мл (ТК, EGF) та інкубували протягом 24 год. Морфометричний аналіз проводили за фарбування клітин гематоксиліном Бемера та барвником Май-Грюнвальда, альціановим синім для визначення зміни інтенсивності синтезу полісахаридних компонентів позаклітинного матриксу. Включення глікогену аналізували за допомогою PAS-реакції. Оцінку виживаності клітин проводили МТТ-тестом. Зміни локалізації транскрипційного фактора с-тус досліджували імуноцитохімічним методом.

У культурі інтактних клітин HeLa переважали кулясті клітини, проте деякі з них мали відростки, зіставні за довжиною з розміром клітин. Дія досліджуваних речовин значно впливала на їхню форму: за впливу HER клітини ви-

являли підвищення адгезивних властивостей; за CIS – клітини набували неправильної форми; за ТК – зменшувалась площа прикріплення клітин, відростки втягувались; за EGF – морфологія клітин змінювалась на епітеліоподібну. Площа їх за дії EGF та HER вірогідно збільшувалась, а за дії ТК і CIS – зменшувалась. В той самий час ядерно-цитоплазматичне співвідношення зростало після впливу ТК і зменшувалось після впливу HER та CIS.

За даними МТТ-тесту виживаність інтактних клітин HeLa за досліджуваний період відповідала  $0,195 \pm 0,010$  опт. од. За дії ТК, EGF та HER на клітини цей показник не змінювався ( $0,193 \pm 0,013$ ;  $0,207 \pm 0,001$  та  $0,200 \pm 0,012$  відповідно). Проте після дії CIS життєздатність клітин вірогідно зменшувалась ( $0,087 \pm 0,005$ , що становило 45% від контролю). Контрольні зразки та зразки за дії ТК, EGF були слабопозитивними на с-тус, а після впливу HER – негативні. Під час дії всіх досліджуваних речовин рівень синтезу глікогену зменшувався, тоді як рівень продукції кислих глікозаміногліканів зростав за дії ТК.

За допомогою комплексного морфофункціонального аналізу показано зменшення пухлинних рис клітин HeLa у разі дії герцептину та цисплатину, натомість їх збереження спостерігали за дії тейхоевої кислоти і EGF.

Висловлюємо щире подяку науковим керівникам Л. В. Гарманчук та Г. В. Островській за безпосередню і активну допомогу в роботі.

УДК 577. 112

## ВМІСТ ГЛЮКОЗИ В СЕРЕДОВИЩІ КУЛЬТИВУВАННЯ ЯК МАРКЕР ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ

*І. В. КОНОВЧЕНКО, В. М. РУДЕНКО, О. В. КОЛОТІЙ*

*ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна;  
e-mail: kolotiiolga@gmail.com*

**В**ажливим етапом малігнізації пухлинних клітин є зміна метаболізму, а залучення глюкози в клітини є мірою визначення швидкості її утилізації. Тобто метаболічний показник глюкози є діагностичним маркером споживання основного енергетичного субстрату пухлинними клітинами. У нормальних нетрансформованих клітинах споживання глюкози помірно завдяки розщепленню глюкози аеробним шляхом та окисленню пірувату. У трансформованих клітинах швидкість поглинання глюкози є дуже високою, розщеплення відбувається анаеробним шляхом, і для забезпечення клітини необхідною енергією витрачається значно більше глюкози. Пригнічення проліферації клітин асоціюється з метаболізмом глюкози. Тому метою нашої роботи була перевірка впливу різного вмісту глюкози в середовищі інкубації на проліферативні показники культивованих клітин та швидкість поглинання клітинами глюкози із середовища інкубації.

Як експериментальну модель використовували клітини лінії Colo-205 –аденокарцинома товстого кишечника людини. Для визначення вмісту глюкози застосовували глюкозооксидазний метод, який базується на окисненні глюкози ензимом глюкозооксидазою з використанням кисню повітря до глюконової кислоти та пероксиду водню. Для визначення кількості живих та мертвих клітин, а також загальної концентрації клітин, використано метод підрахування клітин у камері Горяєва після фарбування клітин трипановим синім.

Клітинну лінію Colo-205 культивували в середовищі ДМЕМ з 2% глюкози, що враховували за підрахунку рівня поглинання глюкози із середовища. За додавання додатково глюкози до кінцевого вмісту 5, 2,5; 2 чи 1% в середовище культивування клітин не спостерігали значного впливу на проліферацію клітин, оскільки кількість клітин у дослідних зразках майже не відрізнялася від контрольної проби. Щодо поглинання глюкози в умовах високої її концентрації, то спостерігали зниження за стандартних умов культивування (10% ЕТС в середовищі інкубації) підвищення поглинання глюкози в безсироваткових умовах культивування. Крім того, за високих концентрацій глюкози (5%) збільшувалось кількість мертвих клітин на 18% порівняно з контролем.

Встановлено, що за впливу різних помірних концентрацій глюкози (1–5%) на культивовані клітини Colo-205 в їх проліферації та рівні поглинання глюкози із середовища не спостерігалось вірогідних змін, однак високі її концентрації призводили до підвищення кількості апоптичних та мертвих клітин.

Висловлюємо щире подяку науковому керівникові, д.б.н., проф. Л. В. Гарманчук за допомогу в організації експерименту, асп. Д. В. Шелест за допомогу в оформленні результатів, асп. Т. В. Ніколаєнко, магістру Н. А. Петрук за надання технічної допомоги в культивуванні клітин.

УДК [577.112.386:577.112.3]:616.36-002

## ОСОБЛИВОСТІ ДЕСУЛЬФУРАЗНОГО ШЛЯХУ МЕТАБОЛІЗМУ СУЛЬФУРОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ В ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ В УМОВАХ ПРОТЕЇНОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ТА ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ

Г. П. КОПИЛЬЧУК, І. М. НИКОЛАЙЧУК, Ю. К. ОСТРОВСЬКА

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Україна;  
e-mail: ostrovska\_yuliya@mail.ru

Важливість біологічної ролі сульфуровмісних амінокислот в останні роки визначає підвищений інтерес до їх обміну. Гомоцистеїн (ГЦ), метіонін та цистеїн мають спільні шляхи деградації, а їхні проміжні метаболіти відіграють роль регуляторів активності ензимів реметилування та транссульфування ГЦ. Водночас утилізація цих амінокислот може відбуватися альтернативним десульфуразним шляхом з утворенням гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S). Синтез H<sub>2</sub>S в організмі забезпечується цистатіонін-γ-ліазою (4.4.1.1, ЦГЛ), цистеїнамінотрансферазою (2.6.1.3, ЦАТ) та тіосульфатдитіолсульфідтрансферазою (2.8.1.5, ТСТ). Мета роботи – дослідити активність ензимів десульфуразного шляху метаболізму сульфуровмісних амінокислот в гепатоцитах щурів в умовах протеїнової недостатності та токсичного ураження.

Протеїнову недостатність моделювали шляхом утримання тварин протягом 28 днів на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні за принципом парного харчування. Моделювання токсичного ураження індукували шляхом введення *per os* дослідним щурам ацетамінофену з розрахунку 1250 мг/кг маси тіла тварини у вигляді суспензії в 2%-му розчині крохмального гелю. Активність ЦГЛ, ЦАТ та ТСТ оцінювали за кількістю утвореного H<sub>2</sub>S. Визначення вмісту гідроген сульфід здійснювали методом, що ґрунтується на утворенні барвника метиленового синього в реакціях між сульфідом та N, N-диметилпарафенілендіаміном у кислому середовищі в присутності Fe<sup>3+</sup>.

Встановлено, що в умовах нестачі протеїну та ацетамінофеніндукованого ураження в гепатоцитах щурів спостерігається вірогідне підвищення ЦГЛ-активності порівняно з контролем. Можна припустити, що активація ЦГЛ пов'язана з конденсацією гомоцистеїну (надмірний рівень останнього виявлявся в усіх дослідних групах тварин) з утворенням гомоцистеїнлактону та гідроген сульфід, підвищений вміст якого зареєстровано в цих експериментальних умовах. Через продукування H<sub>2</sub>S цистатіонін-γ-ліаза працює як сульфгідраза цистеїновмісних протеїнів, регулюючи їхні функції шляхом сульфгідрування через перетворення –SH-груп на –SSH за специфічними залишками цистеїну.

Окрім ЦГЛ свій внесок у продукування H<sub>2</sub>S в гепатоцитах здійснюють також ензими – ЦАТ та ТСТ. Встановлене нами зниження цистеїнамінотрансферазної активності в гепатоцитах усіх дослідних груп, ймовірно, зумовлене нестачею субстрату з огляду на дефіцит цистеїну. Водночас, в цих експериментальних умовах в клітинах печінки спостерігали посилення ТСТ-активності, що може слугувати додатковим аргументом для пояснення встановленого накопичення H<sub>2</sub>S в клітинах печінки усіх дослідних груп тварин.

Отже, в умовах протеїнової недостатності та ацетамінофеніндукованого ураження в гепатоцитах щурів усіх дослідних груп спостерігається функціональний дисбаланс активності ензимів десульфуразного шляху метаболізму сульфуровмісних амінокислот із посиленням утворенням гідроген сульфід.

УДК 595.31-113.31:582.282.23

## МОДИФІКАЦІЯ НУТРИЄНТНОГО СКЛАДУ *MOINA MACROSCOPA* (STRAUS) ЗА ЗАСТОСУВАННЯ КАРОТИНСИНТЕЗУЮЧИХ ДРІЖДЖІВ *RHODOTORULA*

О. В. КУШНИРИК

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Україна;  
e-mail: kushniryk-olga@email.ua

У сучасній інтенсивній аквакультури широко використовуються технології збагачення живих кормів для риб есенціальними сполуками. Ефективним виявився раніше запропонований нами спосіб підвищення вмісту каротиноїдів у кормових організмах шляхом застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula* (Kushniryk et al., 2015). Проте, активне накопичення кормовими організмами каротиноїдів може призвести до перерозподілу співвідношень окремих нутрієнтів та зменшити їхню поживну цінність. Відповідно метою роботи було оцінити зміни в нутрієнтному складі живого корму *Moina macroscopa* за збагачення каротиноїдами в умовах використання каротинсинтезуючих дріжджів *R. glutinis* та *R. rubra*.

Загальний вміст каротиноїдів визначали згідно з методикою (Продукты пищевые, 2011), фракційний склад їх встановлювали методом тонкошарової хроматографії (Чечета и др., 2008). Екстраговані за Фолчем загальні ліпіди (Folch et al., 1957) кількісно визначали шляхом проведення кислотного гідролізу досліджуваних зразків із наступною взаємодією продуктів розпаду з фосфованіліновим реактивом (Knight et al., 1972), а вміст загального протеїну – за Лоурі (Lowry et al., 1951). Амінокислотний склад встановлювали методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії (Козаренко, 1975).

Використання дріжджів *R. rubra* сприяє підвищенню вмісту каротиноїдів у культурі зоо-

планктону *M. macroscopa* до 9,8 мг/г сухої речовини, тоді як у контрольній групі, культивованій на *Saccharomyces cerevisiae*, вміст каротиноїдів не перевищував 0,1 мг/г. У складі сумарних каротиноїдів у *M. macroscopa* за застосування харчового субстрату *R. rubra* ідентифіковано 7 фракцій –  $\beta$ -каротин, ехіненон, моноестери атаксантину, астацен, кантаксантин, вільний атаксантин та лютеїн. Натомість, застосування *R. glutinis* дозволяє ефективніше накопичувати каротиноїди (14,2 мг/г), фракційний склад яких представлений всіма переліченими вище каротиноїдами з  $\zeta$ -каротином замість астацену.

Аналіз нутрієнтного складу *M. macroscopa* у разі використання *R. rubra* показав незначне зменшення вмісту загальних протеїнів (на 12%) та зростання вмісту загальних ліпідів (на 11%) порівняно з контролем, що, однак, не становить вірогідної відмінності. Застосування дріжджів *R. glutinis* також не знижувало поживної цінності *M. macroscopa*, оскільки вміст загальних протеїнів (555 мг/г) та ліпідів (116 мг/г) у зазначеній групі вірогідно не відрізнявся від контрольних значень. Окрім того, використання *R. glutinis* зумовлювало підвищення вмісту метіоніну, ізолейцину та лейцину в живому кормі.

Таким чином, застосування *R. glutinis* для збагачення *M. macroscopa* каротиноїдами сприяло ефективнішому накопиченню каротиноїдів, не знижуючи при цьому поживної цінності живого корму.

УДК 591.1: 577.151.57.021.57.04

## МЕХАНІЗМИ ЗАХИСНОЇ ДІЇ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ НА ДВОДЕННИХ ОСОБИН *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ВПЛИВУ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ

М. П. ЛИЛИК

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника,  
Івано-Франківськ, Україна;  
e-mail: marialylyk@ukr.net*

**А**льфа-кетоглутарат (АКГ) – інтермедіат циклу Кребса – задіяний в забезпеченні клітин енергією, обміні протеїнів, жирів та вуглеводів. Мета дослідження – вивчити вплив харчового АКГ на стійкість до холодового стресу в плодовій мушці *Drosophila melanogaster*.

Контрольне середовище для вирощування мух *D. melanogaster* лінії *Canton S.* містило 5% сухих пекарських дріжджів, 5% сахарози, 1% агару та 0,18% ніпагіну. У дослідні середовища додатково вносили різні концентрації динатрієвої солі АКГ (1–20 мМ). Для підтримання однакової щільності популяції на приготуванні середовища (25 мл середовища в ємності місткістю 250 мл) вносили по 200 яєць. Мух дводенного віку розділяли за статтю та використовували для фізіологічних тестів чи біохімічного аналізу. Стійкість до холодового стресу визначали за часом відновлення рухової активності мух після 3-годинної холодової коми при 0 °С.

Для одержання супернатантів мух однієї статі зважували і гомогенізували в співвідношенні 1 : 10 (маса/об'єм) в охолоджену 50 мМ калій-фосфатному буфері (рН 7,0), який містив 0,5 мМ ЕДТА та 1 мМ ФМСФ; гомогенати центрифугували. В супернатантах визначали загальну антиоксидантну активність (Erel, 2004); активність каталази (Aebi, 1984); вміст тіольних груп (Ellman, 1959); вільних амінокислот і проліну (Lee and Takahashi, 1966; Bergman, Loxley, 1970); вміст протеїнів (Bradford, 1976). Для визначення пероксидів ліпідів мух гомогенізували (1:20) в охолоджену 96%-му етанолі (Lushchak et al., 2005).

Дані представлено як середнє арифметичне ( $n = 4-6$ ) ± похибка арифметичного стандартного відхилення. Вірогідність різниці між результатами оцінювали за критерієм Стьюдента.

Дослідні мухи обох статей, вирощені за помірних концентрацій АКГ 5 і 10 мМ були стійкішими до холодового стресу порівняно з контролем. Це виявлялося у зменшенні часу виходу із 3-годинної холодової коми. За вищих концентрацій АКГ цього ефекту не спостерігалося. Самці, вирощені на середовищі з 10 мМ АКГ, мали вищу ЗАА, активність каталази, вищий рівень високо- і низькомолекулярних тіольних сполук порівняно з контролем. Водночас, вміст амінокислот та, зокрема, проліну в дослідних самців не відрізнявся від контрольних значень. У самок, вирощених на 10 мМ АКГ, активність ЗАА і каталази та вміст високомолекулярних тіолів не відрізнялися від таких значень у контрольних особин, проте вміст низькомолекулярних тіолів, вільних амінокислот та проліну був вищим, ніж у контрольних самок, а пероксидів ліпідів в особин обох статей був нижчим, ніж у контролі.

Шляхи метаболізму харчового АКГ дещо відрізняються в самців і самок плодовій мушці. У самок АКГ, головним чином, використовується для синтезу амінокислот, а в самців, очевидно, значна частина АКГ метаболізується в циклі Кребса, що може призводити до інтенсифікації роботи електронно-транспортного ланцюга мітохондрій і внаслідок цього сприяти активації антиоксидантного захисту, підвищення якого та синтез кріопротекторних молекул (проліну) можуть бути тими механізмами, які забезпечують стійкість *D. melanogaster* до холодового стресу.

Автор висловлює подяку науковому керівнику, к.б.н., доц. М. М. Байляк за ідею роботи і студентам кафедри біохімії та біотехнології О. Витвицькій і О. Манюх за допомогу у виконанні експериментальної частини.



UDC 577.161.2:577.171.7+611.71

**PREDNISOLONE-INDUCED IMPAIRMENTS IN THE RANK-  
AND GR-MEDIATED SIGNALING PATHWAYS DEPENDING  
ON THE STATE OF VITAMIN D<sub>3</sub> ENDOCRINE SYSTEM  
IN RAT BONE MARROW**

*O. O. LISAKOVSKA, I. O. SHYMANSKYI*

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: o.lisakovskaya@gmail.com*

**S**econdary osteoporosis is one of the most devastating side effects of glucocorticoid (GC) therapy. Growing evidence indicates that the ratio of benefits to adverse effects depends greatly on glucocorticoid receptor (GR)-mediated mechanisms. Nevertheless, GC-evoked disturbances in other signaling pathways in bone marrow (BM) cells, involving receptor activator of nuclear factor kappa-B (RANK) and vitamin D<sub>3</sub> receptor (VDR), remain to be elucidated. Therefore, the aim of our study was to examine prednisolone-induced changes in GR, RANK and VDR signaling pathways of rat BM depending on the state of vitamin D<sub>3</sub> endocrine system.

Female Wistar rats received prednisolone (5 mg/kg of b.w.) with or without 100 IU of vitamin D<sub>3</sub> (for 30 days). The levels of GR, RANK, phosphorylated NF-κB p65, IκB, 1α-hydroxylase (CYP27B1) in BM were determined by western blot analysis. VDR mRNA level was measured by quantitative RT-PCR. The percentage of GR- and RANK-positive cells was determined using flow cytometry. RANK-, VDR- and GR-positive BM cells were visualized by confocal microscopy. 25OHD<sub>3</sub> content in the serum was assayed by ELISA.

Prednisolone caused a decrease in the GR protein level and the amount of GR-positive BM. This effect can be explained by a compensatory response to long-term prednisolone administration. Interestingly, the GR level in BM of rats, which received prednisolone and vitamin D<sub>3</sub> concurrently, was found to be significantly elevated.

Prednisolone induced a marked increase of the RANK protein level. Data from flow cytometry also indicated a significant increase in the number of RANK-positive cells (hematopoietic osteoclast precursors) compared to control. This reflects disturbances in the RANK-mediated regulation of BM progenitor cell function. Since NF-κB is one of the important transcription factors for osteoclast differentiation that are activated by RANK-RANKL interaction, its level was also investigated. An elevation of the pNF-κB p65 level was found, while the IκB level has decreased reflecting transcriptional activation of NF-κB.

These changes were accompanied by a simultaneous significant decrease in the levels of VDR and CYP27B1, which are responsible for synthesis of hormonally active vitamin D<sub>3</sub> metabolite 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. 25OHD<sub>3</sub> content in the serum declined indicative of vitamin D<sub>3</sub> insufficiency. Notably, co-localization of VDR and RANK in mono- and multinuclear BM cells was observed, suggesting a close relation between VDR and RANK signaling pathways. Vitamin D<sub>3</sub> co-administration prevented prednisolone-induced impairments of the RANK and GR signaling pathways in BM cells through restoration of vitamin D<sub>3</sub> bioavailability that resulted in a reduction of the osteoclast progenitor pool in BM.

Thus, prednisolone-induced disturbances in GR and RANK signaling pathways are associated with impairments of vitamin D<sub>3</sub> endocrine system in BM cells and can be ameliorated by vitamin D<sub>3</sub> treatment.

УДК 577.033

## ЕФЕКТИ КАЛІКС[4]АРЕНУ C-145 ТА ФРАГМЕНТА ЙОГО МОЛЕКУЛИ НА ПОЛІМЕРИЗАЦІЮ ФІБРИНУ, АКТИВАЦІЮ ТРОМБОЦИТІВ ТА ПРОЛІФЕРАЦІЮ ЕНДОТЕЛІОЦИТІВ

*О. Е. ЛУГОВСЬКА<sup>1,2</sup>, Л. П. УРВАНТ<sup>2</sup>, Л. О. КАСАТКІНА<sup>2</sup>,  
С. О. ЧЕРЕНОК<sup>3</sup>, Т. В. НІКОЛАСНКО<sup>1</sup>, В. О. ЧЕРНИШЕНКО<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна;

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: olya1994@yahoo.com;

<sup>3</sup>Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ

Раніше було показано, що натрієва сіль калікс[4]арен-тетраметиленбісфосфонової кислоти (C-145) інгібує полімеризацію фібрину *in vitro* та *in vivo*, безпосередньо взаємодіючи з А-центрами полімеризації, та є перспективним антикоагулянтном. Водночас, високі концентрації C-145 (50-100  $\mu\text{M}$ ) інгібували дегрануляцію тромбоцитів та сприяли проліферації ендотеліоцитів у культурі клітин. Метою нашої роботи було диверсифікувати біологічні ефекти цілісної молекули калікс[4]арену C-145 та фрагмента його молекули (4-гідрокси-феніл-метиленбісфосфонової кислоти).

Дію C-145 та його фрагмента на полімеризацію фібрину вивчали турбідиметрично в системі фібриноген + тромбін. Активацію тромбоцитів у збагаченій тромбоцитами плазмі крові (ЗТПК) людини визначали методом спектрофлуориметрії за вивільненням рН-чутливого флуоресцентного барвника акридинового оранжевого. Зміну інтенсивності флуоресценції фіксували в термостатованій кюветі за довжини хвилі активації 490 нм, емісії – 530 нм. Екзоцитоз обчислювали у відсотках від загальної кількості акумульованого зонда. Для визначення впливу калікс[4]арену C-145 на проліферацію ендотеліоцитів було використано дві клітинні лінії: ендотеліоцити аорти свині (РАЕ) та миші (МАЕС). Клітини інкубували в середовищі DMEM та 10%-му FBS за стандартних умов. Після періоду адаптації до клітин додавали калікс[4]арен C-145 (50  $\mu\text{M}$ )

та його фрагмент (200  $\mu\text{M}$ ) і культивували протягом двох діб. Визначення цитотоксичного/пропроліферативного впливу досліджуваних агентів на ендотеліоцити проводили з використанням цитофлуориметричного аналізу, підрахунком концентрації живих і мертвих клітин, фарбованих трипановим синім, а також в МТТ-колориметричному тесті.

C-145 у концентрації 50  $\mu\text{M}$  інгібував полімеризацію фібрину, індуковану тромбіном, на 90%. Фрагмент C-145 у концентрації 200  $\mu\text{M}$  інгібувальної дії не чинив. 50  $\mu\text{M}$  C-145 інгібував ADP-індуковану дегрануляцію тромбоцитів у збагаченій тромбоцитами плазмі крові на 30%, тоді як його фрагмент у концентрації 200  $\mu\text{M}$  на цей процес не впливав. Як C-145, так і його фрагмент за дослідження на експериментальних моделях систем культивованих клітин аорти миші та свині спричинювали зменшення кількості апоптичних клітин, збільшення популяції клітин проліферативного пулу G2/M+S та концентраційнозалежне збільшення кількості живих клітин на 15–25%.

Таким чином, було показано, що для проявлення ефектів C-145 на полімеризацію фібрину та на активацію тромбоцитів потрібна цілісна структура калікс[4]арену. Фрагмент C-145 таких властивостей не виявляв. Натомість, антиапоптична та проліферативна дія C-145 була характерна також і для його фрагмента. Очікується, що результати дозволять синтезувати на основі C-145 молекулу з оптимальними антитромботичними властивостями.

UDC 557.161.2+612.017.1:616-097

## DESIGN AND VALIDATION OF IMMUNOENZYME TEST-SYSTEM FOR 25OHD DETECTION IN SEROLOGICAL SAMPLES

*A. O. MAZANOVA, I. O. SHYMANSKYI*

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: ann.mazanova@gmail.com*

In recent years, the measurement of 25OHD level in blood serum has become a standard laboratory procedure in the worldwide clinical practice as a reliable marker of vitamin D<sub>3</sub> bioavailability. In addition to osteoporosis, a number of other human diseases, such as inflammation, cardiovascular disorders, cancer, type 1 and 2 diabetes are known to be accompanied by 25OHD deficiency. Various methods are currently available, which allow measuring 25OHD in blood serum. High performance liquid chromatography in tandem with mass spectrometry and radioimmunoassay involves the use of expensive equipment and reagents, making them inaccessible for wide laboratory applying. The present study was aimed at designing immunoenzyme test-system for competitive determination of 25OHD in serum samples that based on using rabbit polyclonal antibodies and biotin-streptavidin visualization technique.

The methods of polyclonal antibodies purification by salting out with 50% ammonium sulfate, indirect immunoenzyme analysis for the characterization of antibodies titer, immunoenzyme competitive technique for 25OHD measurement in serum were used. The validation parameters of test-system (standard calibration curve, sensitivity, coefficients

of intra- and intersystem variation, cross-reactivity and matrix effects) were determined.

It was shown that after the procedure of salting out, rabbit polyclonal antibodies against 25OHD retained their activity as was evident from high antibodies titer (1:10000). The optimal concentration of a competing agent – 25 hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-LC-biotin – was found to be equal to 5 ng/ml. The standard calibration curve was built and the following validation parameters were established: the limit of 25OHD detection – 2.5 ng/ml; quantitative limit – 6.9 ng/ml; coefficients of intra- and intersystem variation – 5-7% and 7% respectively. It was shown that constructed immunoenzyme test-system has no “matrix effect” for hemoglobin and bilirubin provided using a non-hemolyzed samples. It was determined that the cross-reactivity of rabbit polyclonal antibodies to other metabolites of vitamin D<sub>3</sub> was not significant that eliminates false positive/negative results during the analysis.

It could be concluded, that constructed immunoenzyme test-system can be used successfully for 25OHD determination in blood serum samples.

I also would like to express my gratitude to my supervisor Dr. Sci, Professor Mykola M. Veliky.

УДК 582.263-119:547.979.8

## ІНДУКЦІЯ ВТОРИННОГО КАРОТИНОГЕНЕЗУ У *DESMODESMUS ARMATUS* (CHOD.) HEGEW В УМОВАХ ДВОСТАДІЙНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

І. В. МАЛИЩУК, Л. М. ЧЕБАН

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Україна;  
e-mail: umwelt@ukr.net

Потенційними продуцентами кетокаротиноїдів на сьогодні вважають представників зелених мікроводоростей родів *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* та *Muriellopsis* (Lemoine, 2010). Збільшення виходу цільового продукту можна досягти шляхом використання попередників біосинтезу, індукторів або стимуляторів каротиногенезу в умовах двофазної накопичувальної культури (Челебієва, 2013). Мета роботи – оцінка доцільності використання індукторів каротиногенезу різного механізму дії у *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew в умовах двостадійного культивування.

Альгологічно чисту культуру *D. armatus* вирощували на стерильній скидній воді з УЗВ (Cheban, 2015) за освітлення 2,5–4 клк, при температурі  $21 \pm 2$  °C та за 16-годинного фотоперіоду. Перехід культури у другу фазу здійснювали шляхом внесення індукторів каротиногенезу:  $\text{FeSO}_4$  (0,11, 0,22, 0,45 мМ) на фоні  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-4}$  мМ), NaCl (50, 100, 200 мМ) або  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  чи  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (10, 25, 50 мМ). У динаміці культивування аналізували зміну ростових показників та показників продуктивності альгокультури (вміст загального протеїну, ліпідів, хлорофілу *a*, *b* та каротиноїдів). Фракційний склад кетокаротиноїдів визначали методом ТШХ в системі розчинників гексан : ацетон (9:1).

Перша фаза культивування *D. armatus* тривала 16 діб (до кінця експоненційної фази) та характеризувалася швидким нарощенням біомаси (13 г/л) і збільшенням кількості клітин у культурі

до  $5 \times 10^6$  кл/л. На другій фазі культивування у разі використання  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  або  $\text{CH}_3\text{COONa}$ , незалежно від обраної концентрації, чисельність клітин у культурі *D. armatus* збільшувалася вдвічі, а за внесення NaCl чи  $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  – їх кількість не змінювалася протягом всього терміну культивування.

За внесення в середовище  $\text{CH}_3\text{COONa}$  в біомасі *D. armatus* збільшувався вміст загальних ліпідів (41%) та каротиноїдів (19%) на фоні зменшення вмісту загального протеїну та хлорофілів *a*, *b* у 0,5 раза. Подібні тенденції спостерігалися також за використання глюкози в тих самих концентраціях.

У разі застосування стрес-факторів ( $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ , NaCl) вміст протеїну до кінця другої фази культивування зменшувався майже у 4 рази і знаходився на рівні 20% від контролю. Масове накопичення каротиноїдів (25%) відбувалося на фоні підвищення вмісту загальних ліпідів (46%) та зниження вмісту хлорофілу *a* до 0,8%.

За результатами ТШХ у біомасі *D. armatus* встановлено 7 фракцій кетокаротиноїдів, що дорівнює 89% від загальної кількості каротиноїдів. Серед зазначених сполук встановлено наявність астаксантину та його ефірів, зеаксантину, кантаксантину та ехіненону.

Отже, серед розглянутих індукторів каротиногенезу, які вивчалися, найефективнішим є NaCl (200 мМ) та  $\text{FeSO}_4$  (200 мМ) з  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-4}$  мМ), що дозволяє збільшити вихід кетокаротиноїдів *D. armatus* у 4 рази.

УДК 616.33-22.44:539

## ДИНАМІКА ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ В КРОВІ ЩУРІВ ПІД ЧАС ЗЛОЯКІСНОГО РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЗА ДІЇ ПРЕПАРАТУ МЕЛАНІН

Є. Д. МАРІНІН, Я. Б. РАЄЦЬКА, М. О. ТИМОШЕНКО, Т. В. БЕРЕГОВА

ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна;  
e-mail: marininegorbio@gmail.com

**Н**а сьогодні все частіше можна почути про зростання рівня онкологічних захворювань, тому пошук та вивчення нових методів боротьби з ними є актуальними. Глутатіон та інші сульфгідрильні сполуки визначають антиокислювальний потенціал тканин і можуть бути показником загальної реактивності організму за пухлинного процесу. Тому метою нашої роботи було дослідити динаміку показників відновленого глутатіону (GSH) у щурів, яким було прищеплено карциному Герена (КГ) і введено антиоксидантний препарат меланін в різних дозах.

У досліджах використовували 70 білих нелінійних щурів масою  $180 \pm 20$  г із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.). Щурам трансплантували карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції у ділянку стегна задньої кінцівки 20%-ї суспензії пухлинних клітин на 0,9%-му розчині NaCl, одержаних від щура-донора (штам пухлини наданий Інститутом експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України). Частині тварин щоденно, починаючи з 7-ї доби після прищеплення пухлини і протягом 30 діб, вводили перорально (через зонд) дослідний препарат меланін в дозах 0,2; 0,4 та 0,8 мг/кг. Вміст GSH визначали використовуючи мітку (ортофталевий альдегід) і виражали в нмоль/GSH на мг протеїну. Статистичну обробку результатів досліджень з використанням

критерію Стьюдента для оцінки вірогідності проводили за допомогою програми Statistica 7.0. Відмінності вважали вірогідними при  $P \leq 0,05$ .

Встановлено, що меланін, продуцентом якого були дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra* штам X1, впродовж експерименту впливав на об'єми пухлин, з 10 по 30 добу різниця в розмірах була найкраще виражена за дози 0,8 мг/кг. У ході експерименту спостерігалась така динаміка показників GSH. За дози меланіну 0,2 мг/кг концентрація GSH підвищувалась лише на 30-ту добу до 123% від контролю (щури із прищепленою КГ, яким не вводили меланін). За дози меланіну 0,4 мг/кг підвищення відбувалось на 20-ту добу на 122%, на 27-му – на 105%, і на 30-ту – на 137% порівняно з контролем. У разі застосування дози меланіну 0,8 мг/кг підвищення вмісту глутатіону відбувалось на 20-ту добу на 128%, на 27-му – на 105%, і на 30-ту – на 145% від контролю.

Таким чином, між пухлиною й організмом-хазяїном відбуваються складні взаємостосунки, які призводять до зниження захисних реакцій організму, в тому числі до зниження вмісту GSH. Встановлено, що пероральне введення меланіну на 30-ту добу, сприяє підвищенню досліджуваного показника, яке набуває вираженішого характеру за дози меланіну 0,8 мг/кг. Одержані дані дають підстави стверджувати, що введення препарату в організм тварини підвищує його здатність протистояти пухлинному процесу.



УДК 577.151.6:577.164.1

## ВІДМІННОСТІ В СПЕКТРАХ ПРОТЕЇНІВ, ЩО ВЗАЄМОДІЮТЬ ІЗ СОРБЕНТАМИ З ТА БЕЗ ТІАМІНУ

*О. О. МЕЖЕНЬСЬКА<sup>1</sup>, О. В. МУЗИЧКА<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: o.mejen2012@gmail.com;

<sup>2</sup>Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ

Вітамін В<sub>1</sub> (тіамін) досліджується більше ста років і добре відомий як попередник коензиму (тіаміндифосфату, TDP) більше 50 ензимів метаболізму. Однак коензимою роллю тіаміну виявилось неможливим пояснити особливу чутливість нервової системи до нестачі цього вітаміну. Одним з ефективних підходів у дослідженні некоензимних механізмів дії вітаміну В<sub>1</sub> у клітинах може бути виявлення і вивчення нових протеїнів, які характеризуються спорідненістю до тіаміну, і невідомих раніше як тіамінзалежні. Для виявлення таких протеїнів ми використовували як ліганд афінні сорбенти з тіаміном. За допомогою подібного афінного сорбенту (тАС) з подальшою гел'фільтрацією з плазматичних мембран синапсом (ПМС) було ізольовано тіамінзв'язувальний протеїн, який також виявляв здатність вибірково гідролізувати тіамінфосфати, в т.ч. TDP і тіамінтрифосфат (ТТР). За допомогою мас-спектрометрії в елюатах ідентифіковано низку протеїнів, невідомих раніше як тіамінзалежні, серед них малатдегідрогеназа (МДГ) і глутаматдегідрогеназа (ГДГ), а також аденозинтрифосфатаза (АТРаза). Однак існує ймовірність, що багато з тих протеїнів, що елююється з тАС, взаємодіють не з тіаміном на тАС, а із самим носієм або ніжкою сорбенту. Тому метою цієї роботи було з'ясування біоспецифічності адсорбції окремих протеїнів на тАС і його матриці зі спейсером.

Проведено синтез двох типів сорбентів. Як ліганд перший сорбент містив тіамін і був одержаний за методом Б. А. Кляшицького з модифікацією А. І. Вовка. тАС синтезовано активацією носія – сефарози 4В – бромціаном із застосуванням спейсера – гідразиду N-4-

амінобензоїл- $\epsilon$ -амінокапронової кислоти. До спейсера ковалентно прив'язували ліганд – тіамін, для чого використовували тіамін бромід. Другий сорбент, на відміну від першого, ліганду не мав, тобто до активованої матриці був прив'язаний тільки спейсер. Для виділення протеїнів брали: 1) гомогенат тканини мозку щура; 2) екстракт ацетонового порошку мозку щура. Специфічність сорбції вищезазначених протеїнів (МДГ, ГДГ, АТРази, TDPази) оцінювали за вимірювання їх активності в елюатах із сорбентів і за картиною електрофорезу в ДСН-ПААГ.

У серії експериментів виявлено відмінності в спектрі протеїнів, які сорбуються на обох носіях. У фракціях протеїнів, елюйованих із сорбенту без тіаміну, виявляється тільки АТРазна активність, проте вона в 4 рази нижча, ніж у фракціях, одержаних елюцією 1 М NaCl із тАС. Можливо, виявлена активність належить різним протеїнам, яким притаманна АТРазна активність. Елюйовані із сорбенту без тіаміну протеїнові фракції, МДГ-, ГДГ- і TDPазної активності не виявили.

Отже, аналогічно протеїну (протеїнам), що виявляє TDPазну активність, МДГ і ГДГ, а, можливо, і певні протеїни з АТРазною активністю специфічно взаємодіють з тіаміновим угрупованням тАС, а не безпосередньо з матрицею чи спейсером. Для підтвердження необхідні подальші дослідження.

За допомогу в синтезі сорбентів висловлюємо подяку д.х.н. А. І. Вовку і д.б.н. С. В. Верьовці, за консультації в ході експериментальної роботи і редагуванні тез – д.б.н. Ю. М. Пархоменко.

УДК 577.3+615

## ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «ВІТАКОРМ-БСР-ФОРТЕ» НА NO-СИНТАЗНУ СИСТЕМУ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ АФЛАТОКСИНУ В1

*І. В. ПАНЧУК<sup>1</sup>, Х. М. ОЛІЙНИК<sup>1</sup>, Г. Л. АНТОНЯК<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна;  
e-mail: iryna\_ranchuk@ukr.net;*

*<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна*

Оксид нітрогену (NO) – важливий біологічний медіатор, який утворюється під час окислення L-аргініну в NO-синтазній (NOS) реакції. Інтенсивність утворення NO зростає за інтоксикації організму ксенобіотиками та деякими природними токсинами. Однак вплив афлатоксинів на NO-синтазну систему клітин вивчений недостатньо.

Метою роботи було дослідження активності NO-синтаз у слизовій оболонці тонкого кишечника (СОТК) за введення афлатоксину В1 (AFB1) та фітопрепарату «Вітакорм-БСР-форте», який застосовують у тваринництві для зменшення шкідливих ефектів мікотоксинів.

Дослідження проведено на 20 білих щурах-самцях із масою тіла 200–250 г, яких було поділено на 4 групи – контрольну і 3 дослідні (Д1–Д3), по 5 особин у кожній. Щурам групи Д1 вводили внутрішньошлунково через зонд AFB1 (Sigma, США) дозою 15 мкг/кг маси щодоби впродовж 14 діб. Тваринам групи Д2 вводили AFB1 таким самим способом, окрім того, щодоби випоювали препарат «Вітакорм-БСР-форте» (10 мл на 1 л води). Щурам групи Д3 давали лише «Вітакорм-БСР-форте» з питною водою в такій самій концентрації.

У гомогенатах СОТК визначали активність NO-синтаз і вміст нітрит-аніона (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) –

стабільного метаболіту NO, у плазмі крові – концентрацію L-аргініну. Результати опрацьовували статистично.

За введення щурам AFB1 у клітинах СОТК відбувалось збільшення загальної активності NOS в 1,5 раза та вмісту нітрит-аніону на 60% ( $P < 0,05$ ), а концентрація L-аргініну в плазмі знижувалась на 17% ( $P < 0,05$ ).

Введення препарату «Вітакорм-БСР-форте» на тлі дії AFB1 призводило до зниження активності iNOS і вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в клітинах СОТК відповідно на 34% і 17% ( $P < 0,05$ ) та підвищення концентрації L-аргініну в плазмі на 64% ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками, встановленими за дії AFB1. За таких умов активність eNOS була стабільною.

Випоювання щурам групи Д3 препарату «Вітакорм-БСР-форте» не спричинювало вірогідних змін досліджуваних показників.

Афлатоксин В1 істотно впливає на NO-синтазну систему, спричинюючи зростання активності NOS та утворення NO в клітинах СОТК щурів. Фітопрепарат «Вітакорм-БСР-форте» є ефективним коригувальним чинником, який зменшує порушення в NO-синтазній системі, зумовлені надходженням AFB1 в організм тварин.

УДК 808.008

## ДІЯ ДЕЗІНТЕГРИНУ З ОТРУТИ ЕФИ БАГАТОЛУСКОВОЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ КЛІТИН ЕПІТЕЛІАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ

*Н. А. ПЕТРУК<sup>1</sup>, О. О. КАЛМИКОВА<sup>1</sup>, Д. В. ШЕЛЕСТ<sup>1</sup>, В. О. ЧЕРНИШЕНКО<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна;  
e-mail: nata.petruk.biol@gmail.com;

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ

**А**дгезивні молекули задіяні в поділі клітин та міжклітинній комунікації і можуть бути мішенню пригнічення проліферації та адгезії клітин за неконтрольованої проліферації і розвитку раку. Молекули, що специфічно взаємодіють з інтегриновими рецепторами клітин (дезінтегрини), здатні інгібувати деякі пухлинні процеси, опосередковані модифікацією адгезії, відповідно впливаючи на міграцію, інвазію та метастазування ракових клітин. Тому метою нашої роботи була оцінка функціональних змін в пухлинних клітинах за дії дезінтегрину, виділеного раніше з отрути ефи багатолускової.

Як експериментальну модель було використано клітинну лінію HeLa. Культивували клітини за стандартних умов у середовищі культивування ISCOVE'S (Sigma, США) з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки. Клітинний цикл та рівень апоптозу вимірювали за допомогою протокової цитометрії. Визначення проліферативного індексу (ПІ) встановлювали МТТ-тестом. Принцип методу полягає у вимірюванні активності мітохондріальних дегідрогеназ, які здатні конвертувати безбарвний розчин МТТ у формазан. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС) рахували за допомогою програми AxioVision та визначали діленням площі ядра на площу цитоплазми. Рівень адгезії (РА) встановлювали за включенням кристалічного фіолетового в адгезивні клітини. ПІ та РА вимірювали колори-

метрично за довжини хвилі 570 нм. Для оцінки функціональних змін ракових клітин було обрано такі концентрації дезінтегрину:  $6 \cdot 10^{-3}$ ,  $3 \cdot 10^{-3}$  та  $5 \cdot 10^{-5}$  мг/мл. Максимальна обрана концентрація відповідала такій, яка інгібувала агрегацію тромбоцитів на 15%.

Зі збільшенням концентрації дезінтегрину рівень апоптозу зменшувався порівняно з контролем на 36, 52 та 54% за концентрацій  $6 \cdot 10^{-3}$ ,  $3 \cdot 10^{-3}$  та  $5 \cdot 10^{-5}$  мг/мл відповідно. Розподіл клітинного циклу клітин HeLa показав зменшення проліферативного пулу клітин зі збільшенням концентрації діючої речовини. За дії дезінтегрину вірогідно знижувався індекс проліферації порівняно з контролем на 26 та 54% за концентрацій  $6 \cdot 10^{-3}$  та  $3 \cdot 10^{-3}$  мг/мл відповідно. Адгезія клітин за концентрації  $3 \cdot 10^{-3}$  мг/мл була знижена на 29%, за концентрації  $5 \cdot 10^{-5}$  мг/мл – лише на 10% порівняно з контролем. Всі досліджувані концентрації призводили до зменшення площі клітин та збільшення ЯЦС.

Таким чином, показано, що дезінтегрин з отрути ефи багатолускової знижує проліферативну активність пухлинних клітин, концентраційнозалежно зменшує адгезивність клітин та збільшує ЯЦС. Одержані результати підтверджують зв'язок дезінтегринів із пухлиноасоційованими процесами та дозволяють розглядати дезінтегрин з отрути ефи багатолускової як потенційний антипроліферативний агент.

УДК 576.52

## ДИНАМІКА РОЗПОДІЛУ ЛІПІДІВ У МЕМБРАНАХ ЯДЕРНИХ КЛІТИН ТА ЕРИТРОЦИТІВ

К. О. ПИРШЕВ

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: pyrshvka@gmail.com*

Локальні зміни властивостей ліпідів плазматичних мембран відіграють суттєву роль у функціонуванні клітин. За апоптозу та ериптозу в плазматичній мембрані відбувається вихід фосфатидилсерину на зовнішній моношар, гідроліз та перехід сфінгомеліну на внутрішній моношар, що призводить не тільки до структурних змін мембрани, але й впливає на подальший сигнальний каскад (Suzuki, Denning et al. 2013; Lang, Quadri 2012). Метою роботи було з'ясувати особливості перерозподілу ліпідів плазматичної мембрани еритроцитів та ядерних клітин.

Для розв'язання завдань дослідження було застосовано новітні барвники NR12S, bNR10S, F2N12SM та PA (Kreder, Oncul et al. 2015; Kreder, Pyshev et al. 2015; Niko, Pascal et al. 2016) в мікроскопії та спектроскопії, а також експерименти із моделюванням молекулярної динаміки (МД).

Гетерогенність ліпідних фаз зовнішнього моношару плазматичної мембрани живих клітин було показано за рахунок відновлення флуоресценції після фотовицвітання (FRAP) барвника NR12S на клітинах HeLa та підтверджено за допомогою симуляції МД. Новий підхід у виявленні впорядкованих (Lo) і неупорядкованих (Ld) фаз ліпідів за допомогою F2N12SM-bNR10S FRET-сенсорної системи показав подібність будови плазматичної мембрани живих клітин HeLa, Jurkat та еритроцитів. Натомість за іономіцініндукованої запрограмованої загибелі спостерігали істотні відмінності між властивостями плазматичної мембрани еритроцитів та ядерних клітин, що

відповідало результатам попередніх досліджень. За допомогою барвника PA були візуалізовані всі мембранні структури в клітинах HeLa, Jurkat та еритроцитах. Показано, що за іономіцініндукованою загибелю в клітинах Jurkat та HeLa з'являються кілька типів везикул, що складаються з впорядкованіших (походженням із плазматичної мембрани) та менш впорядкованих (походженням із внутрішньоклітинних органел) фаз ліпідів. Саме поєднання внутрішньоклітинних везикул із плазматичною мембраною на подальших етапах апоптозу призводить до істотного перерозподілу ліпідів. Відповідно відсутність органел у зрілих еритроцитах обмежує рівень перерозподілу ліпідів і залежить виключно від роботи транспортерів, таких як скрамблаза та Xkr.

Таким чином, попри подібність властивостей плазматичних мембран еритроцитів та ядерних клітин, спостерігається відмінність перерозподілу ліпідів за клітинної загибелі. Ця відмінність обумовлена впливом менш впорядкованих внутрішньоклітинних мембранних структур, що призводить до істотного зменшення Lo по відношенню до Ld у плазматичних мембранах апоптичних клітин.

За допомогу в проведенні досліджень автор щиро вдячний доктору Г. Чучу, PhD (ETH Zurich), доктору А. С. Клімченко, PhD (University of Strasbourg), д.ф.н. С. О. Єсилевському (Інститут фізики НАНУ), д.б.н. О. П. Демченку (Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАНУ). Роботу було підтримано персональним грантом ЕМВО (ATSF 461-2015) для молодих дослідників.

УДК 616.34-002-02-092+616.833

## РОЛЬ ЦЕНТРАЛЬНОЇ ТА ПЕРИФЕРИЧНОЇ ДОФАМІНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМ У ПАТОГЕНЕЗІ ВИРАЗКОВОГО КОЛІТУ

*А. ПРИСЯЖНЮК<sup>1</sup>, К. НЕСТЕРУК<sup>1</sup>, Т. ЧЕРВІНСЬКА<sup>1</sup>,  
Т. ДОВБИНЧУК<sup>1</sup>, Б. КОПИЯК<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна;

<sup>2</sup>Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України;  
e-mail: alona.prysiashniuk@gmail.com

Клінічні спостереження підтверджують важливість психонейрологічного компонента в рецидуванні та хронічному перебігу виразкового коліту (ВК), але механізм цього феномена не встановлено. Метою роботи було з'ясувати залучення центральної та периферичної дофамінергічної систем до патогенезу ВК, беручи до уваги той факт, що дофамін відповідає за психонейрологічний стан.

Дослідження проведено на щурах-самцях лінії Вістар (200-250 г). Для вивчення ролі периферичної дофамінергічної системи у патогенезі ВК щурам вводили 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (МРТР). Хронічний дефіцит нігрозіатного дофаміну спричинювали шляхом одностороннього руйнування дофамінергічних нейронів в чорну субстанцію введенням 6-ОНДА. ВК спричинювали ректальним введенням 0,1 мл 6%-го йодоацетаміду. Визначали показник клінічного перебігу ВК (усереднений показник зміни маси тіла, летаргії та ступеня діареї), проводили макроскопічний аналіз величини уражень товстої кишки, гістологічно визначали зміни слизової товстої кишки.

Руйнування центральних дофамінергічних нейронів призводило до загострення перебігу експериментального ВК. У 6-ОНДА-щурів спостерігалось зростання клінічних показників за розвитку хвороби порівняно з інтактними щурами. При цьому цей ефект був прямопропорційним кількості зруйнованих нейронів. Індекс активності перебігу

ВК у 6-ОНДА-щурів зростав згідно з інтенсивністю циркуляторної активності під час апоморфінового тесту (показник ступеня руйнування центральних дофамінергічних нейронів) <180 обертів/30 хв на 30, 40 і 100% на 3-, 5-, 10-й день відповідно відносно інтактних щурів. У щурів з інтенсивністю циркуляторної активності під час апоморфінового тесту >180 обертів/30 хв зростав на 50, 80 і 110% на 3-, 5-, 10-й день відповідно. Дослідження клінічних ознак перебігу ВК у щурів, яким вводили МРТР, показало збільшення індексу активності перебігу хвороби на 40% на 3-й і на 48,6% на 7-й день відносно контролю. Проте спостерігалось зменшення площі поверхні ураження товстої кишки на 50%; маси кишки/100 г на 40% та ступеня розвитку коліту на 55% відносно щурів з інтактною периферичною дофамінергічною системою.

Таким чином, нами вперше було показано, що руйнування дофамінергічних нейронів на периферії призводить до підвищення прояву ознак коліту в щурів. У той самий час, як одностороннє руйнування центральних дофамінергічних нейронів спричинювало, навпаки, зниження прояву макроскопічних та клінічних ознак експериментального ВК. Це може свідчити про різну роль центральної та периферичної ланки дофамінергічної системи в патогенезі ВК. Скоріш за все, ці ефекти пов'язані з різним механізмом дії центральної і периферичної дофамінергічної систем на кишковий бар'єр товстої кишки.



УДК 612.115: 577.151.5

## МОДИФІКУЮЧИЙ ВПЛИВ КЛІТИН КРОВІ НА ЗСІДАННЯ ТА ЛІЗИС ФІБРИНОВОГО ЗСІДКУ. РОЛЬ ПРОТЕЇНУ С В ЦИХ ПРОЦЕСАХ

О. В. РЕВКА

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: [personnelartaud@gmail.com](mailto:personnelartaud@gmail.com)

Розвиток коагулопатичних геморагій внаслідок травмування є одним із загрозливих для життя людини станів. Надмірна кровотеча може бути обумовлена швидким виснаженням пулу факторів системи зсідання крові та/або гіперактивацією системи фібринолізу. Зупинка кровотечі нерідко ускладнюється надмірною активацією протеїну С, тоді як виснаження його пулу призводить до повторного тромбозу. Активація ключових протеїнів систем зсідання крові, фібринолізу та протеїну С відбувається, зокрема, на поверхні клітин крові, таких як тромбоцити, моноцити і нейтрофіли. Метою роботи було дослідити в умовах *in vitro* вплив клітин крові на процеси зсідання, фібринолізу та активації протеїну С.

Моноцити і нейтрофіли одержували з однієї порції донорської крові в градієнті фіколурографін після відмивання в середовищі RPMI. Тромбоцити одержували з плазми крові за допомогою диференційного центрифугування. Перевірку життєздатності лейкоцитарних клітин здійснювали з використанням МТТ-тесту, тромбоцитів – за здатністю до агрегації. Зсідання та лізис фібринових зсідків, утворених з аутологічної плазми, досліджували спектрофотометричним методом за зміною її мутності за довжини хвилі 405 нм після додавання ініціаторів зсідання та тканинного активатора плазміногену. Амідолітичну активність активованого протеїну С визначали за швидкістю вивільнення *n*-нітроаніліну в процесі гідролізу хромогенного субстрату S-2366 за довжини хвилі 405 нм.

Досліджено вплив клітин крові на формування та лізис фібринових зсідків і роль протеїну С в цих процесах. Зсідки одержували із цитратної та рекальцифікованої плазми без та з додаванням тромбіну.

Показано, що моноцити та нейтрофіли значно прискорюють процес утворення фібринових зсідків (зменшують лаг-період і збільшують швидкість латеральної асоціації протофібрил) та стимульовану екзогенним тканинним активатором плазміногену їх деградацію в рекальцифікованій плазмі. Натомість, модифікуючий вплив цих клітин на процеси утворення та руйнування полімерного фібрину не спостерігається за активації фібриногену плазми тромбіном. Вплив протеїну С на процеси зсідання та лізису фібринового зсідка досліджували в рекальцифікованій плазмі з додаванням протеїну С та тромбіну як його активатора. Протеїн С не змінював параметри зсідання та лізису зсідка в плазмі крові. Проте в присутності моноцитів і нейтрофілів додавання протеїну С приводило до значного зменшення розміру фібринових зсідків та прискорення початку лізису. Це свідчить, що протеїн С активується на поверхні клітин крові – моноцитів та нейтрофілів – та проявляє антикоагулянтну та профібринолітичну дію. Із використанням хромогенного субстрату нами вперше показана здатність протеїну С переходити в активний ензим на поверхні активованих тромбоцитів.

Встановлено, що моноцити та нейтрофіли залучаються до процесу утворення тромбіну та прискорюють процеси полімеризації фібрину і його лізису. Показано існування ендотелійнезалежного шляху активації протеїну С за участю клітин крові – моноцитів, нейтрофілів та тромбоцитів.

Автор щиро вдячна керівникам д.б.н. Т. В. Гриненко та к.б.н. І. І. Паталах за всебічну підтримку в проведенні досліджень.

УДК 577.112:576.311.348:611.018.52

## ПЛАЗМІНОГЕН МОДУЛЮЄ ЗВ'ЯЗУВАННЯ ЕКЗОГЕННОГО АНЕКСИНУ V ТРОМБОЦИТАМИ ЛЮДИНИ

*Я. М. РОКА-МОЙЯ, В. В. КОРСА, М. М. ГУЗИК,  
А. О. ТИХОМИРОВ, Д. Д. ЖЕРНОСЕКОВ*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: yanulia@bk.ru*

**П**лазміноген/плазмінова система залучається до регуляції функціонального стану тромбоцитів. Нами показано, що Lys-плазміноген, на відміну від Glu-форми, пригнічує агрегацію та перешкоджає агоністіндукованій реорганізації актинового цитоскелета цих клітин. Екстерналізація фосфатидилсерину на поверхні активованих тромбоцитів забезпечує формування прокоагулянтної поверхні та генерацію тромбіну. Анексин V з високою афінністю зв'язується з негативно зарядженими фосфоліпідами, тому може бути використаний для детекції популяції тромбоцитів, що експонують фосфатидилсерин. Отже, метою роботи було вивчити вплив Glu- та Lys-форм плазміногену на зв'язування анексіну V тромбоцитами за їх активації.

Glu- та Lys-форми плазміногену людини одержували методом афінної хроматографії з цитратної плазми та фракції III<sub>2,3</sub> плазми крові за Коном відповідно. Тромбоцити ізолювали з цільної крові умовно здорових донорів шляхом гель-фільтрації. Агрегативну активність тромбоцитів визначали методом оптичної агрегометрії із використанням тромбіну та колагену як індукторів агрегації. Вплив різних форм плазміногену на зв'язування FITC-кон'югованого анексіну V активованими тромбоцитами досліджували методом протокової цитометрії.

Серед інтактних тромбоцитів людини, одержаних методом гель-фільтрації, популяція клітин, що зв'язують анексин V, становить лише  $3,6 \pm 1,3\%$  від їх загальної кількості. За

активації тромбоцитів тромбіном (1 од. НІН/мл) та колагеном (1,25 мг/мл) кількість тромбоцитів, що зв'язують анексин, відповідно зростає до  $31,0 \pm 3,1\%$  та  $55,3 \pm 4,0\%$ . Причому переважна більшість анексинпозитивних клітин інтенсивно флуоресціюють, що вказує на високий рівень анексіну на їхній поверхні.

Інкубація інтактних тромбоцитів з Glu-плазміногеном з наступною активацією тромбіном призводить до інтенсифікації зв'язування анексіну V: чисельність популяції анексинпозитивних клітин вірогідно підвищується в 1,6 раза порівняно з такою в групі тромбінактивованих тромбоцитів. На відміну від нативної форми зимогену, стимулюючий ефект Lys-плазміногену є значно менш вираженим і спрямованим переважно на субпопуляцію тромбоцитів, що зв'язують анексин із низькою інтенсивністю. За активації колагеном Glu-плазміноген (але не Lys-плазміноген) зумовлює зростання інтенсивності флуоресценції популяції анексинпозитивних тромбоцитів принаймні вдвічі, тоді як їх кількість зростає незначно. Ізольована дія плазміногену на інтактні тромбоцити не спричинює подібних змін.

Вперше встановлено, що плазміноген потенціює дію тромбіну та колагену, спрямовану на інтенсифікацію зв'язування екзогенного анексіну V тромбоцитами людини, яка обумовлена експонуванням фосфатидилсерину на поверхні цих клітин.

Колектив авторів висловлює щире подяку керівнику проекту д.б.н. Т. В. Гриненко.

УДК 636.92:612.015

## ВПЛИВ ВІТАМІННО-МІНЕРАЛЬНОЇ ДОБАВКИ НА ВМІСТ ЗАГАЛЬНИХ ЛІПІДІВ ТА ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ОРГАНАХ КРОЛІВ

Н. В. РОЛЬ

Білоцерківський національний аграрний університет, Україна;  
e-mail: natalka290991@gmail.com

**Н**адлишок продуктів ПОЛ змінює структуру клітинних мембран та їхню функціональну активність. Вивчення стану ПОЛ у разі застосування вітамінно-мінеральної добавки «Текро» дасть змогу виявити закономірності в змінах ПОЛ, що може бути основою для розробки науково обґрунтованих методів їх корекції.

Метою досліджень було визначення вмісту загальних ліпідів (ЗЛ) та концентрації продуктів ПОЛ в органах та тканинах кролів новозеландської породи.

Дослідження проводили на кролях, поділених на дві групи – контрольну та дослідну – по 100 голів у кожній. Забір тканин для досліджень проводили на 45-, 60-, 75- та 90-ту добу їх життя. У відібраних зразках визначали вміст загальних ліпідів за допомогою набору фірми «Філісіт-Діагностика» та інтенсивність процесів пероксидного окислення ліпідів, яку оцінювали за вмістом первинних продуктів ліпопероксидації – гідропероксидів (ГПЛ) (А. А. Романова та И. Д. Стальная, 1977) і вторинних – ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (И. Д. Стальная, Г. Г. Гаришвили, 1977).

Дослідження показали, що в мозку, серці та найдовшому м'язі спини кролів, яким до комбікорму додавали вітамінно-мінеральну добавку, вміст загальних ліпідів вірогідно не змінювався та в 90-добовому віці не перевищував показників контрольної групи. Під час проведених досліджень мозку кролів дослідної групи спостерігали вірогідне ( $P \leq 0,05$ ) зниження вмісту ТБК-АП у 60- та 90-добовому віці у 1,6 та 3,9 раза відповідно. У серці дослідних тварин

обох груп вміст ТБК-АП не мав чіткої динаміки, у дослідній групі показники з 45- до 75-ї доби були вищими, ніж у контрольній. Однак на 90-ту добу досліді вміст ТБК-АП вірогідно знизився на 37,5%, що може свідчити про зменшення процесів пероксидації та підвищення активності системи антиоксидантного захисту. Виявлено зниження вмісту ТБК-АП у найдовшому м'язі спини із 45- до 75-ї доби досліді, проте на 90-ту добу їх рівень збільшився у 3,9 раза. У мозку кролів дослідної групи відмічено зниження рівня вмісту ГПЛ порівняно з контрольною, проте у 90-добовому віці він збільшився на 24,7%. Під час проведення досліджень у серці кролів не виявлено вірогідної різниці між показниками контрольної групи та тварин, яким до комбікорму додавали вітамінно-мінеральну добавку. Було визначено, що у найдовшому м'язі спини тварин дослідної групи вміст ГПЛ був вірогідно ( $P \leq 0,01$ ) нижчим протягом всього періоду досліджень. Так, після закінчення експерименту в 90-добовому віці вміст ГПЛ у тварин дослідної групи був нижчим на 11%.

Встановлено, що додавання вітамінно-мінеральної добавки «Текро» до комбікорму за вирощування кролів новозеландської породи позитивно впливає на процеси пероксидного окислення ліпідів. В органах кролів знижується кількість гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів при незмінному рівні загальних ліпідів.

За допомогу в роботі висловлюю подяку науковому керівнику, д. с.-г. н., проф. С. І. Цехмістренко.

УДК 577.112:616

## ЕКСПРЕСІЯ ЯДЕРНИХ ГЕНІВ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ПРОТЕЇНІВ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ В УМОВАХ ПРИГНІЧЕННЯ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ IRE1

*О. О. РЯБОВОЛ, О. О. ПАТУШНА*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: olenariabovil@gmail.com*

Процеси пухлинного росту й апоптозу пов'язані з реакціями клітин на стрес та шляхами трансдукції сигналу, зокрема через сигнальний ензим IRE1 (inositol requiring enzyme 1), повна блокада активності якого приводить до пригнічення проліферації клітин гліоми. Цей протипухлинний ефект може бути опосередкованим змінами в експресії численних генів, в тому числі і генів мітохондріальних протеїнів.

Метою роботи було дослідити експресію ядерних генів, що кодують мітохондріальні протеїни ENDOG (endonuclease G), POLG (DNA directed polymerase gamma), TSFM (Ts mitochondrial translational elongation factor), MTIF2 (mitochondrial translational initiation factor 2), які регулюють процеси проліферації та апоптозу в клітинах гліоми лінії U87 в умовах пригнічення функції сенсорно-сигнального ензиму IRE1, для з'ясування можливої ролі цих генів у пригніченні проліферації клітин гліоми безпосередньо через IRE1 – основний сигнальний шлях стресу ендоплазматичного ретикулула.

Рівень експресії генів визначали в контрольних клітинах гліоми лінії U87, стабільно трансфікованих вектором pcDNA3.1 та її сублінії з пригніченою функцією сигнального ензиму IRE1 за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції.

Показано, що виключення сенсорно-сигнального ензиму IRE1 призводить до підвищення рівня експресії гена *ENDOG*, а експресія мРНК генів *POLG*, *TSFM* та *MTIF* при цьому, навпаки, пригнічується порівняно з контрольними клітинами. В умовах гіпоксії рівень експресії генів *ENDOG* та *POLG* збільшується, а генів *TSFM* та *MTIF* – зменшується. В той самий час, блокада ензиму IRE1 посилює ефект гіпоксії на рівень експресії генів *ENDOG* та *POLG*, але знімає ефект гіпоксії на рівень експресії генів *TSFM* та *MTIF*. Таким чином, вплив гіпоксії є геноспецифічним і залежить від функції IRE1, що вказує на можливу роль досліджених генів у пригніченні проліферації клітин гліоми через IRE1 сигнальний шлях стресу ендоплазматичного ретикулула.

Результати роботи продемонстрували, що експресія ядерних генів мітохондріальних протеїнів є залежною від функціонування сигнального ензиму IRE1 та гіпоксії і що блокада активності IRE1 не лише специфічно змінює рівень експресії досліджених генів, а і модифікує гіпоксичну регуляцію їх експресії і, таким чином, робить свій вклад у пригнічення росту гліоми.

Автори висловлюють подяку науковому керівникові, д.б.н., проф. О. Г. Мінченку за всебічну підтримку під час виконання роботи.

УДК 577.151.6

**ОДЕРЖАННЯ І ХАРАКТЕРИСТИКА ФІБРИНОГЕНУ DESA $\alpha$ 505-610**

*Є. М. СТОГНІЙ<sup>1</sup>, Л. П. УРВАНТ<sup>1</sup>, Н. А. НІДЯЛКОВА<sup>2</sup>,  
А. В. РЕБРИСВ<sup>1</sup>, В. О. ЧЕРНИШЕНКО<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
*e-mail: stogniy\_evgen@mail.ru;*

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ

Обмежений протеоліз дозволяє одержувати фрагменти фібриногену, які зберігають структурні та функціональні особливості цілої молекули та можуть бути використані для вивчення протеїно-протеїнових та протеїново-клітинних взаємодій. Раніше з культурального середовища *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ІМВ В-7465 було виділено протеазу ПІ (РІІ), специфічну до фібриногену. Метою нашої роботи було вивчення дії РІІ на фібриноген, одержання частково гідролізованих форм фібриногену та вивчення їхніх властивостей.

Продукти гідролізу фібриногену РІІ аналізували за допомогою SDS-PAGE в відновлювальних умовах із наступним імуноблотингом із використанням мишачих моноклональних 1-6В (анти-А $\alpha$ 509-610) і П-5С (анти-А $\alpha$ 20-78) антитіл. Низькомолекулярний продукт протеолізу ідентифікували за допомогою MALDI-TOF-аналізу та аналізу послідовності фібриногену в «Peptide Mass Calculator». Полімеризацію частково гідролізованого фібрину досліджували за допомогою турбідиметрії та електронної мікроскопії. Агрегацію тромбоцитів у присутності частково гідролізованого фібриногену вивчали за допомогою агрегатометрії.

SDS-PAGE та вестерн-блот-аналіз із використанням моноклональних антитіл показав, що РІІ розщеплює А $\alpha$ -ланцюг фібриногену з утворенням продукту, який відповідає С-кінцевій частині А $\alpha$ -ланцюга молекули фібриногену. MALDI-TOF аналіз дозволив ідентифікувати

цей продукт як фрагмент А $\alpha$ 505-610 молекули фібриногену.

Фібриноген desA $\alpha$ 505-610 одержано шляхом висолювання рівним об'ємом 16%-ї Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та охарактеризовано за допомогою вестерн-блот-аналізу. Турбідиметрією встановлено, що для тромбініндукованої полімеризації фібрину desA $\alpha$ 505-610 характерне подовження лаг-періоду утворення зсідка втричі порівняно з таким для нативного фібрину. Електронною мікроскопією показано відсутність зрілих фібрил у пробі з фібрином desA $\alpha$ 505-610 та формування невпорядкованої фібринової сітки. Швидкість агрегації відмитих тромбоцитів у присутності фібриногену desA $\alpha$ 505-610 не змінювалась, однак спостерігалось деяке зниження ступеня агрегації тромбоцитів – на 15–20% порівняно з контрольними значеннями.

Показано, що РІІ, одержана з культурального середовища *B. thuringiensis* var. *israelensis* ІМВ В-7465 відщеплює С-кінцевий пептид А $\alpha$ -ланцюга фібриногену людини з утворенням фібриногену desA $\alpha$ 505-610. Одержаний з її допомогою фібриноген desA $\alpha$ 505-610 виявляв нижчу полімеризаційну здатність та менш ефективно підтримував агрегацію тромбоцитів порівняно з нативним фібриногеном.

Автори вдячні д.б.н. Л. Д. Варбанець за допомогу в одержанні та встановленні показників протеази ПІ; проф. Е. В. Луговському і к.б.н. І. М. Колесніковій за допомогу у виборі антитіл, використаних у дослідженні.



УДК 543.553+577.15+543.06

## ОПТИМІЗАЦІЯ РОБОТИ АМПЕРОМЕТРИЧНОГО БІОСЕНСОРА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЛАКТАТУ

*Я. В. ТОПОЛЬНИКОВА, І. С. КУЧЕРЕНКО, О. О. СОЛДАТКІН*

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;  
e-mail: topolnyk.ya@gmail.com*

Лактат є метаболітом глюкози, продуктом анаеробного гліколізу. Одним із найефективніших клінічних маркерів шоку та гіпоксії є зміна концентрації лактату. Підвищення концентрації лактату в крові є показником таких станів, як септичний і геморагічний шок, набряк легень, пневмоторакс тощо. Тому вимірювання лактату в венозній крові є ефективним для передбачення поліорганної недостатності для пацієнтів з політравмою. Також вимірювання рівня лактату використовується в спортивній медицині, де критичний рівень лактату в м'язах визначає межу ефективності тренування. Існує низка методів для вимірювання лактату, зокрема спектрофотометрії, високоефективної рідинної хроматографії, хемілюмінесценції та флуоресценції. Однак для застосування в медичній діагностиці необхідна висока чутливість та селективність, швидкість і простота вимірювання. Цим умовам найкраще відповідають електрохімічні біосенсиори. Тому метою роботи була оптимізація амперометричного біосенсора на основі лактатоксидази для визначення лактату в біологічних рідинах.

Як біоселективний елемент біосенсора було використано ензим лактатоксидазу, коїммобілізовану з бичачим сироватковим альбуміном за допомогою ковалентної зшивки глутаральдегідом на поверхні амперометричного перетворювача, а як амперометричні перетворювачі – платинові дискові електроди. У

роботі було застосовано амперометричний метод аналізу.

Проведено дослідження оптимальних умов іммобілізації біомембран, зокрема підбір оптимальної концентрації глутаральдегіду та порівняння методів іммобілізації «в краплі» та «в парах». Визначено оптимальні умови для зберігання біосенсора та тривалість збереження його активності. Встановлено мінімальну межу визначення та лінійний діапазон біосенсора.

Розроблений біосенсор продемонстрував високу чутливість до лактату, з мінімальною межею визначення – 3 мкМ. Лінійний діапазон роботи біосенсора становив від 5 мкМ до 300–350 мкМ лактату. Біосенсор характеризувався високою відтворюваністю відгуків протягом кількох годин безперервного вимірювання. Під час зберігання у буферному розчині при 4 °С протягом місяця біосенсор втрачав менше 50% активності.

Запропонований біосенсор в подальшому планується використовувати для вимірювання лактату в біологічних рідинах, а також для створення біосенсорної системи для одночасного вимірювання лактату та пірувату.

Роботу виконано за фінансової підтримки НАН України в рамках комплексної науково-технічної програми «Сенсорні прилади для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб: метрологічне забезпечення та дослідна експлуатація».

УДК 577.352

## СУБОДИНИЧНИЙ СКЛАД ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ НІКОТИНОВИХ АЦЕТИЛХОЛІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ У МІТОХОНДРІЯХ МИШЕЙ, НОКАУТНИХ ЗА ГЕНАМИ $\alpha 3$ -, $\alpha 7$ -, $\beta 2$ - АБО $\beta 4$ -СУБОДИНИЦЬ

*К. Р. УСПЕНСЬКА, О. Ю. ЛИХМУС*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: kate.uspenska@biochem.kiev.ua*

**Н**ікотинові ацетилхолінові рецептори (nAChR) – лігандзалежні іонні канали, які опосередковують швидку синаптичну передачу і регулюють базові клітинні функції, такі як проліферація, адгезія, апоптоз. Раніше в нашій лабораторії було показано, що  $\alpha 7\beta 2$ -,  $\alpha 3\beta 2$ - та  $\alpha 4\beta 2$ -субтипи nAChR, представлені на зовнішній мембрані мітохондрій печінки мишей, регулюють ранні стадії мітохондріального шляху апоптозу. Проте внесок окремих субодиниць nAChR у функціонування рецептора на мітохондріях залишався невідомим. Метою роботи було дослідити субодиничний склад мітохондріальних nAChR у мишей, в яких відсутні гени певних субодиниць nAChR, та визначити, як при цьому змінюється чутливість мітохондрій до апоптогенної дії  $\text{Ca}^{2+}$  та захисного впливу лігандів, селективних до різних субтипів nAChR.

Субодиничний склад nAChR мітохондрій печінки  $\alpha 3$ -/+ ,  $\alpha 7$ -/- ,  $\alpha 7\beta 2$ -/- та  $\beta 4$ -/- мишей вивчали методом сендвіч-імуноензимного аналізу з використанням антитіл проти різних субодиниць. Чутливість ізольованих живих мітохондрій до апоптогенного впливу  $\text{Ca}^{2+}$  оцінювали за рівнем цитохрому *c*, вивільненого в середовище за дії різних доз  $\text{Ca}^{2+}$  та у присутності селективних лігандів  $\alpha 7$  (PNU282987, метиллікаконітин),  $\alpha 4\beta 2$  (дигідро- $\beta$ -еритроїдин) або  $\alpha 3\beta 2$  (конокотоксин МІІ) субтипів nAChR. Вміст цитохрому *c* досліджували методом сендвіч-імуноензимного аналізу.

Встановлено, що порівняно з мітохондріями мишей дикого типу у складі nAChR мітохондрій

$\alpha 3$ -/+ ,  $\alpha 7$ -/- та  $\alpha 7\beta 2$ -/- мишей значно підвищується вміст  $\beta 4$ -субодиниць та з'являється або значно підвищується  $\alpha 9$ -субодиниця nAChR. У функціональному тесті мітохондрії всіх досліджених нокаутів (найбільше – подвійного нокауту  $\alpha 7\beta 2$ -/-) виявилися чутливішими до дії  $\text{Ca}^{2+}$ , ніж мітохондрії мишей дикого типу: вони вивільнювали значну кількість цитохрому *c* вже за дози 0,1 мкМ  $\text{Ca}^{2+}$ . Всі використані ліганди nAChR запобігали вивільненню цитохрому *c* мітохондріями мишей дикого типу. На відміну, мітохондрії  $\alpha 7$ -/- та  $\alpha 7\beta 2$ -/- мишей виявилися майже нечутливими до дії PNU282987 і метиллікаконітину, а мітохондрії  $\alpha 3$ -/+ та  $\alpha 7\beta 2$ -/- мишей – до конокотоксину МІІ.

Окрім визначених раніше  $\alpha 3\beta 2$ ,  $\alpha 4\beta 2$  та  $\alpha 7\beta 2$  nAChR, мітохондрії печінки містять також  $\alpha 9$  nAChR, вміст яких значно підвищується за відсутності  $\alpha 3$ -,  $\alpha 7$ - та/або  $\beta 2$ -субодиниць. «Універсальною» компенсаторною субодиницею є  $\beta 4$ , рівень якої підвищується за відсутності як  $\beta 2$ -, так і  $\alpha 3$ - або  $\alpha 7$ -субодиниць. Експресія  $\alpha 9$ - та  $\beta 4$ -субодиниць не повністю компенсує відсутність  $\alpha 7$ -,  $\alpha 3$ - або  $\beta 2$ -субодиниць, тобто  $\alpha 9$ - та/або  $\beta 4$ -вмісні nAChR є менш ефективними для протиапоптичного захисту, ніж  $\alpha 3\beta 2$ ,  $\alpha 4\beta 2$  та  $\alpha 7\beta 2$  nAChR.

Роботу було виконано під керівництвом чл.-кор., д.б.н. М. В. Скок за підтримки короткострокової стипендії FEBS в Інституті Пастера (Франція, м. Париж).

УДК 57.017.735+581.1

## ФУНКЦІОНАЛЬНА РОЛЬ АЦЕТИЛЮВАННЯ $\alpha$ -ТУБУЛІНУ В РЕАЛІЗАЦІЇ АВТОФАГІЇ, ІНДУКОВАНОЇ АБІОТИЧНИМИ СТРЕСОРНИМИ ЧИННИКАМИ

*В. ФЕДИНА, Д. ЛИТВИН, Я. БЛЮМ*

*ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ;  
e-mail: Vira.fedyna@gmail.com*

**М**ікротрубочки (МТ) відіграють важливу функціональну роль в опосередкуванні автофагії в клітинах дріжджів і тварин як за фізіологічних умов, так і за умов адаптації до впливу стресорних зовнішніх факторів. МТ залучені до процесів біогенезу та внутрішньоклітинного транспортування автофагосом, що забезпечується змінами їх динамічного та функціонального стану. Ці зміни опосередковуються низкою посттрансляційних модифікацій протеїнів МТ, зокрема ацетилюванням  $\alpha$ -тубуліну. Тому метою роботи було дослідження ролі цієї модифікації в реалізації автофагії, індукованої низкою абіотичних стресорних чинників, в клітинах *Arabidopsis thaliana*.

Для дослідження автофагії шляхом агробактеріальної трансформації було одержано лінію *A. thaliana*, що стабільно експресує зливу протеїнову конструкцію убіквітинподібного протеїну Atg8h та eGFP. Для трансформації було створено генетичну конструкцію на основі бінарного вектора pH7FWG2, яка містила кодуючі ділянки генів *atg8h* та *egfp* під контролем 35S промотору та T35S термінатора. 7-денні проростки *A. thaliana* піддавали впливу наступних абіотичних стресорних факторів: метаболічного (вирощування на середовищі без цукрози), осмотичного (10 мМ манітол) і сольового (150 мМ NaCl) стресів, та опромінення ультрафіолетом В (41 кДж/м<sup>2</sup>). Дослідження розвитку автофагії здійснювали за допомогою вестерн-блотингу з використанням моноклональних антитіл до GFP (дослідження процесингу Atg8) та до ацетилюваного  $\alpha$ -тубуліну, а також шляхом флуоресцентного забарвлення автофа-

госом специфічним маркером монодансилкадаверином (МДК).

Дослідження внутрішньоклітинної локалізації протеїну Atg8h виявило характерні особливості розвитку стресіндукованої автофагії. Клітини контрольних рослин характеризувались дифузним цитоплазматичним розподілом Atg8h-eGFP. Однак під впливом досліджуваних стресорних факторів спостерігалась поява дискретних GFP-вмісних структур, що були локалізовані переважно в клітинах кореневого чохла, епідермісу, перичиклу та судинних клітинах. Результати фарбування клітин МДК свідчать про чітку колокалізацію МДК-забарвлених та GFP-вмісних структур, що підтверджує розвиток автофагії за стресових умов. Також біохімічно показано, що за дії всіх досліджуваних стресорних факторів відбувається процесинг протеїну Atg8 (приєднання фосфатидилетаноламіну, що є ознакою біогенезу автофагосом). Встановлено, що вплив стресорних факторів мав наслідком зростання рівня ацетилювання  $\alpha$ -тубуліну, що вказує на роль зазначеної модифікації в опосередкуванні рослинної автофагії. Слід зауважити, що синергічний вплив стресорних факторів та Е-64, інгібітора цистеїнових протеаз, задіяних у реалізації автофагії, зумовлював зниження життєздатності клітин рослин, що підтверджує роль автофагії в опосередкуванні впливу абіотичних стресів.

Одержані результати свідчать про адаптивну роль автофагії за дії абіотичних стресорних факторів, а також залучення МТ та ацетилювання  $\alpha$ -тубуліну до реалізації цих процесів.

УДК 577.112:616

## РОЛЬ IGF ТА IGFBP У ЗАЛЕЖНІЙ ВІД СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ ERN1 РЕГУЛЯЦІЇ ПРОЦЕСІВ ПРОЛІФЕРАЦІЇ КЛІТИН ГЛІОМИ

*А. П. ХАРЬКОВА<sup>1,2</sup>, Л. Л. КАРБОВСЬКИЙ<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: kharkova.anastasiia@gmail.com;

<sup>2</sup>ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна

Гліома – найпоширеніша пухлина центральної нервової системи нейроектодермального походження, ріст якої контролюється фактором IGF-2 (insulin like growth factor-2). Активність IGF у свою чергу регулюється протеїнами групи IGFBP (IGF-binding proteins). Пухлина, що росте, перебуває в умовах гіпоксії, оксидативного стресу, нестачі поживних речовин, що призводить до активації комплексу внутрішньоклітинних реакцій стресу ендоплазматичного ретикулула (ЕПР). Інгібування сенсорно-сигнального ензиму стресу ЕПР ERN1 (endoplasmic reticulum to nucleus-1) приводить до пригнічення проліферації та активації апоптозу в клітинах гліоми людини лінії U87. Метою дослідження було вивчення експресії генів протеїнів IGF та IGFBP у клітинах гліоми лінії U87 в умовах пригнічення функціональної активності ензиму ERN1 для з'ясування ролі системи IGF у протипухлинних ефектах ERN1.

У процесі дослідження культивували клітини гліоми лінії U87 та її сублінії dnERN1, проводили виділення РНК із культури клітин і спектрофотометричний аналіз кількості РНК, зворотну транскрипцію, кількісну ПЛР, електрофорез продуктів ампліфікації, виділення цитозольних та секреторних протеїнів, електрофорез протеїнів у поліакриламідному гелі, імуноблотинг.

У клітинах гліоми сублінії dnERN1, що експресує функціонально неактивний ензим ERN1, спостерігається зниження відносного рівня експресії основних «пропроліферативних» генів *IGF-1*, *IGF-2*, *IGFBP-1*, *IGFBP-2*, *IGF2BP3* на рівні мРНК. Схожий ефект

спостерігається на рівні протеїнів IGF-2 (основний активатор росту гліоми), IGFBP-2 (секреторний протеїн, що зв'язується з IGF-2 та компонентами позаклітинного матриксу, акумулюючи у такий спосіб IGF-2 біля поверхні клітини та підсилюючи його ростові ефекти), IGF2BP3 (внутрішньоклітинний протеїн, що активує трансляцію мРНК IGF-2). У той самий час показано підвищення відносного рівня експресії генів *IGFBP-3*, *IGFBP-4*, *IGFBP-5*, продукти яких проявляють переважно антипроліферативні ефекти за рахунок зв'язування IGF у неактивні комплекси. За інгібування ERN1 спостерігається також значна активація експресії *IGFBP-3*, що кодує основний інгібітор IGF, на рівні мРНК та протеїну.

Значне підвищення рівня експресії генів *IGFBP-3* та *IGFBP-5* на фоні зниження експресії *IGF-1*, як і підвищення експресії гена *IGFBP-4*, основного негативного регулятора активності IGF-2, у разі зниження рівня експресії самого гена *IGF-2* та *IGF2BP3*, позитивного регулятора трансляції мРНК IGF-2, (на рівні мРНК та протеїну), а також пригнічення експресії «пропроліферативних» генів *IGFBP-1* та *IGFBP-2* може бути вагомим внеском у пригнічення росту клітин гліоми в умовах інгібування сенсорно-сигнального ензиму стресу ЕПР ERN1.

Автори вдячні проф. М. Моеннер (лабораторія молекулярних механізмів ангиогенезу, Університет Бордо 1, Франція) за надання генетично модифікованої лінії клітин гліоми та науковому керівнику проф. О. Г. Мінченку за підтримку під час виконання роботи.

УДК 577.112.34:612.822:661.8'036

## ON THE ROLE OF B $\beta$ N-DOMAIN- $\alpha$ C-REGION COMPLEX OF FIBRIN DESA IN THE LATERAL ASSOCIATION OF PROTOFIBRILS

*P. Yu. TSAP, L. P. URVANT*

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: pavloyuriyovychtsap@gmail.com*

Earlier we found that after the cleavage of FpA and fibrin desA formation B $\beta$ N-domains and  $\alpha$ C-domains of the fibrin molecule form new intramolecular complexes. In this study we investigated the role of the B $\beta$ N-domain- $\alpha$ C-region complex in fibrin polymerization.

Fg was isolated from donor plasma, X<sub>1</sub>-,  $\alpha$ C-, D-fragments were isolated from plasmin digests of fibrinogen, DD-fragments – from plasmin digests of cross-linked fibrin. Electrophoretic analysis and ELISA assay with mAbs to  $\alpha$ C- and B $\beta$ N-domains showed that X<sub>1</sub>-fragments we used did not contain  $\alpha$ C-regions, but did contain B $\beta$ N-domains. D- and DD-fragments were purified by fibrin-sepharose.

It was found that polymerization of X<sub>1</sub> activated by thrombin was slower as compared to Fg polymerization with decrease in the rate of protofibril formation 5.2 times, the rate of lateral association – 3.2 times, and the resulting turbidity of the clot – 2.4 times. The rate of fibrinopeptide A cleavage by thrombin from X<sub>1</sub> was also slightly slower. 24 kDa

fragment of  $\alpha$ C-region inhibited fibrin polymerization, but increased the rate of X<sub>1</sub> lateral association. Comparison between Fg and X<sub>1</sub> polymerization initiated by thrombin or reptilase showed that in the systems “Fg + Thr” and “X<sub>1</sub> + Thr” both D- and DD-fragments inhibited polymerization significantly, but in the system “Fg + reptilase” they were proved to be weak inhibitors. Moreover, in the system “X<sub>1</sub> + reptilase” D- and  $\alpha$ C-fragments increased lateral association and clot turbidity.

Taking into account that fibrin desA contains B $\beta$ N-domain- $\alpha$ C-region complex and X<sub>1</sub>-desA – only B $\beta$ N-domain, we assume that this complex reduces inhibitory action of D- and DD- fragments and promotes protofibril lateral association.

*Acknowledgements.* Pyrogoва L. V., Bereznitsky G. K., Gogolinskaia G. K., Kolesnikova I. M., Kostiuhenko O. P., Makogonenko Ye. M., Lugovskoi E. V.



UDC 577.112:616

## IRE1-DEPENDENT ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS PATHWAY AS AN IMPORTANT FACTOR OF GLIOMA GROWTH

*D. O. TSYMBAL, O. O. RIABOVOL*

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: dariiabova@gmail.com*

Inositol-requiring enzyme 1 (IRE1) is an ER stress sensor with two catalytic domains: kinase and endoribonuclease. In glioma cells inhibition of IRE1 enzymatic activities leads to a decreased cells' proliferation but increases migration potential of modified cells. Particular molecular events, such as changes in expression of proliferation-related genes, which coincide with slower growth rates of IRE1 knockdown cells, are of great interest in context of searching for new therapeutic targets.

We used U87 glioma cells and their sublines stably transfected with cDNA-constructs expressing dnIRE1 (no kinase, no endoribonuclease), or dnrIRE1 (no endoribonuclease). Cells were subjected to hypoxia (16 h, 3% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 92% N<sub>2</sub>), glucose and glutamine deficiency (16 h in respective nutrient-deficient medium). We studied the relative mRNA expression under all described conditions using qPCR.

Both complete and partial inhibition of IRE1 led to decreased mRNA expression of pro-proliferative genes *E2F8* (E2F transcription factor 8), *HOXC6* (homeobox C6), *IL13RA2* (interleukin 13 receptor subunit A2). Moreover, hypoxia and glutamine or glucose deficiency either had little or no effect on mRNA expression of *IL13RA2*, *HOXC6* and *E2F8*

or led to its further decrease in IRE1 knockdown glioma cells. In contrast, mRNA expression of transcription factors *TBX3* (T-box 3), tumor suppressors *KRT18* (cytokeratin 18), *MYL9* (myosin regulatory light chain 9), *CD24* (antigen CD24), *ING1* (inhibitor of growth 1), *ING2* (inhibitor of growth 2) increased in glioma cells expressing dnIRE1. Glucose and glutamine deprivation partially reversed the effect of IRE1 inhibition on the expression of *ING1* and *ING2*, which was not observed for the other genes in question. We detected an increase in mRNA expression of pro-migratory transcription factors *TCF3*, *TCF8* (transcription factors 3 and 8) and *SNAI2* (snail family zinc finger 2) upon IRE1 inhibition in glioma cells.

*E2F8*, *HOXC6* and *IL13RA2* are probably implicated in IRE1-mediated suppression of glioma growth and must be evaluated as potential therapy targets. Perhaps, simultaneous up-regulation of pro-migratory transcription factors and tumor suppressor genes accounts for the peculiarities of IRE1-mediated suppression of glioma cells' proliferation (increased migration).

The work was supervised by Prof. Dr. Oleksandr Minchenko.

UDC 577.323:576.08

## ORGANIZATION OF INTERPHASE CHROMATIN IN DIFFERENT CELL TYPES

*M. CHOPEL, K. AFANASIEVA*

*Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine;  
e-mail: mariana.chopei@gmail.com*

**A**t higher order levels interphase chromatin is organized into DNA loop domains. The mechanisms of their formation and stabilization are very diverse. It has been suggested that some loops may be stabilized by constitutive interaction between DNA sites and nuclear lamina proteins, while others arise as a result of transcription activation and/or repression. Moreover, the amount of the second type of loops depends on transcriptional activity of the cell.

The aim of our study was to investigate the diversity of DNA loops in lymphocytes, lymphoblasts and T98G cells (human glioblastoma cell line).

Different cells were obtained by centrifugation in density gradient, blast transformation with interleukin-2 and cell culture techniques. Loops migration was evaluated applying kinetic approach of comet assay under neutral conditions. The amount of DNA in comet tails and size of the largest loops that can migrate at each point have been estimated.

We found three types of DNA loop domains: small superficial loops (under 30 kilobase (kb)) that exit easily during electrophoresis; larger loop do-

mains (30-200 kb), migration of which is delayed due to their size and supercoiling level (those loops were sensitive to intercalators); and very large inner loops (over 200 kb) that cannot migrate into comet tail. All types of loop domains were found in each cell type but their distribution was different. In lymphoblasts due to transcription activation we observed almost 2-fold increasing of superficial loops in comparison to lymphocytes where transcription is generally repressed. In the meantime, in T98G cells we observed the increasing of the amount of large inner loop domains (over 200 kb). We also discovered that loop size distribution in different cell types is consistent with fractal globule model of chromatin organization.

Therefore, our findings indicate the noticeable changes in loop size distribution during transcription activation and malignant transformation that points at loop domain reorganization during those processes.

Acknowledgement. Prof. Andrei Sivolob (thesis advisor).

UDC 577. 112

**ROLE OF ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85  
IN CARCINOGENESIS IN LEWIS LUNG CARCINOMA  
IN VITRO MODEL SYSTEM**

*N. SHABAS<sup>1</sup>, G. PASICHNYK<sup>2</sup>, D. GERASHCHENKO<sup>2</sup>, I. HORAK<sup>2</sup>,  
D. SHYTIKOV<sup>2</sup>, D. PETUKHOV<sup>2</sup>, A. BAZALIP<sup>2</sup>, A. STAROBUBTSEVA<sup>1</sup>,  
O. VASHENYUK<sup>1</sup>, M. YATSENKO<sup>1</sup>, A. ZHYVOLOZHNYI<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Taras Shevchenko National University of Kyiv, Institute of Biology, Ukraine;*  
<sup>2</sup>*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;*  
*e-mail: nady2@gmail.com*

Ruk/CIN85 is an adaptor protein involved in numerous intracellular processes that undergo frequent changes during carcinogenesis. Multidomain structure of the protein allows of its interaction with other signal transducers as well as with elements of cytoskeleton. High expression level of Ruk/CIN85 have been demonstrated earlier in cells of Lewis lung carcinoma (LLC) cell line characterized by high metastatic potential.

The aim of this study was to investigate the effect of Ruk/CIN85 down-regulation in LLC cells on their proliferative rate, migratory and invasive capacity, and activation of MAPK/ERK, JNK and PI3K/Akt/mTOR signal pathways.

We used shRNA-technology in order to obtain LLC sublines with down-regulated Ruk/CIN85 expression. The stably infected cells were selected in the presence on puromycin-containing medium (10 µg/ml). Ruk/CIN85 expression levels and content of phosphorylated forms of ERK, JNK and mTOR kinases were assessed by Western-blot analy-

sis. Proliferative potential of control LLC cells and cells with Ruk/CIN85 down-regulation was assayed by direct cell count with trypan blue, and also with MTT assay. Migratory and invasive potentials were evaluated using scratch test and transwell migration assay, correspondingly.

We established sublines of LLC cells with decreased Ruk/CIN85 content. These cells demonstrate diminished proliferative, invasive and migratory potential. We also detected elevated content of phosphorylated forms of ERK and mTOR kinases in the infected LLC cells in comparison to control ones, while the level of JNK was lower.

Our results demonstrate involvement of Ruk/CIN85 into processes associated with proliferation, migration and invasion of LLC cells, possibly through the differential modulation of signaling pathways.

We express our gratitude to Prof. Liudmyla Drobot.

УДК 661.846:577.12

## ВПЛИВ МАГНІЮ ЦИТРАТУ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ОБМІН ТА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ ЗАХИСТУ В ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЩУРІВ З АЛОКСАНІНДУКОВАНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

О. А. ШАТИНСЬКА

*Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна;  
e-mail: shatynska.o@meta.ua*

**Ц**укровий діабет – захворювання, яке характеризується метаболічними порушеннями, пов'язаними з високим рівнем глюкози в крові, що у свою чергу сприяє недостатності в секретії і/або дії інсуліну. Діабет супроводжується підвищенням продукції вільних радикалів, ослабленням антиоксидантного захисту, а також надмірною екскрецією важливих макроелементів з організму, зокрема магнію. Магній відіграє важливу роль, оскільки є кофактором більш ніж у 300 ензиматичних реакціях, бере участь в усіх АТФ-залежних транспортних системах, гліколізі. Крім того, варто відмітити роль магнію в інсулінопосередкованому поглинанні глюкози. Дефіцит магнію може бути причиною дефекту активності інсулінового рецептора на рівні тирозинової кінази, що супроводжується зниженою утилізацією глюкози клітинами. При цьому порушується обмін вуглеводів, жирів і протеїнів, що зумовлює низку метаболічних порушень. Тому метою нашої роботи було вивчення впливу магнію цитрату на вуглеводний обмін та антиоксидантну систему в підшлунковій залозі щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД).

Дослідження проведено на білих лабораторних щурах (90–110 г), яких було розділено на п'ять груп: I група – контрольна, II, III, IV і V – дослідні. Тваринам III–V дослідних груп до основного раціону додавали розчин магнію цитрату в кількості 100, 250 і 500 мг Mg<sup>2+</sup>/кг маси тіла. У тварин II–V груп на тлі 24-годинного голодування спричинювали ЕЦД шляхом внутрішньоочеревинного введення алоксан моногідрату з розрахунку 150 мг/кг маси тіла. Гіперглікемію виявляли шляхом вимірювання

глюкози крові, зібраної із хвостової вени. Матеріалом для досліджень були гомогенати підшлункової залози щурів.

Результати наших досліджень показали, що в тканині підшлункової залози тварин II групи з ЕЦД вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) збільшувався на 21,4% порівняно із тваринами I групи. Магній цитрат, у свою чергу, проявляв позитивний стабілізуючий вплив, знижуючи вміст ГПЛ, зокрема у тварин III групи на 11,8% порівняно з тваринами II дослідної групи. Встановлено, що активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і лактатдегідрогенази в підшлунковій залозі тварин II дослідної групи з ЕЦД, вірогідно знижувались на 85,9 і 52,5% відповідно порівняно з тваринами I групи. А у тварин, до раціону яких додавали магнію цитрат, спостерігали вірогідне підвищення активності ензимів вуглеводного обміну відносно тварин з ЕЦД. У підшлунковій залозі тварин II групи спостерігалася тенденція до зниження активності супероксиддисмутази, а також вірогідне зниження активності каталази на 55% і глутатіонпероксидази на 45,5% відносно тварин I групи. Проте, магнію цитрат зумовлював вірогідне підвищення активності ензимів системи антиоксидантного захисту в підшлунковій залозі тварин III–V груп.

Аналізуючи результати проведених досліджень варто зауважити, що нормалізація показників вуглеводного обміну та антиоксидантної системи захисту в підшлунковій залозі щурів вказує на позитивний коригувальний вплив магнію цитрату на порушення, які можуть спричинюватися за цукрового діабету.

UDC 577.121.7+544.773:615.281.9

## CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES DECREASE PRODUCTION OF REACTIVE NITROGEN SPECIES

*O. A. SHYDLOVSKA, N. M. ZHOLOBAK*

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: olgashydlovska@gmail.com*

Nanoparticles of cerium dioxide (NCD) is a perspective material in antiviral therapy. It is shown that nanocrystal cerium dioxide has antiviral activity against Herpes simplex virus 1 (HSV-1) in RF cell line and Vesicular stomatitis Indiana virus (VSV) in L929 cell line (Zholobak N. et al., 2011). There are many reviews highlighting researches on NCD as a novel therapeutic medicine for cancer treatment (Vinardell M. & Mitjans M., 2015; Diaconeasa Z. et al., 2015). Thus, due to the prospect of biological and medical use of cerium dioxide nanoparticles an important question of establishing mechanisms of its action is raised. In this case, there has already been researched the influence of NCD on reactive oxygen species including antioxidant activity (Lee S. et al., 2013). But, there are very few studies on the influence of NCD on reactive nitrogen species (RNS). RNS play an important role in neurotransmission, blood pressure regulation, defense mechanisms, cellular signaling, smooth muscle relaxation and immune regulation (Valko M. et al., 2007). In view of the above, the aim of our work was to study the influence of NCD on the RNS.

In our study we used non-stabilized nanoparticles of cerium dioxide (non-stabilized NCD) and citrate-stabilized cerium dioxide nanoparticles (citrate-stabilized NCD), that was synthesized by O. Ivanova & A. Scherbakov. Nitrogen quantity was measured using adapted standard procedure (Promega, 2009) in MDBK cell line after 15 min and after 24 h of incubation with the nanoparticles. Also, we measured the nitrogen quantity after induced oxidative stress

(0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) at the same points of incubation with the nanoparticles.

After 24 h of incubation cells with citrate-stabilized NCD decrease of NO-production was found. The quantities of nitrites were decreased in 2.3-7.9 times in comparison with control (intact cells) for concentrations of citrate-stabilized NCD from 0.1 to 1 mM. Non-stabilized NCD did not affect nitrites production in comparison with intact cells – multiplicity of decrease was 0.1-1.5. Citrate-stabilized NCD in concentrations 0.1-1 mM had some protective effect against oxidative stress – multiplicity of decrease was 0.2-1.7 in comparison with control of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The multiplicity of decrease for antioxidant test for non-stabilized NCD was 1.0-1.4.

Incubation with citrate-stabilized NCD for 15 min caused a 2.3-46.9-fold decrease in comparison with intact cells for concentrations from 0.1 to 1 mM. Inhibition effect of non-stabilized NCD was not more than 2.0 times. In 0.3-1 mM concentrations of citrate-stabilized NCD there was decrease 2.1-2.9 times. For 0.1 mM concentration there was no influence. Non-stabilized NCD did not cause any inhibition effect to nitrite production.

In our study it is shown that citrate-stabilized NCD inhibit nitrite production in MDBK cell line before and after induced oxidative stress. It is known, that the viral infection is mediated by oxidative stress (Beck M., 2000; Jackson A., 2010). So, the mechanism of antioxidant activity of cerium dioxide nanoparticles can be related with its antiviral activity.



УДК 577.125.3. – 152.1:591.1/3

## ЗВ'ЯЗОК МЕТАБОЛІЗМУ ЖИРНИХ КИСЛОТ ІЗ ПРОЦЕСАМИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ І ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ В М'ЯЗОВІЙ ТКАНИНІ ГУСЕЙ В УМОВАХ ГІПО- ТА ГІПЕРОКСІЇ

*О. В. ЯКОВІЙЧУК, І. Ю. БУГОНЬКО*

*Мелітопольський державний педагогічний університет  
імені Богдана Хмельницького, Україна;  
e-mail: sanek.sanek.91@bk.ru*

**Ж**ирні кислоти (ЖК) є головним енергетичним субстратом поперечносмугастих м'язів птиці під час ембріогенезу, а в міокарді – впродовж усього періоду онтогенезу. Водночас з енергетичними функціями ЖК виконують роль головного субстрату пероксидного окислення. Фізіологічне функціонування організму передбачає певний баланс біологічного і пероксидного окислення. Втім, механізми реалізації і підтримки цього балансу остаточно не визначено. Тому метою досліджень було з'ясування метаболічних зв'язків жирних кислот із процесами енергетичного обміну та пероксидного окислення в м'язових тканинах гусей під час переходу від гіпоксії ембріогенезу до гіпероксії початку атмосферного дихання.

Для інкубації було відібрано яйця гусей харківської породи із середньою масою  $145,7 \pm 2,62$  г. Оцінку жирнокислотного складу (ЖКС), активності дегідрогеназ (ДН) циклу трикарбонових кислот (ЦТК) та антиоксидантних ензимів у міокарді та скелетних м'язах (СМ) проводили у фізіологічно обґрунтовані терміни другої половини ембріогенезу (15-та, 22-га і 28-ма доба) та раннього постнатального періоду (1-ша, 7-ма та 14-та доба).

Встановлені зміни ЖКС та активності ДН ЦТК і антиоксидантних ензимів у міокарді і СМ гусей в зазначений період проаналізовано нами раніше. В цій роботі за допомогою детальнішого кореляційного і кластерного аналізу з'ясовано характер зв'язків досліджених показників. Привертають увагу тісні зв'язки змін вмісту лінолевої і ліноленової кислот зі зміною активності антиоксидантних ензимів

та ДН ЦТК. У міокарді інтеграція ЖКС з ЦТК забезпечується зв'язками сукцинатдегідрогенази (SD) з лінолевою ( $0,867$ ;  $P \leq 0,1$ ) та ліноленовою кислотами ( $0,823$ ;  $P \leq 0,1$ ), а інтеграція з ензиматичною системою АОЗ реалізована оберненим зв'язком лінолевої кислоти з активністю супероксиддисмутази (SOD) ( $-0,823$ ;  $P \leq 0,1$ ) та опосередковано через зв'язки активності каталази (CAT) з активністю SD ( $-0,723$ ;  $P \leq 0,1$ ) і 2-оксоглутаратдегідрогенази (2-OGD) ( $-0,818$ ;  $P \leq 0,1$ ). Внутрішня інтеграція енергетичного обміну забезпечується прямими зв'язками MD із SD ( $0,919$ ;  $P \leq 0,05$ ) і 2-OGD ( $0,768$ ;  $P \leq 0,1$ ). В скелетних м'язах інтеграція метаболізму ЖК реалізується зв'язками активності MD із лінолевою ( $0,802$ ;  $P \leq 0,1$ ) та ліноленовою ( $0,857$ ;  $P \leq 0,1$ ) кислотами. Узгодженість окисних процесів підтверджується зворотними зв'язками активності CAT з активністю SD ( $-0,858$ ;  $P \leq 0,1$ ), 2-OGD ( $-0,756$ ;  $P \leq 0,1$ ) та MD ( $-0,731$ ;  $P \leq 0,1$ ). Внутрішня інтеграція енергетичного обміну реалізована прямими зв'язками активності MD із SD ( $0,893$ ;  $P \leq 0,05$ ) і 2-OGD ( $0,904$ ;  $P \leq 0,05$ ) та SD із 2-OGD ( $0,826$ ;  $P \leq 0,1$ ).

Таким чином, в обох досліджених тканинах активність ДН ЦТК із вмістом незамінних ЖК пов'язана прямим вірогідним зв'язком, а з активністю антиоксидантних ензимів – зворотним. Враховуючи, що активізація ДН спричинює посилення біологічного окислення, а інгібування ензимів антиоксидантного захисту – пероксидного, можна припустити, що підтримка балансу біологічного і пероксидного окислення відбувається шляхом модулювання активності досліджених ензимів.