

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

## **ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ**

конференції-конкурсу молодих учених

**“АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ БІОХІМІЇ ТА  
БІОТЕХНОЛОГІЇ - 2015”**

23 – 24 квітня 2015 року

Київ-2015

## **Програма конференції**

### **23 квітня (четвер)**

***9.30 – Реєстрація учасників конференції***

***10.00 – Вступне слово академіка НАН України С.В. Комісаренка***

***10.15 – I пленарне засідання. Секція Біотехнології***

*(головуючий: д.б.н., Колибо Д.В.)*

***12.30 – Обідня перерва***

***13.30 – II пленарне засідання. Секція Медичної біохімії***

*(головуючий: проф., д.б.н. Великий М.М.)*

***15.30 – II пленарне засідання. Секція Онкології***

*(головуючий: проф., д.б.н. Великий М.М.)*

***17.00 – Завершення роботи першого дня конференції***

### **24 квітня (п'ятниця)**

***9.30 – Реєстрація учасників конференції***

***10.00 – III пленарне засідання. Секція Біохімії***

*(головуючий: академік НАНУ Костерін С.О.)*

***13.00 – Обідня перерва***

***14.00 – IV пленарне засідання. Секція Біохімії***

*(головуюча: проф., д.б.н. Матишевська О.П.)*

***17.00 – Підведення підсумків, нагородження переможців і закриття конференції***

ББК 28.07

А 437

УДК 577

## **Актуальні проблеми біохімії та біотехнології**

збірник тез

У збірнику вміщено матеріали конференції, яка відбувалася в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України 23-24 квітня 2015 р та була присвячена сучасним біохімічним та біотехнологічним дослідженням молодих учених в Україні.

Відповідальний за друк Чернишенко В.О.

Бахмачук А.О., Горобець О.Ю., Боренко О.Ю. та ін. (за редакцією Чернишенка В.О., Урвант Л.П.) - Матеріали конференції "Актуальні проблеми біохімії та біотехнології" – К.: Санченко. – 2015. – 68 с.

*Рекомендовано до друку Радою молодих учених Інституту біохімії ім.*

*О.В. Палладіна НАН України, протокол N 3 від 10 квітня 2015 року.*

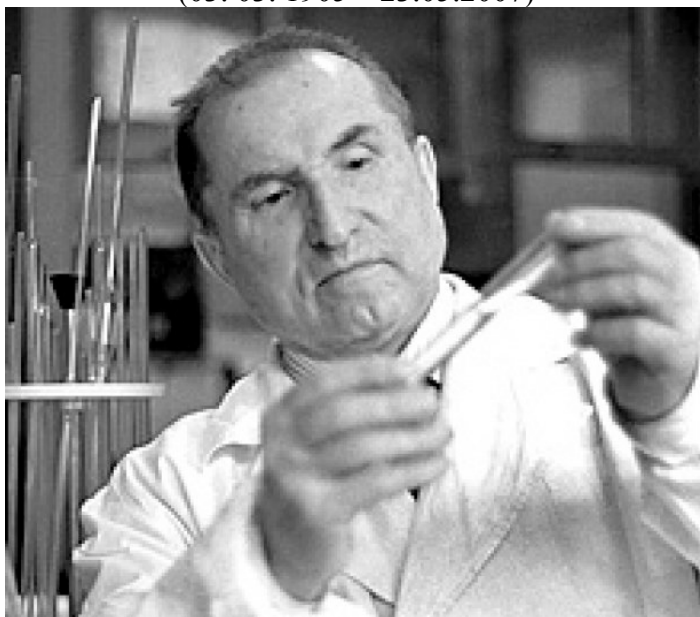
ISBN 978-617-7026-26-5

видавець Санченко

Цього року конференція молодих учених «**Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2015**» присвячена 110-річчю з дня народження академіка НАН України Максима Федотовича Гулого.

**МАКСИМ ФЕДОТОВИЧ ГУЛИЙ**

(03. 03. 1905 – 23.05.2007)



*В Академії працював з 1932 р. У 1957 р. обраний дійсним членом Академії наук УРСР. 1957-1963 рр. – віце- президент АН УРСР, член Президії АН УРСР; 1965-1975 рр. – голова наукової ради з проблем «Молекулярної біології» при Президії АН УРСР. 1972-1977 рр. – директор Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна АН УРСР. До 2007 р. працював радником при його дирекції. Головний редактор «Українського біохімічного журналу» (1973-1981 рр.).*

*Лауреат Державної премії СРСР (1952 р.), двох Державних премій УРСР (1978, 1985 рр.) та премії ім. О.В. Палладіна (1974 р.), Герой України (2005 р.).*

Видатний вчений і педагог, талановитий організатор науки, один із фундаторів вітчизняної біохімії академік Максим Федотович Гулий по праву належить до славетної плеяди дослідників, які завдяки своїй подвижницькій праці та яскравим науковим досягненням заслуговують на звання класиків науки.

Наукові інтереси М.Ф. Гулого охоплювали надзвичайно широке коло різноманітних проблем функціональної біохімії. Його роботи завжди стосувались найважливіших питань часу. У 30-ті роки – це проблеми збалансованого харчування й вуглеводного обміну у м'язах, у повоєнні роки – вивчення фізіологічної ролі циклу трикарбонових кислот, виділення, очистка і дослідження тканинних та мікробних білків, визначення зв'язку між обміном пуринів і злоякісним ростом, питання регуляції біосинтезу білків і ліпідів. М.Ф. Гулим зроблено фундаментальний внесок у сучасне розуміння метаболічних перетворень одновуглецевих сполук у гетеротрофних організмів; він безпосередньо причетний до зародження вітчизняної молекулярної біології та імунохімії.

Сповідуючи життєве і наукове кредо «*Біохімія на користь людству*», Максим Федотович вважав, що «*справжні фундаментальні дослідження, як правило, рано чи пізно приведуть до вирішення тих чи інших практичних завдань, які ставить перед людством життя*». Саме тому практичні здобутки наукової роботи М.Ф. Гулого виявилися такими самими вагомими, масштабними та різноманітними, як і наукові.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ IgG З РЕКОМБІНАНТНИМ БІЛКОМ А  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ІММОБІЛІЗОВАНИМ НА СЕНСОРНІЙ ПОВЕРХНІ  
СПЕКТРОМЕТРА ПОВЕРХНЕВОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСУ**

<sup>1</sup>*КНУ імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології», Київ  
a.bakhtachuk@gmail.com*

<sup>2</sup>*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ*

**Вступ.** Розробка імуносенсорів є актуальним і важливим завданням, оскільки його успішне вирішення дасть змогу істотно покращити діагностику хвороб, контроль якості харчових продуктів тощо. Однак при іммобілізації антитіл на сенсорній поверхні зазвичай спостерігають зниження їх антиген-зв'язувальної активності. Головними причинами цього вважають випадкову орієнтацію антитіл та стеричні обмеження, що виникають завдяки наявності поверхні. Щоб запобігти цьому, можна створити проміжний шар, який включав би в себе імуноглобулін-зв'язувальні білки, наприклад, поверхневий білок А *Staphylococcus aureus*. Введення залишку цистеїну в рекомбінантний білок А має сприяти його більш ефективній іммобілізації на золотій поверхні. Таким чином, мета даної роботи – дослідити процес іммобілізації рекомбінантного поверхневого білка А *Staphylococcus aureus* з додатково введеним на С-кінці залишком цистеїну (SPA-Cys) та взаємодію імуноглобулінів з іммобілізованим SPA-Cys.

**Методи.** SPA-Cys було отримано синтезом в *E.coli* та очищено методом металоафінної хроматографії. Біологічну активність імунокомпонентів, що були використані в даному дослідженні, перевіряли імуноферментним аналізом. Дослідження міжмолекулярних взаємодій між імунокомпонентами виконували за допомогою проточної вимірювальної комірки спектрометра поверхневого плазмонного резонансу (ППР) «Плазмон-4м».

**Результати.** Було сконструйовано рекомбінантний білок SPA-Cys, який містить п'ять імуноглобулін-зв'язувальних доменів білка А *Staphylococcus aureus*, послідовність олігогістидину для його хроматографічної очистки та С-кіцевий залишок цистеїну. Отриманий SPA-Cys зберігав свою імуноглобулін-зв'язувальну активність. Введення розчинів різної концентрації SPA-Cys у вимірювальну комірку спектрометра ППР з попередньо очищеною золотою сенсорною поверхнею викликало відгуки, величина яких залежить від концентрації SPA-Cys і відповідає рівню поверхневої щільності іммобілізації від 0,35 до більш ніж 1 нг/мм<sup>2</sup>. Блокування місць неспецифічної сорбції на сенсорній поверхні за допомогою білків молока дозволяло сформувати біоселективний елемент імуносенсора, селективність якого перевіряли введенням у вимірювальну комірку різних білків. Тільки введення IgG людини викликало помітний сенсорний відгук залежний від концентрації IgG. За допомогою двох підходів були розраховані рівноважні константи взаємодії імуноглобулінів з іммобілізованим SPA-Cys.

**Висновки.** Досліджено процес іммобілізації SPA-Cys на сенсорній поверхні спектрометра ППР та його взаємодію з IgG людини. Сформований біоселективний елемент імуносенсора показує досить високу селективність, чутливість детектування та відтворюваність результатів.

О.Ю. ГОРОБЕЦЬ<sup>1</sup>, С.В. ГОРОБЕЦЬ<sup>1</sup>, В.Ф. ЧЕХУН<sup>2</sup>, О.В. МЕДВЕДЄВ<sup>1</sup>, О.Б. БЕРЕЗІН<sup>1</sup>,  
О.М. ГАРКАВЕНКО<sup>1</sup>

## ДОСЛІДЖЕННЯ ФРАКТАЛЬНОЇ РОЗМІРНОСТІ ЧУТЛИВИХ ТА РЕЗИСТЕНТНИХ ДО ДІЇ ДОКСОРУБІЦИНУ КЛІТИН РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ, ЕКСПОНОВАНИХ У МАГНІТНОМУ ПОЛІ

<sup>1</sup> Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», Київ  
[sasha1.0@yandex.ua](mailto:sasha1.0@yandex.ua)

<sup>2</sup> Інститут експериментальної патології онкології і радіобіології ім.Р.Є. Кавецького НАН України, Київ.

**Вступ.** У 1995 році у ході досліджень морфології злоякісних клітин було виявлено кореляцію між фрактальною розмірністю та характером клітини, а саме – наявністю у ракових клітинах фрактальної розмірності, нехарактерної для звичайних здорових клітин (Pierard G. E, 1995). Подальші дослідження підтверджували отримані результати (Sedivy R., 1999; Wax A., 2003).

Метою даної роботи було визначення діапазонів фрактальної розмірності клітин раку молочної залози людини, чутливих до дії доксорубіцину та резистентних до дії доксорубіцину, підданих дії магнітного поля. Отримані результати дозволять зробити висновок про можливість застосування аналізу фрактальної розмірності злоякісних клітин для визначення резистентності чи чутливості по відношенню до дії доксорубіцину.

**Методи.** У ході виконання роботи було досліджено клітини раку молочної залози людини, чутливі до дії доксорубіцину (MCF-7S) та резистентні до дії доксорубіцину (MCF-7/Dox). Центрифуговані препарати клітин обох ліній були експоновані у магнітному полі з величиною індукції 160 мТл протягом 1,5 годин. Вивчення фрактальної розмірності окремих клітин проводилось за допомогою аналізу АСМ зображень програмою, написаною у середовищі Mathcad.

**Результати.** Аналізуючи фрактальну розмірність ракових клітин молочної залози, резистентних до дії доксорубіцину і підданих дії магнітного поля, було виявлено, що діапазон фрактальних розмірностей для них складає 1,10 – 1,18 з середнім значенням  $\langle D \rangle = 1,160$ .

Діапазон фрактальних розмірностей для клітин лінії MCF-7S, котра представлена чутливими до дії доксорубіцину клітинами, що також експонувались у магнітному полі, складає 1,2 – 1,36 з середнім значенням  $\langle D \rangle = 1,273$ .

**Висновок.** У ході виконання роботи було порівняно значення фрактальних розмірностей контурів чутливих та резистентних до дії доксорубіцину клітин раку молочної залози лінії MCF-7, експонованих у магнітному полі. Виявлено, що діапазони їх фрактальних розмірностей відрізняються і не перекриваються між собою. При цьому для клітин лінії MCF-7S характерний діапазон фрактальної розмірності з  $D = 1,2 - 1,36$ , у той час як для клітин лінії MCF-7/Dox – діапазон  $D = 1,10 - 1,18$ . Діапазони цих клітинних ліній не перекриваються, що можна використати для визначення чутливості ракових клітин молочної залози до дії доксорубіцину.

*О. Ю. БОРЕНКО<sup>1</sup>, О. Л. ЛЯННА<sup>2</sup>, Ю. А. ШЕВЧЕНКО<sup>2</sup>*

## **ВІТАМІННИЙ СТАТУС ГЛИБОКО НЕДОНОШЕНИХ ДІТЕЙ**

*<sup>1</sup>Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України, Київ  
olga\_313@mail.ru*

*<sup>2</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпропетровськ*

Відомо, що після народження 80-90% недоношених новонароджених мають неврологічні відхилення, зокрема для немовлят, які вважаються недоношеними III ступеня (недоношені з низькою та екстремально низькою масою тіла до 1500 г) ця цифра сягає 100%. За даними літератури, формування синдрому перинатального ушкодження ЦНС у недоношених новонароджених відбувається дещо по-іншому, ніж у доношених дітей, що зумовлено особливим реагуванням незрілих структур головного мозку на патологічні перинатальні фактори. Особливо важливим в цьому плані є перші чотири тижня життя перинатального ураження, коли відбувається формування порушень, які надалі визначатимуть перебіг та результат захворювання. Вважається, що розвиток та впровадження комплексних профілактичних та реабілітаційних заходів, спрямованих на перешкоджання хронізації патологічного процесу і мінімізацію важких наслідків захворювання дозволяють зменшити стійкі порушення здоров'я та інколи навіть вивести дитину зі стану інвалідності.

Продовжуючи серію досліджень по вивченню біохімічних механізмів, які лежать в основі неврологічних порушень недоношених дітей, в цій роботі представлено результати визначення вітамінного статусу сироватки крові глибоко недоношених дітей: 1 – група дітей з екстремально низькою вагою тіла (менше 1000 г) (n=25), 2 – група дітей з низькою вагою тіла (до 1500 г) (n=26). Діти, які досліджувались (51 особа) надходили у важкому та надзвичайно важкому стані. Вітамінний статус оцінювали за показниками концентрації вітамінів С, В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> та D<sub>3</sub> у сироватці крові. Встановлено, що на момент народження концентрації вітамінів, що досліджувались, знаходились в межах нормальних показників, та мали найменше значення у діапазоні допустимих нормальних значень. Виключення становили показники немовлят, які померли протягом першого місяця життя, для них спостерігались відхилення у концентрації вітаміну D<sub>3</sub> сироватки крові, які були майже на 30% меншими за найнижчу границю норми та становили 24,4±9,6 нмоль/л. У групі 2 визначено концентрації вітамінів С, В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub> та В<sub>12</sub> вищими за показники першої групи відповідно на 41%, 41%, 32% та 25%.

Для всіх досліджуваних вітамінів встановлено зростання їх концентрації протягом наступних тижнів. Отримані дані свідчать про низький рівень метаболічної компенсації дітей з екстремально низькою масою тіла. Відсутність своєчасної корекції вітамінного статусу може мати негативні наслідки розвитку та критичні ускладнення, в тому числі й з боку ЦНС.

**ФУНКЦІОНАЛЬНА І БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ  
*PANTOEA AGGLOMERANS***

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ  
[tati20@ukr.net](mailto:tati20@ukr.net)*

*Pantoea agglomerans* – грамнегативна бактерія, яка відноситься до родини *Enterobacteriaceae*, спорідненість якої з типовим родом *Escherichia* складає 25%. Це доволі велика спорідненість, у порівнянні з іншими родами, такими як *Budvicia*, *Pragia*, *Moellerella* та *Xenorhabdus*. Відомо, що основним фактором патогенності грамнегативних бактерій є ліпополісахариди (ЛПС) – основний структурний компонент їх клітинної оболонки. Оскільки в літературі немає даних про дослідження ліпополісахаридів *Pantoea agglomerans*, то метою наших досліджень було вивчити деякі аспекти функціональної та біологічної активності ліпополісахаридів 7 штамів *P. agglomerans*.

ЛПС із 7 штамів *P. agglomerans* були виділені методом водно-фенольної екстракції. Визначення вмісту вуглеводів проводили за Dubois et al. Ідентифікацію жирних кислот у препаратах ЛПС проводили на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert. Чутливість бактерій *P. agglomerans* до поліміксину В визначали диско-дифузійним методом. Дослідження антигенної активності препаратів ЛПС проводили за допомогою подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні, а токсичну дозу визначали при внутрішньочеревному введенні білим мишам. Вивчали вплив різних концентрацій ліпополісахаридів *P. agglomerans* на адгезію клітин *E. coli* до нативних еритроцитів кроля.

Хімічна ідентифікація препаратів ліпополісахаридів показала, що вони характеризуються різним відносним виходом від 5,2 до 14,0% в залежності від штаму. У досліджуваних препаратах був визначений доволі високий вміст вуглеводів – від 22 до 54%, КДО – від 0,39 до 2,22% та гептоз – від 3,3 до 14,0%, які є обов'язковими компонентами молекули ЛПС. Аналіз жирнокислотного складу показав присутність жирних кислот, які містять у ланцюзі від 12 до 16 атомів вуглецю. Домінуючою в ліпідах А ЛПС всіх досліджуваних штамів була 3-ОН-С14:0. Оскільки всі досліджувані штами *P. agglomerans* виявилися чутливими до дії поліміксину В, то можна зробити висновок, що ліпополісахариди, отримані з цих штамів, не містять в складі ліпіду А такий замісник як 4-аміно-4-дезоксi-L-арабінозу. Одним із шляхів зміни функціональних і біологічних властивостей ліпополісахаридів є хімічна модифікація. Як модифікатори були використані комплекси германію, олова з бідентатними гідразонами диметиламінобензальдегіду та олова з тридентатними гідразонами 2-гідроксибензальдегіду. При дослідженні серологічної активності та токсичності модифікованих комплексами германію та олова ліпополісахаридів було встановлено, що деякі з них втратили серологічну активність, у зв'язку з екрануванням антигенної детермінанти, та повністю нейтралізували токсичну активність досліджуваних ліпополісахаридів *P. agglomerans*. Ліпополісахариди *P. agglomerans* знижували кількість адгезованих клітин *E. coli* на еритроцитах кроля шляхом конкуренції за зв'язування з їх поверхневими структурами.

**ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІЇ БІЛКА CFTR АКТИВАЦІЄЮ ГЕНІВ МІКРО-РНК138  
НАНОКРИСТАЛАМИ ГАЛЛУАЗІТА ПРИ МУКОВІСЦИДОЗІ**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,, Харків  
semenb837@gmail.com*

**Вступ.** При найбільш поширеній мутації F508del при генетичному захворюванні муковісцидоз порушується формування вторинної та третинної структури синтезованого білка CFTR (регулятор мембранного проведення іонів), у результаті чого білок руйнується у клітині і не функціонують іонні канали. Білок синтезується переважно в ендокринних залозах (слинних, підшлункових, потових). Ген F508del кодує 1480 амінокислотних залишків, локалізованих у 7 хромосомі, його розмір складає 250 000 пар, а також 27 екзонів (великих частин). Мікро-РНК представляють собою короткі некодуючі РНК, які функціонують як ключеві регулятори різних біологічних процесів, що опосередковуються пригніченням трансляції або деградацією матричних РНК відповідних генів.

**Методи.** Модельним об'єктом були атимусні миші лінії nu/nu, яким були підсажені клітини кишечника від хворих муковісцидозом людей. Відновлення проводилося підготовкою зразка. Нанокристали галлуазіту вводились внутрішньовенно мікроін'єкціями протягом 3 тижнів з інтервалом 2 дні. Сплайсинг мРНК пептиду CFTR контролювали гелелектрофорезом. Етапи метаболізування нанокристалів галлуазіта відслідковували за допомогою флуорисцентного білка Turbo GFP.

**Результати.** Нами було досліджено некодуючі ланцюги мікроРНК – у регуляції експресії гена CFTR. МікроРНК-138 контролює біосинтез білка CFTR шляхом регуляції гена F508del, який залучається до синтезу пептиду. Показано, що кристали галлуазіта ведуть себе як мікроРНК-138, запускаючи клітинну програму синтезу білка CFTR. У результаті цієї взаємодії збільшується кількість синтезованого білка, який не руйнується, починають працювати іонні канали, відновлюється функція білка. Мутантний білок CFTR, який розкладався у клітинах після синтезу і активації кристалами галлуазіту, вбудовувався у мембрану і працював як нормальний іонний канал.

**Висновки.** Успішне створення моделі муковісцидозу на лабораторних мишах дозволило отримати позитивні результати про повне відновлення мутантного дефектного гена F508del з використанням кристалів галлуазіта. Більшість людей з муковісцидозом мають мутацію F508del, наші дослідження можуть стати важливим кроком вперед у розробці способів лікування муковісцидозу. Нашу увагу привертає можливість генотерапії спадкових захворювань методом генноінженерного лікування муковісцидозу більш швидким, повністю відновлюваним методом, який не потребує застосування донорських стовбурових клітин, вірусних векторів, застосування хіміотерапії, хірургічного втручання. Створення препарату з нанокристалами галлуазіту дозволить у майбутньому широко використовувати його як клас ліків, нормалізуючи роботу генів, як засіб для цільового впливу на геном.

С.Г. ВИШНЕВСЬКИЙ

## **БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ІНДИЧАТ ЗА СЕЧОКИСЛОГО ДІАТЕЗУ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ  
[esculat@bigmir.net](mailto:esculat@bigmir.net)*

Вирощування індиків м'ясних кросів має ряд особливостей, які пов'язані з умовами їх утримання, розведення, годівлі та експлуатації. Важливе значення при цьому має своєчасна діагностика та профілактика в індичат захворювань різноманітної етіології, найпоширенішим з яких є сечокислий діатез.

Метою роботи було дослідити біохімічні показники крові клінічно здорових та хворих на сечокислий діатез індичат кросу Б'юті-8 у віці 2-ох місяців за екстенсивної технології вирощування у ПП «Gander» (Київська область).

Встановлено, що вміст гемоглобіну в крові клінічно здорових індичат становив  $89,00 \pm 1,41$  г/л, тоді, як в індичат із симптомами сечокислого діатезу цей показник був у 1,23 рази достовірно нижчим, що вказує на наявність гіпоксії в їх організмі.

У плазмі крові клінічно здорових індичат вміст загального білка становив  $43,53 \pm 1,26$  г/л, а у хворих на сечокислий діатез індичат він був у 1,20 рази достовірно вищим. Це може вказувати на порушення морфо-функціонального стану печінки в індичат за вказаної патології.

Про ураження клітин печінки у хворих на сечокислий діатез індичат вказують результати дослідження активності аланін- (АлАТ) і аспартатамінотрансфераз (АсАТ). Так, у плазмі крові клінічно здорових індичат активність АлАТ становила  $0,31 \pm 0,02$  ммоль/год/л, а АсАТ –  $1,07 \pm 0,17$  ммоль/год/л, тоді як в індичат із симптомами сечокислого діатезу активність АлАТ була в 1,70, а активність АсАТ – у 1,63 рази достовірно вищою. Одержані результати вказують на некроз клітин печінки у хворих на сечокислий діатез індичат, що може бути наслідком гострого чи хронічного гепатиту або жирової дистрофії печінки.

Рівень загального кальцію у плазмі крові клінічно здорових і хворих на сечокислий діатез індичат становив  $2,67 \pm 0,06$  та  $3,06 \pm 0,04$  ммоль/л, відповідно, а неорганічного фосфору –  $1,47 \pm 0,04$  та  $2,27 \pm 0,05$  ммоль/л відповідно. Зниження в 1,35 рази кальцій-фосфорного співвідношення в крові хворих на сечокислий діатез індичат вказує на порушення всмоктування кальцію і фосфору в їх шлунково-кишковому тракті внаслідок розладу процесів травлення.

Рівень сечової кислоти у плазмі крові клінічно здорових індичат становив  $0,26 \pm 0,01$  ммоль/л, тоді як у хворих на сечокислий діатез індичат він був у 1,58 рази достовірно вищим. Зростання вмісту сечової кислоти у плазмі крові птиці (гіперурикемія) спостерігається при підвищеному синтезі її з нуклеїнових кислот. Це має місце при надмірному згодовуванні птиці кормів тваринного походження та обмеженому згодовуванні зелених кормів, при захворюваннях, які супроводжуються посиленням розпадом нуклеопротейдів, а також внаслідок зменшення виділення сечової кислоти із сечею при патології нирок (нефрит, нефроз).

Результати досліджень біохімічних показників крові індичат за екстенсивної технології вирощування вказують на значні порушення метаболізму в організмі птиці, що призводять до розвитку сечокислого діатезу. Це потребує розробки відповідних профілактичних заходів, на що будуть спрямовані наші подальші дослідження.

*Т.О. ТЕРЛЕЦЬКА, В.О. НОГІН, В.Ю. БЕСКОДАРНА, В.С. ВОВЧУК*

**АКТИВНІСТЬ ЛУЖНОЇ ФОСФАТАЗИ  
ПРИ ДЕЯКИХ ЗЛОЯКІСНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ КРОВІ**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса  
[irvov@mail.ru](mailto:irvov@mail.ru)*

**Вступ.** Захворюваність злоякісними новоутвореннями кровотворної та лімфатичної тканини населення складає 14,8 випадки на 100 000 населення серед чоловіків і 11,0 – серед жінок (Коваль, Третяк, 1998; Мамаев, Рябов, 2008). Дослідженнями останніх років доведена перспективність широкого впровадження в клінічну практику визначення онкомаркерів, в тому числі й ферментів, з метою діагностики, оцінки поширеності захворювання, моніторингу хіміотерапевтичного та променевого лікування гемобластозів, що дає змогу вчасно виявляти рецидиви (Атауллаханов, 2000). Проте, в сучасній літературі освітлені лише нечисленні, а іноді суперечливі дані щодо активності лужної фосфатази за гемобластозів. Так, встановлено підвищення активності лужної фосфатази в сироватці крові у хворих на множинну форму мієломи (Dinçol, Naçacı et al., 2002), Т-клітинну форму лімфоми (Ghobrial, Weenig et al., 2005), Ходжкінську лімфому (El-Naggar, Helmy et al., 2008; Nader, Mok et al., 2013), лейкоз (Athanassiadou et al., 2005; Mucha, Pawelec, Matysiak, 2008), гострий лейкоз (Bebeshko et al., 2014), лейкемію (Jamal, 2011).

**Мета роботи** полягала в дослідженні активності лужної фосфатази в сироватці крові хворих з множинною формою мієломи, неходжкінською формою лімфоми, хронічним лімфоїдним лейкозом та гострим лейкозом.

**Методи.** Вміст білка в сироватці крові визначали біуретовим методом. Активність лужної фосфатази визначали за гідролізом фенілфосфата за методом King, Armstrong. Активність ферменту виражали в нмолях фенолу, відщепленого 0,1 мл джерела ферменту за секунду інкубації при 37 °С в перерахуванні на 1 літр сироватки крові.

**Результати.** У хворих з хронічною лімфоїдною лейкемією та мієломою встановлено вірогідне підвищення вмісту загального білка в 1,4 - 2,2 рази відповідно, що може бути пояснено за рахунок підвищення вмісту бета-2-мікроглобуліну, гамаглобулінів та М-парапротеїну. У первинно виявлених хворих на мієлому, неходжкінську форму лімфоми, хронічну лімфоїдну лейкемію, гострий лейкоз активність лужної фосфатази в сироватці крові була в 2,54, 1,16, 1,99 та 2,0 рази вірогідно вище щодо верхнього рівня референсних значень відповідно. Лікування призводить до вірогідного зниження активності лужної фосфатази в 2,2 — 3,7 рази.

**Висновки.**

1. В сироватці крові хворих з множинною формою мієломи та хронічною лімфоїдною лейкемією встановлено гіперпротеїнемію.

2. Наявність мієлопроліферативних процесів супроводжується підвищенням активності лужної фосфатази в сироватці крові хворих на множинну мієлому, неходжкінську форму лімфоми, хронічну лімфоїдну лейкемію та гострий лейкоз.

3. Максимальне підвищення активності лужної фосфатази встановлено в сироватці крові хворих з множинною формою мієломи.

4. Лікування хворих з гемобластомами призводить до вірогідного зменшення в сироватці крові активності лужної фосфатази, показники якої не відрізняються від референсного значення.

*В. В. ВОЙТЕНКО, О. І. СТЕПАНЕЦЬ, І. В. КОМПАНЕЦЬ, О.І. ХАРЧЕНКО, Д.М. ГРЕБІНИК,  
Л.І. ОСТАПЧЕНКО*

## **ВПЛИВ ОЦТОВОКИСЛОГО ЦИНКУ НА АКТИВНІСТЬ ІНТЕРФЕРОН-ЗАЛЕЖНОЇ 2',5'-ОЛІГОАДЕНІЛАТ-СИНТЕТАЗИ У СПЛЕНОЦИТАХ ЩУРІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ АЛКОГОЛЬНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології», Київ  
[vvvoitenko@yahoo.com](mailto:vvvoitenko@yahoo.com)*

**Вступ.** Тривала дія етанолу порушує імунну систему, що проявляється насамперед у порушенні продукції цитокінів та зниженні стійкості до інфекційних та запальних захворювань. Хронічний алкоголізм супроводжується дефіцитом цинку в організмі, тому оцтовокислий цинк розглядають як перспективну сполуку, здатну корегувати стан організму, і зокрема імунітету.

**Метою роботи** було оцінити вплив препарату оцтовокислого цинку на активність інтерферон-індукованого ферменту 2',5'-олігоаденілат-синтетази (2',5'-ОАС) у лімфоцитах селезінки щурів при хронічній алкогольній інтоксикації (ХАІ), викликаний введенням етанолу упродовж 28 діб.

**Методи.** Модель хронічної алкогольної інтоксикації у щурів створювали шляхом введення 40%-го етанолу (2 мл на 100 г маси) раз на добу упродовж 28 діб. Паралельно щурам сумісно з етанолом вводили оцтовокислий цинк, починаючи з 14 доби (у дозі 20 мг на 1 кг маси тварини). Ізольовані клітини селезінки інкубували *in vitro* з циклофероном (індуктор інтерферону (ІФН)  $\alpha$  і  $\gamma$ ). 2',5'-ОАС активність визначали спектрофотометричним методом.

**Результати.** Показано, що введення етанолу призводить до зниження 2',5'-ОАС активності у нестимульованих спленоцитах, що найбільш виражено на 14 добу (на 78% відносно контролю) і найменш – на 28 добу (на 42%). При обробці лімфоцитів циклофероном *in vitro* активність ферменту збільшується відносно такої у нестимульованих клітинах, що максимально проявляється на 28 добу (у 2,4 рази). При цьому індукована циклофероном 2',5'-ОАС активність є меншою порівняно з такою у контрольних тварин. Можливо, що при алкоголізмі пригнічується здатність лімфоцитів до синтезу ІФН або ушкоджується індукована ним система передачі сигналу.

Введення щурам оцтовокислого цинку на тлі дії етанолу змінює на 2',5'-ОАС активність у нестимульованих спленоцитах лише на 21 і 28 добу (зростання у 2,8 і 1,64 рази відносно тварин, що отримували лише етанол), виявляючи тенденцію до нормалізації активності ферменту. 2',5'-ОАС активність в інкубованих з циклофероном клітинах зростала в 2,5 і 2,7 рази на 21 і 28 добу експерименту відносно такої в нестимульованих клітинах.

**Висновки.** При введенні етанолу упродовж 28 діб у спленоцитах щурів знижується активність ІФН-індукованого ферменту 2',5'-ОАС та пригнічується стимуляція її активності у відповідь на індуктор ІФН циклоферон, що найбільш виражено на ранніх термінах введення етанолу. Оцтовокислий цинк збільшує спонтанну та індуковану циклофероном 2',5'-ОАС активність і є найефективнішим при тривалій дії етанолу (упродовж 21 і 28 діб). Ймовірно, цей препарат на тлі ХАІ посилює здатність лімфоцитів селезінки до продукції ІФН у відповідь на індукцію.

С. С. ВОРОНОВА, А. В. БАВОЛ

## **ОПТИМІЗАЦІЯ ЕТАПІВ *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ В УМОВАХ *IN VITRO***

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ  
s.voronova.s@gmail.com*

В останні два десятиліття спостерігається широке використання різноманітних підходів для введення екзогенної ДНК у пшеницю. Один із найбільш поширених способів отримання генетично-модифікованих рослин за використання методу *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації базуються на перенесенні Т-ДНК в культивовані *in vitro* рослинні клітини з наступною регенерацією трансформованих пагонів.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було проведення та оптимізація етапів *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in vitro* м'якої пшениці з використанням штаму AGLO, який містить pBi2E з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази.

У дослідженнях використовували сорт пшениці Подолянка, який характеризується високим морфогенним потенціалом. *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію проводили з використанням векторної конструкції pBi2E, з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази (*pdh*) та *nptII* – ген неоміцинфосфотрансферази II *E. coli* (штам LBA4404).

Одним з перших етапів генетичної трансформації є кокультивування експлантів з агробактерією. У дослідженні нами застосовувалися робочі суспензії агробактерій з різною оптичною щільністю (від 0,1 до 0,8 опт. од.). Найбільш оптимальним виявився варіант з  $OD_{660} = 0,2$  опт. од. Вища концентрація бактерій в середовищі спричиняла появу некротичних плям, а також сповільнення росту та розвитку пагонів.

Значною мірою на вбудовування ДНК впливає тривалість спільного кокультивування калюсів з агробактерією. Оптимальний результат було отримано при спільному кокультивуванні калюсів з агробактерією протягом 3-х діб, після чого  $53,8 \pm 4,65$  % калюсів зберігали морфогенетичний потенціал. Збільшення тривалості експозиції понад 3 доби в подальшому приводило до неконтрольованого розмноження бактерії.

Елімінація агробактерії здійснювали за допомогою антибіотика цефотаксим. Нами показаний позитивний вплив цього антибіотика на морфогенез у культурі апікальних меристем пагонів і зрілих зародків пшениці. Проте зі збільшенням концентрації цефотаксиму в поживному середовищі збільшується негативний вплив на калюсні тканини, а саме на утворення соматичних зародків. Найбільший вихід регенерантів спостерігався при концентрації цефотаксиму 250 мг/л. Нами було отримано 38 стійких калюсних ліній. Всі отримані форми аналізували за допомогою ПЛР, на наявність трансгенів. За результатами аналізу у шести клітинних ліній підтверджено наявність обох трансгенів: *pdh* та *nptII*.

Таким чином, була проведена *Agrobacterium*-опосередкована трансформація морфогенних калюсів м'якої пшениці та оптимізовано умови проведення генетичної трансформації *in vitro*.

## **RAD50 ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ ПРЕДИКТИВНИЙ МАРКЕР ПРОТИПУХЛИННОЇ ТЕРАПІЇ**

<sup>1</sup>*Навчально-науковий центр «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка, Київ  
[Simple\\_respberry@mail.ru](mailto:Simple_respberry@mail.ru)*

<sup>2</sup>*Національний інститут раку МОЗ України, Київ*

<sup>3</sup>*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ*

Пухлинно-асоційовані антигени (ПАА) – протеїни, які розпізнаються імунною системою як чужорідні і є потенційними пухлинними маркерами. Білок RAD50, який входить до складу репараційного комплексу RAD50-NBS1-MRE11, був ідентифікований методом SEREX (serological analysis of tumor antigens by recombinant cDNA expression cloning) як аутоантиген під час скринінгу кДНК-бібліотеки медулярної карциноми молочної залози (МЗ) й охарактеризований як ПАА у широкомасштабному алогенному скринінгу. Нещодавно стало відомо, що мутації в гені *RAD50* призводять до розвитку раку молочної залози (РМЗ), а його інгібування shRNA погіршує репарацію пошкодженої ДНК і підвищує чутливість клітин РМЗ до цисплатину. Оскільки антитіла до антигену RAD50 виявляються не у всіх хворих на РМЗ, ми припустили, що рівень експресії гена *RAD50* може бути різним у пухлинах хворих на РМЗ.

Метою нашої роботи було визначення рівня експресії гена *RAD50* в пухлинах МЗ порівняно з умовно нормальними тканинами МЗ.

Для колекції тканин МЗ у 19 пацієнтів були відібрані зразки 17 злоякісних, 2 доброякісних пухлин та 19 зразків умовно нормальних тканин із супутніми даними. Створено їх реєстр, що включає перелік зразків, повний діагноз та рівень експресії рецепторів. Сумарну РНК із зразків виділяли системою екстракції «miRNA Isolation Kit» (Thermo Scientific - TS), кДНК синтезували з використанням комерційного набору «RevertAid RT Reverse Transcription Kit» (TS). Кількісний ПЛР у режимі реального часу проводили на приладі RealTime CFX 96 (Bio-Rad) з використанням комерційного набору «SYBR® Select Master Mix» (TS). Ефективність кожної ПЛР реакції визначали за допомогою програмного забезпечення RStudio. Обрахунок рівня експресії цільового гена проводили за методами Лівака, Пфаффа,  $\Delta\Delta CT$  методу (BioRad) з модифікаціями.

У результаті роботи виділено фракцію сумарної РНК з 36 зразків та синтезована відповідна кДНК. На цих кДНК проведена кількісна ПЛР для оцінки експресії цільового гена *RAD50* в пухлинах РМЗ. У якості референтних було обрано гени *PUM1* і *ACTB*. У результаті проведених досліджень виявлено гетерогенний рівень експресії гена *RAD50* в пухлинах МЗ, причому в 10 із 13 зразків він був переважно знижений в порівнянні з оточуючою нормальною тканиною МЗ. Гетерогенний рівень експресії гена *RAD50* в пухлинах МЗ може бути однією із причин різної чутливості хворих на РМЗ до дії цисплатину. Відповідно, RAD50 може розглядатися як потенційний предиктивний маркер ефективності протипухлинної терапії хворих на РМЗ, що потребує детального вивчення його експресії, в тому числі на білковому рівні з використанням більшої кількості зразків.

*Ю.В. ГОЛОТА<sup>1</sup>, Н.В. ДЗЮБЕНКО<sup>1</sup>, А.М. ОСТАПЧУК<sup>2</sup>, А.В. ПУТНІКОВ<sup>1</sup>,  
Т.М. СЕРГІЙЧУК<sup>1</sup>; Г.М. ТОЛСТАНОВА<sup>1</sup>*

## **ЗМІНИ СПЕКТРУ КОРОТКОЛАНЦЮГОВИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА ЕКСПРЕСІЇ РЕЦЕПТОРІВ В ТОВСТІЙ КИШЦІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ЦЕФТРІАКСОНУ**

*<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ  
juliagolota@gmail.com*

*<sup>2</sup>Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного, Київ*

**Вступ.** В останні роки набуває актуальності вивчення процесів обміну низькомолекулярними метаболітами між індигенною мікробіотою і макроорганізмом. Коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК) є одними з найважливіших метаболітів кишкової мікрофлори. Дослідження спектру та кількісних показників вмісту КЛЖК у фекальному біоптаті та процесів всмоктування колоноцитами може стати основою для розробки принципово нових підходів оцінки стану мікробіоценозу та участі її метаболітів у забезпеченні локальних і системних функцій макроорганізму. Тому метою роботи було дослідити спектр та профіль КЛЖК фекального біоптату лабораторних щурів, а також рівень експресії та розподілу рецепторів до КЛЖК після 14-ти добового введення антибіотику цефтріаксону (Цф).

**Методи.** Дослідження проведені на щурах-самцях лінії Вістар (n=6, 180-230 г). Цефтріаксон (300 мг/кг, в.м.) вводили щоденно впродовж 14 днів. Аналіз спектру КЛЖК здійснювали на газовому хроматографі з масс-детектором. Рівень експресії та розподіл рецепторів до КЛЖК оцінювали імуногістохімічно з антитілами Rabbit FFA2 та FFA3.

**Результати.** Після введення Цф абсолютний вміст КЛЖК ( $\Sigma(C_2-C_6)$ ) знижувався в 7,8 разів ( $p<0.05$ ), що є свідченням зміни активності кишкової мікробіоти. Різко знижувалась абсолютна кількість масляної в 25,3, пропіонової в 2,4 та оцтової в 2,8 разів ( $p<0.05$ ). Аналіз профілю  $C_2-C_4$  кислот, які складають основний внесок у загальний пул КЛЖК показав превалювання відносного вмісту оцтової кислоти при зниженні частки пропіонової та масляної кислот після введення Цф, що свідчить про пригнічення активності анаеробної цукролітичної ланки мікробіоти. Це було підтверджено зниженням в 5,9 разів значення анаеробного індексу.

Введення Цф зменшувало в 2 рази кількість FFA2 та FFA3 рецепторів до КЛЖК, які локалізовані на поверхні епітеліоцитів крипт слизової оболонки товстої кишки.

**Висновки.** Встановлено, що введення Цф призводить до порушення кількісного складу та співвідношення КЛЖК у фекальному біоптаті товстої кишки щурів, що асоціювалось зі зниженням кількості рецепторів до КЛЖК в слизовій оболонці товстої кишки.

О.М. ГОНЧАРУК, А.В. БАВОЛ

## ОПТИМІЗАЦІЯ *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ *IN PLANTA*

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України*  
*eskunder@mail.ru*

**Вступ.** Рослини пшениці, стійкі до стресових факторів довкілля, все частіше отримують за допомогою біотехнологічних методів, зокрема генетичної інженерії. Для генетичного поліпшення культурних рослин розглядаються можливості використання генів, які контролюють рівень сумісних осмолітів, зокрема метаболізм проліну. У ряді випадків доведена кореляція між вмістом вільного проліну і підвищенням рівня стійкості трансгенних рослин. *Agrobacterium*-опосередкована трансформація *in planta* - сучасний та перспективний метод генетичної інженерії, який не потребує складного обладнання, характеризується простотою методик та високою ефективністю. Проте пшениця, як і інші представники родини злакових, залишається складною культурою для проведення *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації, тому розробка ефективної методики генетичної модифікації даної культури є актуальною проблемою.

**Методи.** У дослідженнях використовувався сучасний сорт пшениці Зимоярка. *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію проводили з використанням штаму AGLO та бінарної векторної конструкції, яка містить: селективний ген *nptII* – ген неоміцинофосфотрансферази II *E. coli* та цільовий ген орнітинамінотрансферази *Medicago truncatula*. Суспензія *A. tumefaciens* з оптичною щільністю 0,4 опт. од. містила 200  $\mu$ M ацетосерінгону, її наносили на попередньо закастровані суцвіття. Вивчали вплив різних інокуляційних середовищ: дистильована вода, рідке MS (Мурасіге та Скуга) з сахарозою та без неї, на зав'язуваність насіння та вбудовування екзогенної ДНК та отримання трансгенних форм.

**Результати.** Найкращий результат спостерігався при використанні в якості інокуляційного середовища рідкого MS без сахарози: 37,9% квіток утворили насіння. В наших дослідженнях зав'язуваність насіння у варіанті з додаванням сахарози була достовірно нижчою, а більшість отриманих колосків були з ознаками грибного зараження. Отримане насіння більш щупле, ніж у варіанті без сахарози та контролі. На наш погляд, отриманий результат можна пояснити тим, що сахароза є хорошим субстратом для розвитку сапрофітної мікрофлори, що заважає нормальному процесу запилення/запліднення.

Загалом за трансформації *in planta* нами було отримано 411 насінини  $T_0$ . Все отримане насіння пророщували на селективному середовищі та добирали канаміцин-стійкі форми. Всього одержали 11 рослин, стійких до канаміцину, які вирощували у вегетаційних посудинах об'ємом 0,2 л. По мірі росту їх пересаджували у більші вегетаційні посудини та вирощували до фази повної стиглості зерна. В подальшому насіння  $T_1$  аналізували методом ПЛР.

**Висновки.** Таким чином нами проведена *Agrobacterium*-опосередкована трансформація *in planta* м'якої пшениці сорту Зимоярка з використанням штаму AGLO, який містить плазмідну рВі-ОАТ з геном орнітинамінотрансферази. За використання ПЛР аналізу у насінневому поколінні  $T_1$  виявлено 7 зразків, в яких встановлено наявність двох трангенів – *nptII* та *OAT*. Частота трансформації з повним вбудовуванням генетичної конструкції складає 5,43 %. Аналіз даних зразків на присутність гена вірулентності (*Vir C*) дав змогу виключити бактеріальну контамінацію рослинного матеріалу.

*I. HORAK<sup>1</sup>, G. PASICHNYK<sup>1</sup>, D. GERASHCHENKO<sup>1</sup>, D. PETUKHOV<sup>1</sup>, N. SHABAS<sup>2</sup>,  
L. DROBOT<sup>1</sup>, L. KNOPFOVA<sup>3</sup>, L. BORSIG<sup>4</sup>*

## **FUNCTIONAL PROPERTIES OF MOUSE 4T1 BREAST ADENOCARCINOMA CELLS DEPEND ON ADAPTER PROTEIN RUK/CIN85 EXPRESSION LEVEL**

<sup>1</sup>*Palladin Institute of Biochemistry, NASU, Kyiv, Ukraine;  
[iryna.horak@gmail.com](mailto:iryna.horak@gmail.com)*

<sup>2</sup>*Kyiv National Taras Shevchenko University, Kyiv, Ukraine;*

<sup>3</sup>*Masaryk University, Brno, Czech Republic;*

<sup>4</sup>*University of Zurich, Zurich, Switzerland;*

**Introduction.** Adapters are known as multidomain proteins which coordinate supramolecular complexes assemblage. One of adapter proteins called Ruk/CIN85 was demonstrated to be involved in essential cell processes such as proliferation, migration, intracellular signalling. Previously, it was found that overexpression of Ruk/CIN85 human MCF-7 breast adenocarcinoma accompanied by reduction in proliferative potential, increasing resistance to anticancer drugs, migration potential, ongoing activation of specific signaling pathways. The syngeneic murine model originated from mouse 4T1 breast adenocarcinoma was used in order to study the role of Ruk/CIN85 in cancerogenesis *in vivo*.

**The aim** of our study was to investigate the effect of different levels of Ruk/CIN85 expression on cell proliferative potential and their migratory and invasive properties.

**Methods.** For generation Ruk/CIN85-overexpressing sublines 4T1 cells were transfected with pRc/CMV-Ruk1 plasmid. Ruk/CIN85 expression was suppressed with lentiviral construction pLKO.1-shRuk/CIN85 R22. Transfection/infection was followed by selection with specific drugs G418 and puromycin. Expression level of Ruk/CIN85 was determined both with Western blot analysis and quantitative PCR. Proliferative potential was evaluated by direct cell counting with trypan blue and MTT test. The level of cytokine CCL-2 expression was measured using quantitative PCR, and the activation level transcription factor NF- $\kappa$ B was assessed by the number of phosphorylated form of p65 using Western blot. For cell migration evaluation *in vitro* scratch wound healing assay was used. Invasiveness of received sublines was assessed by effectiveness of migration through Matrigel layer or endothelial cells layer in the modified Boyden chamber.

**Results.** At first, we generated sublines of 4T1 cells with different Ruk/CIN85 expression levels. Cells with Ruk/CIN85 overexpression were demonstrated to proliferate faster than control cells and Ruk/CIN85 suppression led to increasing in cell proliferation. Also positive correlation between level of Ruk/CIN85 expression and migration and invasion properties was established.

**Conclusions.** These data suggest that adapter protein Ruk/CIN85 is involved in regulation of physiological activities of tumor cells such as proliferation, invasion and migration.

О. В. ГОРБУЛІНСЬКА<sup>1</sup>, М. Р. ХОХЛА<sup>1</sup>, Л. Т. МІЩЕНКО<sup>2</sup>, Н. О. СИБІРНА<sup>1</sup>

## **ВПЛИВ ВОДНИХ ЕКСТРАКТІВ ЯКОНА НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОНУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів  
[Aleksaa82@gmail.com](mailto:Aleksaa82@gmail.com)

<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

Якон (*Smallanthus Sonchifolius* Poepp. & Endl.) – лікарська рослина, яка володіє вираженими цукрознижуючими властивостями. В основі гіпоглікемічної дії цієї рослини можуть лежати кілька механізмів, серед яких, зниження кишкової абсорбції глюкози, посилення вивільнення інсуліну шляхом стимулювання  $\beta$ -клітин підшлункової залози, збільшення числа і чутливості інсулінових рецепторів і відповідне збільшення споживання глюкози тканинами та органами. Біологічно активні речовини якона можуть впливати на гормони, що визначають швидкість вивільнення та деградації глікогену.

З огляду на недостатню вивченість впливу екстрактів якона на структурно-функціональний стан системи периферичної крові, яка значно ушкоджуються при діабеті, метою нашої роботи було дослідження впливу якона на окремі показники функціонального стану еритрону за умов цукрового діабету 1-го типу.

Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) індукували внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину в дозі 5,5 мг на 100 г маси тіла тварини. Для дослідження використовували листя та кореневі бульби якона, з яких виготовляли водні екстракти. Водний розчин випарених екстрактів якона продовж 14 днів вводили тваринам *per os* у дозі 500 мг/кг маси тіла тварини.

Нами було підтверджено виражений гіпоглікемічний ефект водних екстрактів якона на моделі ЕЦД. Так при застосуванні екстрактів листя та коренів рівень глюкози знижувався відповідно на 61,44 % та 70,41 %, щодо діабету. Така нормалізація рівня глюкози супроводжувалося зниження вмісту HbA1c на 13 % при застосування обох видів екстракту.

Введення екстрактів листя та коренів якона не впливало на кількість еритроцитів проте зумовлювало підвищення вмісту загального гемоглобіну відповідно на 26,24 % та 24,10 % у здорових тварин та на 20,04 % і 23,09 % у діабетичних тварин.

Розвиток ЕЦД супроводжується зростанням кількості та добової продукції ретикулоцитів на 120,84 % і 110,00 % відповідно. Застосування екстрактів якона нормалізувало досліджувані показники, при цьому більш ефективним виявився екстракт коренів при введенні якого кількість та добова продукція ретикулоцитів знижувалася відповідно на 26,83 % та 21,74 %, тоді як екстракт листя зумовлював зміни досліджуваних показників на 10,62 % та 13,85 %.

Водних екстракти якона володіють вираженим гіпоглікемічним ефектом, а також нормалізують параметри, які характеризують інтенсивність продукування та дозрівання клітин системи еритрону.

**ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КЛІТИННИХ ЛІПІДІВ НАФТО-ОКИСНЮВАЛЬНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ВИДІЛЕНИХ ІЗ ҐРУНТУ О. ЗМІЙНИЙ**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса  
tgudzenko@ukr.net*

**Вступ.** Пошук мікроорганізмів, здатних окиснювати нафту та нафтопродукти, є актуальним завданням екобіотехнології. Увагу фахівців привертають екологічно безпечні поверхнево-активні біопрепарати на основі мікроорганізмів, що володіють поліфункціональною дією.

**Мета.** Ідентифікація до роду штаму нафтоокиснювальних бактерій за жирно-кислотним складом ліпідів. Об'єкт дослідження – штам бактерій 2<sub>2</sub>, виділений у 2013 році із нафтозабрудненого ґрунту о. Зміїний.

**Методи.** Жирнокислотний аналіз проведено на газовому хроматографі Agilent Technologies 7890 (USA) з використанням автоматичної системи ідентифікації MIDI Sherlock.

**Результати.** Аналіз хроматограми показав, що домінантними в жирнокислотному профілі (ЖКП) бактеріального штаму 2<sub>2</sub> були ізомери насичених жирних кислот (ЖК) (56,6 %), із яких 16,9 % і 23,3 % припадало на ізомери C<sub>13:0</sub> і C<sub>15:0</sub>. Сумарний вміст ізомерів насичених ЖК з непарною кількістю атомів вуглецю у вуглеводневому радикалі (43,3 %) в 3,25 рази перевищував сумарний вміст ізомерів насичених ЖК з парною кількістю атомів вуглецю у вуглеводневому радикалі (13,3%). Серед ЖК нормальної будови виявлені ЖК з парною кількістю атомів вуглецю у вуглеводневому радикалі: лауринова C<sub>12:0</sub>, міристинова C<sub>14:0</sub> та пальмітинова C<sub>16:0</sub> кислоти у кількості 1,1 %, 6,6 % і 2,6 % відповідно. Частка ω кислот C<sub>13:0</sub> anteiso та C<sub>15:0</sub> anteiso від загальної площі піків складала 3,1 та 5,2 %. Спостережено в ЖКП загальних ліпідів приблизно 18 % довголанцюгових ненасичених ЖК. Доля пальмітолеїнової (гексадеценної) кислоти з ненасиченим зв'язком між 6 і 7 атомами вуглецю C<sub>16:1</sub> w6c / C<sub>16:1</sub> w7c складала 13,3 %, а доля ізомерів ненасичених жирних кислот C<sub>17:1</sub> iso з ненасиченим зв'язком біля 5 і 10 атомів вуглецю – 2,9 і 1,6 % відповідно. При сумарному вмісті насичених ЖК 75,2 % у складі клітинних ліпідів досліджуваного штаму 2<sub>2</sub> їх перебільшення по відношенню до ненасичених ЖК (17,8 %) є досить помітним. Коефіцієнт насиченості (K<sub>насих</sub>), розрахований за співвідношенням загальних кількостей насичених ЖК до ненасичених ЖК, дорівнює 4,2. Характерною особливістю є те, що при однаковій кількості атомів вуглецю у вуглеводневого радикалу (C<sub>16</sub>) сумарна доля насичених ЖК C<sub>16:0</sub> (2,6 %) і C<sub>16:0</sub> iso (4,8 %) в 1,78 рази менше за долю ненасичених ЖК C<sub>16:1</sub> w6c / C<sub>16:1</sub> w7c (13,3 %). На хроматограмі в дуже малій кількості було зареєстровано гідрокси кислоту C<sub>15:0</sub> 2OH (ω = 0,6 %) та фрагмент гідрокси кислоти C<sub>14:0</sub> 3OH, ω(C<sub>14:0</sub> 3OH / C<sub>16:1</sub> iso I) = 3,3 %.

**Висновок.** За жирнокислотним складом, розшифрованим з використанням бібліотечної бази даних Library RTSBA6 6.21 програмою Version 6.2, штам 2<sub>2</sub> був ідентифікований до роду як *Bacillus sp.* 2<sub>2</sub>. В лабораторних умовах підтверджено його нафтоокиснювальну активність, антибіотикорезистентність до антибіотичних препаратів різної хімічної будови та здатність продукувати позаклітинні біологічно-активні речовини на поживному середовищі М-9, що відкриває можливості його використання в біотехнології очистки навколишнього середовища від нафтових забруднень.

*Ю.В. ГОСТЄВА, М.М. МОРОЗ, А.О. СТЬОПИНА, І.В. ХАРЧЕНКО, О.В. ШЕЛЮК,  
В.М. СОБКО, В.С. МАРТИНЮК*

## **ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ НА ВІЛЬНО РАДИКАЛЬНЕ ПОШКОДЖЕННЯ ЛІПІДІВ І БІЛКІВ В КРОВІ ЩУРІВ В УМОВАХ ЇЇ ЗБЕРІГАННЯ**

*ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету  
імені Тараса Шевченка, Київ  
[juliaklai@i.ua](mailto:juliaklai@i.ua)*

**Актуальність.** В організмі тварин у результаті окисно-відновних реакцій постійно проходить генерація активних форм кисню, які викликають окисну модифікацію внутрішньоклітинних біополімерів. Перспективним матеріалом для застосування у медицині і в біології є нанокристалічний діоксид церію. Це визначається, в першу чергу, його низькою токсичністю. На сьогодні ми маємо обмежену кількість інформації стосовно впливу наночастинок церію на цільну кров, час її зберігання, підтримання фізико-хімічних властивостей. Тому дослідження впливу НДЦ на вільно радикальне пошкодження ліпідів і білків у крові щурів в умовах її тривалого зберігання є актуальними.

**Матеріали і методи.** В експериментах використовували цільну кров, забір якої проводили з додаванням 3,8 % цитрату натрію (кінцеве розведення цитрат натрію : цільна кров = 1:9). Отриману кров було поділено на три частини: перша – контрольна, до якої добавляли фізіологічний розчин; друга частина, до якої додавали стабілізуючий розчин (цитрат амонію, кінцева концентрація  $10^{-3}$  М), що використовується для попередження коагуляції наночастинок діоксиду церію; третя – кров з додаванням суспензії діоксиду церію (кінцева концентрація  $10^{-3}$  М (за  $\text{Ce}_2\text{O}_3$ ) зі стабілізатором  $10^{-3}$ М). Досліджували окремо показники вільнорадикального окиснення білків і ліпідів в плазмі крові і в еритроцитах. Для цього проводили розділення плазми і клітинної фракції крові шляхом центрифугування при 3000 об/хв. протягом 5 хв. У такому вигляді кров зберігали в холодильнику при 4°C протягом 10 діб. Реєстрацію спектрів поглинання гептанових екстрактів проводили на спектрофотометрі SHIMADZU «BioSpec-mini» в діапазоні 190-400 нм. Первинні продукти перекисного окиснення (гідроперекисні та гідроксипохідні дієнових, триєнових і тетраєнових кон'югатів) аналізували в діапазоні 219-254 нм. Альдегідо- і кетопохідні амінокислотних залишків білків реєстрували спектрофотометричним методом на СФ-26 при довжині хвилі 370 нм та 430 нм відповідно.

**Результати.** Показано, що процеси окиснення в крові відбуваються в автоколивальному режимі, що призводить до періодичного збільшення кількості первинних продуктів перекисного окиснення як ліпідів, так і білків з подальшим зниженням. У процесі зберігання крові відбувається поступове зменшення вмісту альдегідних похідних у складі білків як плазми крові, так і білків еритроцитів. Водночас із цим, кетонові похідні суттєво знижуються тільки у зразках крові з нанокompatитним діоксидом церію. Цитрат амонію сприяє активації перекисного окиснення ліпідів і білків в цільній крові в перші години експерименту, однак під час подальшого зберігання крові суттєво не впливає на вміст первинних продуктів вільнорадикального окиснення. Активація вільнорадикального окиснення ліпідів еритроцитів наночастинами діоксиду церію має фазний характер. Найбільший вміст первинних продуктів ПОЛ спостерігається в еритроцитах і плазмі крові на 4 день зберігання.

**mTOR-REGULATED CANCER CELL MOTILITY *IN VITRO* UNDER DIRECT AND INDIRECT PARACRINE INFLUENCE OF FIBROBLASTS**

*Institute of Molecular Biology and Genetics, NASU, Kyiv  
[nazariy.gotsulyak@gmail.com](mailto:nazariy.gotsulyak@gmail.com)*

**Introduction.** Fibroblasts are known as the dominant cell type in tumor microenvironment and as the key players in regulation of tumorigenesis and development. This regulation can be both tumor-promoting and tumor-inhibiting that is provided by great fibroblasts population heterogeneity and intercellular interactions diversity (Öhlund D., 2014). The main purpose of this study is to evaluate and to compare the paracrine direct and indirect influence of fibroblasts on mTOR-associated cancer cells motility as one of the mechanisms of such regulation.

**Methods.** mTOR and S6K phosphorylation status was observed using immunoblotting of HeLa cells cultivated in 20% NIH 3T3 conditioned medium during 24, 48 and 72 hours. HeLa cells migration activity was measured by application of scratch test assay. Indirect fibroblasts influence was achieved using its 20% conditioned medium and direct interaction – by both cell types co-cultivation. Direct paracrine interactions between cancer cells and fibroblasts were maintained by applying our own original co-cultivation technique which almost excludes its physical contacts.

**Results.** It is founded that NIH 3T3 fibroblasts paracrine influence leads to phosphorylation status increasing of the central mTOR-signaling pathway components in HeLa cells: mTOR kinase by Ser-2448, p85-S6K1 by Thr-389, p70-S6K1 by Thr-389 and Ser-371; and also FAK kinase by Tyr-925 as one of the migration activity molecular marker. This effect correlates with conditioned medium depletion and phosphorylation status of these molecules returns to normal level during 48-72 hours of the influence. HeLa cells migration activity under indirect influence of fibroblast is significantly decreased that is similar to the effect of treating 10 nM rapamycin or combination of these factors. The substantial difference between direct and indirect migration decreasing effects of fibroblasts was not revealed. Interestingly that the strongest decrease of HeLa cells migration activity was observed under conditions of direct intercellular interaction when both cell types were treated by 10 nM rapamycin.

**Conclusion.** Fibroblasts paracrine influence decreases mTOR-associated epithelial cancer cell migration activity both directly and indirectly. The inhibitory effect was more prominent in case of cancer cell-fibroblast co-culture when both types of cells were under the influence of specific mTOR inhibitor.

**ВПЛИВ ШТАМІВ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ІЗ РІЗНИМИ СИМБІОТИЧНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ НА ГІБЕРЕЛІНОВИЙ СТАТУС СОЇ**

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ*  
*shuminkago@gmail.com*

Фітогормональні сполуки беруть участь у регуляції, формуванні та функціонуванні симбіотичних систем рослина-господар-ризобії. Однак питання того, яким саме чином гормональні речовини, зокрема гібереліни, задіяні як у регуляції процесів нодуляції, так і азотфіксації, ще недостатньо вивчена. Тому метою нашої роботи було дослідження гіберелінового статусу сої за інокуляції штамми та Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* із різними симбіотичними характеристиками та виявлення зв'язку між симбіотичними властивостями штамів-інокулянтів і вмістом гіберелінів у коренях та кореневих бульбочках сої.

У ході досліджень було показано, що на початкових етапах формування бобово-ризобіального симбіозу рівень гормонів гіберелінової природи в коренях зростає у всіх бактеризованих рослинах, порівняно з контролем, що може свідчити про специфічну відповідь сої на бактеризацію або про вагомий внесок бактерій у біосинтез даних гормонів. Надалі у процесі онтогенезу рослин відзначали збільшення пулу гіберелінів у коренях у дослідних варіантах. Залежності між вмістом гіберелінів у коренях та активністю штамів не виявлено.

Водночас було встановлено, що у фазу двох трійчастих листків вищий вміст гіберелінів у кореневих бульбочках був у варіантах із застосуванням високоактивних високовірулентних штамів і Tn5-мутантів *B. japonicum*. У наступну фазу високий рівень даних фітогормонів відмічено у варіантах із застосуванням високовірулентних малоактивного мутанту 113 та неактивного штаму 604к. Можна припустити, що зменшення пулу гіберелінів у даний період може зумовлювати підвищення азотфіксувальної активності, оскільки у рослин, бактеризованих високоактивними штамми, відбувається доволі різке (приблизно у 2 рази) зниження вмісту даних гормонів у бульбочках, тоді як у випадку застосування малоактивного Tn5-мутанту 113 цей рівень майже не змінювався у порівнянні з попереднім відбором, а у випадку неактивного штаму 604к, навпаки, спостерігали збільшення рівня гормонів цього класу. Можна відмітити подібну тенденцію у зміні вмісту пулу гормонів гіберелінової природи у варіантах із застосуванням високоактивного, проте середньовірулентного Tn5-мутанту 9-1 і малоактивного, проте високовірулентного мутанту 113, що слугує підтвердженням зв'язку вмісту гіберелінів у бульбочках досліджуваних рослин із симбіотичними властивостями штаму-інокулянта.

Таким чином, показано, що динаміка вмісту гіберелінів у бульбочках сої пов'язана із симбіотичними характеристиками (як вірулентністю, так і азотфіксувальною активністю одночасно) штаму-інокулянта, що відкриває нові можливості для більш повного розуміння механізмів регуляторного впливу фітогормонів гіберелінової природи на формування та функціонування симбіотичної системи.

## ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ЛІЗОЦИМУ З БІЛКА КУРЯЧОГО ЯЙЦЯ

<sup>1</sup> Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України,  
[s.dekina@gmail.com](mailto:s.dekina@gmail.com)

<sup>2</sup> Одеський національний політехнічний університет, Одеса.

**Вступ.** У цьому дослідженні увага зосереджена на виділенні лізоциму – одного з найбільш широко застосовуваних ензимів у різних областях хімії, біохімії, біоорганічної хімії, у фармацевтичній промисловості, біотехнології, медицині і т.д. Існуючі численні методи виділення лізоциму з білка курячих яєць (лізоцим с), а саме: хроматографічні, ультрафільтрація, поділ за допомогою звернених міцел, в двофазних системах, магнітне розділення, металлофінне осадження, адсорбція на рослинних відходах та ін., мають низку недоліків, серед яких тривалість стадій, висока вартість, значне розведення яєчного білка, що обмежує їх застосування. Метою дослідження була розробка доступного і економічного методу виділення лізоциму з білка курячого яйця.

**Методи.** У роботі використовували курячі яйця, як субстрат клітини *Micrococcus lysodeikticus* (штам 2665) (Sigma-Aldrich Co. (USA)). Як стандартний зразок використовували лізоцим білка курячого яйця (Sigma-Aldrich Co. (USA)).

За одиницю гідролітичної активності лізоциму приймали кількість ензиму, що знижує оптичну щільність суспензії клітин *Micrococcus lysodeikticus* за 1 хв на 0,001 при 25 °С. Отриманий ензим аналізували методами MALDI та електрофорезу в 10% ПААГ.

**Результати.** Розроблений метод виділення лізоциму полягає в диференційній денатурації білків шляхом нагрівання зі зміною рН середовища та з наступною нейтралізацією СаСО<sub>3</sub>. Надосадову рідину, що містить лізоцим, відокремлюють центрифугуванням (4000g, 20 хв, 4 °С), піддають 3-кратному діалізу проти 50 об'ємів дистильованої води при 4 °С. На кожній стадії виділення контролюється білок і гідролітична активність ензиму. Отриманий розчин концентрують шляхом зворотнього діалізу сухим крохмалем і піддають гель-хроматографії на дрібнозернистому Sephadex G50. В отриманих фракціях визначають білок і гідролітичну активність. Виділений фермент піддають повторному зворотньому діалізу крохмалем, в результаті якого отримують безбарвні прозорі пластинчасті кристали лізоциму. Зберігають герметично упакованими при -24 °С.

В результаті виділення отриманий препарат лізоциму з гідролітичною активністю 20150 ± 1500 од/мг, 95 % вмістом білка. Методами MALDI та електрофорезу в 10% ПААГ показано, що у виділеному препараті міститься один протеїн з М.м. 14,2 кДа, що відповідає еталонному лізоциму.

Оптимум спостережуваних експериментальних значень рН і температури виділеного та комерційного препаратів ензиму збігаються і становлять 6,2 і 55 °С, відповідно. Загальний вихід продукту при цьому становить 2,8 %, тоді як вміст лізоциму в білку курячого яйця, згідно з даними літератури ≈ 7%.

**Висновки.** Розроблений метод виділення лізоциму відрізняється економічністю і доступністю і дозволяє отримувати високоочищений препарат лізоциму.

*І.О. СОРОКА, І.Я. ДЕМКІВ, О.В. ЧИХИРА, Н.Є. ЛІСНИЧУК*

## **ФАКТОР АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ – ЕФЕКТИВНИЙ ПОКАЗНИК ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО ЕНДОТОКСИКОЗУ**

*Центральна науково-дослідна лабораторія, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»  
[duduchka@ukr.net](mailto:duduchka@ukr.net)*

**Вступ.** Хронічний ендотоксикоз (ЕТ) неспецифічний по більшості клініко-біохімічних проявів синдром невідповідності між утворенням і виведенням як продуктів нормального обміну, так і речовин порушеного метаболізму. Ступінь важкості ЕТ визначається з одного боку швидкістю утворення ініціаторів переокиснення – вільних радикалів, а з іншого – функціональним станом антиоксидантної системи (АОС). Нейротоксичність є одним з найбільш патогенетично несприятливих факторів хронічного ендотоксикозу. Негативно впливають на функціональний стан центральної нервової системи токсичні продукти вільнорадикального окиснення, частина яких здатна проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Для оцінки балансу між про- та антиоксидантними процесами в корі головного мозку за умов впливу на нього патологічних чинників застосовується фактор антиоксидантного захисту (Ф-АОЗ). Цей показник дає можливість оцінити ступінь інтенсивності утворення ТБК-активних продуктів та функціональну спроможність ферментної ланки антиоксидантної системи.

З огляду на вищенаведене метою даного експериментального дослідження стало визначення Ф-АОЗ в тканині кори головного мозку в умовах хронічної ендотоксемії.

**Методи.** Дослідження виконане на 60 статевозрілих нелінійних білих щурах масою  $(180 \pm 5)$  грам. Піддослідні тварини були розділені на групи: інтактна – 20 голів; тварин із змодельованим ендотоксикозом – 40 голів. Хронічний ендотоксикоз моделювали згідно (Новочадов В.В., 2005). У гомогенаті кори головного мозку визначали концентрацію малонового діальдегіду (МДА) (Владимиров Ю.А., 1972), а також активність каталази (КТ) (Корольок М.А., 1988), супероксиддисмутази (СОД) (Чевари С., 1985), фактор антиоксидантного захисту (Ф-АОЗ) (Чевари С., 1991).

**Результати.** Змодельований хронічний ендотоксикоз призводить до підвищення концентрації МДА у гомогенаті кори головного мозку на 67,5 % порівняно з аналогічним показником у групі контрольних тварин. Активність СОД у гомогенаті кори головного мозку за умов хронічного ЕТ знижувалась відносно аналогічного показника у контролі на 16,8 %. Також, спостерігалось достовірне зниження активності КТ у гомогенаті кори головного мозку (на 39,0 %) по відношенню до аналогічного показника у контрольній групі тварин. Обчислений нами фактор АОЗ наглядно і кількісно відображає зниження здатності антиоксидантної системи організму піддослідних тварин функціонувати при змодельованому патологічному процесі. У групі тварин, яким вводили  $\text{CCl}_4$  та LPS, Ф-АОЗ у тканині кори головного мозку був меншим за контрольний показник на 68,1 %.

**Висновки.** Встановлено, що в умовах змодельованого хронічного ендотоксикозу відбувається порушення фізіологічного балансу між процесами вільнорадикального окиснення та функціонуванням ферментативної ланки антиоксидантної системи із зсувом в сторону посиленого накопичення токсичних і потенційно небезпечних продуктів перекисного окиснення.

*О. М. ДРОЗДОВСЬКА, Т.С. ЧЕКАЛЬОВА, С. С. ЧЕРНАДЧУК, А. О. РУСТАМОВА*

## **СТАН ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ**

*Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Одеса  
[chuk32@yandex.ru](mailto:chuk32@yandex.ru), [tanyachekaliova@ukr.net](mailto:tanyachekaliova@ukr.net)*

**Вступ.** Характерним проявом окисного стресу, який виникає при залізодефіцитній анемії (ЗДА), є інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів, індикатором якого служить збільшення вмісту хоча б одного з його продуктів. Метою даного дослідження було вивчення вмісту ДК, ШО та МДА (дієнових кон'югатів, основ Шиффа та малонового діальдегіду) в різних органах щурів при анемії.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на безпородних статевозрілих щурах-самцях масою 150-200 г, вирощених в умовах віварію. Анемію викликали крововтратою з кінчика хвоста в кількості 7-15 % крові від загального обсягу, або 0,5-1 % від загальної маси досліджуваної тварини.

**Результати та їх обговорення.** На першому етапі досліджень, був проведений аналіз вмісту деяких продуктів перекисного окиснення ліпідів в тканинах печінки, серця, мозку та нирок контрольної групи щурів. В результаті було виявлено наступне: максимальний вміст ДК, ШО, МДА спостерігали в печінці, ( $3,05 \pm 0,2$  од/мг ліпідів;  $4,31 \pm 0,3$  од/мг ліпідів;  $240,38 \pm 21,1$  нмоль/г відповідно), мінімальний – в тканинах серця.

Вміст ДК, ШО та МДА в тканинах щурів з анемією вивчали в динаміці патології. Так, вміст ДК, в дослідних тканинах, на 3-ій день перебігу ЗДА, збільшився: в серці та печінці – на 325 %, в нирках – на 157 %, в мозку – на 269 %. На 21 день перебігу анемії вміст ДК в мозку залишався більшим на 43 % по відношенню до контролю, в нирках – на 31 %; печінці – на 105 %, в серці – на 40 %.

Вміст ШО на 7-ий та 14-тий день перебігу ЗДА збільшився в тканинах нирок та мозку на 28 %, в тканинах печінки – на 33 %, в тканинах серця – на 36 %. Подальший перебіг ЗДА характеризувався відновленням показників до значень контрольної групи щурів.

Вивчення вмісту ТБК-реактивних показало, що на 3-ій день перебігу ЗДА, вміст МДА змінювався різнопланово. На 7-ий та 14-ий день перебігу ЗДА ми спостерігали збільшення вмісту МДА в тканинах серця в середньому на 301 %, в нирках – на 91 %, в печінці – на 212 %, в мозку – на 270 %.

Отримані дані свідчать, що анемія супроводжується комплексом біохімічних порушень на клітинному та субклітинному рівні.

*A.S. DUBOVETSKYI*

**ONE STEP PURIFICATION METHOD OF FIBRINOGEN  $\alpha$ C-REGION FRAGMENTS  
TO USE THEM FOR THE LOCALIZATION OF FIBRIN POLYMERIZATION SITES IN  
FIBRIN  $\alpha$ C-REGION**

*Palladin Institute of Biochemistry, NASU, Kyiv  
[dubovetskiy@i.ua](mailto:dubovetskiy@i.ua)*

Earlier we obtained two monoclonal antibodies (mAbs) against fibrinogen  $\alpha$ C-region which proved to inhibit specifically fibrin polymerization (Pozniak, 2012). We suggested that this inhibition is realized by blocking their epitopes coinciding with fibrin polymerization sites in  $\alpha$ C-region. Immunoblot showed that these mAbs reacted with two products of fibrinogen hydrolysis by plasmin with molecular mass of 10 kDa and 24 kDa. The aim of the work was to develop a new isolation method of 10 kDa and 24 kDa fragments of  $\alpha$ C-region for localization of epitopes of two mAbs.

Fibrinogen was obtained from fresh human plasma according to (Varetskaya, 1960) using our modifications. The purified fibrinogen was diluted in 0.05 M Tris-HCl, pH 7.4 containing 0.2 M NaCl, the final fibrinogen concentration was 10 mg/ml. Plasmin in concentration of 0.03 CU per mg of fibrinogen was added. Incubation was carried out at 37° C for 30 minutes. Then  $\epsilon$ -aminocaproic acid in final concentration 0.1 M and Contrical© (250 IU/ml probe) were added to hydrolysate. The probes were filtered with sterile syringe filter and injected in Agilent 1100 HPLC system with the usage of a guard column and two Zorbax GF-250 columns connected in series, the mobile phase was 0.01 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.3, 0.14 M NaCl and 5% methanol. Fraction of 10 kDa fragment was concentrated by method "TCA-DOC precipitation with acetone wash" (Peterson, 1977). Fraction of 24 kDa was concentrated on 10 kDa molecular weight cut-off centrifugal concentrators. Both fragments were analyzed by Tricine-SDS-PAGE (Schagger, 2006). The yield of electrophoretically pure 10kDa fragment was 70% and 24kDa - 86%. The proposed one step purification procedure of both fragments has advantage as compared with previous methods of fibrinogen  $\alpha$ C-region fragments obtaining (Lau, 1993; Pozniak, 2012).

As a result of this work new fibrinogen polymerization sites in  $\alpha$ C-region will be localized. The mAbs are planned to be used for a design of two test-systems for quantification of soluble fibrin in human blood plasma.

**НОВІ ЕФЕКТИ АЛОСТЕРИЧНОГО МОДУЛЯТОРА GABA<sub>B</sub> РЕЦЕПТОРА, гас-BHFF**

*Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ  
marina.dudarenko@gmail.com*

**Вступ.** Позитивні алостеричесні модулятори GABA<sub>B</sub> рецепторів мають великий терапевтичний потенціал для лікування станів тривоги, депресії тощо. Активація пресинаптичних GABA<sub>B</sub> рецепторів уповільнює вивільнення γ-аміномасляної кислоти (ГАМК) та інших нейромедіаторів. Алостеричні модулятори змінюють ефекти активованих рецепторів, не впливаючи на неактивовані рецептори. Метою нашої роботи було дослідити вплив алостеричного модулятора GABA<sub>B</sub> рецепторів, гас-BHFF, на ключові характеристики ГАМК-ергічної передачі. Дослідження проводились на ізольованих нервових терміналях кори та гіпокампу щурів – синаптосомах.

**Методи.** В роботі були застосовані наступні методи: виділення синапсом головного мозку щурів за методом Котмана (препаративна біохімія), вивчення вивільнення та накопичення нейромедіатора за допомогою радіоізотопного методу із використанням міченої [<sup>3</sup>H]ГАМК, а також спектрофлуориметрія (з використанням потенціал- та рН-чутливих флуоресцентних барвників).

**Результати.** Експерименти проводились на синаптосомах кори та гіпокампу мозку дорослих щурів-самців лінії Wistar масою 100-120 г.

Було показано, що позаклітинний рівень [<sup>3</sup>H]ГАМК, що відображає баланс між вивільненням та накопиченням нейромедіатора, значно збільшувався за присутності гас-BHFF (у концентраціях 10-30 μM) – з 17 % до 30 % загальнонакопільованої [<sup>3</sup>H]ГАМК як у корі, так і у гіпокампі. Початкова швидкість накопичення [<sup>3</sup>H]ГАМК синаптосомами гіпокампу та кори знижувалася внаслідок дії алостеричного модулятора, гас-BHFF (у концентраціях 10 та 30 μM), на 12 % та 77 % відповідно. За присутності блокатора ГАМК-транспортера GAT-1, NO-711, показано, що як у корі, так і в гіпокампі гас-BHFF (30 μM) збільшує тонічне вивільнення [<sup>3</sup>H]ГАМК синаптосомами з 21,7 % (у контролі) до 29,8 %. Виявлено, що гас-BHFF не посилює інгібування екзоцитозу [<sup>3</sup>H]ГАМК баклофеном. Також гас-BHFF викликав дозозалежну деполяризацію плазматичних мембран синапсом та дисипацію протонного градієнту синаптичних везикул, що було показано за допомогою флуоресцентних барвників родамину G6 та акридину оранжевого, відповідно.

**Висновки.** Таким чином, виявлені нами ефекти гас-BHFF на функціонування ГАМК-ергічних нервових закінчень не були пов'язані з модуляцією пресинаптичних рецепторів GABA<sub>B</sub>. Тому стратегія розробки ліків на основі позитивної алостеричної модуляції GABA<sub>B</sub> рецепторів має включати в себе усунення вищевказаних побічних ефектів гас-BHFF у пресинапсі, і навпаки, ці нові властивості алостеричного модулятора можуть бути використані у новітніх підходах.

*П. ЖЕРДСЬВА, А. НАУМЕНКО, С. БАБІЙ, С. СЕМЕНОВ, Н. ШТЕМЕНКО*

## **ЗМІНА ЕЛЕКТРОЛІТНОГО СКЛАДУ КРОВІ І СЕЧІ ЗА ВВЕДЕННЯ КЛАСТЕРНОЇ СПОЛУКИ РЕНІЮ З ФЕРУЛАТНИМ ЛІГАНДОМ У МОДЕЛІ ПУХЛИННОГО РОСТУ**

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ  
polyj@mail.ru*

Ферулова кислота є загальновизнаним органічним антиоксидантом з протипухлинними властивостями (Graf E., 1992). Було припущено, що поєднання цієї сполуки з кластером Ренію буде мати адитивний ефект при гальмуванні росту пухлини з одночасною нормалізацією функціонального стану нирок, показників системи червоної крові і кісткового мозку, як було виявлено для інших кластерних сполук Ренію (Воронкова 2015; Shtemenko 2008-2015; Бабій 2012, 2014). Це є важливим, оскільки саме нирки відповідають за регуляцію гемопоезу, виведення токсичних метаболітів, а також регуляції осмолярності плазми крові, що є немало важним для збереження цілісності клітин крові.

Отже, метою даної роботи, було дослідити електролітний склад крові та сечі, екскрецію окремих електролітів і розрахувати осмолярність плазми щурів з карциномою Герена Т8 і за умов введення цисплатину (ЦП) і цис-біс-диметилсульфоксидотетрахлоро-ди-μ-карбоксилатдиреній (ІІІ) з феруловою кислотою цис- $\text{Re}_2(\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCOO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMSO}$  (Re).

За умов розвитку пухлини і введення ЦП дослідним щурам виявлено зниження інтенсивності сечоутворення, кліренсу ендogenous креатиніну і відносної реабсорбції води. Як наслідок, в сечі щурів цієї групи визначався підвищений рівень загального білку, альбуміну, глюкози, а також ферментів лактатдегідрогенази і гамма-глутамілтрансферази. При дослідженні електролітного складу крові в цій групі спостерігали зростання концентрації калію, хлоридів і зниження вмісту кальцію і натрію, порівняно з інтактними щурами. Виражена гіпонатріємія і гіперкаліємія за введення ЦП щурам-пухлиноносіям призводили до зменшення об'єму циркулюючої плазми, зменшенні її осмолярності, збільшення білку в крові, гемоглобіну і рівня гематокриту. Слід відмітити за введення ЦП значне зростання екскреції кальцію, калію і фосфатів, порівняно з контролем. При цьому осмолярність плазми знижувалась втричі, а осмолярність сечі зростала в 5 разів, порівняно з контролем. За введення дослідним тваринам наноліпосом, навантажених Re не відмічалось подібних змін. Встановлено, що кластерні комплекси Re здатні знижувати нефротоксичний ефект ЦП. За введення змішаних наноліпосом і наночасток, навантажених Re і ЦП, досліджувані показники наближались до контрольного рівня.

Отримані дані підтверджують раніше встановлену гематопротекторну властивість Re і здатність їх впливати на еритропоез шляхом зменшення ниркових розладів, забезпечення нормального електролітного складу і осмолярності плазми крові. Це може свідчити про ефективність застосування комплексів Ренію у якості допоміжних сполук при боротьбі з новоутвореннями.

**ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МІТОХОНДРІЙ ГЕПАТОЦИТІВ У ЩУРІВ РІЗНИХ ЛІНІЙ ПІД ВПЛИВОМ ЕКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНІНУ**

*Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ  
lenchaka@ukr.net*

Важливим регулятором інтенсивності загального метаболізму є гормон епіфізу – мелатонін. Спектр ефектів мелатоніну дуже широкий. Він має виражені антиоксидантні, імуномодулюючі властивості, запобігає пошкодженню печінки при дії гепатотоксичних речовин. Також мелатонін здатен коригувати активність дихальних комплексів мітохондрій. Проте, існуючі літературні дані про вплив мелатоніну на активність ферментів аеробного окислення неоднозначні. Ймовірно, це пов'язано з різними умовами проведення досліджень, зокрема: вмістом ендogenous мелатоніну або дози введення екзогенного мелатоніну, тощо. Метою проведених досліджень було дослідити вплив екзогенного мелатоніну на активність ферментів аеробного окислення у мітохондріях гепатоцитів щурів лінії Wistar та спонтанно гіпертензивних (SHR).

Дослідження проведено у весняний період (березень-квітень) на 24 щурах-самцях лінії Wistar та 24 щурах-самцях лінії SHR, віком 3 місяці. Протягом експерименту всі тварини перебували в уніфікованих умовах зі стандартним раціоном харчування та природним циклом світло/темрява. Щури обох ліній були розділені на групи: I – контрольна, II – дослідна. Тваринам дослідних груп щоденно, протягом 28 діб, о 10 годині ранку перорально вводили мелатонін в дозі 5 мг/кг маси тіла. Виведення тварин з експерименту проводили під ефірним наркозом. З печінки щурів виділяли мітохондрії методом диференційного центрифугування. В суспензії мітохондрій гепатоцитів фотометрично визначали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) за методом Прохорова, цитохромоксидази (ЦХО) за методом Кравченкова та концентрацію білка по методу Лоурі. Статистичну обробку здійснювали за допомогою програмного забезпечення Origin 7,5.

Проведені дослідження виявили, що контрольні та дослідні щури лінії SHR мають вищі значення концентрації білка (на 27 %) та активності ЦХО (на 28 %) порівняно з тваринами лінії Wistar. Однак активність СДГ була, навпаки, вірогідно вища на 45 % у щурів лінії Wistar порівняно з SHR особинами. Під впливом екзогенного мелатоніну активність СДГ, яка входить до II комплексу дихального ланцюга мітохондрій, мала тенденцію до зниження на 19% у тварин лінії Wistar, а у щурів лінії SHR вірогідно зменшилась на 26 %. Активність ЦХО, одного з ферментів циклу Кребса, залишалася на рівні контролю у дослідних щурів Wistar, а у тварин лінії SHR вона мала тенденцію до зниження на 17 %. Концентрація білка в мітохондріях гепатоцитів щурів обох ліній, після 28 діб введення мелатоніну, мала тенденцію до збільшення на 32 % та 17 % відповідно. Одержані нами експериментальні дані, дають можливість зробити висновок, що функціональна активність мітохондрій гепатоцитів щурів лінії SHR має свої особливості порівняно з лінією Wistar. Введення екзогенного мелатоніну в дозі 5 мг/кг маси тіла щурам лінії SHR та Wistar стимулює білоксинтетичну активність гепатоцитів та пригнічує активність II комплексу дихального ланцюга мітохондрій печінки.

Р.Б. ІВАНОЧКО

## **ВПЛИВ СЕАНСУ ГЕМОДІАЛІЗУ НА СТАН СИСТЕМИ NO-СИНТАЗА/АРГІНАЗА І ОКСИДАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ У ЛІМФОЦИТАХ У ХВОРИХ З ХРОНІЧНОЮ НИРКОВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ**

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів  
Ivanochko\_07@mail.ru*

**Вступ.** У хворих з ХНН (хронічною нирковою недостатністю), які отримують лікування замісною нирковою терапією (ЗНТ) методом гемодіалізу, розвивається ендотеліальна дисфункція, яка проявляється зниженням концентрації в крові амінокислоти L-аргініну (субстрату для NO-синтаз та аргінази) та нітрогену оксиду (NO). Процедура гемодіалізу (ГД) впливає на показники активності NO-синтаз, вміст нітрогену оксиду та його похідних, а також оксидативних процесів. Слід відзначити, що сеанс ГД викликає зниження рівня нітритів, асиметричного диметиларгініну, гомоцистеїну. Метою роботи було дослідити вплив сеансу гемодіалізу на зміни активності показників NO-синтази, аргінази та процесів ліпопероксидації у лімфоцитах крові хворих з хронічною нирковою недостатністю.

**Матеріали та методи дослідження.** У дослідження було включено 16 хворих (чоловіків – 6, жінок – 10) з ХНН V ступеня (гломерулонефрит), що отримують лікування ЗНТ методом гемодіалізу 3 рази на тижд. (12 год.) у бікарбонатному режимі. Середній вік пацієнтів становив 56 років. Групу порівняння склали кров 20 донорів, середнім віком – 48 років. Кров для дослідження у кожного хворого забирали із сформованого судинного доступу “A-V” фістули перед та після ГД. У лізати лімфоцитів визначали вміст L-аргініну, нітрит-аніону та активність аргінази.

**Результати.** У лізаті лімфоцитів, порівняно з контрольною групою обстежених, було відзначено: зростання рівня активності iNOS (у 15 разів,  $p < 0,01$ ) та вмісту ТБК-активних продуктів – на 23 %; зниження – рівня активності eNOS на 70 % ( $p < 0,05$ ), СОД на 19 %, вмісту L-аргініну на 31 % ( $p < 0,05$ ). Активність аргінази та вміст нітрин-аніону виражено не змінювались. Після проведення сеансу гемодіалізу у лізаті лімфоцитів, порівняно з показниками до ГД, знижувався рівень активності iNOS (у 14 разів) та активності eNOS (у 8 разів). Зменшувалася концентрація L-аргініну на 30 % ( $p < 0,05$ ), нітрит-аніону на 15 % ( $p < 0,05$ ), ТБК-активних продуктів на 22 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з показниками до діалізу. Активність рівня аргінази мала тенденцію до зростання.

**Висновки.** Сеанс ГД у хворих з ХНН V ступеня викликає зниження нітрозооксидативного стресу у лімфоцитах, зокрема різко знижується активність eNOS. Зниження активності eNOS та L-аргініну у лімфоцитах після ГД може викликати зменшення імунологічного захисту у хворих з ХНН та впливати на тривалість життя.

## **ВПЛИВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ НА ВМІСТ ТІАМІНУ ТА ДЕЯКИХ ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ В ОРГАНАХ ЩУРІВ**

*Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Одеса  
chuk32@yandex.ru*

Вітамін В<sub>1</sub>, або тіамін впливає на різноманітні фізіологічні функції і біохімічні процеси в організмі, являючись необхідним компонентом регуляції обміну вуглеводів, ліпідів, білків, нуклеїнових кислот та інших вітамінів. Одним із основних питань у вивченні функціональної ролі тіаміну в організмі є дослідження депонування, транспорту і включення його у відповідні ферментативні системи з метою запобігання порушення обміну.

Було встановлено, що швидкість катаболізму тіаміну багато в чому залежить від стану тканини, від наявності в ній патологічних змін. Однак особливості катаболізму вітамінів в тканинах при залізодефіцитній анемії майже не вивчені.

Мета роботи – визначити співвідношення метаболітів тіаміну в тканинах щурів при залізодефіцитній анемії.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на безпородних статевозрілих щурах-самцях масою 150-200 г, вирощених в умовах віварію. Досліди проводили на тваринах з викликаного анемією в результаті крововтрати з кінчика хвоста в кількості 7-15 % крові від загального обсягу, або 0,5-1 % від загальної маси досліджуваної тварини.

У тканинах тварин визначали різні фракції вітаміну В<sub>1</sub>: загальний тіамін, вільний тіамін, тіохром та вміст фосфорних ефірів тіаміну (ФЕТ). Нами була використана методика Г. Д. Єлисеєвої.

**Результати досліджень.** В результаті роботи було виявлено, що в тканинах контрольної групи щурів переважною метаболічною формою тіаміну є тіамінфосфати. За рівнем цих сполук на першому місці стоїть печінка (0,6 мкг/г тканини), потім слідує нирки (0,360 мкг/г тканини), мозок (0,11 мкг/г тканини) і серце (0,083 мкг/г тканини).

Надалі ми зацікавилися питанням про те, чи змінюється спектр метаболітів тіаміну в тканинах щурів при залізодефіцитній анемії. Після втрати 30-40 % об'єму крові відновлення фізіологічних та біохімічних показників організму настає через 20-25 днів. У зв'язку з вище сказаним, вміст тіаміну та його метаболітів в тканинах щурів із залізодефіцитною анемією вивчали в динаміці протікання патології.

Так, на сьомий день перебігу ЗДА ми спостерігаємо тенденцію до збільшення в усіх досліджених тканинах лише загального тіаміну та тіамінфосфатів по відношенню до контролю.

Подальший перебіг ЗДА (14 день) в тканинах печінки характеризувався достовірним збільшенням лише загального тіаміну на 73 % та тіамінфосфатів – на 33 %. Слід відмітити, що в тканинах нирок, серця, мозку на 14 день дослідної патології вміст загального тіаміну та тіамінфосфатів в середньому зменшився на 38 %, вміст вільного тіаміну – на 44 % по відношенню до контролю.

Зауважимо, що в тканинах серця та мозку вміст тіохрому на 14 день перебігу ЗДА достовірно збільшився (в тканинах серця – на 80 %, а в тканинах мозку – на 50 % по відношенню до контролю). Така ж закономірність спостерігається на 21 день проведення експерименту. Це свідчить про те, що при ЗДА метаболізм тіаміну в цих тканинах здійснюється по окислювальному шляху.

Що стосується тканин печінки та нирок, то 21 день перебігу ЗДА характеризувався відновленням вмісту загального тіаміну та його метаболітів до значень контрольної групи щурів.

*О.О. КАЛМИКОВА, О.І. ДЖУС, Г.М. СВІТІНА, Г.В. ОСТРОВСЬКА, Л.В. ГАРМАНЧУК*

## **ПОРІВНЯННЯ МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ТРАНСФОРМОВАНИХ ТА МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОVBУРОВИХ КЛІТИН ПІСЛЯ ВПЛИВУ ТЕЙХОЄВОЇ КИСЛОТИ**

*ННЦ „Інститут біології” КНУ імені Тараса Шевченка, Україна, Київ  
[Olesyakalmukova@gmail.com](mailto:Olesyakalmukova@gmail.com)*

**Вступ.** Тейхоєві кислоти (ТК) – велика група фосфат-вмісних біополімерів, яка поширена в клітинних стінках грампозитивних бактерій. ТК є лігандом для Toll-like рецепторів (TLR) TLR2, TLR4, TLR6, які присутні на пухлинних і мезенхімальних стовбурових клітинах (МСК). Відомо, що TLR можуть включатися в різні етапи пухлинного росту, проте у зв'язку з неоднозначністю впливів активації TLR на трансформовані клітини вивчення зміни їх морфології після дії ТК є актуальним на сьогодні. Оскільки пухлинні клітини мають активні деякі ембріональні гени (Nanog, Oct-4, Sox-2), вони стають подібними до стовбурових клітин. Тому порівняння окремих характеристик цих ліній клітин в культурі допоможе краще зрозуміти роль TLR при розвитку канцерогенезу та вплив ТК на стан МСК.

**Методи.** Культури клітин вирощувались на поживному середовищі DMEM (HeLa), RPMI (Нер G2) або  $\alpha$ MEM (культури МСК), з додаванням 10% ембріональної бичачої сироватки, 2 мМ L-глутаміну, 40 мкг/мл гентаміцину. Отримання первинної культури МСК з кісткового мозку щура проводили за стандартною методикою. ТК додавали в концентрації 5 мкг/мл та інкубували 72 години. Потім клітини фарбували залізним гематоксиліном Гейденгайна, гематоксиліном Бемера, еозином, барвником Май-Грюнвальда. Морфологічний аналіз проводили за допомогою світлової мікроскопії. Морфометричні параметри вимірювали за допомогою програм Axiovision та ImageJ 1.45 на цифрових мікрофотографіях, які були зроблені з використанням камери Canon та інвертованого мікроскопа Axiovert 40.

**Результати.** У культурі інтактних клітин HeLa переважали кулясті клітини, деякі набували веретеноподібної форми (тобто, мезенхімального фенотипу), а клітини Нер G2 мали полігональну форму з чітко окресленими краями та потовщеними відростками. МСК в контролі мали витягнуту морфологію з тоненькими довгими відростками. Після дії ТК пухлинні клітини приймають більш правильну округлу форму, збільшується їх кількість на одиницю площі, проте площа клітин зменшується. А при дії ТК на МСК відростки стають біполярно розміщеними, ядра мають овальну форму, площа клітини та ядра достовірно зменшується. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС) культури клітин HeLa, Нер G2 зростає (збільшується частка популяції клітин що готується до поділу). ЯЦС МСК також достовірно росте, що свідчить про синтетичну активність ядра.

Спостерігається підвищення спорідненості цитоплазми до барвників (еозину, Май-Грюнвальда, залізного гематоксиліну) після дії ТК, що проявляється у її більш рожевому (темному) кольорі. Це може пояснюватися як наслідок зміни метаболізму, зокрема активації синтезу білка або деполімеризації білків цитоскелету

**Висновки.** Згідно з морфометричними даними тейхоєва кислота стимулює проліферативну активність трансформованих клітин та підвищує синтетичну активність у мезенхімальних стовбурових клітин.

*Ю.Г. КЛИСЬ, Н.М. ВОРОШИЛОВА*

## **ОСОБЛИВОСТІ ДЕЯКИХ КОМПОНЕНТІВ ПРОТЕОЛІЗУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ХВОРИХ НА ЗЛОЯКІСНІ НОВОУТВОРЕННЯ ПРИНОСОВИХ ПАЗУХ І ПОРОЖНИНИ НОСА**

*ДУ „Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України”, Київ  
[Yulya.klys@mail.ru](mailto:Yulya.klys@mail.ru)*

**Вступ.** Безсимптомність початкового розвитку злоякісних пухлин призводить до звернення більшості пацієнтів до лікаря на пізніх (III – IV) стадіях розвитку захворювання. У попередніх дослідженнях показано, що за показниками системи гемостазу можливо створити інформативний діагностично-прогностичний індекс для виявлення онкологічного процесу на ранній стадії. Як змінюються ці показники після лікування? Метою даної роботи було дослідження рівнів трипсинподібної протеолітичної активності (ТПА), тромбінподібної амідолітичної активності (ТрПА) та вмісту  $\alpha_2$ -макроглобуліну в плазмі крові хворих на злоякісні новоутворення верхніх дихальних шляхів (ВДШ) до та через місяць після початку лікування.

**Методи.** Дослідження проводились на бідній на тромбоцити плазмі крові 15 хворих на злоякісні новоутворення ВДШ до та через 1 місяць після початку лікування. З 15 обстежених хворих у 2-х було діагностовано II стадію, у 4 – III, у 9 – IV стадію захворювання. Контролем слугували 10 донорів.

**Результати.** Встановлено вірогідно знижений рівень ТПА та вмісту  $\alpha_2$ -М в плазмі крові у хворих на злоякісні новоутворення ВДШ IV стадії в середньому в 1,3 рази порівняно з аналогічними показниками у практично здорових осіб. Для хворих з II-III стадіями захворювання характерні схожі зміни, але на рівні тенденції. Рівень ТрПА до початку лікування у хворих обох груп був значно вищим за норму. Показано, що до лікування рівень ТПА зменшений в 1,4 рази порівняно до норми, зміни ж вмісту  $\alpha_2$ -М були на рівні тенденції. Після лікування як рівень ТПА, так і вміст  $\alpha_2$ -М в плазмі крові хворих істотних змін не зазнавали. Рівень ТрПА до лікування вірогідно підвищував норму у 3,6 рази, причому після початку лікування суттєвих змін не відбувалось.

### **Висновки.**

1. При злоякісних новоутвореннях ВДШ спостерігалось збільшення рівня ТрПА на тлі зменшення ТПА та вмісту  $\alpha_2$ -М.
2. У хворих на злоякісні новоутворення ВДШ значне підвищено ТрПА, що найбільш виражене при IV стадії; після лікування цей показник достовірних змін не зазнає.
3. Через місяць після початку лікування нормалізації рівнів ТПА, ТрПА та  $\alpha_2$ -М не відбувалось.

Все це свідчить про складний та системний характер порушень регуляції біохімічних процесів, задіяних у перебігу онкологічного процесу.

*О.К. КОЛЯДА, О.М. ВАЙСЕРМАН, І.М. КАРАБАНЬ*

## **БІОХІМІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ ПРИ ХВОРОБІ ПАРКІНСОНА**

*Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України, Київ  
[alex.genetic@gmail.com](mailto:alex.genetic@gmail.com)*

Хвороба Паркінсона (ХП) є другим за поширеністю після хвороби Альцгеймера прогресуючим нейродегенеративним захворюванням людини та характеризується тремором, сповільненістю рухів, ригідністю та можливими когнітивними порушеннями. Накопичилося чимало даних, які свідчать про можливий зв'язок ХП і ліпідного обміну. Метою роботи було генотипування за геном рецептора ліпопротеїнів високої густини – *ApoE* – пацієнтів з ХП, та оскільки відомо, що відмінності у генетичній конституції поєднуються з певними змінами на біохімічному рівні, ми дослідили вміст різних груп ліпідів у крові пацієнтів із ХП та у здорових людей (контролю). Це обумовило специфічність постановки досліджу, яка полягала у поєднанні у межах однієї роботи, двох блоків (генетичного і біохімічного), які були реалізовані на різних групах пацієнтів із ХП та здорових людей.

У першому (генетичному) блоці дослідження обстежено 176 хворих на ХП (106 чоловіків та 90 жінок), віком від 50 до 83 років, із середньою тривалістю захворювання  $7,6 \pm 0,3$  років. До контрольної групи увійшли 200 клінічно здорових людей, близьких із основною групою за віком та статтю. Діагноз ХП встановлювали відповідно до міжнародних критеріїв, рухові функції оцінювали за допомогою шкали *Hoehn* и *Yahr* та частини III *UPDRS* у період "включення" протипаркінсонічних засобів, що використовувалися. Виділення ДНК проводили із цільної крові, генотипування проводили методом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. У другому (біохімічному) блоці дослідження за допомогою автоматичного аналізатора BTS-350 (BioSystems, США) визначали концентрацію холестерину ліпідів різних фракцій в плазмі крові пацієнтів із ХП ( $n = 300$ ) та осіб із контрольної групи ( $n = 413$ ).

При вивченні поліморфізму гену *ApoE* у досліджуваній групі пацієнтів з хворобою Паркінсона було виявлено відмінності в розподілі частот алелів у порівнянні з контрольною групою пацієнтів. Ці результати свідчать про можливу роль порушень ліпідного обміну в патогенезі захворювання. Для підтвердження цього припущення нами було проведено біохімічне дослідження концентрацій ліпідів різних фракцій в плазмі крові пацієнтів та в контрольній групі. Виявлено достовірне зниження концентрації тригліцеридів, ліпопротеїдів дуже низької щільності та загального холестерину у пацієнтів з ХП. Результати дослідження свідчать про те, що ліпідний обмін має важливе значення в патогенезі захворювання. На ймовірність захворювання і, можливо, на характер його протікання впливають як поліморфізм генів, задіяних у транспорті ліпідів, так і концентрація ліпідів в плазмі крові.

## **ДИНАМІКА ЗМІН КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІЛКА СИМБІОТИЧНИХ СТРУКТУР СОЇ ЗА УМОВ ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ**

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ  
[kondratyuk\\_yulya@ukr.net](mailto:kondratyuk_yulya@ukr.net)*

**Вступ.** Посуха – фактор навколишнього середовища, що негативно впливає на процес симбіотичної азотфіксації. Ефект її дії розглядається як наслідок фізіологічних реакцій, що впливають на нітрогеназну активність через один з механізмів, до яких залучені нестача вуглецю, обмежений доступ кисню та зворотна регуляція за допомогою азотовмісних сполук. Проте, молекулярні механізми впливу посухи та адаптації до неї азотфіксуючих систем лишаються не розкритими, чим обумовлюється важливість протеомних досліджень білкових профілів різних тканин і симбіотичних утворень бобових рослин за дії стресу. Тому метою нашої роботи було виявлення змін білкового вмісту симбіотичних систем сої різної ефективності за дії на них посухи.

**Методи.** Для отримання білкових екстрактів нами були відібрані зразки корневих бульбочок сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська, інокульованої активним (646) і неактивним (604к) штамми *Bradyrhizobium japonicum* із музейної колекції азотфіксуючих мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Посуху створювали зменшенням поливу рослин до вологості субстрату вирощування 30 % повної вологоємності. Концентрацію сумарного білку в зразках визначали за методом Бредфорда.

**Результати.** Показано загальну тенденцію до зниження кількості сумарного білку в зразках бульбочок сої у період між фазами бутонізації та масового цвітіння рослин незалежно від водного забезпечення та активності штаму-інокулянта, що пояснюється інтенсифікацією процесу азотфіксації у цей період. У той же час слід відмітити, що за інокуляції сої штамом 646, порівняно зі штамом 604к, загальна кількість білку була вищою майже в два рази за повного водозабезпечення і у три рази за умов посухи, що, імовірно, пояснюється активністю даних штамів. При цьому вміст білку в бульбочках сої, інокульованої активним штамом, зазнавав більш істотного впливу посухи, порівняно з оптимальними умовами, і знижувався приблизно на 43 % за дії стресового фактора, тоді як за інокуляції неактивним штамом 604к кількість білку в бульбочках зменшувалась на 39 %. Разом з тим при відновленні поливу у варіанті, де бульбочки були утворені активним штамом, подальше зниження кількості білку складало 12 %, а неактивним штамом – 15 %.

**Висновки.** Утворення бобово-ризобіального симбіозу призводить до деякого зниження негативних наслідків нестачі вологи та швидшого відновлення інтенсивності процесу біосинтезу білку за оптимального поливу.

*С.П. ВЕСЕЛЬСЬКИЙ, Є.М. РЕШЕТНИК, Т.В. КРАСНОНОС, Л.В. ЗАКОРДОНЕЦЬ, Т.В. ДОВБИНЧУК, Г.М. ТОЛСТАНОВА*

## **ВПЛИВ АЗИТРОМІЦИНУ НА ВМІСТ ХОЛАТІВ В ЖОВЧІ ЩУРІВ**

*ІНЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,  
Київ  
[krasnonos.tv@gmail.com](mailto:krasnonos.tv@gmail.com)*

**Мета дослідження.** Азитроміцин впливає на трансгепатоцелюлярне переміщення лікарських засобів і ендогенних метаболітів, що дозволяє зробити припущення про його можливий вплив на секрецію холатів клітинами печінки. Метою даного дослідження було виявлення змін концентрації жовчних кислот в жовчі щурів після курсового введення азитроміцину.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведені на самцях білих щурів (200-280 г), яким 6 днів вводили азитроміцин («Пліва», Хорватія) в дозі 15 мг/кг перорально щодня. Тваринам контрольної групи в аналогічних умовах перорально вводили воду. Потім, після 24 годин харчової депривації, в гострих дослідах з використанням як наркозу уретану (110 мг/100 г внутрішньоочеревино) тваринам канюлювали жовчну протоку і протягом 3 годин збирали 6 півгодинних проб жовчі. У зібраних пробах жовчі методом тонкошарової хроматографії визначали вміст окремих фракцій жовчних кислот: таурохолевої, таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої (разом), глікохолевої, глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої (разом), холевої, хенодезоксихолевої і дезоксихолевої (разом).

**Результати.** У щурів, які отримували азитроміцин, виявлено підвищення концентрації в жовчі таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот ( $131,78 \pm 17,24$  мг%, що на 19,6 % більше, ніж у контролі ( $110,17 \pm 15,30$  мг%),  $p < 0,05$ ), а також відмічено зростання до кінця досліду вмісту в жовчі холевої кислоти до  $35,27 \pm 5,57$  мг%, що на 62,68 % ( $p < 0,001$ ) більше порівняно з відповідними показниками тварин контрольної групи ( $21,68 \pm 2,52$  мг%). При цьому в останній півгодинній пробі жовчі концентрація глікохолевої кислоти у тварин після впливу азитроміцину була  $98,35 \pm 24,96$  мг%, що на 24,7 % менше, ніж у контролі ( $130,55 \pm 11,87$  мг%). Після впливу на тварин азитроміцину концентрація хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот в жовчі отриманої в кінці гострого досліду становила  $6,43 \pm 4,79$  мг%, тобто виявлялася на 48,5 % ( $p < 0,02$ ) менше, ніж у контролі ( $12,48 \pm 2,87$  мг%).

**Висновок.** Азитроміцин викликає зміни вмісту окремих фракцій холатів у жовчі щурів, що може бути пов'язано з його впливом як на синтетичні, так і на транспортні процеси в тканині печінки і потребує подальших досліджень.

*Н.І. ЛИТВИНЮК, З.О. СЛОБОДЯН, Х.Ю. ПАРЦЕЙ, М.Б. ОЛЕКСИН, А.М. ЕРСТЕНЮК.*

## **ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ВУГЛЕВОДІВ В ОРГАНІЗМІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ ЕНЕРГЕТИЧНИХ НАПОЇВ**

*Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ  
[litvinyuk\\_2016@mail.ru](mailto:litvinyuk_2016@mail.ru)*

**Вступ.** Енергетичні напої викликають неоднозначне ставлення: захоплення серед молоді і застереження з боку лікарів. Молоді люди вживають енергетик, мотивуючи це тим, що він викликає приплив сил та енергії. Основними компонентами таких напоїв є глюкоза, кофеїн, таурин, теобромін, екстракт гуарани, карнітин, глюкоронолактон, вітаміни та інші. У такому складі вони можуть призводити до нервового збудження, виснаження, підвищеної втоми, іноді навіть депресії. На сьогодні недостатньо вивчений вплив енергетичних напоїв на організм людини. Важливими є дослідження перебігу метаболічних процесів у клітинах печінки, зокрема вуглеводного обміну, за умов впливу енергетичних напоїв.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на щурах лінії Вістар, масою 150-200 г. Тварин розділили на чотири групи: 1 – дослідні тварини (самці), які отримували енерготонік; 2 – дослідні тварини (самки), які отримували енерготонік; 3, 4 – групи – інтактні тварини (самці та самки), які отримували питну воду. Збір матеріалу проводили під легким ефірним наркозом на 31-шу добу експерименту. Концентрацію глюкози визначали глюкозооксидазним методом; пірвіноградної кислоти – за кількістю похідних 2,4-дифенілгідрозону; молочної кислоти – за реакцією з параоксидифенілом. Активність ферменту лактатдегідрогенази визначали ензиматичним методом. Показники вуглеводного обміну визначали у плазмі крові та гомогенатах печінки.

**Результати.** Проведеними дослідженнями встановлено, що вміст глюкози у плазмі крові істотно не змінювався, а у гепатоцитах – підвищувався у 5,43 рази порівняно з інтактними тваринами. Рівень лактату зростав у 2,96 рази в плазмі крові, в той час у клітинах печінки – підвищувався у 6,63 рази відносно контролю. Концентрація пірвату дещо знижувалась у плазмі – у 1,16 рази, тоді як у печінці неістотно зростала. Дослідження активності лактатдегідрогенази у печінці показало значне зростання цього показника – на 54 %, тоді як у плазмі крові – тільки на 7 % відносно контролю.

**Висновки.** Отримані дані вказують на порушення процесів обміну вуглеводів у печінці тварин, які отримували енергетичний напій, і відкривають перспективу подальшого дослідження.

*О.Б. ЛИХОТА, О.О. МОЛОДЧЕНКОВА*

**АКТИВНІСТЬ ТА КОМПОНЕНТНИЙ СКЛАД ІНГІБІТОРА ТРИПСИНУ  
У ТКАНИНАХ ЗЛАКОВИХ РОСЛИН ЗА ДІЇ  
*FUSARIUM GRAMINEARUM* ТА ЖАСМОНОВОЇ КИСЛОТИ**

*Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення,  
Одеса*

*[lykhota.elena@gmail.com](mailto:lykhota.elena@gmail.com)*

Важлива роль в регуляції метаболізму структурних і каталітичних білків належить протеолітичним ферментам та їх інгібіторам. Накопичення інгібіторів протеїназ у відповідь на пошкодження фітопатогенними мікроорганізмами вважається одним із захисних механізмів рослин. Одним із індукторів захисних реакцій рослин є жасмонова кислота (ЖК), яка виконує функції сигнального інтермедіанту та фітогормону.

Виявлені закономірності зміни активності та компонентного складу інгібітора трипсину в проростках сортів пшениці та ячменю, що відрізнялися за рівнем стійкості до збудників фузаріозу, при інфікуванні патогеном та дії ЖК. Вивчення активності інгібітора трипсину дозволило встановити, що сорти пшениці та ячменю, які мають відносну стійкість до збудників фузаріозу, при інфікуванні патогеном мали вищу активність інгібітора трипсину в порівнянні зі сприйнятливими генотипами (в надземній частині та коренях проростків). ЖК викликала індукцію інгібітора трипсину як у стійких, так і у сприйнятливих до збудників фузаріозу сортів. Проте у стійких сортів цей показник в 1,2-1,5 рази вищий, ніж у сприйнятливих сортів. При спільній дії цих двох чинників спостерігалось зростання активності інгібітора трипсину відносно контролю та відносно інфікованих рослин як у стійких, так і у сприйнятливих сортів пшениці та ячменю.

Компонентний склад інгібіторів досліджували за допомогою афінної хроматографії, використовуючи бромціанактивовану трипсин-сефарозу 4 В з наступним електрофорезом в ПААГ. Аналіз одержаних даних показав, що за інгібітором трипсину з проростків пшениці сортового поліморфізму не виявлено, тобто всі сорти характеризувалися однаковим компонентним складом інгібітора трипсину. При інфікуванні рослин збудниками фузаріозу та дії ЖК відбувалося зростання компонентів з молекулярною масою 25 кДа, 20 кДа і 14 кДа. Під впливом фузаріозної інфекції виявлено появу білкового компонента з молекулярною масою близько 29 кДа.

Отримані результати та подальші дослідження у вивченні змін протеїназно-інгібіторної системи за дії фітопатогена та індукторів захисних реакцій рослин дозволять удосконалити існуючі методи оцінки селекційного матеріалу на стійкість до збудників фузаріозу та стануть основою для створення ефективних індукторів стимулювання та управління захисними системами злакових рослин.

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

***SYNTHESIS OF 25OHD<sub>3</sub>-KLH CONJUGATE AND OBTAINING ANTI-25OHD<sub>3</sub> POLYCLONAL ANTIBODIES***

*Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv  
[ann.mazanova@gmail.com](mailto:ann.mazanova@gmail.com)*

**Introduction.** Growing evidence suggests a high prevalence of vitamin D<sub>3</sub> deficiency across various populations the world over. Therefore, elaboration of immunochemical test systems allowing to determine serum levels 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> (25OHD<sub>3</sub>), which is a marker of vitamin D<sub>3</sub> availability, is a promising area of biotechnology. A key problem in developing such test systems is the obtaining of antibodies to 25OHD<sub>3</sub>, since the latter is not immunogenic compound with molecular size insufficient to be recognized by the immune system. In line of this, the purpose of the present study was to improve the existing approaches to obtain polyclonal antibodies that recognize 25OHD<sub>3</sub> with their subsequent characterization and application in immunochemical test systems for the determination of serum 25OHD<sub>3</sub>.

**Methods.** Conjugation of 25OHD<sub>3</sub> with carrier proteins was done by modified carbodiimide method using EDC (N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimide). Purification of conjugates was performed by gel filtration. The extent of protein modification due to covalent attachment of 25OHD<sub>3</sub> was determined by thin layer chromatography. Antibody titers were measured in blood serum of rabbits and mice by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results.** The 25OHD<sub>3</sub>-KLH (keyhole limpet hemocyanin) conjugate was designed to be used as an immunogen, while the 25OHD<sub>3</sub>-OVA (chicken ovalbumin) conjugate was used as a coating antigen. The 25OHD<sub>3</sub>-KLH conjugate was presented to an animal's immune system and polyclonal antibody titers with moderate specificity were obtained. The titer of rabbit anti-25OHD<sub>3</sub> antibodies reached a peak of 1:5000 after fifth booster injections. It was demonstrated that the titer of specific antibodies was 3 times lower in mice in comparison with rabbits.

**Conclusions.** Our results suggest that conjugates synthesized as described herein may successfully be used in the generation of antibodies targeting small hydrophobic 25OHD<sub>3</sub> molecules. Immunochemical test systems for screening studies of 25OHD<sub>3</sub> content in human blood serum, as a marker of vitamin D<sub>3</sub> availability, can be developed on the basis of obtained polyclonal anti-25OHD<sub>3</sub> antibodies.

*Т.О. МАКАРЕНКО<sup>1</sup>, В.Л. БОРЩОВЕЦЬКА<sup>1</sup>, І.О. ШМАРАКОВ<sup>1</sup>,  
М.М. МАРЧЕНКО<sup>1</sup>, Н.М. ГУЛА<sup>2</sup>*

## **КОРЕКЦІЯ ГОСТРИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ МОНОЕТАНОЛАМІНОМ АМІДУ СТЕАРИНОВОЇ КИСЛОТИ**

*<sup>1</sup>Кафедра біохімії та біотехнології, Чернівецький національний університет імені Юрія  
Федьковича, Чернівці*

*<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ  
[igor.shmarakov@gmail.com](mailto:igor.shmarakov@gmail.com), [ngula@biochem.kiev.ua](mailto:ngula@biochem.kiev.ua)*

Зростання кількості гострих та хронічних захворювань печінки та недостатня ефективність традиційних методів їх корекції порушує питання пошуку природних дієвих гепатопротекторів. У цьому аспекті перспективною виявляється група ендогенних ліпідних молекул – амідів жирних кислот з вираженими канабіміметичними властивостями. Особлива увага приділяється ендоканабіноїдам на основі полієнових жирних кислот, які володіють високою біологічною активністю, але локальна дія та надзвичайно швидка інактивація накладають обмеження на їх використання. З огляду на високу стійкість амідів насичених жирних кислот, доцільним виявляється використання моноетаноламіну амиду стеаринової кислоти (SEA) як потенційного гепатопротектора.

**Мета роботи** – оцінити гепатопротекторну активність SEA при гострій гепатотоксичності індукованій одноразовим інтраперитонеальним введенням тіоацетаміду (ТАА) в дозі 500 мг/кг.

**Результати** проведених досліджень показали, що пероральне введення SEA з гепатопротекторною метою після надходження в організм гепатотоксину (ТАА) не усуває токсичних ефектів та не володіє гепатопротекторною активністю. Збільшення дози SEA в діапазоні від 3 до 300 мг/кг не змінювало виявленої тенденції відсутності гепатопротекторного ефекту, що, очевидно, не залежить від введеної дози SEA. У тварин, які після введення ТАА отримували SEA, вже через 72 години спостерігалися ознаки пошкодження паренхіми печінки, виражені у підвищенні  $\gamma$ -глутаміл-транспептидазної активності в сироватці крові (у 3 рази) та ознаки її запальної інфільтрації нейтрофілами, виражені у зростанні мієлопероксидазної активності в паренхімі печінки (у 10 разів). Крім того, введення SEA за вказаних умов не змінювало ступінь оксидативного пошкодження біомолекул паренхіми печінки, викликаного гепатотоксичними метаболітами ТАА. Рівень ТБК-активних сполук, білкових карбонільних похідних, а також білкових і небілкових тіолів не відрізнявся від показників групи тварин, яким вводили лише ТАА.

Отримані результати спонукали нас до пошуку шляхів модифікації режиму введення SEA з метою створення умов для прояву його гепатопротекторної активності. Для цього проводили введення SEA у дозі 300 мг/кг за 72 години до інтраперитонеальної ін'єкції ТАА в дозі 500 мг/кг. Дана схема введення дозволила досягти вираженого гепатопротекторного ефекту, про що свідчила відсутність ознак ураження паренхіми печінки та її запальної інфільтрації (показники  $\gamma$ -глутамілтранспептидазної та мієлопероксидазної активностей не відрізнялись від тварин, яким не вводили тіоацетамід). Попереднє введення SEA блокувало розвиток тіоацетамід-індукованого оксидативного пошкодження біополімерів печінки, про що свідчили показники рівня ТБК-активних сполук, білкових карбонільів, а також білкових і небілкових тіолів, які знаходились на рівні показників для інтактних тварин.

Отже, результати проведених досліджень показали, що SEA проявляє гепатопротекторний ефект при тіоацетамід-індукованій гострій гепатотоксичності, але за умови його попереднього профілактичного введення.

## **ВПЛИВ ПІДВИЩЕННЯ ТЕМПЕРАТУРИ НА СТРУКТУРУ АІМР1/р43 І ПРОТИПУХЛИНОГО ЦИТОКІНА ЕМАР ІІ**

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ

<sup>2</sup>Інститут високих технологій, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

malinaalona@gmail.com

**Вступ.** Білок АІМР1/р43 людини (також відомий як ргоЕМАР ІІ – попередник цитокіна ЕМАР ІІ, ендотеліального і моноцит-активуючого поліпептиду ІІ) є допоміжним компонентом мультіаміноацил-тРНК синтетазного комплексу у вищих еукаріотів. АІМР1/р43 складається з N-кінцевого модуля (залишки 1-146), який містить  $\alpha$ -спіраль, необхідну для формування високомолекулярного комплексу АРСаз, а також лізин-збагачений кластер, та С-кінцевого модуля (цитокін ЕМАР ІІ, залишки 147-312). Відомо, що ЕМАР ІІ здатен модулювати ряд властивостей ендотеліальних клітин, моноцитів та лейкоцитів *in vitro*. Здатність ЕМАР ІІ інгібувати неоангіогенез та стимулювати апоптоз ракових клітин є основою для дослідження питання про те, чи може цей білок бути використаний як протипухлинний лікарський засіб. Дослідження цитокінової активності як самого АІМР1, так і його похідного – ЕМАР ІІ, є перспективним напрямом розробки нових терапевтичних препаратів.

**Методи.** Експресію рекомбінантного білка АІМР1/р43 і ЕМАР ІІ проводили в культурі *Escherichia coli* BL21(DE3)pLysE. Очистку рекомбінантних білків проводили методом металхелатуючої хроматографії на колонці з Ni-NTA агарозою. Гідроксипропил- $\beta$ -циклодекстин додавали у розчин білка до концентрації 100 мМ.

Спектри флуоресценції білків реєстрували на спектрофлуориметрі JASCO (Японія), який обладнаний термостатованим кюветотримачем. Вимірювання проводили у кварцовій кюветі з довжиною оптичного шляху 1,0 см. Довжина хвилі збудження дорівнювала 280 нм, інтервал довжин хвиль для спектрів флуоресценції становив 300-400 нм, реєстрацію флуоресценції проводили під кутом 90° до напрямку пучка збуджуючого світла при температурах від 15 до 80  $\pm$  0,2 °С.

**Результати.** При реєстрації спектрів флуоресценції АІМР1/р43 і ЕМАР ІІ максимум флуоресценції білків фіксували при 337 і 334 нм відповідно.

При підвищенні температури в АІМР1/р43 і в ЕМАР ІІ спостерігається локальний конформаційний перехід, пов'язаний з експонуванням триптофанового залишку на поверхні білка, максимум емісії флуоресценції зсувається і становить 340-350 нм.

При дослідженні впливу гідроксипропил- $\beta$ -циклодекстрину на стабільність білкової глобули встановлено, що максимум емісії флуоресценції АІМР1/р43 і ЕМАР ІІ не зсувається при підвищенні температури до 50 °С. Це, свідчить про блокування локального конформаційного переходу та стабілізацію білкової глобули.

*Робота виконана в рамках наукового проекту “Фундаментальні основи технології отримання нового антипухлинного цитокіна ЕМАР ІІ та його мутантних форм з підвищеною антиангіогенною дією” цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України.*

## **ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «МЕМБРАНОСТАБІЛ» НА ФОРМУВАННЯ КОЛОСТРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ  
[marynyuk\\_mo@nubip.edu.ua](mailto:marynyuk_mo@nubip.edu.ua)*

У тварин з десмохоріальним типом плаценти колостральний імунітет формується лише за рахунок антитіл молозива. Колостральні імуноглобуліни (Ig) надходять з травного каналу теляти в кров у незмінному вигляді протягом 36-48 годин після народження, але найбільш активно – протягом перших 6 годин життя.

Формування колострального імунітету залежить від здатності ентероцитів тонкого кишечника новонародженого теляти ефективно адсорбувати Ig з молозива корови-матері. Вона визначається структурно-функціональними особливостями плазмолем ентероцитів тонкого кишечника теляти в перші години життя, що залежить від її ліпідного складу.

Метою роботи було дослідити вплив нативних ліпосом та ліпосом, насичених вітамінами А і Е у водорозчинній формі (препарат «Мембраностабіл») на ліпідний склад плазмолем ентероцитів тонкого кишечника новонароджених телят у період формування колострального імунітету.

До випоювання молозива новонародженим телятам вміст холестеролу (ХС) та фосфоліпідів (ФЛ) в апікальній мембрані (АМ) ентероцитів порожньої кишки становив  $238,5 \pm 23,2$  та  $628,5 \pm 32,4$  нмоль/мг білка відповідно, а їх співвідношення – 0,38.

Через 6 годин після народження вміст ХС в АМ ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи був достовірно вищим, порівняно з телятами цієї групи після народження, і становив  $312,0 \pm 19,7$  нмоль/мг білка, а вміст ФЛ –  $552,0 \pm 27,8$  нмоль/мг білка. Співвідношення ХС/ФЛ становило 0,57. Зазначимо, що підвищення вмісту ХС впливає на транспортні властивості мембранного бішару, знижуючи його проникність. Через 24 години після народження в АМ ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи достовірно знижувався вміст ХС в 1,3 раза, а вміст ФЛ майже не змінювався порівняно з цими показниками на 6-ту годину життя телят. Співвідношення ХС/ФЛ знизилось і становило 0,42, однак в цей час формування колострального імунітету в телят майже завершилося.

Через 6 та 24 години після народження в АМ ентероцитів порожньої кишки телят першої дослідної групи, яким застосовували нативні ліпосоми, вміст ХС становив  $229,5 \pm 21,0$  та  $253,5 \pm 22,4$ , ФЛ –  $544,5 \pm 31,2$  та  $604,5 \pm 34,3$  нмоль/мг білка, відповідно, а співвідношення ХС/ФЛ 0,42. Тобто співвідношення ХС/ФЛ на 6-ту та 24-ту години життя телят залишалось майже на тому самому рівні, як при їх народженні, і АМ ентероцитів впродовж періоду формування колострального імунітету залишалась достатньо плинною та проникною для Ig молозива.

В АМ ентероцитів порожньої кишки телят другої дослідної групи, яким застосовували препарат «Мембраностабіл», на 6-ту та 24-ту години життя вміст ХС складав  $234,5 \pm 23,6$  та  $237,0 \pm 21,7$ , ФЛ –  $579,7 \pm 33,1$  та  $810,0 \pm 41,3$  нмоль/мг білка, а їх співвідношення 0,34 і 0,29, відповідно. Це вказує на ще більш високу плинність та проникність АМ ентероцитів порожньої кишки телят для Ig молозива.

Таким чином, застосування нативних ліпосом та препарату «Мембраностабіл» забезпечує оптимальну плинність та проникність плазмолем ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят для імуноглобулінів молозива у період формування колострального імунітету.

**ВПЛИВ ЕТАНОЛУ НА НАКОПИЧЕННЯ ХЛОРОФІЛІВ ТА КАРОТИНОЇДІВ У  
КЛІТИНАХ *EUGLENA GRACILIS*, ІНКУБОВАНИХ НА СВІТЛІ РІЗНОЇ  
ІНТЕНСИВНОСТІ**

*Інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України, Київ*  
*VictoryM6@yandex.ua*

Мікроводорість *Euglena gracilis* відноситься до царства протист і має здатність як до фотосинтезу, так і до живлення за рахунок поглинання органічних субстратів із середовища існування, що є можливим як на світлі, так і в темряві. Органічним джерелом вуглецю для цього організму може бути етанол, який для більшості інших мікроорганізмів є отруйним. Фізіологічними ефектами етанолу на інкубовані у темряві клітини *E. gracilis* є активація клітинного дихання, запобігання втрати мітохондріальних ферментів при переведенні таких клітин на світлове культивування, інгібування світлоіндукованого синтезу ферментів хлоропластів та білка світлозбирального комплексу ФСII. Фотосинтетичний апарат *E. gracilis* має структурні та фізіологічні особливості. Тилакоїди у гранах мікроорганізму групуються по 2-3, кількість хлорофілу *b* значно знижена по відношенню до кількості хлорофілу *a*, пігментами ксантофілового циклу є діадіноксанти та діатоксанти. Вплив етанолу на пігментний склад клітин *E. gracilis* є мало дослідженим, хоча культивування *E. gracilis* в присутності даного субстрату має біотехнологічне значення. Етанол стимулює синтез в клітинах мікроводорості параміону, відомого імуностимулюючого полісахариду, тирозину, який є попередником синтезу вітаміну E, високого вмісту повноцінного білка. Етанол є одним із субстратів, що суттєво стимулюють ріст культури *E. gracilis*, особливо в комбінації з глутаматом і малатом.

Культури клітин *E. gracilis* var. *bacillaris* вирощувались протягом 20 діб у сольовому поживному середовищі (Cramer and Myers, 1953) (контроль), з додаванням 100 мМ етанолу та суміші 100 мМ етанолу з 40 мМ глутамату. Окремі варіанти культур вирощувались за інтенсивності світла 20, 100 та 250 мкмоль/м<sup>2</sup>/с<sup>-1</sup>. Кожні 5 діб спектрофотометрично аналізувався вміст пігментів у клітинах. Пігменти екстрагувались 100 % ацетоном, а розрахунки проводились за формулами Ліхтентайлера (1983).

Результати дослідження показали, що в клітинах, які культивувались в присутності екзогенних субстратів, середній вміст хлорофілів з часом зростав та мав більші значення, ніж в контролі вже на 10 добу, співвідношення хлорофілів *a/b* зростало на 15-20 доби вимірювання, так як і загальний вміст каротиноїдів. Світлозалежне накопичення пігментів також відрізнялось між контролем та міксотрофними культурами, в яких найбільше хлорофілів накопичувалось у варіантах, що росли на світлі 100 мкмоль/м<sup>2</sup>/с<sup>-1</sup>, а вміст каротиноїдів позитивно корелював з інтенсивністю освітлення культур, тоді як в контролі рівномірно знижувалась кількість хлорофілів та каротиноїдів з підвищенням інтенсивності освітлення.

За результатами роботи було зроблено висновок, що додавання етанолу до поживного середовища культур, що ростуть на світлі, сприяє накопиченню пігментів в клітинах, що може сприяти їхній фотосинтетичній активності.

## **КІЛЬКІСНІ ТА ЯКІСНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОШКОДЖЕННЯ ДНК ЗА ПОЄДНАНОГО ВПЛИВУ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ТА РІЗНИХ РЕЖИМІВ ІНГАЛЯЦІЙНОЇ ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ОКСИДІВ АЗОТУ**

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН  
України, Київ  
[imuzalov@mail.ru](mailto:imuzalov@mail.ru)*

**Вступ.** Особливістю сучасних умов життя є поєднана хронічна дія на організм людини несприятливих екологічних факторів різної природи, кожен з яких може посилювати сумарний патогенний ефект. Крім безпосереднього негативного впливу на живі організми, ці фактори викликають віддалені наслідки, що проявляються у вигляді онкологічної патології або, закріпившись генетично, реалізуються в наступних поколіннях.

Одними із найбільш розповсюджених забруднювачів навколишнього середовища є екзогенні оксиди азоту (ОА) та іонізуюче випромінювання (ІВ). Кінцевою мішенню, яка зумовлює реалізацію їх прямих та опосередкованих ефектів, виступає ДНК клітин. У зв'язку з цим метою нашого дослідження було визначити генотоксичний вплив поєднаної дії ОА та ІВ на ДНК лімфоцитів периферичної крові (ЛПК).

**Методи.** Вплив ОА або/та ІВ досліджували на мишах-самцях лінії С57ВL/6 вагою 18-22 г. Інгаляцію ОА здійснювали 14 год/добу, у концентрації 25 мг/м<sup>3</sup> повітря сумарною тривалістю 16 (короткотривала інгаляція, КІ) та 28 діб (довготривала інгаляція, ДІ). Рентгенівське опромінення проводили у режимі 0,1 Гр × 10 фракцій, кожну третю добу. Пошкодження ДНК визначали методом горизонтального гель-електрофорезу ізольованих клітин у лужній та нейтральній модифікаціях.

**Результати.** Показано, що як окрема, так і поєднана дія ОА та ІВ призводила до утворення пошкоджень ДНК двох типів: одониткових (ОР) та двониткових (ДР) розривів.

Опромінення призводило до підвищення рівня ОР ДНК у 2,2 рази, ДР ДНК – у 1,5 рази. Короткотривала дія ОА викликала збільшення кількості ОР ДНК у 2,8 рази. Подовження терміну інгаляції привело до росту цього показника у 3,6 рази. Підвищення кількості ДР ДНК при КІ склало 2,2 рази, при ДІ – 2,9 рази. Подальше зростання генотоксичного ефекту спостерігався за поєднаної дії ОА та ІВ. За КІ рівень ОР ДНК підвищувався у 3,6 рази, ДР ДНК – у 3,4 рази.

В умовах поєднаної дії факторів за ДІ спостерігався максимальний рівень пошкодження ДНК обох типів. Так, рівень ОР ДНК підвищився у 4,6, а ДР ДНК – у 4,3 рази порівняно з контролем.

**Висновок.** Таким чином, як окрема, так і поєднана дія ОА та ІВ викликає пошкодження ДНК різних типів, призводячи до достовірного підвищення рівня генетичної нестабільності. Ефект дії ОА переважає окремий вплив опромінення, а максимальний рівень пошкодження ДНК спостерігається за поєднаної дії обох факторів. Пролонгація впливу ОА призводить до підсилення генотоксичного ефекту в середньому у 1,5 рази. Закріплені в декількох клітинних поколіннях, розриви ДНК (особливо ДР) можуть сприяти розвитку генетичної нестабільності і створювати таким чином передумови для підвищення канцерогенного ризику.

**ВПЛИВ ДЖЕРЕЛ КАРБОНУ, НІТРОГЕНУ ТА СОЛЕЙ МЕТАЛІВ НА  
ПРОДУКТИВНІСТЬ КАРОТИНСИНТЕЗУВАЛЬНИХ ШТАМІВ  
*BACILLUS SUBTILIS* 1.1 ТА *B. AMYLOLIQUEFACIENS* УКМ В-5113**

*Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, Київ  
ne4upura@gmail.com*

У народному господарстві широко використовують каротиноїдні пігменти, які переважно отримують шляхом хімічного та мікробіологічного синтезу. Перевагою останнього є те, що мікроорганізми-продуценти здатні синтезувати широкий спектр каротиноїдів. До того ж варіюванням складу живильного середовища можна досягнути значних змін у рівні накопичення біомаси бактерій, кількісному та якісному вмісті каротиноїдних пігментів. Раніше нами було показано, що штами *Bacillus subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 здатні синтезувати червоні пігменти каротиноїдної природи. Однак вплив складових компонентів живильного середовища на їхній ріст та пігментоутворення залишається недослідженим. З огляду на це метою нашої роботи було дослідити вплив джерел карбону, нітрогену та солей металів на продуктивність вищевказаних каротинсинтезувальних штамів.

Об'єктом дослідження були штами *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 з музею відділу антибіотиків Інституту мікробіології і вірусології. Досліджені штами бактерій вирощували в умовах глибинного культивування на контрольному середовища наступного складу (г/л):  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  – 1,29,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  – 4,75,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 9,60,  $\text{MgSO}_4$  – 0,18, глюкоза – 20,00, а також на середовищах з еквімолярними концентраціями різних джерел карбону, нітрогену та катіонів металів. Екстракцію пігментів проводили з використанням суміші хлороформу та метанолу (2:1). Загальну продуктивність каротиноїдів (мг/л) встановлювали на основі калібрувальних кривих. Для попереднього аналізу якісного складу каротиноїдів у екстракті визначали спектри поглинання у видимій області світла.

Загальна продуктивність каротиноїдів штамами *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 була найбільшою на середовищах з арабінозою, мальтозою,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  та  $\text{FeSO}_4$  і становила 168 та 384 мг/л, 310 та 570 мг/л, 296 та 640 мг/л, 309 та 605 мг/л відповідно. У всіх досліджених варіантах середовищ спектри поглинання каротиноїдів не зміщувалися і були стандартними для штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113. Отримані дані вказують на сталість якісного складу пігментів за умов варіювання складових середовища.

Таким чином, оптимальними для накопичення біомаси та каротиногенезу обох досліджених штамів бактерій роду *Bacillus* серед джерел карбону, нітрогену та катіонів металів були арабіноза, мальтоза,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  та  $\text{FeSO}_4$ . Загальна продуктивність штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 за культивування на середовищах з арабінозою, мальтозою,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  та  $\text{FeSO}_4$ , була більшою ніж на контрольному у 2,1 - 3,9 та 1,6 - 2,7 рази відповідно при незмінному якісному складі пігментів.

Н.А. НІДЯЛКОВА

## ПЕПТИДАЗИ *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *ISRAELENIS* ЗІ СПЕЦИФІЧНІСТЮ ДО КОЛАГЕНУ, ЕЛАСТИНУ І ФІБРИНУ

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ*  
*[Nidialkova@gmail.com](mailto:Nidialkova@gmail.com)*

Пептидази (або протеолітичні ензими) – одна з найбільш численних груп ензимів класу гідролаз, які розщеплюють протеїни до вільних амінокислот. Пептидази знайдені у всіх тваринах і рослинах, а також у мікроорганізмах. Завдяки ним відбувається високоспецифічні та селективні модифікації протеїнів, серед яких згортання крові та лізису згустків фібрину, обробка та транспортування секреторних протеїнів через мембрани. Дослідження мікробних пептидаз посідає значне місце через використання в різних галузях промисловості (харчовій, шкіряній, текстильній, фармацевтичній). В результаті скринінгу серед бактерій, виділених з води Чорного моря в акваторії о. Зміїний, нами було відібрано штам *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* IMB B-7465, який виявляв широкий спектр активностей щодо нерозчинних протеїнів колагену, еластину і фібрину. Метою даної роботи було дослідити динаміку накопичення пептидаз *B. thuringiensis* var. *israelensis* IMB B-7465 з колагеназною, еластазною і фібринолітичною активностями, а також вивчити оптимальні умови дії комплексного ензимного препарату.

Культивування штаму здійснювали на поживному середовищі для синтезу пептидаз (Колтукова, 1980) при 28 °C і постійному помішуванні 250 об/хв. Еластазну активність визначали колориметрично при ензиматичному гідролізі еластину, забарвленого конго червоним (Trombridg, 1972). Визначення фібринолітичної активності проводили за методом (Masada, 2004), використовуючи фібрин. Колагеназну активність визначали методом (Mandl, 1970), використовуючи колаген.

Показано, що максимальний синтез пептидаз *B. thuringiensis* var. *israelensis* IMB B-7465 з колагеназною, еластазною і фібринолітичної активністю спостерігається в експоненційній фазі росту культури на 24 год інкубування. Комплексний ензимний препарат було отриманий шляхом концентрування супернатанту культуральної рідини сульфатом амонію до 90 % насичення. Питома колагеназна, еластазна і фібринолітична активність препарату складала 56, 84 і 7 од/мг білка відповідно. Визначення рН- і термооптимуму гідролізу досліджуваних білків показало, що максимальне розщеплення колагену і фібрину відбувається при рН 8,0 і температурі 45 °C, а еластину – при рН 9,0 і 45 °C. Стабільність препарату зберігалась протягом 2 год при рН 7,0-9,0 і температурі до 50 °C. При 60 °C залишалось близько 40 % від початкової активності.

Таким чином, показано, що комплексний ензимний препарат *B. thuringiensis* var. *israelensis* IMB B-7465 з колагеназною, еластазною і фібринолітичною активністю має оптимальні умови дії при лужних значеннях рН і підвищеній температурі, що дає можливість застосування в шкіряній промисловості та в складі миючих засобів для видалення білкових забруднень.

## **ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НА ФОНІ АЛІМЕНТАРНОЇ НЕСТАЧІ ПРОТЕЇНУ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,  
Інститут біології, хімії та біоресурсів, Чернівці  
[romanfromukrain@gmail.com](mailto:romanfromukrain@gmail.com)*

Синдром ендогенної інтоксикації (ЕІ) – складний багатокомпонентний процес, зумовлений накопиченням у тканинах та біологічних рідинах ендотоксинів – продуктів метаболізму в аномально високих концентраціях, медіаторів запалення, екзотоксинів, продуктів клітинної та білкової деградації. Ступінь вираженості ендотоксемії відображає порушення рівноваги між утворенням токсичних субстанцій в організмі та функціонуванням систем їх трансформації та елімінації. Для об'єктивної оцінки наявності ЕІ використовують визначення речовин низької та середньої молекулярної маси (РНіСММ), вміст яких, насамперед, відображає рівень патологічного білкового метаболізму та корелює з основними прогностичними критеріями обмінних порушень.

З метою дослідження динаміки показників ендогенної інтоксикації за умов аліментарної нестачі протеїну щурів протягом 28 днів утримували на напівсинтетичній низькопротеїновій дієті. Гостре токсичне ураження моделювали шляхом введення *per os* ацетамінофену у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю з розрахунку 1250 мг/кг (0,5 LD<sub>50</sub>) маси тварини протягом 2 діб. Синдром ЕІ оцінювали шляхом реєстрації вмісту та спектральних характеристик РНіСММ в діапазоні 238-300 нм екстракційно-спектрофотометричним методом.

Показано, що в групі щурів, які перебували на низькопротеїновій дієті, вміст РНіСММ в плазмі крові та еритроцитах статистично не відрізняється від показників контрольної групи тварин, проте розподіл цих речовин за спектрами поглинання суттєво змінюється. За умов споживання повноцінного раціону спектрограми розподілу РНіСММ в плазмі крові та еритроцитах відповідають профілю анаболічних інтермедіатів, зокрема фосфорильованих похідних цитидину, що виступають коферментами в реакціях синтезу гліцерофосфоліпідів, при білковій недостатності виражене зростання екстинкцій при 262-290 нм вказує на утворення сполук катаболічного пулу – вільних амінокислот, сечовини, креатиніну. Водночас зрушення максимуму кривої (238 нм) внаслідок зростання концентрації РНіСММ в еритроцитах характерні для компенсаційної фази ендогенної інтоксикації, при якій токсичний вплив компенсується адсорбцією метаболітів, утворених в катаболічних реакціях мембранами еритроцитів. Водночас, спектрограми розподілу РНіСММ в плазмі крові та еритроцитах тварин, яким вводили ацетамінофен та індукували токсичне ураження на фоні аліментарної нестачі білка, є атиповими. Відмічено, що піки спектрограм відповідають появі речовин катаболічного походження, білкових аддуктів, ксенобіотиків, деструктивних продуктів тканин, що свідчить про розвиток загальнотоксичної фази ЕІ.

Отже, токсичне ураження на фоні аліментарної нестачі білка супроводжується активацією катаболічних процесів зі збільшенням вмісту ендотоксинів в еритроцитах та плазмі крові, що призводить до розвитку синдрому ендогенної інтоксикації.

*T.V. NIKOLAIENKO, L.V. GARMANCHUK, D.V. SHELEST, N.A. PETRUK, Yu.A. STUPAK,  
A.S. PETREEVA*

## **THE INHIBITORY EFFECT OF EGF ON THE ANGIOGENIC POTENTIAL OF TUMOR CELLS**

*ESC "Institute of Biology", Taras Shevchenko National University of Kyiv  
[nikolaenkotetiana@yandex.ua](mailto:nikolaenkotetiana@yandex.ua)*

Angiogenesis is a complex and multifactorial process which normally is strictly determined and controlled by a whole set of biologically active molecules, the cornerstone of which are the main proangiogenic cytokines – vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor (EGF). Normally, in adults VEGF production is restricted to a limited number of tissues, such as ovaries, areas of active hair growth, as well as at sites of wound reparation, while EGF is expressed in most normal tissues. During malignant growth, a number of papers report elevated expression of both polypeptides by various tumor cells and mutual influence of VEGF and EGF. VEGF is known to be a key factor in tumor angiogenesis, while the effect of EGF in angiogenesis is largely determined by the involvement of its specific receptor (EGFR). The expression of this receptor in most epithelial cells correlates with progressive tumor growth and unfavorable prognosis. Therefore the aim of this study was to investigate the effect of exogenous EGF on VEGF expression and production in different tumor cells.

We used Lewis lung carcinoma (LLC) cells and Hela as experimental cell models. This cell lines were incubated in RPMI medium supplemented with 10% FBS, 2mM L-glutamine and 40 mg/ml gentamicin at the standard conditions at 37°C in humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. VEGF concentration in the medium was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using mouse VEGF kits. The level of VEGF production was recalculated per cell and represented in relative units according to the following manufacturer's instructions.

It is shown that the influence of EGF on VEGF production by the LLC and Hela tumor cell was found to depend dramatically on cell variant, EGF concentration, and the duration of cell incubation in the presence of this factor. Therefore, our results suggest that alterations in VEGF production upon exposure to exogenous EGF were not monotonous in LLC. The EGF influence on VEGF production is dependent on concentration. Under the incubation of LLC with EGF concentration 0.008 and 0.031 µg/ml, the VEGF production was decrease on 80,2±2,7 % and 74,4±2,3 % (p<0,05) of the control, respectively. Thus, under low EGF concentration, a significant decrease of VEGF production was registered on the second day of incubation compared to the first day in LLC cell line. In addition, we have observed reduced expression of VEGF on cell lines Hela.

In our experiment, instead, the decrease of the VEGF level in cell incubation medium in the presence of exogenous EGF may have been caused by the VEGF involvement into the autocrine proliferation regulation loop of tumor cells.

*М.Б. ОЛЕКСИН, Х.Ю. ПАРЦЕЙ, Н.І. ЛИТВИНЮК, З.О. СЛОБОДЯН, Г.М. ЕРСТЕНЮК*

## **ПОКАЗНИКИ МЕТАБОЛІЗМУ МІДІ ТА ЗАЛІЗА У ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ЕНЕРГЕТИЧНИХ НАПОЇВ**

*ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Івано-Франківськ  
[Miroslava.oleksin@mail.ru](mailto:Miroslava.oleksin@mail.ru)*

Енергетичні напої належать до групи безалкогольних напоїв, у складі яких є кофеїн, вітаміни і легко засвоювані вуглеводи. З літературних джерел відомо про тонізуючий вплив таких напоїв на організм людини. Однак на сьогоднішній день недостатньо вивчено їхній вплив на метаболічні процеси. Оскільки важлива роль в регуляції обміну речовин належить ферментам та мікроелементам, актуальним є дослідження активності церулоплазміну та насиченості трансферину залізом у експериментальних тварин за умов споживання енергонапоїв.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведені на білих лабораторних щурах лінії Вістар. Піддослідні тварини були розділені на дві групи: 1-а – самці, які отримували питну воду (контрольна група), 2-а – самці, які отримували енергетичний напій протягом місяця. Забір матеріалу проводили під легким тіопенталовим наркозом на 31-у добу експерименту. Насиченість трансферину плазми крові залізом та визначення активності церулоплазміну проводили за методом Бабенко Г.О. Визначення рівня мікроелементів у крові проводили атомно-адсорбційним методом за допомогою приладу “С-115ПК”. Одержані цифрові дані статистично обраховували за допомогою програми Microsoft Excel.

**Результати дослідження.** Проведені дослідження дозволили встановити зниження показника насиченості трансферину залізом у плазмі крові дослідних тварин на 43,4 % у порівнянні з контрольною групою. Одночасно знижувався вміст заліза в еритроцитах на 10,7 % в порівнянні з інтактними тваринами. Активність церулоплазміну незначною мірою була знижена на 5%, в той час як рівень міді – на 19,4 % в порівнянні з контрольними тваринами.

**Висновок.** Отримані результати засвідчують, що у тварин за умов споживання енергонапоїв спостерігається зниження рівня есенціальних мікроелементів – заліза та міді, порушення насиченості трансферину залізом та активності церулоплазміну, що зумовлює необхідність подальшого дослідження метаболічних процесів, які перебувають під контролем цих мікроелементів.

*О.С. ПАВЛОВА, А.О. ТИХОМИРОВ*

## **ЗМІНИ РІВНЯ ТІАМІНПІРОФОСФОКІНАЗИ ТА СТАН АСТРОГЛІЇ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОГО В<sub>1</sub>-ДЕФІЦИТУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ  
[aspavlova92@gmail.com](mailto:aspavlova92@gmail.com)*

Медичні спостереження та експериментальні дослідження свідчать, що природний чи експериментальний дефіцит тіаміну (TD) незмінно супроводжується нейродегенеративними змінами в клітинах як в центральній, так і в периферичній нервовій системі. Дослідження стану протеїнів нервової тканини за умов TD є важливим етапом у визначенні механізмів розвитку нейродегенеративних процесів. Ключовим ензимом обміну тіаміну є тіамінпірофосфокіназа (ТПК, КФ 2.7.6.2), яка фосфорилує тіамін до його коферментної форми – тіаміндифосфату (ТДФ). Відомо, що астроцити є найбільш чутливими до нестачі тіаміну клітинами ЦНС. Пригнічення метаболічної активності клітин астроглії відбивається на їх здатності синтезувати гліальний фібрилярний кислий протеїн (ГФКП), який є головним компонентом проміжних філаментів їх цитоскелету, і використовується в якості маркера функціональної активності астроцитів. Отже, метою даної роботи було визначити зміни вмісту ТПК та оцінити стан астроглії головного мозку щурів за аліментарного TD та його корекції.

Модель аліментарного дефіциту було створено з використанням дієти Gubler. Термін дієти складав чотири тижня. Щурам з парнокормленого контролю тіамін вводився перорально (10 мкг/день). За добу до декапітації частині щурів було введено тіамін відповідно до добової норми. Кількість щурів у групах складала  $n=3-4$ . Рівень ТПК і ГФКП у різних відділах головного мозку тварин (кора великих півкуль, мозочок, гіпокамп) було досліджено методом імуноблоттингу. Результати візуалізували за допомогою набору ECL. Сигнал фіксували за допомогою рентгенівської плівки.

Було показано, що за TD відбувається зростання рівня ТПК у корі в 1,5 рази, у мозочку майже в 2 та в гіпокампі в 1,2 рази відносно контролю ( $p<0,05$ ). У щурів з TD спостерігалось зменшення рівня ГФКП в усіх досліджуваних відділах мозку, у середньому, до 60% від контрольного значення. Додавання тіаміну призвело до різкого зростання рівню ТПК у корі, мозочку та гіпокампі (у 2,1, 3,1 та 1,9 разів відповідно). Збільшення рівню ензиму супроводжувалося частковим відновленням астроцитарного маркера, який у різних відділах становив 80 % від контрольного значення. На нашу думку, результати роботи вказують на можливість тіамін-залежної регуляції синтезу ТПК у нервових клітинах. Ймовірно також, що нормалізація тіамінзалежних процесів при введенні тіаміну тваринам з TD сприяє відновленню метаболічної активності клітин астроглії, яка має важливе значення для реалізації її нейропротекторної функції.

**NITROGEN REACTIVE SPECIES AS A SELECTIVE MARKER OF ALLERGIC INFLAMMATION***<sup>1</sup>Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv**<sup>2</sup>National Technical University of Ukraine «Kyiv Polytechnic Institute», Kyiv  
[lenaparilov@yandex.ua](mailto:lenaparilov@yandex.ua)*

There are increasing observations of an important immunoregulatory role of NO in the development of the adaptive immune responses associated with allergic diseases. Simultaneously NO has received a tremendous amount of attention as a selective pulmonary disorder marker. In the current study, we provided evidence of iNOS overexpression and NO overproduction under the chronic ovalbumin-induced asthma and considered the elaborated sensor approach to assess airway NO generation.

Guinea pigs were randomly assigned to: intact group (*normal*); ovalbumin (OVA) sensitized animals (*OVA/0,9%NaCl*); OVA challenged group (*0,9 % NaCl/OVA*); OVA-induced asthma group (*OVA/OVA*). Outbred male guinea pigs were actively sensitised (100 µg OVA and 10 mg Al(OH)<sub>3</sub>, *i.p.*) and reinforced 4 days after. Animals were challenged once weekly for 12 times by consecutive inhalations of increasing OVA concentrations (0,05; 0,1; 0,3 and 0,5 %w/v). No antihistaminic agent was used to prevent the development of anaphylactic shock. Since IL-4 evokes switch for IgE, IgG1 and Th2 cell differentiation, sensitization to allergen (*OVA/0,9 % NaCl*) was indicated with 4,5-fold growth of plasma IL-4 content compared with *normal* ( $p(U)<0,05$ ). IL-13 values attained 1,5-fold increase in *OVA/OVA* and *0,9 % NaCl/OVA* groups versus *normal* ( $p(U)<0,05$ ). IL-13 lung level correlated with lung tissue histology, that defined mucus hypersecretion by goblet cells and mucous glands, basement membrane thickening in *0,9 %NaCl/OVA*, and acute obstructive emphysema, sclerosis of interalveolar walls, fibrosis in *OVA/OVA*. The dynamics of NO metabolism under the chronic allergic asthma revealed, that iNOS lung content using antibodies increased markedly in 2,4- and 2,65-fold among *OVA/OVA* and *0,9 %NaCl/OVA* groups respectively versus *normal* ( $p(U)<0,05$ ). OVA multiple challenge procedures resulted in 2,4-fold and 2,3-fold rises of intracellular NO in the immune cells infiltrating airway of *OVA/OVA* and *0,9 % NaCl/OVA* groups versus *OVA/0,9 % NaCl* ( $p(U)<0,05$ ).

Considering an important role of NO in asthma, the experimental model of the device consisting of electrochemical gas sensor type NO<sub>2</sub>-B4 (Alphasense) and Triton 6000U data acquisition system with measurement accuracy  $\pm 10E-6$  V was developed. Because NO has a short half-life in an unbound state due to one unpaired electron, we assert that measuring NO<sub>2</sub> reflects the endogenous NO concentration produced in the lungs. Baseline sensor output signal and typical charts as a function of NO<sub>2</sub> concentration were recoded. The obtained data give an incentive for further studies.

*Х.Ю. ПАРЦЕЙ, М.Б. ОЛЕКСИН, Н.І. ЛИТВИНЮК, З.О. СЛОБОДЯН, Г.М. ЕРСТЕНЮК*

## **ПОКАЗНИКИ ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ЕНЕРГЕТИЧНИХ НАПОЇВ**

*ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Івано-Франківськ  
[moisejvahrustuna@inbox.ru](mailto:moisejvahrustuna@inbox.ru)*

Дискусія стосовно користі чи шкоди енергетичних напоїв показує на недостатність інформації про вплив таких продуктів на організм людини. З інформаційних джерел відомо про неоднозначний вплив таких напоїв на серцево-судинну та нервову систему, шлунково-кишковий тракт тощо. Для характеристики адаптаційної реакції організму щодо впливу ксенобіотиків використовують показники прооксидантної системи та антиоксидантного захисту. Метою даного дослідження було вивчення ступеня пошкодження білкових молекул за рівнем накопичення продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) та стану ферментативної антиоксидантної системи за активністю ферменту церулоплазміну (ЦП).

**Матеріали і методи.** Дослідження було проведено на білих лабораторних щурах лінії Вістар, які перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Піддослідні тварини були розділені на дві групи: 1-а група – самці, які отримували енергетичний напій протягом місяця; 2-а група – самці, які отримували питну воду (контрольна група). Визначення активності церулоплазміну проводили за методом Бабенка Г.О. Окисну модифікацію білків у сироватці крові щурів досліджували за методикою Е.Е. Дубініної і співавт. Оптичну густину реєстрували на Specord M-40 при довжинах хвилі 356 нм і 370 нм (альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру) та 430 нм і 530 нм (альдегідо- і кетопохідні основного характеру). Всі досліди на тваринах проводили з дотримання вимог Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986) Одержані цифрові дані статистично обраховували за допомогою програми Microsoft Excel.

**Результати дослідження.** У результаті проведених досліджень нами встановлено, що в сироватці крові щурів, які споживали енергетичний напій, накопичувались продукти пероксидації білків. Зокрема, на 14,75 % зростав рівень альдегідопохідних нейтрального характеру, на 8,3 % – вміст кетопохідних нейтрального та альдегідопохідних основного характеру. Найбільшим високим був рівень кетопохідних основного характеру – він зростав на 71 % порівняно з контрольною групою тварин. Визначення активності ЦП як потужного антиоксиданта показало незначне зниження його активності – на 5 % порівняно з інтактними тваринами.

**Висновок.** Отримані результати вказують на розвиток оксидативного стресу в організмі експериментальних тварин за умов споживання енергонапоїв, з іншого боку – незначні порушення з боку антиоксидантного захисту зумовлюють необхідність поглибленого дослідження впливу енергетичних напоїв на антиоксидантну систему.

**ВПЛИВ ВУГЛЕВОДНОГО КОМПОНЕНТА НА ІМУНОГЕННІСТЬ  
РЕКОМБІНАНТНОГО ФРАГМЕНТУ  $\alpha 7(1-208)$  НІКОТИНОВОГО  
АЦЕТИЛХОЛІНОВОГО РЕЦЕПТОРУ, НА ВЛАСТИВОСТІ ОДЕРЖАНИХ АНТИТІЛ  
І ЇХ ЕФЕКТИ В МОЗКУ**

<sup>1</sup>*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ*

<sup>2</sup>*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ  
[daria-past@ukr.net](mailto:daria-past@ukr.net)*

Нікотинові ацетилхолінові рецептори (nAChR) регулюють вивільнення нейромедіаторів в мозку, впливаючи на пам'ять і когнітивні процеси. Зниження  $\alpha 7$  субтипу nAChR в мозку супроводжує розвиток нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера. Раніше було показано, що антитіла, утворені проти рекомбінантного позаклітинного фрагменту  $\alpha 7(1-208)$  nAChR, проникали в мозок мишей за умов запалення, викликаючи зниження рівня  $\alpha 7$  nAChR, накопичення пептиду (1-42)  $\beta$ -амілоїду, погіршення епізодичної пам'яті. Подібний ефект викликали також регулярні ін'єкції бактеріального ліпополісахариду (ЛПС). Оскільки рекомбінантний  $\alpha 7(1-208)$  містить вуглеводну компоненту, не можна було виключити, що вона є причиною запально-подібного ефекту при введенні цього фрагменту тваринам. Ми порівняли імунну відповідь і ефекти імунізації мишей глікозилюваною (глік) та деглікозилюваною за допомогою ендоглікозидази (деглік) формами  $\alpha 7(1-208)$ .

За даними імуноблотингу з  $\alpha 7(1-208)$ -специфічними антитілами, глік-форма була представлена агрегатами з молекулярною масою 35-70 кДа, а деглік-форма – близько 27 кДа, що відповідає протеїновій масі фрагменту  $\alpha 7(1-208)$ . За даними лектин-ІФА, вуглеводні залишки глік-форми представлені переважно фукозою і манозою та невеликою кількістю сіалових кислот, N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозаміна і  $\beta$ -D-галактози. Деглік-форма містила лише залишки манози.

Мишей лінії C57Bl/6J імунізували глік/деглік-формою  $\alpha 7(1-208)$  двічі з інтервалом у 3 тижні; кров брали з хвостової вени кожні 5 днів; кількість/специфічність антитіл визначали методом сорбційного ІФА. Показано, що глік-форма  $\alpha 7(1-208)$  викликала більш швидку і потужну первинну (IgM) імунну відповідь, ніж деглік-форма; у вторинній IgG-відповіді ця різниця була менш вираженою. При цьому антитіла розрізняли глік та деглік-форми антигену. Оцінка епітопної специфічності антитіл, з використанням коротких пептидів  $\alpha 7(1-208)$ , дозволила зробити висновок, що глік і деглік-форми  $\alpha 7(1-208)$  процесуються, презентуються і розпізнаються імунною системою миші по-різному, завдяки стану агрегації та глікозилюванню антигену. Хоча антитіла утворюються проти однакових епітопів протеїну, однак з різною ефективністю.

Через півтора місяці від початку імунізацій методом сандвіч-ІФА було досліджено кількість  $\alpha 7$ nAChR та продуктів процесингу бета-амілоїду ( $A\beta$ ) у мозку мишей: імунізація і глік, і деглік-формами  $\alpha 7(1-208)$  призводила до зниження кількості цього субтипу в лізаті мозку; ні повний ад'ювант Фрейнда, ні ЛПС не викликали такого зниження. В мозку імунізованих та ЛПС-ін'єктованих мишей спостерігали накопичення аберантно-процесованого  $A\beta(1-42)$ ; кількість  $A\beta(1-40)$  зменшувалась переважно після імунізації деглік-формою антигену.

Отримані дані продемонстрували, що вуглеводна компонента рекомбінантного  $\alpha 7(1-208)$  є критичною для специфічності антитіл до пептидних епітопів, але не впливає на ефекти  $\alpha 7(1-208)$ -специфічних антитіл в мозку імунізованих мишей.

**LIPIDS DYNAMICS IN PLASMA MEMBRANE ON LIVE AND APOPTOTIC CELLS**

*O.V. Palladin Institute of biochemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv  
[pyrshevka@gmail.com](mailto:pyrshevka@gmail.com)*

Plasma membrane is one of the central organelles on different signaling or regulation processes in living cells (Mohandas and Gallagher, 2008; Simons and Toomre, 2000). Lipid domains, defined as liquid-ordered phase enriched in cholesterol, sphingomyelin, and glycosphingolipids, can be observed in model lipid membranes and plasma membrane vesicles as “rafts” floating in a sea of loosely packed phase enriched in unsaturated phospholipids, the so-called liquid disordered (fluid) phase (Simons and Ehehalt, 2002). Despite the significant progress in this field, the role and the way of plasma membrane lipid domains’ redistribution on programmed cell death are still debated, as the direct observation of separated lipid phases in living cells remains a challenge (Munro, 2003; Truong-Quang and Lenne, 2014).

The aim of this research was to compare some properties of the plasma membrane of nucleated cells and erythrocytes on suicidal cell death.

Cellular studies were performed to characterize the lipid order changes induced by programmed cell death in outer plasma membrane leaflet of erythrocytes in comparison with that of nucleated cells. The cells were characterized with common approaches to detect phosphatidylserine-exposed cells,  $\text{Ca}^{2+}$  levels, cell size etc. Environment-sensitive probes (Kreder et al., 2015; Kreder et al., 2015) were applied for lipid order characterization. Binding kinetics followed from the fluorescence intensity of the environment sensitive plasma membrane probes was measured to characterize lipid domains’ properties in cells. The affinity of the probes to the plasma membrane was similar in both nucleated cells and erythrocytes, suggesting the similarity of the lipid domains’ distribution in living cells. However, in contrast to nucleated cells the programmed cell death did not influence on general lipid redistribution in erythrocytes. The new FRET-based approach for detection of the local changes in viscosity of the outer plasma membrane leaflet showed strong increase of the lipid composition density. The microscopy data of erythrocytes showed the increase of FRET efficiency the regions of blebs formation, suggesting the presence of lipid disorder domains in strongly curved parts of outer plasma membrane leaflet. In contrast to erythrocytes HeLa cells showed strong decrease of the viscosity in outer plasma membrane leaflet with higher values in regions of bleb formation. So, the lipid redistribution during programmed cell death of erythrocytes is much less pronounced. Current experiments suggest that the strong decrease of the cell volume with the stable plasma membrane surface area result in suppress of the passive and active flip-flop leading to the rigid lipid dynamics and low hydration effects in outer leaflet of the plasma membrane.

В.Л. ПОНОМАРЕВА

## **КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД ХРАНЕНИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ**

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков  
[viktoria-may@mail.ru](mailto:viktoria-may@mail.ru)*

**Вступление.** Общеизвестным методом долгосрочного хранения микроорганизмов, используемых в биотехнологии, является криоконсервация. Однако для ряда микроорганизмов в процессе криоконсервирования существует вероятность частичной утраты жизнеспособности и нарушения функциональных свойств клеток. Поэтому разработка эффективных методов криоконсервирования и в настоящее время представляет интерес как с теоретической, так и практической точек зрения.

Целью работы было изучение влияния условий криоконсервирования на сохранность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, иммобилизованных в гранулах альгината натрия.

**Методы.** Образцы замораживали со скоростями: 1; 5; 10 и 15 °C/мин до -40°C с последующим погружением в жидкий азот. Часть образцов замораживали прямым погружением в жидкий азот. Жизнеспособность дрожжей оценивали по способности к формированию макроколоний и дыхательной активности с помощью ТТС-теста. Подготовку образцов к анализу жидкостной хроматографии для определения внутриклеточного содержания трегалозы проводили по методу, описанному в работе Т. Nakamura.

**Результаты.** Анализируя результаты исследований, следует отметить, что в процессе замораживания иммобилизованные клетки имели высокие показатели жизнеспособности при медленных ( $96,6 \pm 0,4$  %;  $93,1 \pm 1,0$  %) и средних ( $82,5 \pm 1,63$  %;  $56,1 \pm 0,7$  %) скоростях охлаждения. В ходе исследования было показано, что использование этих режимов охлаждения обеспечивает не только на достаточно высоком уровне жизнеспособность клеток, но и сохранность генетически детерминированных биологических свойств данного вида дрожжей, что является основополагающим условием при разработке каждого нового протокола криоконсервирования. При высоких скоростях охлаждения (погружением в жидкий азот) происходило разрушение структуры гелевой матрицы, что являлось причиной дополнительной гибели значительного количества клеток ( $0,59 \pm 0,01$  %). Однако, в ходе дальнейшего исследования было показано, что индукция повышенного внутриклеточного содержания трегалозы предварительным термостатированием клеток при температуре 40 °C, обеспечивает повышение количества жизнеспособных клеток при всех режимах охлаждения. В частности, после замораживания иммобилизованных клеток погружением в жидкий азот этот показатель увеличивался в 30 раз. Таким образом, этот метод позволяет достичь высокой степени сохранности клеток дрожжей без использования криопротекторов, прогнозировать криорезистентность биологических объектов на этапах культивирования, открывает новые перспективы консервации биоматериалов как для научных исследований, так и для практического использования.

**Выводы.** Анализируя результаты проведенных исследований, следует отметить, что иммобилизация клеток в полисахаридных гелях дает возможность сохранения жизнеспособности и биологических свойств клеток на достаточно высоком уровне. Данный метод криоконсервации сводит к минимуму отрицательное воздействие физико-химических факторов на клетки в процессе замораживания, возникновение некоторых из них удается полностью избежать за счет изменения в нужном направлении скорости образования кристаллов льда и характера кристаллизации.

*А.І. ПРИСЯЖНЮК, Н.В. ДЗЮБЕНКО, В.В. КЕРНИЧНИЙ, Г.М. ТОЛСТАНОВА*

## **СТАН ДОФАМІНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ ТОВСТОЇ КИШКИ ПАЦІЄНТІВ З РЕЦИДИВУЮЧИМ ВИРАЗКОВИМ КОЛІТОМ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології"  
[alona.prysiazhniuk@gmail.com](mailto:alona.prysiazhniuk@gmail.com)*

**Вступ.** Виразковий коліт є хронічним запальним захворюванням кишечника невизначеної етіології. Нами було продемонстровано зменшення ризику виникнення виразкового коліту у пацієнтів з шизофренією, для яких характерна гіперактивність дофамінергічної системи (Tolstanova et al., 2010). Метою даної роботи була перевірка гіпотези про порушення стану дофамінергічної нервової системи, а саме рівня тирозин гідроксилази (ТН), дофамінового транспортеру (DAT), D2 та D3 дофамінових рецепторів в слизовій оболонці товстої кишки пацієнтів з хронічним виразковим колітом.

**Методи.** В роботі був використаний біопсійний матеріал запалених ділянок товстої кишки пацієнтів з хронічним рецидивуючим виразковим колітом (n=7), який порівнювали зі зразками неуражених ділянок товстої кишки пацієнтів оперованих на рак товстої кишки (n=7). Біопсійний матеріал був отриманий з архіву проктологічного відділення Хмельницької обласної лікарні. Локалізація та рівень ТН (фермент, який лімітує синтез дофаміну), DAT, D2 та D3 дофамінових рецепторів визначали імуногістохімічним методом на парафінових блоках, з використанням специфічних первинних антитіл.

**Результати.** Встановлено, що в здоровій слизовій оболонці товстої кишки DAT, D2R, D3R та ТН локалізовані на апікальній мембрані колоноцитів та базальній мембрані келихоподібних клітин. Розвиток запалення при виразковому коліті характеризувався зниженням на 25 % рівня D2R та D3R та на 75 % рівня ТН. Більш виразні зміни рівня зазначених протеїнів спостерігалися в колоноцитах. Хронічне запалення слизової оболонки кишечника не призводило до змін в локалізації та рівні дофамінового транспортеру DAT.

**Висновки.** Рецидивуючий виразковий коліт асоційований зі зниженням синтезу дофаміну та експресії D2R та D3R в слизовій оболонці кишечника. Відновлення дофамінергічної системи може бути новою молекулярною мішенню у терапії виразкового коліту.

**ПОХІДНІ ПІРИДИН-3-КАРБОНІТРИЛІВ ЯК НОВІ ІНГІБІТОРИ ПРОТЕЇНКІНАЗИ FGFR1**<sup>1</sup>*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ*<sup>2</sup>*Луганський національний університет імені Тараса Шевченка, Луганськ*<sup>3</sup>*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ**[mykola.protopopov@gmail.com](mailto:mykola.protopopov@gmail.com)*

Кіназа рецептора фактора росту фібробластів 1 (FGFR1) належить до родини рецепторних тирозинових протеїнкіназ (РТК). Активність протеїнкінази FGFR1 є ключовою для низки процесів, таких як міграція, диференціювання та проліферація клітин. Порушення експресії гену *FGFR1* або зміна активності цієї протеїнкінази викликає ряд патологій: ревматоїдний артрит, утворення пухлин, діабетичну ретинопатію та судинні проліферативні захворювання, зокрема атеросклероз.

Підвищення активності FGFR1 разом із іншими кіназами РТК (VEGFR і EGFR) забезпечує процес неоваскуляризації пухлинної тканини, що зумовлює ріст солідних пухлин. Блокування онкоангіогенезу призводить до зупинки росту пухлини та некрозу. Таким чином, одним із підходів лікування солідних пухлин є пригнічення онкогенного неоваскулогенезу через інгібування РТК, зокрема FGFR1. З огляду на це, останнім часом проводиться інтенсивний пошук інгібіторів РТК для застосування їх як протипухлинних препаратів.

Метою цієї роботи був пошук нових класів інгібіторів протеїнкінази FGFR1 за допомогою сучасних методів комп'ютерного моделювання та біохімічного тестування.

Для пошуку інгібіторів протеїнкінази FGFR1 було проведено рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг бібліотеки низькомолекулярних органічних сполук, що налічувала 1257 речовин. Для біохімічного тестування було відібрано 12 сполук із найкращими показниками енергії зв'язування комплексів «рецептор-ліганд». Відібрані сполуки були протестовані при їхній концентрації в реакційній суміші – 33 мкМ. В результаті біохімічного тестування було знайдено три активні сполуки: 2-((2-(4-хлорофеніл)-2-оксоетил)тіо)-4-(4-гідроксифеніл)-6,7-дигідро-5Н-циклопента[b]піридин-3-карбонітрил, 2,2'-(етан-1,2-діілбіс(сульфандиіл))біс(5-ацетил-6-метилнікотинонітрил) та 2-аміно-6-((2-(4-бутилфеніл)-2-оксоетил)тіо)-4-(тіофен-2-іл)піридин-3,5-карбонітрил. Активні сполуки пригнічували активність FGFR1 зі значенням IC<sub>50</sub> 1,58 мкМ, 4 мкМ та 6,9 мкМ. За даними комп'ютерного моделювання, досліджувані сполуки мали подібний механізм зв'язування з активним центром протеїнкінази – утворювали водневі зв'язки з шарнірним районом протеїнкінази, гідрофобні зв'язки в аденін-зв'язувальній ділянці та водневі, електростатичні і гідрофобні взаємодії з ключовими амінокислотними залишками фосфат-зв'язувального регіону.

Таким чином, у результаті виконання роботи знайдено новий клас інгібіторів протеїнкінази FGFR1 серед похідних піридин-3-карбонітрилів. Структури цих сполук можуть бути використані для подальшої оптимізації з метою покращення активності, селективності та фізико-хімічних параметрів.

М.В. САБАДАШКА, Н.О. СИБІРНА

## **ПРИРОДНИЙ ПОЛІФЕНОЛЬНИЙ КОМПЛЕКС З ВИНОГРАДНОГО ВИНА ВОЛОДІЄ ПРОТЕКТОРНОЮ ДІЄЮ ЗА РАДІОІНДУКОВАНОГО НІТРАТИВНОГО СТРЕСУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів*  
*[m.sabadashka@meta.ua](mailto:m.sabadashka@meta.ua)*

**Вступ.** Радіоіндуковані ефекти у клітинах імунної системи є об'єктом досліджень протягом багатьох десятиліть, адже відомо, що запальний процес, який розвивається після дії високих доз випромінювання, опосередковує ушкодження всіх клітин та тканин організму. Проте малі та низькоінтенсивні дози можуть мати протизапальні властивості, позаяк по-іншому впливають на фагоцитоз, продукцію антигенів, цитокінів і вільних радикалів, активність NOS та, відповідно, продукцію оксиду нітрогену (NO). Метою роботи було дослідити вплив концентрату природного поліфенольного комплексу з виноградною вина (ПК) на систему L-аргінін / NO за дії малих доз випромінювання.

**Методи дослідження.** У лейкоцитах периферичної крові мікропланшетним методом визначали активність NO-синтази (NOS) (Dawson and Knowles, 1998), вміст стабільних метаболітів NO (Miranda *et al.*, 2001) та методом вестерн-блоту – вміст 3'-нітротирозин-модифікованих протеїнів.

Концентрат ПК отримували упарюванням червоного виноградною вина «Каберне» сорту Совіньйон та вводили тваринам *per os* з питною водою з розрахунку щодобової дози у перерахунку на вміст поліфенольних сполук – 12,5 мг на 1 кг маси тіла за 10 діб до та впродовж семи діб експерименту.

Щурів одноразово опромінювали у дозах 10 та 30 сГр і на 24, 48, 72 та 168 години після дії радіації проводили відбір зразків.

**Результати.** Встановлено зростання активності NOS в імунокомпетентних клітинах лише на 24 год після опромінювання у дозі 10 сГр, тоді як після впливу вищої дози радіації показано більш різкі зміни цього показника: зниження на 24 год, наступне зростання з максимальними значеннями на 72 год. Введення концентрату ПК спричиняло нормалізацію активності NOS у лейкоцитах тварин, яких піддавали дії випромінювання у дозах 10 та 30 сГр. Вміст стабільних метаболітів NO зростав після впливу обох доз випромінювання, а у разі споживання концентрату ПК цей показник був у межах норми вже на сьому добу експерименту. Аналізуючи вміст 3'-нітротирозин-модифікованих протеїнів у лейкоцитах, відмічено його підвищення за впливу малих доз радіації. Після опромінювання за умов споживання тваринами концентрату ПК, вміст протеїнів, модифікованих нітруванням за залишками тирозину, повертався до контрольних значень.

**Висновки.** Отже, концентрат ПК інгібуючи активність NOS зумовлює зниження індукованої іонізуючим випромінюванням продукції NO у лейкоцитах, що у свою чергу пригнічує нітрування протеїнів. Це свідчить про здатність компонентів досліджуваного концентрату шляхом пригнічення нітративного стресу в ранній пострадіаційний період позитивно коригувати стан клітин імунної системи організму, опроміненого малими дозами радіації.

**ОКСИДАТИВНО-НІТРАТИВНИЙ СТРЕС У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ ЦИТРАТОМ ХРОМУ**

*Інститут біології тварин НААН, Львів  
[rudasliva@ukr.net](mailto:rudasliwa@ukr.net)*

**Вступ.** Основним механізмом оксидативно-нітративного стресу, що лежить в основі виникнення і розвитку діабету, є порушення в електронтранспортному ланцюзі мітохондрій. Зростання вмісту супероксид-аніону за умов гіперглікемії, а також здатність його при взаємодії з NO утворювати цитотоксичний пероксинітрит, призводить до множинних патологічних змін у функціонуванні сигнальних і метаболічних шляхів, до порушень гомеостазу клітин і органів за умов цукрового діабету. Крім цього, в організмі можуть виникати метаболічні зміни, симптоми яких подібні до цукрового діабету, за дефіциту мікроелементу хрому(III), який проявляє свою біологічну дію, головним чином, через інсулін. Хром(III) є важливим регулятором процесів пероксидного окислення ліпідів і активності антиоксидантної та NO-синтазної систем в організмі. Крім цього, він може за певних умов як ініціювати пероксидні процеси, так і підвищувати активність АОС. Тому метою наших досліджень було з'ясувати рівень пероксидного окислення ліпідів та активність антиоксидантної та NO-синтазної систем за експериментально індукованого діабету та впливу на ці процеси цитрату хрому.

**Методи.** Дослідження проведені на білих лабораторних щурах, які перебували в умовах віварію Інституту біології тварин НААН, масою тіла від 150 до 170 г, та були розділені на чотири групи: I-група – контрольна, II, III і IV – дослідні. Тваринам III і IV дослідних груп, на відміну від II групи, до основного раціону протягом місяця від початку досліджень додавали розчин цитрату хрому в кількостях 10 і 25 мкг Сг/кг маси тіла. У тварин усіх дослідних груп на тлі 24-ох годинного голодування викликали експериментальний цукровий діабет шляхом внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину ("Sigma", США) з розрахунку 35 мг/кг маси тіла. Гіперглікемію виявляли шляхом вимірювання глюкози крові, зібраної з хвостової вени, за допомогою портативного глюкометра ("Gamma-M"). Матеріалом для досліджень була плазма та еритроцити крові щурів, яка відібрана при декапітації.

**Результати.** У дослідженнях було встановлено, що за експериментально діабету в плазмі крові щурів підвищувався рівень гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів, а в еритроцитах зростала активність супероксиддисмутази та NO-синтази, в той час як знижувалася активність каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та вміст відновленого глутатіону, що свідчить про посилення оксидативно-нітративного стресу за діабету. Це відбувається внаслідок активації iNOS, що, у свою чергу, може призводити до посилення утворення NO і пероксинітриту за умов цукрового діабету. У той же час за умов додавання до раціону щурів із експериментальним діабетом цитрату хрому в кількостях 10 і 25 мкг Сг/кг маси тіла ці показники нормалізувалися, досягли рівня тварин контрольної групи. Це очевидно відбувалося завдяки антиоксидантним властивостям хрому(III) та інгібуванню секреції прозапальних цитокінів.

**Висновки.** Детальне вивчення механізмів виникнення та розвитку діабету є актуальною проблемою, оскільки дає змогу виявити можливі молекулярні механізми впливу на дані процеси з метою запобігання їхньому виникненню та розвитку, а також створення нових діагностичних підходів. Отримані нами результати свідчать, що цитрат хрому може представляти собою нову біодобавку, що в перспективі може мати потенційну терапевтичну дію для лікування і профілактики цукрового діабету.

*O.YU. SOKOLVYAK*<sup>1,2</sup>, *L.P. BABENKO*<sup>1</sup>, *V.V. MOKROZUB*<sup>1,2</sup>, *K.I. STEPANENKO*<sup>1</sup>, *I.V. SAGAN*<sup>1</sup>, *L.M. LAZARENKO*<sup>1</sup>, *M.YA. SPIVAK*<sup>1</sup>

## **LACTOBACILLUS AND BIFIDOBACTERIUM STRAINS RESISTANCE TO AGGRESSIVE FACTORS OF HUMAN GASTROINTESTINAL TRACT**

<sup>1</sup> *D.K. Zabolotny Institute of microbiology and virology, Kyiv*

<sup>2</sup> *Ukrainian State Scientific Research Institute of Nanobiotechnologies and Resource Reservation, Kyiv*  
*sokolvyak\_alena@mail.ru*

It is known that according to the “Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food” one of the requirements to probiotic strains that allow to use them as a component of probiotics is survival during the transit through the gastrointestinal tract. So, the aim of our research was to investigate the resistance of *Lactobacillus acidophilus* IMV B-7279, *L. casei* IMV B-7280, *L. ramnosus* LB-3 VK6, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMV B-7281, *L. delbrueckii* LE VK8, *L. plantarum* LM VK7, *Bifidobacterium animalis* VKL and *B. animalis* VKB to aggressive gastrointestinal tract conditions *in vitro*.

The survival of the tested strains was verified by cultivating in Man-Rogosa-Sharpe medium in the presence of stomach acidity in concentration 1-100 % during 2.5 hours, bile salt in concentration 0.1-40 % during 5 hours and pancreatine in concentration 0.1-5 mg/ml during 15 hours. For studying complex impact of aggressive gastrointestinal tract conditions on the strains we cultivated them stepwise with 50 % of stomach acidity during 2.5 h, with 0.3 % of bile during 5 h and with 2.5 mg/ml of pancreatine during 15 h.

*B. animalis* VKL, *B. animalis* VKB and *L. acidophilus* was resistant to 100 % concentration of stomach acidity, *L. casei* – to 75 %, *L. ramnosus* – to 50 %, *L. delbrueckii* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* – to 10 %, *L. plantarum* – to 8 %.

*B. animalis* VKL, *B. animalis* VKB, *L. ramnosus* and *L. casei* retained high viability in the presents of 40 % bile, *L. acidophilus* – in the presents of 30 % bile. *L. plantarum* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* had medium resistance to bile (10-25%), the most sensitive was *L. delbrueckii* (8 %).

All strains survived under the action of pancreatine in concentration 0.1-5 mg/ml during 15 h cultivation.

The most tolerant for the complex action of aggressive gastrointestinal tract conditions were *L. acidophilus*, *B. animalis* VKB and *B. animalis* VKL (82, 78 and 78 % of the cells respectively survived after the cultivation). 52% of *L. casei* cells survived under the complex action of aggressive gastrointestinal tract factors. The other strains were not enough resistant.

So, we can make a conclusion that all the strains are promising for probiotic preparation creation but *L. ramnosus* LB-3 VK6, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMV B-7281, *L. delbrueckii* LE VK8 and *L. plantarum* LM VK7 strains need additional protection against gastrointestinal tract factors action in cases of *per os* use.

*С.А. СТАРОСИЛА<sup>1</sup>, М.В. ПРОТОПОПОВ<sup>1</sup>, С.С. ЛУКАШОВ<sup>2</sup>, Г.П. ВОЛИНЕЦЬ<sup>2</sup>,  
В.Г. БДЖОЛА<sup>2</sup>, С.М. ЯРМОЛЮК<sup>2</sup>*

## **РАЦІОНАЛЬНИЙ ДИЗАЙН НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ІНГІБІТОРІВ ПРОТЕЇНКІНАЗИ ASK1**

<sup>1</sup>*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ*

<sup>2</sup>*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ*

*[starosila@gmail.com](mailto:starosila@gmail.com)*

Протеїнкіназа ASK1 є перспективною терапевтичною мішенню, оскільки підвищена активність цього ензиму пов'язана з розвитком низки захворювань людини.

Доведено що, ASK1 бере участь у патогенезі хвороби Альцгеймера та аміотрофічного латерального склерозу, задіяна в розвитку міокардиту, фіброзу серця і серцевої недостатності. Результати досліджень *in vivo* свідчать про важливу роль ASK1 у розвитку септичного шоку. Таким чином, високоактивні і селективні інгібітори ASK1 можуть бути попередниками для розробки лікарських засобів від цих захворювань.

Метою роботи був дизайн низькомолекулярних інгібіторів ASK1 і дослідження їх взаємодії з амінокислотними залишками активного центру ASK1 методами комп'ютерного моделювання та біохімічного тестування.

На першому етапі роботи за допомогою пакету програм DOCK проведено рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг бібліотеки, яка нараховувала близько 270 тисяч органічних сполук. Для тестування *in vitro* було відібрано 186 лігандів, що за даними докінгу мали енергію зв'язування з ензимом нижче -50 ккал/моль та утворювали водневі зв'язки з ключовими амінокислотними залишками АТФ-зв'язувального сайту ASK1. Виявлено, що сполука 5-(4-хлоро-феніл)-4-(фуран-2-карбоніл)-3-гідрокси-1-(6-метокси-бензотіазол-2-іл)-1,5-дигідро-пірол-2-он інгібує ASK1 зі значенням  $IC_{50} = 4.2$  мкМ.

Для вивчення залежності активності 1-бензотіазол-2-іл-3-гідрокси-5-феніл-1,5-дигідро-пірол-2-онів від їх хімічної структури, було синтезовано і протестовано 33 похідних цього класу. Найбільш активна сполука 1-(6-флуоро-бензотіазол-2-іл)-3-гідрокси-5-[3-(3-метил-бутокси)-феніл]-4-(2-метил-2,3-дигідро-бензофуран-5-карбоніл)-1,5-дигідро-пірол-2-он (ВРyО-34) інгібує ASK1 зі значенням  $IC_{50} = 0.52$  мкМ.

Було показано, що присутність залишку бензотіазолу в структурах досліджуваних сполук важлива для їх інгібувальної активності відносно ASK1. За даними комп'ютерного моделювання, цей гетероцикл бере участь у гідрофобних взаємодіях із аденін-зв'язувальною ділянкою активного сайту ASK1. Виявлено, що атом кисню 3-гідрокси-1,5-дигідро-пірол-2-ону утворює водневий зв'язок із аміногрупою Val757, який розташований в шарнірній ділянці протеїнкінази. Було продемонстровано, що хімічна природа замісника, який взаємодіє з гідрофобною кишенею I, важлива для прояву інгібувальної активності відносно ASK1.

Визначення селективності найбільш активних інгібіторів ASK1 проводили *in vitro* з використанням панелі з шести протеїнкіназ. Показано, що ВРyО-34 та низка інших активних сполук мають хорошу специфічність по відношенню до ASK1.

Таким чином, застосування віртуального скринінгу та біохімічного тестування дозволило ідентифікувати новий клас інгібіторів протеїнкінази ASK1 – похідні 1-бензотіазол-2-іл-3-гідрокси-5-феніл-1,5-дигідро-пірол-2-ону.

*K.I. STEPANENKO<sup>1,2</sup>, L.P. BABENKO<sup>1</sup>, V.V. MOKROZUB<sup>1</sup>, O.YU. SOKOLVYAK<sup>1</sup>,  
I.V. SAGAN<sup>1</sup>, L.M. LAZARENKO<sup>1</sup>, M.YA. SPIVAK<sup>1</sup>*

## **THE EFFECT OF *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS* VKL ON THE UROGENITAL TRACT MICROFLORA OF MICE UNDER PHYSIOLOGICAL NORM CONDITION**

<sup>1</sup>*D.K. Zabolotny Institute of microbiology and virology, NASU, Kyiv*

<sup>2</sup>*National Technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute", Kyiv  
[katerina.stepanenko.92@mail.ru](mailto:katerina.stepanenko.92@mail.ru)*

It is known, that microflora of various cavities of human body, including vagina, is an impassable barrier for most infections. This fact confirms the relevance of using probiotics on the base of representatives of normal vaginal microflora (lacto- and bifidobacteria) not only in the complex therapy of vaginosis and infectious pathologies of the urogenital tract, but in norm, for prevention. Therefore, the aim of our work was to determine the effect of *Bifidobacterium animalis* VKL probiotic strain on the spectrum of vaginal and kidneys microflora *in vivo* under physiological norm condition.

*B. animalis* VKL cells suspension in 0.15 M saline was injected intravaginally to BALB/c mice in dose of  $1 \times 10^6$  cells per animal once per day during 7 days. It was investigated that the number of lacto- and bifidobacteria in the vagina increased and remained on a high level for an extended observation period (30 days) after intravaginal administration of *B. animalis* VKL. The quantity of lactic acid bacteria was  $3.75 \pm 0.06$  and  $3.32 \pm 0.03$  Lg CFU/ml on the 15<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days respectively ( $2.68 \pm 0.03$  Lg CFU/ml in the control). The number of bifidobacteria was  $3.58 \pm 0.08$  Lg CFU/ml on the 15<sup>th</sup> day and  $2.92 \pm 0.09$  Lg CFU/ml on the 30<sup>th</sup> day ( $2.12 \pm 0.11$  Lg CFU/ml in the control).

Streptococci appeared in the kidneys after *B. animalis* VKL introduction in the level of  $1.24 \pm 0.05$  and  $1.39 \pm 0.11$  Lg CFU/ml on the 9 and 12<sup>th</sup> days respectively, but did not seeded out on the 1-6<sup>th</sup> days.

Thus, obtained data showed, that the influence of *B. animalis* VKL on the microflora of vagina and kidneys is considerable, therefore the using the probiotic strain to create probiotic preparations for prevention or correction of the urogenital tract microflora is promising.

## **ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ ПЕЧІНКИ ГУСЕНЯТ ТА ЇХНІХ ЕМБРІОНІВ**

*Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького,*

*Мелітополь*

*anastasya.fedorko@i.ua*

У процесах обміну ліпідів важливу роль відіграє печінка, саме в ній відбувається подовження та скорочення карбонових ланцюгів жирних кислот, їхнє дегідрування,  $\beta$ -окиснення та інші види обміну ліпідів.

Для інкубації відбирали яйця гусей породи «велика біла» з середньою масою  $150,52 \pm 7,53$  г. Дослідження жирних кислот та процесів пероксидації в ембріогенезі проводили у фізіологічно обґрунтовані терміни: 22 доби – перехід з білкового типу живлення до жовткового, 28 діб – перенесення ембріонів на виведення. У постнатальному період дослідження обмежувались 14-добовим віком (період постнатальної адаптації).

Ембріони і гусенят декапітували згідно зі схемою експерименту. Виділені після декапітації тканини промивали у фізіологічному розчині і гомогенізували у 50 мМ фосфатному буфері (рН = 7,4). Жирнокислотний склад визначали методом газорідинної хроматографії. Ненасиченість жирних кислот ( $N\Sigma$ ) рахували як сумарну еквівалентну концентрацію ненасичених жирних кислот (НЖК) відносно подвійних зв'язків.

Наприкінці ембріонального періоду (з 22-доби ембріогенезу до 1-доби постнатального розвитку) спостерігалось поступове зростання вмісту ненасичених жирних кислот, за рахунок підвищення вмісту лінолевої (18:2), ліноленової (18:3) та докозатриєнової (22:3) кислот, але рівень ненасиченості ЖК в цей період залишався незмінним. У печінці 1-добових гусенят встановлено найвищий вміст НЖК, який на 15,8 % перевищує відповідний показник 22-добових ембріонів. Наприкінці ембріонального періоду (з 22-доби ембріогенезу до 1-доби постнатального розвитку) спостерігалось поступове зростання вмісту ненасичених жирних кислот, за рахунок підвищення вмісту лінолевої (18:2), ліноленової (18:3) та докозатриєнової (22:3) кислот, але рівень ненасиченості ЖК в цей період залишався незмінним. У печінці 1-добових гусенят встановлено найвищий вміст НЖК, який на 15,8 % перевищує відповідний показник 22-добових ембріонів. Перший тиждень постнатального розвитку характеризувався стрімким зниженням вмісту НЖК – 25,0 %, і рівня їхньої ненасиченості – на 21,62 %, адже відомо, що активуючим чинником ліпідного обміну в організмі птиці після виведення є перша годівля, після якої посилюється гепатоентеральний транспорт ліпідів, депонованих у печінці під час ембріонального розвитку, що й сприяє зниженню вмісту НЖК впродовж першого тижня життя гусенят.

Незважаючи на певні відмінності отриманої нами динаміки ЖКС ліпідів печінки, підтверджується той головний факт, що наприкінці ембріогенезу гальмування процесів ліпопероксидації за рахунок зниження рівня ненасиченості ліпідів у тканинах печінки менш виражене.

*В.Є. ХАДЖИНОВА, І.М. КОЛЕСНИКОВА, Т.А. ПОЗНЯК, О.П. КОСТЮЧЕНКО*

## **МОНОКЛОНАЛЬНІ АНТИТІЛА І-5А ПРОТИ $\alpha$ С-РЕГІОНУ МОЛЕКУЛИ ФІБРИН(ОГЕН)А, ТА ЇХНЄ ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ  
[hadzhynova@gmail.com](mailto:hadzhynova@gmail.com)*

**Вступ.** Більшість захворювань серцево-судинної системи людини супроводжуються аномальною активацією системи зсідання крові. Для діагностики захворювань системи гемостазу, а також для моніторингу ефективності їхнього лікування, важливе значення має кількісне визначення в плазмі крові людини концентрації молекулярних маркерів, що характеризують стан даної системи. Одними із таких важливих маркерів є розчинний фібрин. Розчинний фібрин являє собою комплекси фібрину desA з фібриногеном та олігомери фібрину desA на кінцях якого також знаходяться молекули фібриногену. У молекулі фібрин(оген)у умовно розрізняють центральний регіон E, два периферійних регіони D та  $\alpha$ С-регіони, які являють собою 2/3 С-кінців його A $\alpha$ -ланцюгів. В процесі фібринолізу плазмін в першу чергу відщеплює  $\alpha$ С-регіони від молекули фібрину. Визначення кількості ранніх форм розчинного фібрину, в якому присутні  $\alpha$ С-регіони, дасть можливість діагностувати загрозу тромбоутворення на початковій її стадії.

**Метою** данної роботи було отримати моноклональні антитіла проти  $\alpha$ С-регіону молекули фібрин(оген)у, описати їхні імунохімічні властивості та використати їх як “tag”-антитіла в імунодіагностичній тест-системі для кількісного визначення ранніх форм розчинного фібрину в плазмі крові людини.

**Методи.** Проти частково денатурованого фібрину методом гібридомної технології були отримані моноклональні антитіла (монАТ), названі І-5А. Імуноферментним методом визначили ізотип отриманих антитіл та перевірили можливість їхнього використання як “tag”-антитіл в діагностичній тест-системі для кількісного визначення ранніх форм розчинного фібрину. Турбідиметричним методом було перевірено дію монАТ на полімеризацію фібрину.

**Результати.** Було встановлено, що отримані антитіла відносяться до класу IgG1a та мають константу афінності  $3,41 \cdot 10^{-9}$  М. Показано інгібіторну дію монАнт на полімеризацію фібрину. При еквімолярному співвідношенні монАТ І-5А до фібрину максимальна швидкість полімеризації зменшувалась на 80%, що свідчить про високоспецифічне інгібування. Показано, що Fab-фрагменти монАТ І-5А інгібують полімеризацію фібрину desAB. Було виявлено, що епітоп монАТ І-5А розташовано в С-кінці  $\alpha$ С-регіону, що відповідає ділянці A $\alpha$ 509-602.

Біотинильовані монАТ були вдало використані як “tag”-антитіла при кількісному визначенні ранніх форм розчинного фібрину в плазмі крові людини.

**Висновок.** Отримані результати показали, що монАТ І-5А можуть бути використані для локалізації сайту полімеризації фібрину, розташованого у С-кінцевій ділянці  $\alpha$ С-регіону, і в розробці діагностичної тест-системи для кількісного визначення ранніх форм розчинного фібрину.

**ВМІСТ МЕТАБОЛІТІВ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ В ОРГАНАХ ЩУРІВ В УМОВАХ ДІЇ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова Міністерства освіти і науки  
України, Одеса*

*[khmelnitskaya\\_2014@mail.ru](mailto:khmelnitskaya_2014@mail.ru)*

**Вступ.** Гостра крововтрата призводить до порушення всіх видів обміну речовин в організмі. Ці зміни, що спостерігаються в тканинах, визначаються зниженням швидкості тканинного дихання, накопиченням недоокиснених метаболітів і збільшенням редокс-систем клітини. Цей патохімічний комплекс разом з недостатністю макроергів і порушенням механізмів активного транспорту викликає в клітинах незворотні зміни, які найшвидше розвиваються в тканинах мозку, печінки, нирок, серця. Зміна рівноваги окисно-відновних процесів порушує стан компонентів антиокиснювальної системи організму, одною з яких є система аскорбінової кислоти. При цьому зміни у співвідношенні саме аскорбінової кислоти, дегідроаскорбінової та дикетогулонової кислоти визначені недостатньо. Таким чином, метою роботи було визначення вмісту дегідроаскорбінової, дикетогулонової та аскорбінової кислот в органах щурів в умовах дії фактору залізодефіцитної анемії.

**Методи.** Білих безпородних щурів масою 320-400 г розділили на п'ять груп. Група №1 – контроль. У інших щурів моделювали залізодефіцитну анемію шляхом одноразової гострої втрати 30 % циркулюючої крові. Визначення вмісту метаболітів аскорбінової кислоти проводили на п'яту (група №2), дванадцяту (група №3), дев'ятнадцяту (група №4) та двадцять шосту добу (група №5) після крововтрати. Утримання тварин і проведення експериментів проводили у відповідності з міжнародними правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Вміст метаболітів аскорбінової кислоти визначали у гомогенатах печінки, нирок та крові за методом Соколовського, Лебедевої, Ліелуп, 1974. Обрахування розходжень між декількома групами робили за Гланцем, 1999, використовуючи метод Ньюмена-Кейсла за допомогою комп'ютерної програми «БІОСТАТ».

**Результати.** Отримані результати показали зменшення загального вмісту суми всіх метаболітів аскорбінової кислоти на 40-70 %. При цьому кількість аскорбінової та дикетогулонової кислоти незначно (на 5-20 %) зменшувалася, а дегідроаскорбінової – збільшувалася в 1,6-1,8 разів у порівнянні з даними контрольних тварин. Отримані дані можна пояснити розвитком окисного стресу, який підвищує витрати саме аскорбінової кислоти на нейтралізацію наслідків окисних процесів, завдяки чому і підвищується рівень дегідроаскорбінової кислоти. По закінченні досліджу більшість показників поверталися до норми.

*A.V. KHOMENKO, V.M. VASYLEVSKA, O.O. LISAKOVSKA*

## **VITAMIN D<sub>3</sub> AND OSTEOTROPIC CYTOKINES IN REGULATION OF BONE HOMEOSTASIS AT GLUCOCORTICOID-INDUCED OSTEOPOROSIS**

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv  
[annavic@ukr.net](mailto:annavic@ukr.net)*

**Introduction.** Impairments of bone tissue homeostasis associated with long-term glucocorticoids (GC) therapy can lead to alterations of bone cells function through dysbalance of cytokine system OPG/RANKL/RANK or/and inhibition of vitamin D<sub>3</sub> turnover. We investigated the pathways leading to GC induced osteoporosis by studying changes of mineral biomarkers and expression of OPG/RANKL in relation to cholecalciferol availability.

**Methods.** Female Wistar rats (100±5 g) received prednisolone at dose 5 g with or without 100 IU of D<sub>3</sub> (daily for 30 days). The contents of 25OHD<sub>3</sub>, OPG, RANKL in blood serum were measured by ELISA. The expressions of OPG, RANKL and osteocalcin in bone tissue were assessed by Western blot. The levels of Ca<sup>2+</sup>, Pi, activity of alkaline phosphatase (ALP) and its bone isoenzyme were determined by Bio-test kits.

**Results.** It was shown that prednisolone administration lowered the level of 25OHD<sub>3</sub> (by 70%) in serum. The decrease in 25OHD<sub>3</sub> led to hypocalcemia and hypophosphatemia that was accompanied by elevation of the activities of ALP and its bone isoenzyme in serum. Similar changes of mineral metabolism were also observed in bones. Prednisolone reduced the level of OPG (by 34 and 38%) and increased the level of RANKL (by 27 and 10%) both in serum and bone tissue respectively. OPG/RANKL ratio was found to be reduced by 1.7 times in serum. These changes were accompanied by a significant decrease in the expression of osteocalcin. Co-administration of vitamin D<sub>3</sub> with prednisolone normalized the content of mineral components and the balance of OPG/RANKL system through enhancement of vitamin D<sub>3</sub> bioavailability.

**Conclusions.** Our results indicate that GC administration altered remodelling by activating bone tissue resorption that correlated with impairments of vitamin D<sub>3</sub> turnover. Normalization of vitamin D<sub>3</sub> availability might be considered to be perspective in reducing the negative effects of GC on bone homeostasis.

**БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ЗБЕРЕЖЕННЯ *OPHRYS TAURICA* (AGGEENKO) NEVSKI**

*Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ*  
*[lenadobrovenko@gmail.com](mailto:lenadobrovenko@gmail.com)*

В останні роки поряд із використанням традиційних методів збереження й відновлення рідкісних і зникаючих видів рослин активно розробляються й впроваджуються нові біотехнологічні підходи, серед яких чільне місце посідає метод мікроклонального розмноження. Однак, через відсутність даних щодо характеру морфогенезу в культурі *in vitro* і умов культивування, які б враховували індивідуальні реакції окремого виду, цей метод використовується досить обмежено. Дикорослі види родини *Orchidaceae* Juss., чисельність яких катастрофічно зменшується, занесені до Червоної книги України. Тому метою нашого дослідження було визначити морфогенетичний потенціал природного рослинного матеріалу в умовах *in vitro*, провести мікроклональне розмноження й індукцію калюсоутворення з органів і тканин дикорослої зникаючої орхідеї *Ophrys taurica* (Aggeenko) Nevski для наступного використання отриманих імплантів при розмноженні і збереженні *ex situ*.

У результаті досліджень нами розроблено біотехнологію мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* експлантів дикорослої зникаючої орхідеї *O. taurica* флори України. Визначено вплив екзогенних фітогормонів на частоту калюсогенезу експлантів з генеративних органів, а також підібрані живильні середовища з оптимальним співвідношенням цитокинінів та ауксинів для культивування *in vitro* тканин *O. taurica*. Було встановлено, що максимальна частота проліферації зав'язей *O. taurica* спостерігається при культивуванні на середовищах з додаванням 2,5 мг/л 6-БАП (6-бензиламінопурин) і 1,5 мг/л 2,4-Д (частота проліферації складала  $19,1 \pm 0,4$  %) і 3 мг/л 6-БАП та 2,0 мг/л ІОЛК (індоліл-3-олійна кислота) ( $19,9 \pm 0,5$  %). При культивуванні насінних зачатків найбільший відсоток калюсоутворення спостерігався при додаванні у живильне середовище 2,0 мг/л 6-БАП і 2,5 мг/л 2,4-Д ( $37,2 \pm 0,4$  %). Максимальне калюсоутворення з експлантів пиляків спостерігали при додаванні 3 мг/л 6-БАП та 2,5 мг/л ІОЛК ( $40,4 \pm 0,5$  %).

Із експлантів насінних зачатків та пиляків *O. taurica* нами були отримані калюси переважно морфогенного типу – компактні, вузлуваті, щільні. Натомість калюси з експлантів зав'язей, навпаки, в основному були неморфогенного типу – м'які, рихлі, водянисті, часто зазнавали некрозу. Цитоморфологічний аналіз виявив утворення меристематичних осередків і соматичних ембріоїдів в калюсних культурах насінних зачатків та пиляків, що є ознакою значного морфогенетичного потенціалу.

Отримані результати є важливим внеском у наукові та практичні розробки, спрямовані на створення резервних генетичних колекцій у ботанічних садах і на заповідних територіях та відновлення чисельності природних популяцій рідкісних видів орхідей флори України.

*Е.А. ШЕСТЕРЕНКО, Ю.А. ШЕСТЕРЕНКО*

## **ВИДІЛЕННЯ І ВЛАСТИВОСТІ ЦИТОЗОЛЬНОЇ КАРБОКСИЛЕСТЕРАЗИ ПЕЧІНКИ СВИНІ**

*Лабораторія фізико-хімічних основ біотехнології, Фізико-хімічний інститут  
ім. О.В. Богатського НАН України, Одеса  
[shesterenko@mail.ru](mailto:shesterenko@mail.ru)*

**Вступ.** Карбоксилестерази печінки (КФ 3.1.1.1) є групою гідролаз, що каталізують гідроліз естерного, амідного і тіоефірного зв'язку в молекулах різної структури. Відомо, що вони сприяють регуляції активності багатьох лікарських речовин і зменшують токсичність ряду ксенобіотиків.

Мікросомальні карбоксилестерази людини і тварин найбільш широко охарактеризовані, однак карбоксилестерази, що містяться в цитозолі, можуть бути більш важливими ензимами для метаболізму деяких субстратів.

**Метою** даного дослідження було вивчення біохімічних характеристик карбоксилестерази цитозоля печінки свині і дослідження її субстратної специфічності.

**Методи.** Виділення цитозольної карбоксилестерази з печінки свині проводили дробним переосадженням супернатанту, отриманого після осадження мікросом, сульфатом амонію. Вміст білка визначали методом Лоурі в модифікації Хартрі, естеразну активність карбоксилестерази – за 1-нафтилацетатом.

Електрофоретичні дослідження проводили в 10 % ПААГ по Орнстейн і Девісу, з використанням  $\alpha$ - і  $\beta$ -нафтилацетатів як субстратів. Вплив селективного інгібітора карбоксилестерази ди-(*n*-нітрофеніл)фосфату визначали, досліджуючи естеразну активність ферменту після преінкубації з інгібітором.

**Результати.** З печінки свині за модифікованим нами методом виділений препарат цитозольної карбоксилестерази печінки свині.

Показано, що модифікований метод дозволив отримати препарат ензиму з виходом білка 14,97 мг/г тканини і естеразною активністю 15,93 мкмоль/мг протеїну за хвилину.

Повне інгібування виділеного ензиму селективним інгібітором карбоксилестераз ди-(*n*-нітрофеніл)-фосфатом підтверджує його приналежність до родини карбоксилестераз, а також свідчить про відсутність домішок інших естераз.

З використанням нативного електрофорезу в препараті карбоксилестерази виявлено 12 білкових фракцій з  $R_f$  0,03-0,41, 8 з яких (70 % від загального білка) мають естеразну активність. Встановлено, що регіоселективність отриманих фракцій до ацетатів нафтолу, стандартних субстратів визначення естеразної активності карбоксилестерази, істотно відрізняється. Так, максимальну загальну естеразну активність за  $\alpha$ -нафтилацетатом має фракція з  $R_f$  0,28 (27 %), а за  $\beta$ -нафтилацетатом фракція  $R_f$  0,11 (35 %).

Різна регіоселективність фракцій ензиму спостерігається також для питомої естеразної активності. Показано, що питома активність найактивнішої за  $\beta$ -нафтилацетатом фракції з  $R_f$  0,05 в 64 рази вище її питомої активності за  $\alpha$ -нафтилацетатом.

**Висновки.** Таким чином, за допомогою модифікованого методу виділено препарат цитозольної карбоксилестерази печінки свині, вивчено його біохімічні характеристики, білково-фракційний склад і показано різну регіоселективність електрофоретичних фракцій стосовно  $\alpha$ - і  $\beta$ -нафтилацетатів.

*І.В. ЮРЧАК<sup>1</sup>, О.О. ФЕДУРУК<sup>1</sup>, Л.П. КОПАНИЦЯ<sup>1</sup>, А.В. ІВАНІНА<sup>2</sup>,  
Л.Л. ГНАТИШИНА<sup>1</sup>, Г.І. ФАЛЬФУШИНСЬКА<sup>1</sup>, І.М. СОКОЛОВА<sup>2</sup>, О.Б. СТОЛЯР<sup>1</sup>*

## **МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ МЕТАЛОВМІСНИХ НАНОМАТЕРІАЛІВ В ОРГАНІЗМІ МОЛЮСКА *UNIO TUMIDUS* ТА ЇХ ТОКСИЧНІСТЬ ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕПЛОВОГО РЕЖИМУ ІСНУВАННЯ**

<sup>1</sup>*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,  
Тернопіль*

*Oksana.Stolyar@gmail.com*

<sup>2</sup>*Університет Північної Кароліни у Шарлотті, Шарлотта, США*

**Вступ.** Металовмісні наноматеріали (Me-НМ) являють собою новітній вид промислових, медичних та побутових препаратів, що, завдяки особливостям хімічного складу, великій активній площі поверхні та значному періоду півжиття у довкіллі, становлять небезпеку для біоти, яка посилюється за змін клімату. Для з'ясування молекулярних механізмів впливу Me-НМ ми досліджували вплив наночастинок оксиду цинку (nZnO), диоксиду титану (nTiO<sub>2</sub>) та нанокompозиту кобальту на основі похідного вінілпіролідону у фізіологічно або екологічно реальних за вмістом металу концентраціях у порівнянні із складовими цих Me-НМ. У якості модельного організму ми обрали двостулкового молюска-фільтратора *Unio tumidus*.

**Методи.** Оцінювали активність лізосомальної протеази катепсину Д та стабільність лізосомальних мембран, метал-депонувальні характеристики та антиоксидантний потенціал металотіонеїнів травної залози, естрогенну активність у самців та ознаки цитотоксичності за впливу препаратів Zn (3,1 мкМ), Ti (1,25 мкМ), Co (0,8 мкМ) після 14 діб інкубації у лабораторних умовах. Вплив nZnO визначали у представників з трьох водойм – референційної (І) та двох ставів-охолоджувачів теплостанцій, у яких температура води стабільно підвищена на 5-8 °С (Д- та Б-групи), за температурного режиму 18 °С (С) та 25 °С (Т).

**Результати.** Встановлено, що для всіх досліджених Me-НМ прояви впливу НМ та його складових відрізняються, що свідчить про нездатність організму до їх біодеградації. За впливу іонів металу відбувається акумуляція їх надлишку металотіонеїнами, особливо для кобальту, збільшується проникність лізосомальних мембран, активується каспаза-3. З іншого боку, за впливу Me-НМ активується катепсин Д та посилюється його вивільнення з лізосом. Порівняння контрольних груп виявило, що молюски з термальних водойм відрізняються нижчим рівнем металотіонеїнів у тканинах та підвищеною у 2-5 разів активністю каспази-3. Відповідь на додатковий стрес у молюсків з трьох місцевостей принципово відрізнялися. За додаткового впливу термального чинника у молюсків І-групи втрачаються ознаки специфічної відповіді на дію nZnO, тоді як у термально адаптованих групах (Д- та, особливо, Б-групи) вони посилюються, а активність каспази-3 та рівень металотіонеїну зменшуються. Рівень фрагментації ДНК та оксирадикалів у тканині, прояви цитотоксичності та окисного стресу за спільного впливу nZnO та Т зростали лише у І-групі, а у молюсків із термальною адаптацією не відзначені.

**Висновки.** Відтак, хронічне перебування у термальних водах призводить до посилення толерантності молюсків до короткотривалого комбінованого впливу n-ZnO та підвищеної температури без активації його біодеградації.

*Робота виконана за підтримки МОНУ та CRDF (UKB1-7109-TE-13, M/78-2014, 125Б).*

**АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ЦИКЛУ КРЕБСА І АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У М'ЯЗОВІЙ ТКАНИНІ ГУСЕЙ В УМОВАХ ГІПО- І ГІПЕРОКСІЇ**

*Мелітопольський державний педагогічний університет імені Б. Хмельницького,  
Мелітополь*

*[sanek.sanek.91@bk.ru](mailto:sanek.sanek.91@bk.ru)*

Оскільки баланс біологічного і пероксидного окиснення на тлі фізіологічної напруги дотепер досліджувався фрагментарно, метою даної роботи було з'ясування характеру змін активності дегідрогеназ (ДГ) циклу трикарбонових кислот (ЦТК) і антиоксидантних (АО) ферментів у м'язовій тканині гусей та їх зв'язку під час переходу від ембріонального до постнатального розвитку. Дослідження активності ферментів у міокарді, м'язах кінцівок і шлунка гусей проводили з середини ембріонального до 14-добі постнатального періоду.

Серед досліджених дегідрогеназ ЦТК найвищий середній рівень активності встановлено для сукцинатдегідрогенази (СДГ) міокарду, а найменший – для  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази ( $\alpha$ -КДГ) м'язів шлунку. Впродовж другої половини ембріогенезу в м'язах кінцівок встановлено зростання активності СДГ,  $\alpha$ -КДГ і малатдегідрогенази (МДГ) в 3,77; 2,80 і 2,91 рази, в м'язах шлунку – в 2,42; 2,23 і 1,81 рази, в міокарді – 1,22, 1,92 і 1,71 рази відповідно. Постнатальна адаптація гусенят супроводжувалась зростанням активності всіх ДГ у м'язах кінцівок (СДГ на 9,4 %,  $\alpha$ -КДГ на 54,0 %, МДГ на 82,7 %). Водночас у м'язах шлунку активність  $\alpha$ -КДГ знизилась у 2,5 рази, а МДГ – на 35,7 %. У міокарді зростання активності СДГ,  $\alpha$ -КДГ і МДГ (в 1,26; 3,31 і 1,79 рази відповідно) відбувалось впродовж першого тижня життя. Другий тиждень постнатального онтогенезу для міокарду характеризувався зниженням активності  $\alpha$ -КДГ і піруватдегідрогенази (ПДГ) у 2,49 і 11,08 рази відповідно.

Серед досліджених АО ферментів найбільш вираженими є зміни СОД-активності в міокарді: впродовж досліду цей показник зменшився в 2,27 рази. Тенденція до зменшення СОД-активності (на 27,3 %) з коливаннями спостерігалась для м'язів кінцівок. У м'язах шлунка, навпаки, постнатальний розвиток характеризувався активізацією ферменту в 1,69 рази. Окрім того, в цих м'язах наприкінці ембріонального періоду встановлено мінімальний рівень ГПО-активності. Найменшою специфічністю характеризувалась КАТ-активність досліджених тканин. Ця специфічність проявилась лише у постнатальному періоді стабілізацією КАТ-активностей м'язів кінцівок.

Кореляційним аналізом результатів досліджень були виявлені дуже тісні позитивні зв'язки між активністю СДГ,  $\alpha$ -КДГ і МДГ ( $r = 0,826-0,904$ ). Отже, можна стверджувати про наявність прямого зв'язку між активністю цих ферментів, зумовленого їх індивідуальною субстратною специфічністю. Водночас ці ДГ в усіх досліджених тканинах мають тісний негативний кореляційний зв'язок з КАТ-активністю ( $r = -(0,731-0,858)$ ), що також характеризується індивідуальною субстратною специфічністю. З'ясування характеру кореляційних зв'язків досліджених ферментних систем сприятиме визначенню напряму порушення балансу окисних процесів за дії негативних чинників різного походження.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ФРАГМЕНТІВ ФІБРИНОГЕНУ НА РІЗНІ ЛАНКИ ФІБРИНОЛІЗУ**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ  
topolius@yandex.ua*

В організмі людини активація плазміногену основним ендогенним активатором плазми крові – тканинним активатором плазміногену – відбувається на поверхні фібрину, що захищає білки плазми від неспецифічного протеолізу плазміном і спрямовує дію ферменту на гідроліз саме полімерного фібрину. За гіперактивації фібринолітичної системи, плазмін може гідролізувати фібриноген з утворенням продуктів його деградації. Однак ефект продуктів плазмінового гідролізу фібриногену на фібринолітичний процес остаточно не з'ясовано. В представленій роботі досліджено здатність різних D- і E-фрагментів фібриногену людини зв'язувати плазміноген і тканинний активатор, стимулювати активацію проферменту, впливати на лізис фібринового згустку і інгібування плазміну  $\alpha 2$ -антиплазміном плазми.

З плазмінового гідролізату фібриногену людини було виділено ранні та пізні продукти – фрагменти  $E_p$  і  $E_n$ , що відрізнялись за амінокислотними залишками, тоді як ранній та пізній D-фрагменти були однаковими. З  $E_p$ -фрагменту, використовуючи карбоксипептидазу В, був отриманий E-фрагмент, позбавлений C-кінцевих залишків лізину, та з використанням тромбіну – позбавлений 16 амінокислотних залишків в N-кінцевій частині  $A\alpha$ -ланцюга.

Вперше показано, що  $E_p$ -фрагмент здатен зв'язувати Glu-плазміноген і тканинний активатор плазміногену та стимулювати процес активації проферменту.  $E_n$  втрачає стимулюючі властивості, але здатен зв'язувати профермент і його активатор. Обробка  $E_p$ -фрагменту тромбіном призводить до часткового зниження стимулюючого ефекту, тоді як обробка карбоксипептидазою В – до повної втрати такого впливу. Таким чином, наявність C-кінцевих залишків лізину трьох пар поліпептидних ланцюгів і 16 або 24 N-кінцевих амінокислотних залишків даного фрагменту є істотними для цього процесу. Зниження зв'язування  $E_p$ -фрагменту з тканинним активатором під дією  $\epsilon$ -амінокапронової кислоти та після обробки карбоксипептидазою В вказує на залучення C-кінцевих залишків лізину  $A\alpha$ - і  $\gamma$ -ланцюгів фрагменту і лізин-зв'язуючої ділянки кринглу 2 активатора до цієї взаємодії. Ймовірно, зв'язування даного фрагменту з плазміногеном забезпечується N-кінцевою ділянкою  $A\alpha 1-19$  та C-кінцевою  $B\beta 120-122$  ділянкою.

D-фрагмент фібриногену не зв'язується з Glu-плазміногеном і тканинним активатором.

Жоден з продуктів деградації фібриногену не впливає на швидкість лізису фібринового згустку плазміном та на процес інгібування ферменту  $\alpha 2$ -антиплазміном плазми.

Таким чином, продукти деградації фібриногену здатні впливати на фібриноліз, зв'язуючи плазміноген і тканинний активатор, стимулюючи утворення плазміну, але не захищають останній від інгібування  $\alpha 2$ -антиплазміном.